

Studium a příprava vícenásobných emulzí

Ing. Kristýna Opustilová, Ph.D.

Teze disertační práce



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Teze disertační práce

Studium a příprava vícenásobných emulzí

Study and preparation of multiple emulsions

Autor:	Ing. Kristýna Opustilová, Ph.D.
Studijní program:	P2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor:	2901V013 Technologie potravin
Školitel:	doc. Mgr. Barbora Lapčíková, Ph. D
Konzultant:	prof. Ing. Lubomír Lapčík, CSc.

Zlín, září 2024

© Kristýna Opustilová

Vydala **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně** v edici **Doctoral Thesis Summary**.
Publikace byla vydána v roce 2024

Klíčová slova: emulze, vícenásobná emulze, kurkumin, kurkuminoid,
stravitelnost *in vitro*

Key words: emulsion, multiple emulsion, curcumin, curcuminoid, *in vitro*
digestibility

Plná verze disertační práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

ISBN 978-80-7678-281-5

ABSTRAKT

Cílem předkládané práce je optimalizace přípravy vícenásobných emulzí, posouzení vlivu vybraných procesních parametrů (teplota přípravy a aplikace vysokorychlostní homogenizace) a surovinové skladby na funkční vlastnosti jednoduchých a vícenásobných emulzí.

Práce je zaměřena na výrobu modelových vzorků vícenásobných emulzí s enkapsulovaným kurkuminem. Jednotlivé emulze se lišily použitým olejem (olivový, slunečnicový, dýňový, lněný a kokosový) ve vnější fázi. K popsání vlastností jednotlivých emulzí byly sledovány fyzikálně-chemické vlastnosti (index krémování, stability emulze, mrznoucí vody, enkapsulační účinnost, reologické vlastnosti) a také proběhla vizualizace emulzí pomocí konfokální laserové mikroskopie. Dalším sledovacím parametrem byla stravitelnost jednoduchých i vícenásobných emulzí *in vitro* dvoukrokovým postupem (simulace trávení v žaludku a simulace trávení v tenkém střevě). Studována byla také stravitelnost vzorků kurkumy, v práškové formě i v čerstvém kořenu. Také byla provedena analýza jednotlivých kurkuminoidů ve standardu kurkuminu metodou diferenční skenovací kalorimetrie a pomocí kapalinové chromatografie.

Z výsledků práce vyplývá, že stabilitu vícenásobných emulzí silně ovlivňuje teplota přípravy i proces homogenizace. Poměr olejové a vodné fáze nemá na stabilitu emulze zásadní vliv, ale mění se viskoelastické vlastnosti připravených vzorků. Použitý druh oleje má vliv na stabilitu emulzí, což zřejmě souvisí s poměrem nasycených a nenasycených mastných kyselin v olejích. Stravitelnost kurkuminu se u jednoduchých a vícenásobných emulzí výrazně lišila. Jednoduchá emulze se při kontaktu s žaludečními šťávami rychle rozpadá a dochází k degradaci kurkuminu, zatímco vícenásobné emulze poskytnou kurkuminu lepší ochranu před degradací a kurkumin se z větší části uvolní až v tenkém střevě. U analýzy stravitelnosti kurkumových prášků bylo zjištěno, že čerstvá kurkuma je stravitelnější než práškové vzorky.

ABSTRACT

The presented work aimed to optimize the preparation of multiple emulsions, to assess the influence of selected process parameters (preparation temperature and application of high-speed homogenization), and the composition on the functional properties of simple and multiple emulsions.

The work focuses on the production of model samples of multiple emulsions with encapsulated curcumin. The individual emulsions differed in the type of oil used in the outer phase, including olive, sunflower, pumpkin, flaxseed, and coconut oil. To describe the properties of the individual emulsions, physicochemical properties (creaming index, emulsion stability index, encapsulation efficiency, rheological properties, freezing point index) were monitored, and emulsions were visualized using confocal laser microscopy. Another parameter monitored was the digestibility of simple and multiple emulsions *in vitro* using a two-step procedure (simulation of stomach digestion and simulation of small intestine digestion). The digestibility of turmeric samples, in both powdered form and fresh root, was also studied. An analysis of individual curcuminoids in the curcumin sample was performed using modulated differential scanning calorimetry and HPLC.

The results of the work indicate that the stability of multiple emulsions is strongly influenced by the preparation temperature and the homogenization process. The ratio of oil to the aqueous phase does not have a significant impact on emulsion stability, but it does change the viscoelastic properties of the prepared samples. The type of oil used affects the stability of the emulsions, likely related to the ratio of saturated to unsaturated fatty acids in the oils. The digestibility of curcumin differs significantly between simple and multiple emulsions. Simple emulsions break down quickly upon contact with stomach liquid, leading to the degradation of curcumin, while multiple emulsions provide better protection for curcumin against degradation, with most curcumin being released in the small intestine. The digestibility analysis of turmeric powders revealed that fresh turmeric is much more digestible than powdered samples.

Obsah

2.	Současný stav řešené problematiky	7
2.1	Vícenásobné emulze	7
2.1.1	Mechanismy destabilizace vícenásobných emulzí	8
2.1.2	Příprava vícenásobných emulzí	9
1.1.1	Využití vícenásobných emulzí	9
2.2	Kurkuma, kurkumin, kurkuminoidy	10
3.	Cíl práce	12
4.	Popis jednotlivých experimentů	13
4.1	Experiment I	13
4.2	Experiment II	14
4.3	Experiment III	14
1.	Zvolené metody zpracování	15
4.1	Optimalizace přípravy emulzí	15
4.2	Příprava modelových vzorků	16
4.3	Stanovení stability emulze pomocí indexu krémování (CPI)	16
4.4	Stanovení indexu stability emulze (ESI)	17
1.1	Enkapsulační účinnost	17
4.2	Konfokální laserová mikroskopie	18
4.3	Uvolňování kurkuminu enkapsulovaných do formy emulzí při simulaci digesce v podmínkách in vitro	18
4.4	Vliv matrice vzorku na uvolňování kurkuminu při procesu simulace digesce v podmínkách in vitro	19
4.4.1	Příprava nativních vzorků	19
4.4.2	Příprava nestráveného podílu vzorků kurkumových prášků a čerstvého kořene	19
4.4.3	Stanovení stravitelnosti kurkumových prášků a čerstvého kořene kurkumy	19
4.5	Statistická analýza	20
2.	Hlavní výsledky a diskuse	21
2.1	Optimalizace metody	21
2.2	Stanovení stability emulze pomocí indexu krémování (CPI) a indexu stability emulze (ESI) .	22
2.3	Enkapsulační účinnost (EE)	23
2.4	Konfokální laserová mikroskopie	25
2.5	Výsledky stanovení uvolňování kurkuminu při simulaci stravitelnosti u matrice emulzí	27

2.6	Výsledky stanovení stravitelnosti a hodnot retenčního faktoru pro kurkumin přítomný v matrici kurkumového kořene po simulaci digesce.....	29
3.	Přínos pro vědu a praxi.....	31
4.	Závěr.....	33
5.	Seznam použité literatury	34
6.	Seznam použitých symbolů a zkratek.....	37
7.	Seznam obrázků.....	38
8.	Seznam tabulek.....	39
9.	Seznam příloh.....	40
10.	Přílohy	41
1.	Seznam publikací autora.....	43
2.	Životopis autora.....	44

1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Podle odhadů Světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2022 zemře předčasně v důsledku nepřenositelných chorob každý rok více než 41 milionů lidí, což odpovídá 74 % všech úmrtí na celém světě. Nejčastější příčinou jsou kardiovaskulární onemocnění (14,9 milionů), dále je to rakovina (9,3 milionů), chronické respirační (4,1 milionů) a metabolické (2 miliony) onemocnění. V současné době jsou tyto nemoci považovány za významný problém veřejného zdraví jak v rozvojových, tak v průmyslově vyspělých částech světa. Rizikovými faktory jsou především užívání tabáku, fyzická nečinnost, nadměrné užívání alkoholu a nezdravá strava (Anonym, 2022). V posledních letech roste zájem právě o zdravé stravovací návyky a jejich dopad na současné i budoucí zdraví. Rostoucí znalosti o vlivu stravy na regulaci na genetické a molekulární úrovni mění způsob, jakým uvažujeme o úloze výživy, což vede k novým stravovacím strategiím. Vědomí důležitosti výživy v prevenci nemocí tak na světovém trhu zvýšily nabídku funkčních potravin a nutraceutik, které obsahují bioaktivní látky. Kromě toho roste počet výzkumů, které zkoumají potenciální zdravotní přínosy bioaktivních látek. Vzhledem k nízké biologické dostupnosti většiny bioaktivních látek, rychlé degradaci a fotochemické nestabilitě se pro zvýšení jejich využitelnosti volí různé enkapsulační techniky (Zabot et al., 2022). V posledních letech je patrný trend zapouzdřování bioaktivních látek i prostřednictvím vícenásobných emulzí.

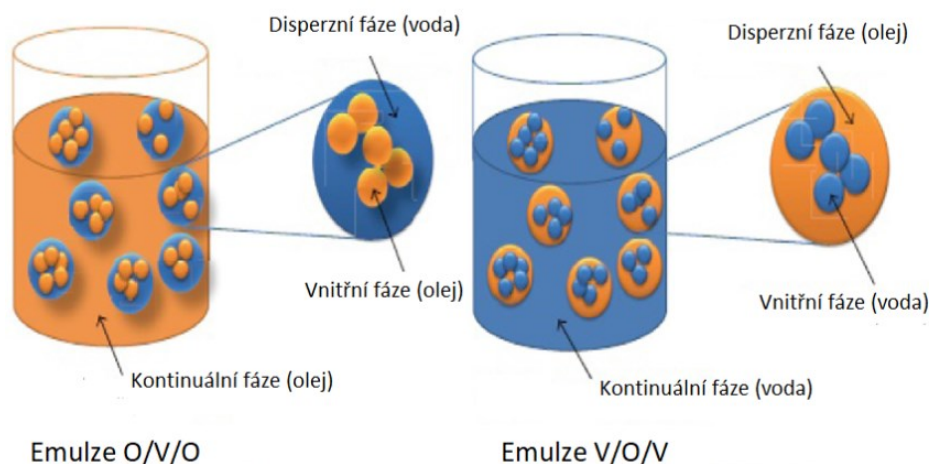
1.1 Vícenásobné emulze

Vícenásobné emulze, někdy označované jako dvojité emulze, jsou nové nosné systémy tvořené z nejméně dvou nemísitelných kapalin. Jsou to komplexní, polydisperzní systémy, kde v jednom systému existuje současně emulze V/O i O/V. Vícenásobné emulze se popisují jako „emulze emulzí“, jelikož kapky dispergované fáze obsahují ještě menší vlastní dispergované kapky (Alouk et al., 2023, Leister et al., 2020). Někdy je také možné setkat se s názvem kapalinový membránový systém, jelikož rozpuštěná (enkapsulovaná) látka musí před uvolněním v místě absorpce přejít z vnitřní mísitelné fáze do vnější mísitelné fáze přes střední nemísitelnou organickou fázi, známou jako tzv. „kapalná membrána“. Tato membrána působí jako difúzní bariéra a polopropustná membrána pro složky

obsažené ve vnitřní fázi. Průměr kapiček ve vícenásobných emulzích se nejčastěji pohybuje od 0,1 po 100 μm (Leister et al., 2020).

Podle povahy dispergovaného média se vícenásobné emulze dělí na dva typy (Obr. 1):

- emulzní systém V/O/V–v tomto systému odděluje vnitřní a vnější vodnou fázi olejová (hydrofobní) fáze;
- emulzní systém O/V/O–vnitřní a vnější olejovou fázi odděluje vodná (hydrofilní) fáze (Lokhande et al., 2019).



Obr. 1: Typy vícenásobných emulzí (Vellaiyan et al., 2016)

1.1.1 Mechanismy destabilizace vícenásobných emulzí

Projevy destabilizace vícenásobných emulzí mohou být stejné jako u jednoduchých emulzí: krémování nebo sedimentace, flokulace, koalescence a Ostwaldovo zrání. Jsou však také náchylné k jiným druhům destabilizace. V případě emulze $V_1/O/V_2$ je hlavní příčinou difúze molekul vody mezi vnitřní fází V_1 a vnější V_2 osmotický tlakový gradient. Pro vyrovnání osmotického tlaku a zabránění pohybu vody v systému je možné přidat do vodné fáze osmoticky aktivní soluty, jako jsou cukry nebo soli. Pro zvýšení odolnosti v důsledku osmotického tlaku je také možné využít krystalizace olejové fáze nebo gelovatění vnitřní vodné fáze (Leister et al., 2020).

Podle publikace Heidariho et al. (2022) existují dva mechanismy destabilizace emulzí. Prvním z nich je destabilizace, která se projevuje během druhého kroku emulgace. V tomto procesu může dojít k rozbití a koalescenci kapek vnější fáze z důvodu silných smykových sil nebo kvůli smykové kolizi. Dalším mechanismem je únik vnitřních kapének do vnější kontinuální fáze. Tento jev může nastat buď prasknutím filmu vnějších kapének nebo prostřednictvím molekulární difúze, což

je jev, kdy dojde k uvolňování zapouzdřených látek z vnější fáze bez porušení filmu. Druhý typ destabilizace se projevuje během skladování. Zde dochází především ke koalescenci, kterou lze rozdělit do dvou forem: koalescence mezi vnitřními kapkami nebo mezi vnějšími kapkami. Koalescence nastává buď důsledkem Brownova pohybu nebo molekulární difúzi, která způsobuje smršťování nebo bobtnání vnitřních kapek. Tyto mechanismy pak vedou k úpravě velikosti vnějších kapek. Nadměrné bobtnání pak vede k rozpadu a úniku vnitřních kapek do vnější kontinuální fáze. Flokulace je proces, při kterém dochází k shlukování kapek a vytváření větších celků, aniž by byla narušena střední membrána. Tento jev nastává při nedostatečném množství interakcí mezi kapkami, což má za následek vznik koncentračního gradientu a k procesu krémování nebo sedimentaci (Heidari et al., 2022).

1.1.2 Příprava vícenásobných emulzí

Vícenásobné emulze jsou v porovnání s jednoduchými emulzemi více nestabilní, jelikož stabilizace dvou odlišných rozhraní během následného zpracování a skladování emulze je velmi náročné. Kromě toho je nezbytné umožnit destabilizaci těchto rozhraní při uvolnění enkapsulovaných složek (Leister et al., 2020). Ke zlepšení stability emulzí se do systému přidávají emulgátory, jako jsou povrchově aktivní látky a polymery. Tyto látky mají schopnost zachovat stabilitu emulze tím, že snižují povrchové napětí mezi fázemi. V systému jsou přidány dvě PAL s opačnou povahou – jedna stabilizuje emulzi typu V/O (lipofilní), zatímco druhá stabilizuje emulzi typu O/V (hydrofilní). Při vytváření emulze se tyto emulgátory adsorbují na povrchu kapek, čímž brání jejich agregaci a zajišťují tak stabilitu emulze (Verma et al., 2019). Aby se zabránilo Ostwaldovu zrání, používají se osmoticky aktivní látky, které vyrovnávají kapilární tlak mezi vnější a vnitřní fází (Alouk et al., 2023, Leister et al., 2020). Základní mechanismy přípravy emulzí lze, mimo jiné, shrnout do čtyřech následujících: dvoukroková emulgace, membránová emulgace, mikrofluidní homogenizace a fázová inverze

1.1.3 Využití vícenásobných emulzí

Vícenásobné emulze jsou využívány pro tři primární aplikace: (i) kontrolované uvolňování zapouzdřených sloučenin, (ii) enkapsulace látek s nežádoucími sensorickými vlastnostmi, (iii) ochrana citlivých sloučenin před degradací

(Heidari et al., 2022). Tyto emulze mají velký potenciál v různých průmyslových odvětvích (potravinářství, kosmetika nebo farmacie). Ve farmacii má potenciál především v oblasti klinické terapie, zde slouží pro prodloužení a řízené uvolňování léčiv. Léčivo přítomné ve vnitřní fázi musí projít několika fázemi, než dojde ke vstřebávání. Rychlost uvolňování léčiva se řídí jeho schopností difundovat přes různé fáze a překračovat mezifázové bariéry. Dále se mohou vícenásobné emulze uplatnit jako adjuvans pro vakcíny. Jednoduché emulze se obtížně aplikují vzhledem k vysoké hustotě. Optimální hustoty pro podávání je tedy možné dosáhnout reemulgací emulze z V/O na V/O/V. (Agrawal et al., 2017). V potravinářství lze využít k redukci tuků (částečné nahrazení obsahu tuku vnitřní vodní fází při zachování podobné textury) nebo enkapsulaci bioaktivních látek či mikroorganismů do různých matic, jelikož pro pozitivní farmakologický účinek je nezbytné specifické místo absorpce (Eslami et al., 2020, Klojdrová et al., 2022). V kosmetickém průmyslu se vícenásobné emulze využívají při výrobě opalovacích krémů nebo make-upů (Agrawal et al., 2016).

1.2 Kurkuma, kurkumin, kurkuminoidy

Kurkuma (*Curcuma longa*), někdy nazývaná také jako indický šafrán, patří do čeledi Zingiberaceae (zázvorovité). Rostlina se pěstuje především v teplých a vlhkých klimatech jihoasijských zemí, jako je Čína, Tchaj-wan, Indie, Singapur a Indonésie. Kurkuma se sklízí, když nadzemní část této rostliny začne opadávat a oddenky kurkumy získají jasně žlutou až oranžovou barvu (Hayakawa et al., 2011, Agrawal et al., 2024). Zdravotní účinky kurkumy jsou známé tisíce let a má dlouhou historii jako tradiční léčivo. Pro své zdravotní benefity se celosvětově používá v různých formách. V Indii se přidává do směsi koření kari, v Japonsku se podává v čaji, v Thajsku se používá v kosmetice, v Číně jako barvivo a v Malajsii jako antiseptikum (Hewlings et al., 2017). Oddenek je hlavním zdrojem fytochemických látek kurkuminoidů. Kurkuminoidy jsou polyfenolické sloučeniny, které dodávají kurkumě charakteristickou barvu oddenku, a tvoří asi 3–6 % hmotnosti oddenku v závislosti na odrůdě, půdě a klimatických podmínkách. Oddenek obsahuje dále sacharidy (60–70 %), proteiny (6–15 %), tuky (3–10 %), minerální látky (3–7 %) a esenciální oleje (3–6 %) (Kaur et al., 2024). Nejzastoupenějším kurkuminoidem v kurkumě je kurkumin, který představuje 70–77 % celkového obsahu. Dalšími významnými kurkuminoidy jsou demethoxykurkumin (15–20 %), bisdemethoxykurkumin (5–10 %) (Syed et al.,

2015). Kim et al. (2017) ve své publikaci uvádí jako další kurkuminoid, cyklokurkumin (Kim et al., 2017). Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008, v platném znění, jsou všechny kurkuminoidy označeny souhrnným názvem kurkumin a označeny kódem E 100, přičemž limit pro použití kurkuminu v potravinách není stanoven (Anonym, 2008). Ovšem podle vědecké práce Jurenka et al. (2009) nebo Zheng e al., (2020) lze za bezpečné považovat dávku až 12 g/den v jedné dávce. Vyšší příjem kurkuminu může v lidském organismu vyvolat nežádoucí vedlejší účinky, jako jsou nevolnost nebo průjem. Může také vyvolat alergické reakce, jako je kopřivka, vyrážka nebo svědění (Chandran et al., 2012, Shehzad et al., 2013). Kurkumin, přesněji 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyfenyl) hepta-1,6-dien-3,5-dion (Rathore et al., 2020). Kurkumin je známý především svými protirakovinnými, antioxidačními, protizánětlivými a antimikrobiálními vlastnostmi (Kaur et al., 2024). Kurkumin hraje důležitou roli při zánětu, pomáhá předcházet ateroskleróze, snižuje tvorbu krevních sraženin, inhibuje růst bakterie *Helicobacter Pylori*, která způsobuje žaludeční vředy. Také se dokáže vázat s některými těžkými kovy, jako je kadmium nebo olovo, a tím snižuje jejich toxicitu (Akram et al., 2010). Dlouhý seznam zdravotních účinků vedl k vývoji nových produktů v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu (Syed et al., 2015). Navzdory velmi dobré perspektivě kurkuminu při léčbě mnoha nemocí je jeho účinek omezený kvůli jeho nízké biologické dostupnosti (Giordano et al., 2019). Kurkumin je hydrofobní, což způsobuje extrémně špatnou rozpustnost ve vodě. Rozpustnost ve vodě je silně závislá na pH (při kyselém a neutrálním pH je prakticky nerozpustný). Pro absorpci jakýchkoliv perorálně podávaných léčiv je klíčová schopnost rozpustit se v trávicích tekutinách gastrointestinálního traktu. I při podání vysoké perorální dávky kurkuminu je jeho plazmatická koncentrace velmi nízká, jak ukázala klinická studie provedená na zdravých mužích. Dokonce i při podání dávky až 12 g kurkuminu nebyla plazmatická koncentrace kurkuminu dostatečně vysoká a nebylo ji možné detekovat (Kumar et al., 2020). Dalším významným faktorem je permeabilita, protože absorpce léčiva závisí na jeho schopnosti proniknout biologickou membránou gastrointestinálního traktu po rozpuštění. Kurkumin také podléhá rozsáhlé metabolické redukci a konjugaci. Nedávné studie naznačují, že určité adjuvans mohou ovlivnit metabolismus kurkuminu a zvýšit tak jeho biologickou dostupnost.

2. Cíl práce

Cílem předkládané disertační práce bylo optimalizovat metodu přípravy vícenásobných emulzí typu olej-voda-olej (O/V/O) jako nosiče pro enkapsulaci kurkuminu. Naplňování tohoto cíle lze rozdělit do pěti dílčích cílů:

1. Optimalizovat metodu přípravy vícenásobných emulzí O/V/O. Vyrobit modelové vzorky vícenásobných emulzí s enkapsulovaným kurkuminem.
2. Provést vybrané analýzy s důrazem na sledování stability připravených vzorků. Dále posoudit reologické vlastnosti a vizualizovat vzorky pomocí mikroskopických metod.
3. Analyzovat obsah jednotlivých kurkuminoidů ve standardu kurkuminu. Provést simulaci trávicího traktu *in vitro* vybraných vzorků kurkumy
4. Na základě získaných dat:
 - popsat vliv použití různých druhů rostlinných olejů ve vícenásobných emulzích a posoudit jejich vliv na stabilitu připravených emulzí;
 - porovnat rozdíl ve fyzikálně-chemických vlastnostech a stravitelnosti kurkuminu v jednoduchých a vícenásobných emulzích;
 - porovnat stravitelnost různých druhů kurkumových prášků a čerstvé kurkumy *in vitro*;
 - porovnat získaná data z analýz jednotlivých kurkuminoidů získaných pomocí různých metod.
5. Na základě získaných dat zhodnotit přínos studie pro použití ve vědě a praxi.

3. Popis jednotlivých experimentů

Experimentální část disertační práce je rozdělena na tři dílčí experimenty, které jsou v této kapitole popsány.

3.1 Experiment I

První experiment byl zaměřen na optimalizaci přípravy vícenásobných emulzí s cílem identifikovat optimální nosič pro kurkumin. Po nalezení optimální matrice byl do vzorků enkapsulován kurkumin. Vzorky se lišily použitým olejem ve vnější fázi emulze. Bylo využito pět druhů olejů: olivový olej (BIO extra panenský olivový olej lisovaný za studena, Headquarters esporão s.a., Španělsko), lněný olej (BIO 100 % panenský olej lisovaný za studena, Greenspol, s.r.o, Maďarsko), slunečnicový olej (BIO slunečnicový olej lisovaný za studena, Country life s.r.o, Slovensko), dýňový olej (BIO 100% panenský olej, Health lins s.r.o, Nizozemsko) a kokosový olej (Fair trade BIO panenský olej, Purity Vision, Česká Republika). V tabulce 1 je uvedeno složení mastných kyselin použitých olejů.

Tabulka 1 Obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin (MK) v použitých olejích (hodnoty uvedené výrobcem) a značení vzorků

Druh oleje	Označení vzorku	Obsah MK (g/100ml)		
		Nasycené MK	Mononenasyčené MK	Polynenasycené MK
Olivový	DEO	13,1	71,8	6,3
Slunečnicový	DES	6,5	85,5	
Lněný	DEF	10,0	20,0	70,0
Dýňový	DEP	17,0	25,0	50,0
Kokosový	DEK	95,0	5,0	

Po přípravě modelových vzorků byla provedena fyzikálně-chemická analýza jednotlivých vzorků. Hlavním sledovaným parametrem byla stabilita emulzí. Stabilita byla hodnocena pomocí indexu stability (ESI) a krémování (CPI), obsahu mrznoucí vody (W_{fs}) měřené pomocí DSC. Dále byla analyzována velikost částic, enkapsulační účinnost, reologické vlastnosti a struktura

připravených emulzí byla vizualizována konfokální laserovou mikroskopií. Vzorky byly analyzovány 1., 15., 30., a 50. den skladování.

3.2 Experiment II

Hlavním cílem druhého experimentu bylo připravit modelové vzorky jednoduchých (O/V) a vícenásobných emulzí (O/V/O) s enkapsulovaným kurkuminem podle metodiky předchozího experimentu. Pozornost byla zaměřena především na sledování rozdílů ve stravitelnosti kurkuminu *in vitro* v těchto emulzích. Rovněž byla zkoumána stravitelnost emulzí enkapsulovaných do celulóзовých tobolek. Hodnocení stravitelnosti probíhalo ve dvou fázích: simulace žaludku a následně simulace tenkého střeva. Cílem bylo zjistit, jaké procento enkapsulovaného kurkuminu se uvolní z matrice nebo degraduje během simulace trávení v žaludku a kolik během simulace trávení v tenkém střevě. Dále byly sledovány rozdíly ve fyzikálně-chemických vlastnostech, konkrétně velikosti částic, viskoelastických vlastnostech a indexu mrznoucí vody, u jednoduchých a vícenásobných emulzí.

3.3 Experiment III

Hlavním cílem tohoto experimentu byla kvantitativní analýza obsahu kurkuminu v různých vzorcích kurkumových prášků a čerstvého kořene kurkumy pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Dále byla zkoumána *in vitro* stravitelnost těchto vzorků kurkumy dvoufázovým postupem zahrnujícím simulaci trávení v žaludku a tenkém střevě. Analyzován byl také nestrávený podíl jednotlivých vzorků kurkumy. Pro tuto analýzu bylo vybráno pět druhů kurkumy, přičemž čtyři z nich byly v práškové formě. Součástí experimentu bylo také stanovení obsahu sušiny a popela v jednotlivých vzorcích. Posledním krokem bylo stanovení jednotlivých kurkuminoidů ve standardu kurkuminu pomocí modulované diferenční skenovací kalorimetrie (MDSC) a HPLC. V tabulce 2 je uveden popis vzorků kurkumy.

Tabulka 2 Popis jednotlivých vzorků kurkumy

Vzorek	Popis produktu
K1	Bio Kurkuma prášek (Bio Nebio s.r.o, země původu Indie)
K2	Bio Kurkuma prášek (Sonnentor s.r.o, země původu Indie)
K3	Kurkuma prášek (Mida Company Pvt. Lt, země původu Indie)
K4	Kurkuma prášek (domácí produkt, země výroby Pákistán)
KČ	Čerstvá kurkuma kořen (Titbit s.r.o, země původu Thajsko)

4. Zvolené metody zpracování

V této kapitole je popsána optimalizace přípravy vícenásobných emulzí, příprava modelových vzorků a jsou zde popsány metody, které byly využity k analýzám připravených vzorků.

4.1 Optimalizace přípravy emulzí

Optimalizační metoda byla použita k nalezení nejlepší možné matrice jako nosiče pro kurkumin a probíhala ve dvou krocích. V prvním kroku bylo cílem najít optimální způsob přípravy jednoduché emulze olej ve vodě (O/V), která následně sloužila jako vnitřní fáze (VF) ve vícenásobné emulzi. Po určení optimální matrice pro VF byla provedena optimalizace samotné vícenásobné emulze, přičemž VF v této vícenásobné emulzi byla označena jako vodná fáze. Experiment byl proveden s použitím centrálního kompozitního designu. Bylo provedeno 20 náhodných experimentů pro vnitřní fázi emulze (VF; jednoduchá emulze O/V) a 20 pro vícenásobnou emulzi (DE). Pro hodnocení účinnosti vybraných nezávislých faktorů – poměr olejové a vodné fáze (X_1 , 5:95–30:70), teplota přípravy (X_2 , 25–70 °C), homogenizační proces (X_3 , 15 000–25 000 ot/min) pro VF a poměr olejové a vodné fáze (X_1 , 30:70–70:30), množství emulgátoru ($X_2 = 0,1$ –1 ml), homogenizační proces (X_3 , 1 000–12 000 ot/min) u DE, byly použity experimentální odezvy: (i) index krémování po 30 dnech skladování (CP_{30}) (Y_1 , %) a index stability emulze (ESI) (Y_2 , %). Aby se minimalizovala čistá chyba, středový bod ($X_1 = 17,5:82,5$, $X_2 = 47,5$ °C, $X_3 = 20 000$ ot/min) pro VF a středový bod pro DE ($X_1 = 50:50$, $X_2 = 0,55$ ml, $X_3 = 6 500$ ot/min) byly opakovány pětkrát. Byl použit polynomický model druhého řádu s lineárními (X_i), kvadratickými (X_i^2) a interakčními (X_iX_j) nezávislými faktory k vyšetření korelace mezi CP_{30} a ESI. Po dokončení experimentů byl kvadratický

model upraven podle dat odezvy vypočítaných pomocí softwaru Design Expert (Stat-Ease, verze 13.0.5.0).

4.2 Příprava modelových vzorků

Příprava vícenásobné emulze probíhala ve dvou emulgačních stupních. Prvním krokem byla příprava vnitřní fáze emulze. Vnitřní olejová fáze (O_1) byla připravena rozpuštěním 1 g kurkuminu (95 % celkového množství kurkuminoidů, Alfa Aesar, Německo) v 10 ml oleje z černého kmínu (100% BIO rostlinný olej extrahovaný z rostliny *Nigella Sativa*, Nobilis Tilia s.r.o, Vlčí Hora, Česká republika). Olej byl míchán při 1000 ot/min. na magnetickém míchadle (IKA Rh basic2, Staufen, Německo) při teplotě 50 ± 1 °C pro dokonalé rozpuštění kurkuminu nejméně po dobu 1 hodiny. Následně byla připravena vodná fáze (V) přípravou 1% roztoku κ -karagenanu jako stabilizátoru v destilované vodě. Roztok byl dokonale promíchán a ponechán hydratovat přes noc při 4 ± 1 °C. K 1% roztoku karagenanu byl následně přidán emulgátor TWEEN 20 a směs byla míchána na magnetickém míchadle po dobu nejméně 1 hod při laboratorní teplotě. Následně byla olejová fáze (O_1) a vodná fáze (V) míchána dohromady a podrobena homogenizaci na zařízení (SilentCrusher M, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Německo) při 25 000 ot/min po dobu 5 minut. Tímto postupem vznikla jednoduchá emulze (O/V), která sloužila jako vnitřní fáze emulze pro následující krok přípravy vícenásobné emulze.

Vícenásobná emulze byla připravena smícháním rostlinného oleje s emulgátorem SPAN 80, čím vznikla olejová fáze (O_2). Bylo použito 5 druhů rostlinných olejů. Olejová fáze s emulgátorem byla míchána při pokojové teplotě nejméně 1 hodinu. Následně do ní byla po kapkách přidávána vnitřní fáze emulze připravená v předchozím kroku. Emulze byla homogenizována při 10 000 ot/min nejméně 5 minut. Hotové emulze byly skladovány při 4 ± 1 °C pro další analýzy.

4.3 Stanovení stability emulze pomocí indexu krémování (CPI)

Index krémování poskytuje nepřímé informace o agregaci kapek a míře flokulace kapek v systému. Během skladování dochází k oddělení fází na krémovou vrstvu nahoře a sérovou vrstvu na dně zkumavky. Emulze (10 ml) byla napipetována do skleněné zkumavky (vnitřní průměr 1,5 cm, výška 15 cm), uzavřena a uložena při pokojové teplotě. Bylo sledováno oddělování krémové a sérové vrstvy. Oddělování vrstev bylo odečteno ihned po přípravě a dále po 15.,

30. a 50 dnech skladování. Index krémování byl následně vypočten podle rovnice (1):

$$CI(\%) = \frac{HS}{HE} \times 100 \quad (1)$$

kde

HS je výška vrstvy séra a HE je celková výška emulze

4.4 Stanovení indexu stability emulze (ESI)

Index stability emulze byl stanoven podle (Nikzade et al., 2012) s mírnými úpravami. Emulze (10 ml) byly napipetovány do 50 ml polypropylenových centrifugačních zkumavek (vnitřní průměr 29,1 mm, výška 114,4 mm, kónické dno) a uzavřeny plastovými uzávěry. Vzorky byly následně centrifugovány při 6000 rpm po dobu 20 minut pomocí centrifugy EBA 21 (Hettich Zentrifugen, Německo). Stabilita emulze (ESI) byla vypočtena podle rovnice (2):

$$ESI(\%) = \left(\frac{S_1}{S_2} \right) \times 100 \quad (2)$$

kde

S_1 je objem uvolněné vody z emulze a S_2 celkový objem emulze. Vzorky byly měřeny duplikovaně ihned po přípravě.

4.5 Enkapsulační účinnost

Stanovení enkapsulační účinnosti bylo provedeno podle (Prieto et al., 2020) s drobnými úpravami. Alikvotní podíl emulze ($25,0 \pm 0,5$ mg), byl rozpuštěn v 10 ml metanolu (Sigma-Aldrich, Ltd., Česká republika), tento roztok byl jemně míchán po dobu 30 vteřin a následně přefiltrován přes stříkačkové nylonové filtry (průměr membrány 13 mm, velikost pórů $0,22 \mu\text{m}$, Labstore, Velká Británie). Následně byla měřena absorbance pomocí spektrofotometru Shimadzu (UV mini 1240, Japonsko) při vlnové délce 420 nm. Pro měření byly použity křemenné kyvety (spektrální rozsah 200-2500 nm, délka 10 mm, objem 3,5 ml, Hellma analytics, Německo). Uvolňování kurkuminu z emulze bylo měřeno ihned po přípravě, po 15, 30 a 50 dnech skladování, přičemž byl každý vzorek měřen třikrát. EE byla vypočtena podle rovnice (3):

$$EE(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100 \quad (3)$$

4.6 Konfokální laserová mikroskopie

Vzorky byly charakterizovány pomocí konfokálního laserového skenovacího mikroskopu, model FV3000 (Olympus, Tokio, Japonsko). Kapka emulze byla nanášena na mikroskopické sklíčko a překryta krycím sklíčkem. Pozorování barvení kurkuminu bylo provedeno při excitační a emisní vlnové délce 428 a 536 nm. Byly použity mikroskopické objektivy se zvětšením $10 \times$ až $60 \times$ se zoomem 1,5–2,5.

4.7 Uvolňování kurkuminu enkapsulovaných do formy emulzí při simulaci digesce v podmínkách *in vitro*

Pro stravitelnost kurkuminu enkapsulovaného do jednoduchých (O/V) a vícenásobných (O/V/O) emulzí v podmínkách *in vitro* byl použit dvoustupňový proces digesce dle Zhou et al. (2021) s drobnými úpravami. Prvním krokem byla simulace trávení v žaludku: emulze (0,5 g) byla navážena do 50ml Erlenmeyerovy baňky, bylo k ní přidáno 20 ml 0,1M HCl a 0,25 g pepsinu. Baňky byly uzavřeny a inkubovány ve vodní lázni s třepačkou (Memmert GmbH, Německo) při $37,0 \pm 0,1$ °C po dobu 2 hod. Po ukončení fáze simulace trávení v žaludku byly žaludeční šťávy se vzorkem přelity do 100ml Erlenmeyerovy baňky, k trávenině bylo přidáno 40 ml tekutin simulujících tenké střevo složené z fosfátového pufru (pH 7,45) a 0,25 g pankreatinu a bylo upraveno pH na hodnotu 7,4 pomocí NaOH. Baňky byly následně uzavřeny a inkubovány ve vodní lázni s třepačkou při $37,0 \pm 0,1$ °C po dobu 24 hodin. Po uplynutí inkubační doby byly vzorky smíchány s 10 ml hexanu a třepány v dělicí nálevce s cílem extrahovat kurkumin. Následně byl hexan odpařen na keramických miskách ve vodní lázni (GFL, Gujarat, Indie) do sucha a regenerován pomocí 10 ml metanolu. Stravitelnost kurkuminu v emulzích byla měřena v nativní formě jednoduché (O/V) a vícenásobné (O/V/O) emulze; a také v těchto emulzích, které byly vloženy do enterosolventních celulósových tobolek (velikost 0, Fishcema s.r.o., Brno, Česká republika). Pro zjištění koncentrace kurkuminu uvolněného (stráveného) během simulace digesce v žaludku a tenkém střevu byla využita metoda HPLC (kapitola 4.12). Všechny experimenty byly provedeny ve třech opakováních.

4.8 Vliv matrice vzorku na uvolňování kurkuminu při procesu simulace digesce v podmínkách *in vitro*

4.8.1 Příprava nativních vzorků

Pro stanovení stravitelnosti a hodnot retenčního faktoru kurkumin bylo použito čtyř vzorků kurkumového sušeného kořene ve formě prášku (K1 – Bio kurkuma, Bio Nebio s.r.o., země původu Indie; K2 – bio kurkuma Sonnentor s.r.o., země původu Indie; K3 – kurkuma Mida Company Pvt.Lt., země původu Indie; K4 – kurkuma, domácí produkt, země původu Pákistán) a čerstvého kořene kurkumy (KČ – Titbit s.r.o., země původu Thajsko). Kurkumin byl z výše uvedených vzorků kurkumy (2,5 mg) extrahován za studena v 50 ml methanolu po dobu nejméně 30 minut, přičemž čerstvý kořen byl před extrakcí nejemno nastrohán. Pro stanovení koncentrace kurkuminu v nativních formách prášků kořene a čerstvém kořeni kurkumy byla využita metoda HPLC.

4.8.2 Příprava nestráveného podílu vzorků kurkumových prášků a čerstvého kořene

Příprava nestráveného podílu kurkumových prášků a kořene probíhala postupem, který je uvedený v kapitole 4.11.3 s tím rozdílem, že po procesu trávení byl nestrávený podíl vzorku v sáčcích sušen při teplotě do 35 °C, a to po dobu 24 hodin. Koncentrace zbylého kurkuminu v nestráveném podílu vzorku byla stanovena metodou HPLC, přičemž nestrávený kurkumin byl extrahován metanolem.

4.8.3 Stanovení stravitelnosti kurkumových prášků a čerstvého kořene kurkumy

Proces simulace trávení v podmínkách *in vitro* byl proveden ve dvou krocích a zahrnoval proces trávení v žaludku pomocí pepsinu a poté v tenkém střevě pomocí pankreatických enzymů (Sumczynski et al., 2023) v inkubátoru DaisyII (Ankom Technology, Macedon, NY, USA). Nejprve byly vzorky naváženy (0,25 g) a zataveny pomocí impulzní svářečky KF-200H (Penta Servis, Holice, Česká republika) do sáčků typu F57 Ankom Technology (Macedon, NY, USA). Pro simulaci trávení v žaludku byla inkubační láhev naplněna 0,1 M HCl o objemu 1,7 l obsahující pepsin (3 g). Vzorky byly inkubovány 2 hod při 37,0 ± 0,1 °C, obsah žaludku byl slit a vzorky v sáčcích byly propláchnuty redestilovanou vodou. Pro simulaci podmínek trávení v tenkém střevu byl do inkubační láhve

přidán fosfátový pufr o objemu 1,7 l a pH 7,45 a směs enzymů pankreatinu (3 g). Po 24hodinové inkubaci byly vzorky několikrát propláchnuty redestilovanou vodou a sáčky s nestráveným podílem vzorku byly vysušeny při 105 ± 1 °C po dobu 6 hod (čerstvá kurkuma 24 h) a zváženy. Nakonec byly vzorky spáleny v muflové peci (LM112.10, Veb Elektro, Berlín, Německo) při 550 ± 10 °C po dobu 5,5 hod, ochlazeny a zváženy. Stravitelnost vzorků, vyjádřená jako hodnota DMD (stravitelnost sušiny vzorku, %) byla vypočtena pomocí rovnic (4)-(8):

$$\text{DMD (\%)} = 100 - \frac{100 \times \text{DMR}}{m_2 \times \text{DM}} \quad (4)$$

$$\text{DMR} = m_3 - m_1 \times c_1 \quad (5)$$

$$\text{DM} = \frac{\text{DW} \times m_s}{m_1} \quad (6)$$

$$c_1 = \frac{m_s}{m_1} \quad (7)$$

$$c_2 = \frac{m_p}{m_1} \quad (8)$$

kde DMD je stravitelnost sušiny (%), DMR je hmotnost vzorku bez sáčku po rozkladu a sušení (g), DM je hmotnost sušiny vzorku (g), DW je hmotnost sušiny vzorku (vyjádřená v %), m_s je hmotnost vzorku pro stanovení sušiny (g), c_1 je korekce hmotnosti sáčku po sušení (g), c_2 je korekce hmotnosti sáčku po spalování (g), m_p je hmotnost popela prázdného korekčního sáčku (g), m_1 je hmotnost prázdného sáčku (g), m_2 je hmotnost vzorku (g), m_3 je hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po inkubaci (g).

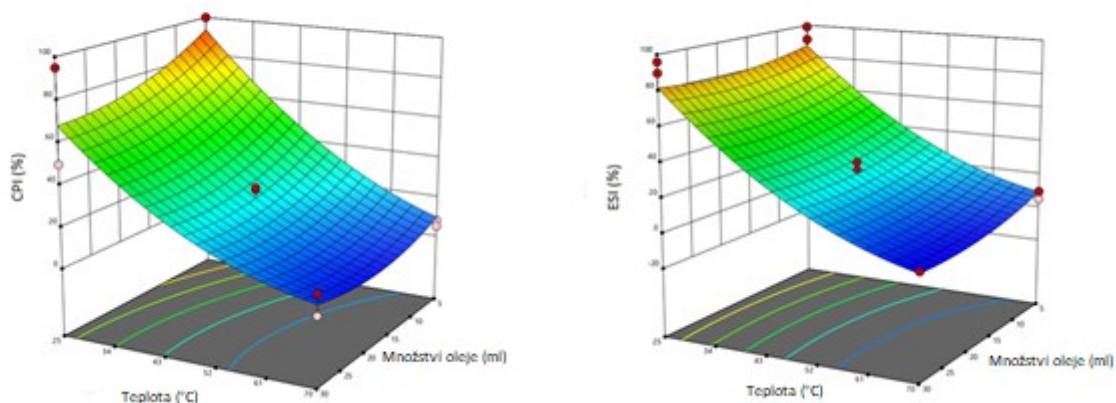
4.9 Statistická analýza

Pro zjištění případné normality dat byl proveden Shapiro-Wilkův test; hladina významnosti byla stanovena na 0,05. Použití parametrických testů bylo testem zamítnuto, nebylo dosaženo normálního rozdělení dat. Následně byly výsledky statisticky zpracovány pomocí neparametrické analýzy rozptylu, a to Kruskal-Wallisovým a Wilcoxonovým testem s hladinou významnosti 0,05 (Granato, de Araújo Calado et al., 2014). Při zpracování dat byl využit softwar SigmaPlot ver. 12.5 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

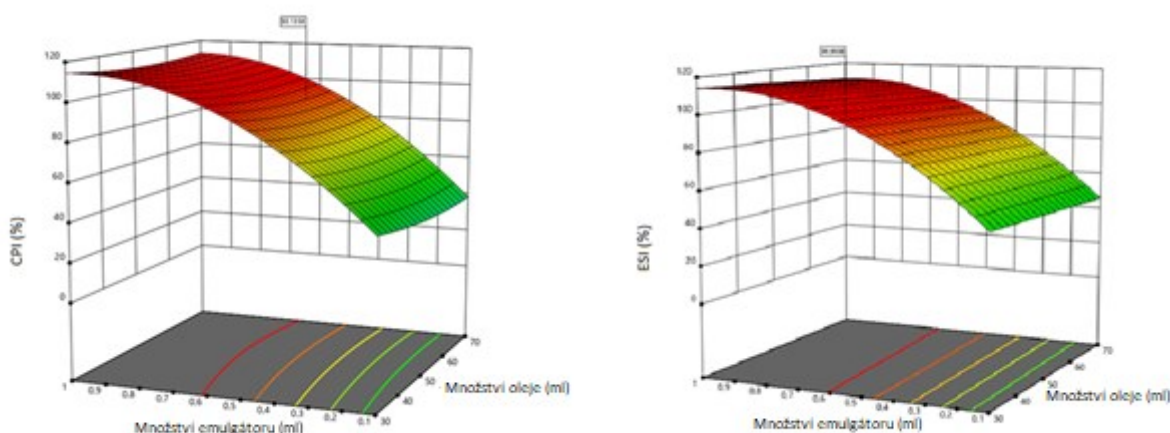
5. Hlavní výsledky a diskuse

5.1 Optimalizace metody

Pro vizualizaci vlivu poměru vodné a olejové fáze, optimální teploty a metody homogenizace u VF, stejně jako poměru olejové a vodné fáze a množství emulgátoru u DE, jsou poskytnuty trojrozměrné povrchové grafy (Obr. 2 a 3). Pro dosažení přesných hodnot CPI_{30} a ESI pro přípravu emulzí s maximální stabilitou byla použita numerická optimalizace. Pro VF byla vybrána optimální teplota 25 °C, rychlost homogenizace 25 000 ot/min a poměr vody:oleje 9:1. Pro DE byl zvolen optimální poměr vody: oleje 2:3 optimální koncentrace emulgátoru 0,5 %. Z optimalizační metody bylo zjištěno, že na stabilitu emulzí má nejvyšší vliv teplota přípravy emulzí. I u nepatrného zvýšení teploty při procesu výroby docházelo k rychlé separaci vodné a olejové fáze. Homogenizační proces měl na stabilitu emulzí také výrazný vliv. Čím vyšší počet otáček byl při homogenizaci použit, tím stabilnější emulze byla připravena. Rychlost použitých otáček při homogenizaci souvisí s velikostí kapiček, které si vytvoří. Čím menší kapičky emulze jsou, tím je emulze stabilnější. U vícenásobné emulze nebylo ovšem možné využít vysoké rychlosti otáček, jelikož může dojít k porušení kapiček vnitřní fáze emulze a destabilizaci emulze. Zhou et al. (2022) ve své práci uvádí, že již při 8 000 ot/min lze připravit stabilní emulze. Zároveň není vhodné překročit 14 000 ot/min. Při takto vysokých otáčkách už dochází k porušení filmu VF emulze. Dalším důležitým faktorem je množství emulgátoru. Pokud v systému není žádný emulgátor, není možné vytvořit po delší dobu stabilní emulzi. Se zvyšující se koncentrací emulgátoru v systému je vytvořená emulze stabilnější. Použití emulgátorů v potravinách je však limitováno Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 Sb., kde je uvedeno maximální povolené množství pro Span 80 i TWEEN 20 1 000 mg/kg. Ovšem poměr olejové a vodné fáze nemá na stabilitu emulze výrazný vliv. Měnily se pouze viskoelastické vlastnosti připravených emulzí. S rostoucím obsahem olejové fáze se emulze stávala tekutější, a naopak, pokud byl v emulzi větší poměr vodné fáze, byla emulze tužší. Výběr poměru vodné a olejové fáze tedy závisí především na aplikaci dané emulze a preferencích spotřebitele.



Obr.2: Grafy povrchu odezvy znázorňující vliv teploty přípravy, množství oleje a metody homogenizace na CPI (%) a ESI (%) pro optimalizaci vícenásobné emulze

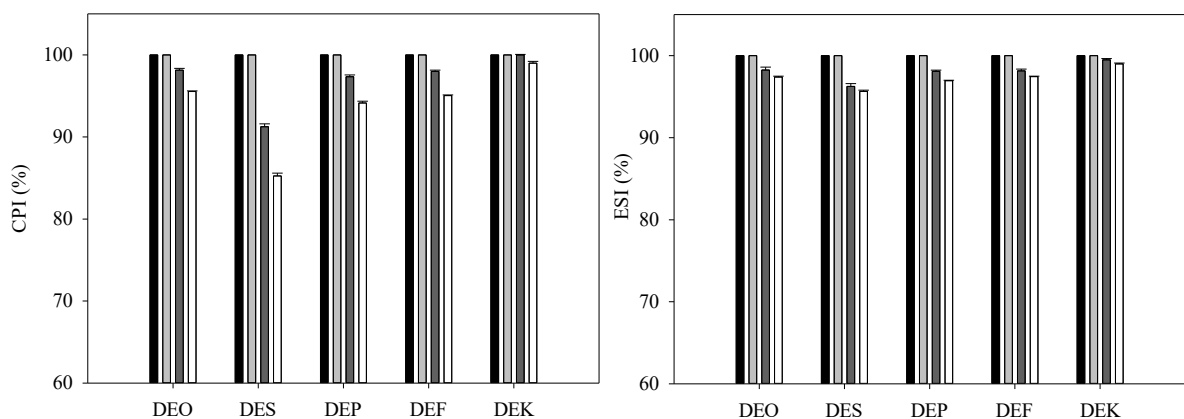


Obr. 3: Grafy povrchu odezvy znázorňující vliv množství emulgátoru, množství oleje a metody homogenizace na CPI (%) a ESI (%) pro optimalizaci vícenásobné emulze

5.2 Stanovení stability emulze pomocí indexu krémování (CPI) a indexu stability emulze (ESI)

Data získaná výpočtem indexu krémování (CPI) (Obr. 4) odhalila pozoruhodnou úroveň stability po celou dobu experimentu. Po 15 dnech skladování vykazovaly všechny vzorky hodnotu CPI 100 %, což naznačuje, že

během prvních 15 dnů nedošlo k žádné fázové separaci. Po 30 dnech skladování začalo docházet k mírné separaci. Nejvyšší míra separace po 30 dnech byla pozorována u vzorku obsahující slunečnicový olej (DES). Zde byla naměřena hodnota CPI $91,3 \pm 0,3$ %. Ostatní vzorky si udržely hodnoty CPI nad 97 %. Po 50 dnech skladování byl pozorován mírný pokles CPI ve všech vzorcích, ale u žádného ze vzorků nebyla detekována hodnota CPI pod 85 %. Nejnižší hodnota CPI byla opět naměřena u vzorku slunečnicového oleje $85,3 \pm 0,2$ %. Data získaná měřením indexu stability emulze (ESI) byla podobná datům získaným z CPI. Po 15 dnech skladování dosahovaly všechny vzorky ESI hodnot 100 %, což naznačuje, že nebyly patrné žádné známky separace. Po 30 dnech se ESI mírně snížilo, přičemž nejnižší hodnota ESI byla opět detekována u vzorku DES $96,25 \pm 0,35$ %. U ostatních vzorků dosahovaly hodnoty ESI nad 98 %. Po 50 dnech skladování se ESI ve všech vzorcích opět mírně snížilo, přičemž všechny vzorky vykazovaly hodnoty ESI nad 95 %, což naznačuje vynikající stabilitu.



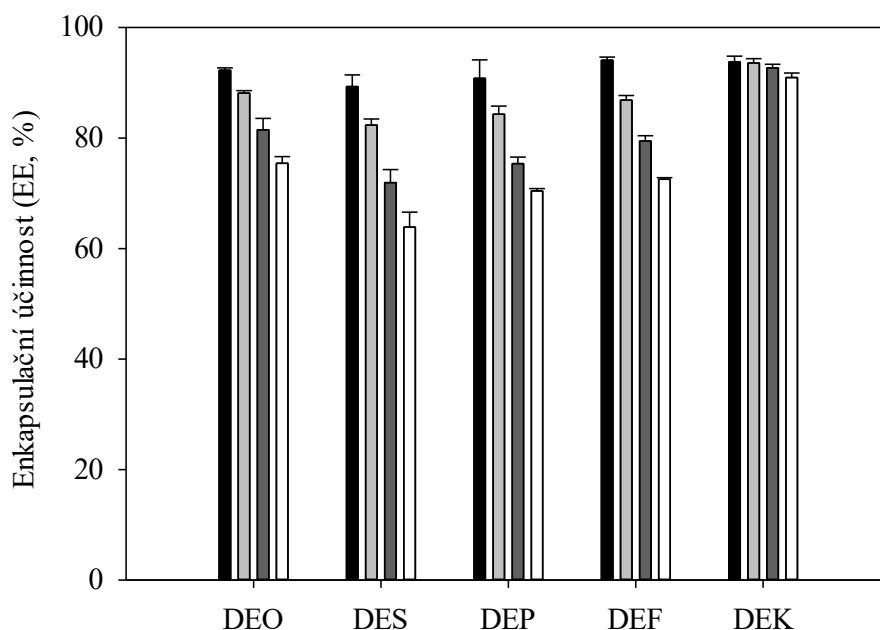
Obr. 4: Index krémování a stabilita emulze připravených vzorků během doby skladování. Vzorky měřené ihned po přípravě (černé sloupce), po 15 dnech (světle šedé sloupce), po 30 dnech (šedé sloupce) a po 50 dnech (bílé sloupce). Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku tří měření. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku tří měření.

5.3 Enkapsulační účinnost (EE)

Výsledky účinnosti enkapsulace jsou zobrazeny na Obr. 5. Z výsledků je zřejmé, že došlo k poklesu EE během skladování u většiny vzorků. Vzorky DEO, DES, DEF a DEP prokázaly postupný pokles EE s prodlužující dobou skladování. To je zřejmě rozpadem struktury emulze. Naopak vzorek DEK vykazoval

vysokou EE po celou dobu sledování. Ihned po přípravě byla EE u DEK $93,79 \pm 1,03$ % a po 50 dnech skladování klesla o méně než 3 % na $90,96 \pm 0,82$ %. Tyto data korelují s daty, které publikoval Hsieh et al. (2022). Ti se ve své publikaci zabývali enkapsulací kurkuminu do vícenásobné emulze s kokosovým olejem, a uvádí enkapsulační účinnost po celou dobu skladování (30dní) více než 90 %. Nejnižší účinnost enkapsulace byla pozorována opět u vzorku DES. Ihned po přípravě byla EE stanovena na $89,3 \pm 2,1$ % a po 50 dnech skladování klesla na $63,88 \pm 2,71$ %. Vzorky DEO, DEF a DEP vykazovaly podobnou účinnost enkapsulace, ihned po přípravě dosahovaly hodnoty EE u všech vzorků přes 90 %, s pozorovaným poklesem EE v průběhu skladování. Podobné hodnoty EE kurkuminu byly uvedeny v publikaci od Aditya et al. (2015). Ti zkoumali EE u vícenásobných emulzí s olivovým olejem a pozorovali účinnost enkapsulace 88 % (ihned po přípravě). Po 50 dnech skladování klesly hodnoty na cca 70 %.

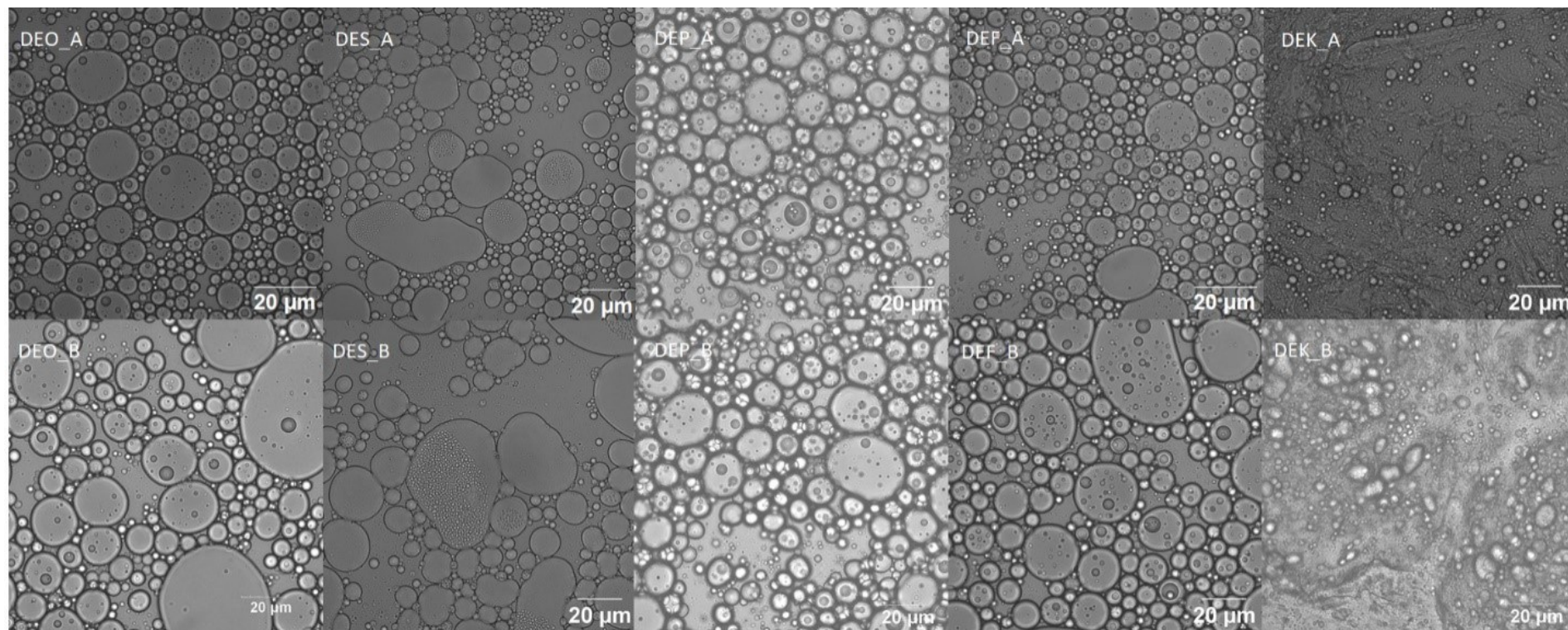
Vyšší účinnost enkapsulace pozorovaná ve vzorku obsahujícím kokosový olej je pravděpodobně způsobena odlišným složením mastných kyselin přítomných v kokosovém oleji ve srovnání s ostatními oleji použitými v tomto experimentu. Na rozdíl od ostatních olejů obsahuje kokosový olej převážně nasycené mastné kyseliny (95 %) s kratšími řetězci (především kyselinu laurovou (45–53 %), myristovou kyselinu (18–21 %) a kyselinu kaprylovou (8–9 %) (Beegum et al., 2024), což vede k pevné konzistenci při pokojové teplotě. Tato skutečnost brání migraci kapek z vnitřní do vnější olejové fáze a zvyšuje jak účinnost enkapsulace, tak celkovou stabilitu emulze (Zhi et al., 2024). Naproti tomu slunečnicový olej, u kterého byla detekována nejnižší hodnota EE, obsahoval nejméně nasycených mastných kyselin, pouze 6,5 %.



Obr. 5: Hodnoty enkapsulační účinnosti připravených vzorků během doby skladování. Vzorky byly měřeny ihned po přípravě (černé sloupce), po 15 dnech (světle šedé sloupce), po 30 dnech (šedé sloupce) a po 50 dnech (bílé sloupce). Chybové úsečky reprezentují standardní odchylku tří měření.

5.4 Konfokální laserová mikroskopie

Metoda CLSM byla použita pro potvrzení vícenásobné struktury emulze. Výsledky měření ihned po přípravě a po 50 dnech skladování jsou znázorněny na Obr. 6. Z těchto výsledků je zřejmé, že u všech vzorků se podařilo vytvořit vícenásobnou emulzi. Zároveň je patrné, že velikost částic u vzorku DEK je dvakrát menší než u ostatních vzorků. Tyto údaje korelují s hodnotami velikosti částic získanými pomocí DLS. Obrázky také ukazují, že všechny vzorky vykazovaly výraznou polydisperzitu kapek emulze. Také je možné pozorovat, že po 50 dnech skladování docházelo k výrazné koalescenci kapek, což vedlo k nárůstu velikosti částic.



Obr. 6: Fotografie vícenásobných emulzí získané pomocí konfokálního laserového skenovacího mikroskopu. Obrázky A byly měřeny ihned po přípravě, obrázky B byly měřeny po 50 dnech skladování.

5.5 Výsledky stanovení uvolňování kurkuminu při simulaci stravitelnosti u matrice emulzí

V této části práce byla evaluována schopnost uvolňování kurkuminu při simulaci trávení u enkapsulovaných forem kurkuminu, a to jak v jednoduchých (O/V), tak vícenásobných (O/V/O) emulzích. Výsledky stanovení jsou prezentovány na Obr. 7.

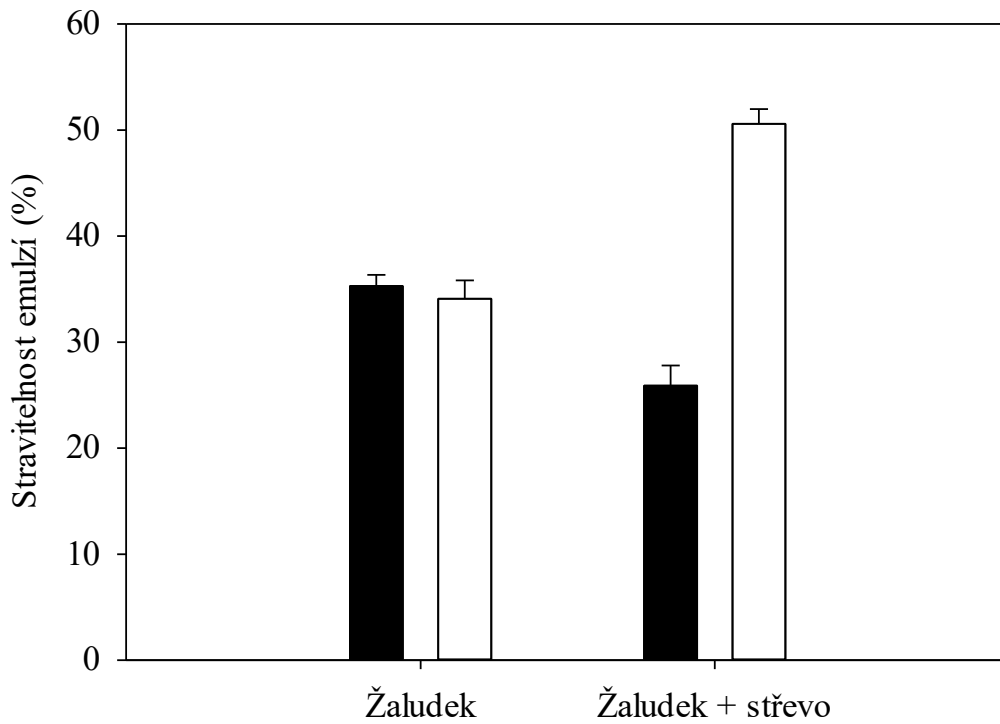
Experiment simulace trávení v podmínkách *in vitro* ukázal, že uvolňování kurkuminu se liší jak v závislosti na typu emulze, tak i místu simulace trávení v žaludku či v žaludku a tenkém střevu.

Jednoduchá emulze O/V při procesu simulace trávení v žaludku uvolnila 35,3 % kurkuminu a z vícenásobné emulze O/V/O se v žaludku uvolnilo 34,1 % kurkuminu z původní koncentrace v emulzích. Při procesu simulace v žaludku a tenkém střevu je vidět, že vícenásobná emulze uvolnila při této simulaci digesce ze své matrice 50,6 % kurkuminu, z matrice jednoduché emulze O/V to bylo pouze 25,9 %, přičemž tyto % údaje jsou vypočteny z počátečních koncentrací kurkuminu ve vzorcích emulzí. Z výsledků lze odvodit, že vícenásobná emulze O/V/O při procesu trávení bude stabilnější a může se z ní uvolnit vyšší koncentrace kurkuminu, který je poté dostupný pro procesy absorpce v zažívacím traktu. U jednoduché emulze O/V došlo k rozpadu této emulze a degradaci kurkuminu, který tak nemůže být efektivněji využit GIT traktem člověka. Na rozpad O/V typu emulze a na degradaci kurkuminu se mohlo podílet nízké pH, které je právě v žaludku.

Vyšší hodnota stability a stravitelnosti kurkuminu u vícenásobné emulze O/V/O může být způsoben tím, že kurkumin je enkapsulován uvnitř emulze, což chrání kurkumin před rychlou degradací v žaludku, kde je velmi nízká hodnota pH. Navíc částečné rozpadání vícenásobné emulze až v tenkém střevě je žádoucí, protože může vést k uvolňování kurkuminu, čímž se zvyšuje jeho dostupnost pro absorpci GIT. Je známo, že stabilita kurkuminu je výrazně ovlivněna hodnotou pH; v kyselém prostředí žaludku je téměř nerozpustný, ale s rostoucím pH (7,2–8,0) se jeho rozpustnost zvyšuje, což umožňuje jeho absorpci přes epitel tenkého střeva, zatímco v žaludku kvůli jeho nerozpustnosti k absorpci nedochází. Ztráty kurkuminu v žaludku jsou tedy způsobeny degradací kurkuminu (Sabet et al., 2021).

Z výsledků tedy vyplývá, že kurkumin enkapsulovaný ve vícenásobné emulzi by mohl být lépe dostupný pro vstřebávání v GIT traktu a jeví se jako lepší

možnost pro ochranu kurkuminu a zvýšení jeho dostupnosti pro absorpci ve srovnání s jednoduchou emulzí.



Obr. 7: Stravitelnost jednoduché (černé sloupce) a vícenásobné emulze (bílé sloupce) po fázi simulace trávení žaludku a žaludku + tenkého střeva

Bylo také provedeno několik experimentů, ve kterých byla vícenásobná emulze vložena do celulózových enterosolventních tobolek. Výsledky experimentů ukázaly, že některé tobolky se otevřely ihned ve fázi simulace žaludku, zatímco jiné se ani po 24 hodinách simulace trávení ve střevě nerozpustily a zůstaly neporušené, takže emulze nebyla vůbec uvolněna. Čímž nemohlo dojít k absorpci kurkuminu přes střevní stěnu. Z pěti pokusů byl úspěšný pouze jeden, při kterém se tobolka neotevřela v žaludku, ale rozpustila se až ve střevě, v tomto případě byla hodnota stravitelnosti stanovena a více než 80 %. Použití tobolek tedy vede ke zvýšení stravitelnosti, ovšem jejich použití je vzhledem k nespolehlivosti neefektivní. Alternativou by mohlo být uzavření emulze do celulózových kapslí, aby se eliminovalo předčasné otevírání tobolek. Tato metoda však nebyla vyzkoušena kvůli nedostupné technologii, ale mohla by být předmětem dalšího zkoumání.

5.6 Výsledky stanovení stravitelnosti a hodnot retenčního faktoru pro kurkumin přítomný v matrici kurkumového kořene po simulaci digesce

Pro ilustraci potenciální využitelnosti kurkuminu z přírodních surovin při procesu trávení byly použity vzorky sušeného a čerstvého kořene. Pro stanovení hodnot retenčních faktorů bylo nutno nejprve stanovit obsah sušiny, popele a samotné stravitelnosti vzorků kořene kurkumy.

Obsah sušiny a popele jsou znázorněny v Tabulce 3. Obsah sušiny se u práškových vzorků pohyboval v rozmezí 88,4–92,2 %, u čerstvé kurkumy byla hodnota sušiny stanovena na 16,9 %. Obsah popele byl u sušených vzorků stanoven v rozmezí hodnot 5,05–8,13 %, obsah popele u čerstvé kurkumy byl 1,34 %.

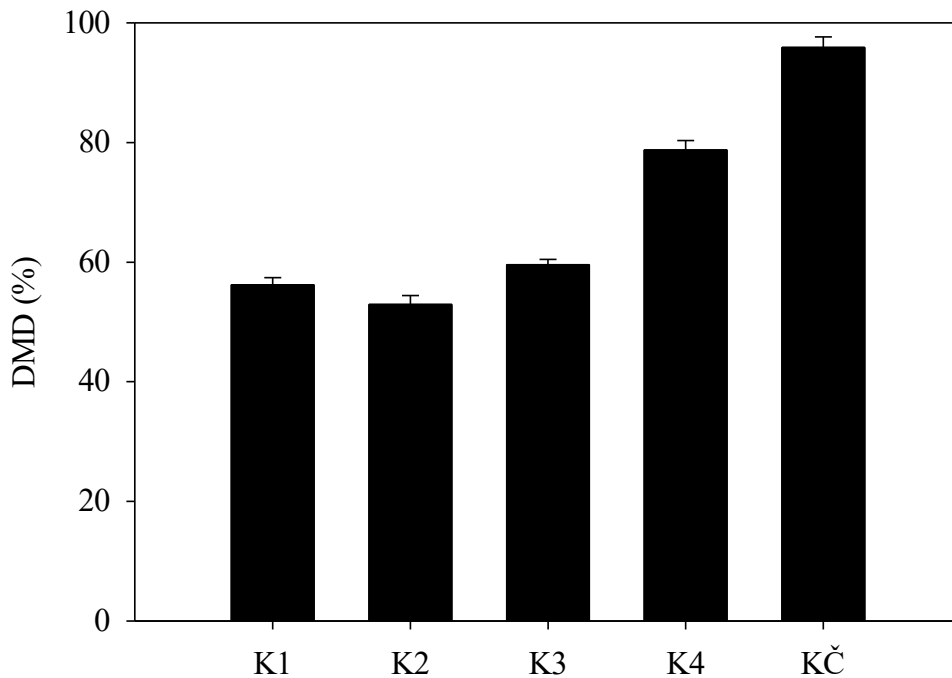
Tabulka 3 Obsah sušiny a popele vzorků kurkumy

Vzorek	Sušina (%)	Popel (%)	Kurkumin v nativní formě vzorku (mg/g)	Kurkumin v nestráveném podílu vzorku (mg/g)
K1	88,4 ±0,4 ^a	8,13 ±0,21 ^a	33,4 ±0,1 ^a	36,9 ±0,6 ^a
K2	92,2 ±0,2 ^b	6,38 ±0,01 ^b	38,4 ±0,1 ^b	30,2 ±0,1 ^b
K3	90,0 ±0,2 ^c	5,05 ±0,05 ^c	24,1 ±0,1 ^c	33,6 ±0,6 ^c
K4	89,4 ±0,2 ^d	7,84 ±0,03 ^d	32,8 ±0,1 ^d	36,2 ±0,1 ^d
KČ	16,9 ±1,2 ^e	1,34 ±0,11 ^e	6,95 ±0,01 ^e	23,3 ±0,2 ^e

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD (n=3). Hodnoty ve sloupci s identickým horním písmenným indexem se statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Stravitelnost, vyjádřena jako stravitelnost sušiny vzorků (DMD, %) kořene kurkumy byla stanovena enzymaticko-gravimetrickou metodou. Výsledky jsou uvedeny na Obr. 8. Výsledky ukazují, že nejvyšší stravitelnost byla naměřena u vzorku čerstvé kurkumy (KČ), a to 95,5 %. Hodnoty stravitelnosti pro sušené formy kurkumového prášku se pohybovaly od 52,9 % do 78,8 %, přičemž nejvyšší stravitelnost měl domácí produkt K4 pocházející z Pákistánu. Komerční práškové vzorky kurkumy zakoupené v tržní síti měly nižší stravitelnost, mezi

52,9 a 59,6 %. Pro srovnání Koláčková et al. (2022) ve své publikaci, která se zabývala stravitelností různých vzorků Matcha čaje, uvádí hodnoty DMD v rozmezí 61,2–65,8 %, zatímco ve studii, kterou publikovala Sumczynski et al. (2016) se uvádí hodnoty DMD pro vzorky nevařené divoké rýže v rozmezí hodnot 87,4–90,4 %.



Obr. 8: Stravitelnost sušeného a čerstvého kořene vyjádřena jako stravitelnost sušiny (%) pro různé formy kurkumy

Výsledky experimentu ukazují, že stravitelnost kurkumového prášku se statisticky liší. Čerstvá kurkuma je celistvý produkt, který obsahuje všechny původní složky, včetně vody a přírodních olejů, které by mohly napomáhat při rozpouštění kurkuminu a tím usnadnit jeho absorpci v GIT traktu člověka. Dále obsahuje vlákninu v původním rigidním stavu a další fytochemikálie, které synergicky zvyšují jeho nutriční hodnotu (Priyadarsini et al., 2014).

6. Přínos pro vědu a praxi

Kurkumin je známý svými blahodárnými účinky na lidský organismus, avšak jeho nestabilita omezuje využití těchto benefitů. Tato studie se zaměřila na zlepšení stability kurkuminu s cílem maximalizovat jeho zdravotní účinky. Hlavním předmětem výzkumu byla optimalizace metody přípravy vícenásobných emulzí jako nosičů pro enkapsulaci kurkuminu. Byla analyzována stravitelnost kurkuminu u jednoduchých a vícenásobných emulzí, stejně jako u různých forem kurkumu, které slouží jako zdroj kurkuminu. Kromě toho byly analyzovány jednotlivé kurkuminoidy ve standardu kurkuminu.

Přínos překládané disertační práce pro vědu a praxi může být rozčleněn do několika bodů:

1. Byla provedena optimalizace přípravy jednoduchých a vícenásobných emulzí, s cílem vytvořit stabilní matici pro enkapsulaci kurkuminu. Z výsledků výzkumu vyplynulo, že stabilitu vícenásobných emulzí silně ovlivňuje teplota přípravy i proces homogenizace. Při teplotě vyšší než 25 °C docházelo u emulzí k velmi rychlé separaci (v rámci hodin nebo dní, v závislosti na ostatních parametrech přípravy). Proces homogenizace výrazně ovlivnil stabilitu především u jednoduché emulze. Čím vyšší rychlosti otáček bylo při přípravě použito, tím stabilnější emulze se podařilo připravit, což souvisí s distribucí velikosti částic připravených emulzí. Čím menších částic bylo dosaženo, tím více emulze odolává destabilizačním mechanismům. U vícenásobné emulze proběhla šetrnější homogenizace, jelikož cílem nebylo vytvořit emulzi s malými částicemi, ale neporušit při homogenizačním procesu obal vnitřní fáze emulze. Poměr olejové a vodné fáze nemá na stabilitu emulze zásadní vliv, ale mění se viskoelastické vlastnosti připravených vzorků. Také druh použitého oleje má vliv na stabilitu emulzí, což zřejmě souvisí s poměrem nasycených a nenasycených mastných kyselin v olejích. Nejstabilnější emulzi se podařilo připravit za přítomnosti kokosového oleje ve vnější fázi emulze. Nami vytvořené matrice by mohly v praxi posloužit pro enkapsulaci dalších bioaktivních látek rozpustných v tucích, a zvýšit tak jejich biologickou dostupnost v GIT.
2. Po nalezení optimální matrice byl do vícenásobné emulze enkapsulován kurkumin. Výsledky studie ukazují, že se podařilo připravit emulze o vynikající stabilitě, hodnota indexu krémování byla u všech vzorku po 15 dnech skladování při pokojové teplotě 100 %, čili nedocházelo k žádné separaci. Po 50 dnech skladování neklesla hodnota nabývaly velmi vysokých hodnot. U vzorku tvořeného z kokosového oleje byla hodnota po 50 dnech skladování více než 90 %. Nejnižší hodnoty enkapsulační účinnosti byly zjištěny pro vzorky, tvořené ze slunečnicového oleje.

3. Byl také studován rozdíl ve stravitelnost jednoduchých a vícenásobných emulzí. Z výsledků lze odvodit, že vícenásobná emulze O/V/O při procesu trávení bude stabilnější a může se z ní při procesu trávení uvolnit vyšší koncentrace kurkuminu, které jsou poté dostupné pro procesy absorpce v zažívacím traktu. U jednoduché emulze O/V došlo k rozpadu této emulze již při fázi simulace trávení v žaludku a degradaci kurkuminu, který tak nemůže být efektivněji využit GIT traktem člověka.
4. Dále byla studována stravitelnost práškové kurkumy a čerstvé kurkumy *in vitro*. Z výsledků studie vychází, že forma kurkumy a způsob zpracování má na stravitelnost zásadní vliv. Hodnota retence pro kurkumin extrahovaný z čerstvého kořene kurkumy je nejnižší. Výsledek ukazuje, že až 86 % kurkuminu bylo uvolněno z matrice vzorku při procesu trávení v žaludku a tenkém střevu a je tak teoreticky dostupných pro absorpci v zažívacím traktu. U komerčně dostupných práškových vzorků se hodnota retence pohybovala v rozmezí 37–57 %.
5. Tato práce také významně přispívá k rozšíření využití modulované diferenční skenovací kalorimetrie v potravinářském průmyslu. Díky schopnosti této metody rozdělit tepelný tok na reverzibilní a nereverzibilní složky bylo zjištěno, že je možné rozložit pík tání kurkuminu (detekovaný při 172 °C) na jednotlivé kurkuminoidy. Množství jednotlivých kurkuminooidů ve vzorku bylo určeno pomocí hodnoty entalpie, což umožnilo vypočítat jejich procentuální zastoupení. Tato metoda dosud nebyla v potravinářském průmyslu pro takové typy analýz použita. Výsledky této práce mohou sloužit jako základ pro další výzkum v této oblasti a otevírají nové možnosti pro přesnější charakterizaci určitého typu látek.

7. Závěr

Předkládaná disertační práce si kladla za cíl optimalizovat přípravu vícenásobných emulzí s enkapsulovaným kurkuminem a důkladně posoudili vliv klíčových procesních parametrů, jako jsou teplota přípravy a aplikace vysokorychlostní homogenizace, a také surovinové skladby na jejich funkční vlastnosti. Práce byla zaměřena na výrobu modelových vzorků vícenásobných emulzí, přičemž jsme zkoumali různé oleje (olivový, slunečnicový, dýňový, lněný a kokosový) ve vnější fázi emulzí. Pro charakterizaci vlastností jednotlivých emulzí byly zkoumány jejich fyzikálně-chemické parametry (index krémování, stabilita emulze, mrznoucí bod, enkapsulační účinnost, reologické vlastnosti) a byla provedena vizualizace emulzí pomocí konfokální laserové mikroskopie. Důležitým aspektem našeho výzkumu byla také studie stravitelnosti jednoduchých i vícenásobných emulzí *in vitro*, simulující trávení v žaludku a tenkém střevě, a analýza stravitelnosti kurkumy v různých formách (prášková forma a čerstvý kořen). Metody modulované diferenční skenovací kalorimetrie a vysokoúčinné kapalinové chromatografie nám umožnily detailně analyzovat jednotlivé kurkuminoidy ve vzorcích kurkuminu.

Z výsledků vyplývá, že stabilita vícenásobných emulzí je silně závislá na teplotě přípravy a procesu homogenizace. Vliv poměru olejové a vodné fáze na stabilitu emulzí je minimální, avšak tyto parametry ovlivňují viskoelastické vlastnosti emulzí. Typ použitého oleje má významný dopad na stabilitu emulzí, což je spojeno s obsahem nasycených a nenasycených mastných kyselin v jednotlivých olejích. Důležité je také zjištění, že stravitelnost kurkuminu v jednoduchých a vícenásobných emulzích je výrazně odlišná. Jednoduché emulze se rychle rozpadají v žaludečních šťávách a dochází k degradaci kurkuminu, naopak vícenásobné emulze poskytují lepší ochranu před degradací a umožňují postupné uvolňování kurkuminu v tenkém střevě. Výsledky našeho výzkumu naznačují, že forma a způsob zpracování kurkumy mají zásadní vliv na její stravitelnost a biologickou dostupnost. Tyto poznatky poskytují cenné informace pro další výzkum v oblasti vícenásobných emulzí jako nosičů kurkuminu v potravinářském průmyslu.

8. Seznam použité literatury

1. Aditya, N. P., Sheetal Aditya, Hanjoo Yang, Hye Won Kim, Sung Ook Park, and Sanghoon Ko. 2015. "Co-Delivery of Hydrophobic Curcumin and Hydrophilic Catechin by a Water-in-Oil-in-Water Double Emulsion." *Food Chemistry* 173: 7-13. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.131. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614015167>.
2. Agrawal, Anisha, Sunisha Kulkarni, and S. Sharma. 2016. "Recent Advancements and Applications of Multiple Emulsions." *International Journal of Advances in Pharmaceutics* 4 (6): 94-103.
3. Agrawal, Sakshi, Reena Nair, Moni Thomas, Gopilal Anjana, Sahab K. Patel, Pragya Uikey, Sandeep Birla, Jethu Singh, and Niraj Tripathi. 2024. "Morphological Characterization of Turmeric (*Curcuma* Spp.) Genotypes." *Journal of Eco-Friendly Agriculture* 19 (1): 67-72.
4. Akram, Muhammad, Ahmed A. Shahab-Uddin, KHAN Usmanghani, ABDUL Hannan, Ejaz Mohiuddin, and Muhammad Asif. 2010. "Curcuma Longa and Curcumin: A Review Article." *Rom J Biol Plant Biol* 55 (2): 65-70.
5. Anonym, 2008. "Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) Č. 1333/2008 Ze Dne 16. Prosince 2008 O Potravinářských Přídavných Látkách." *Úřední Věstník Evropské Unie, Článek 7*.
6. Bhattacharya, Sankha. 2021. "Central Composite Design for Response Surface Methodology and its Application in Pharmacy." In *Response Surface Methodology in Engineering Science: IntechOpen*.
7. Chandran, Binu and Ajay Goel. 2012. "A Randomized, Pilot Study to Assess the Efficacy and Safety of Curcumin in Patients with Active Rheumatoid Arthritis." *Phytotherapy Research* 26 (11): 1719-1725.
8. Chauhan, Monika, Suman Saha, and Amit Roy. 2014. "Curcumin: A Review." *Journal of Applied Pharmaceutical Research* 2 (1): 18-28.
9. Eslami, Parisa, Kamyar Forootan, Leila Davarpanah, and Farzaneh Vahabzadeh. 2020. "Incorporation of Lactobacillus Casei into the Inner Phase of the Water-in-Oil-in-Water (W1/O/W2) Emulsion Prepared with B-Cyclodextrin and Bacterial Survival in a Model Gastric Environment." *Applied Food Biotechnology* 7 (3): 171-182.

10. Granato, Daniel, de Araújo Calado, Verônica Maria, and Basil Jarvis. 2014. "Observations on the use of Statistical Methods in Food Science and Technology." *Food Research International* 55: 137-149.
11. Hayakawa, Hiroshi, Yukio Minaniya, Katsura Ito, Yoshinori Yamamoto, and Tatsuya Fukuda. 2011. "Difference of Curcumin Content in *Curcuma Longa* L.(Zingiberaceae) Caused by Hybridization with Other *Curcuma* Species." *American Journal of Plant Sciences* 2 (02): 111.
12. Heidari, Fatemeh, Seid Mahdi Jafari, Aman Mohammad Ziaifar, and Narjes Malekjani. 2022. "Stability and Release Mechanisms of Double Emulsions Loaded with Bioactive Compounds; a Critical Review." *Advances in Colloid and Interface Science* 299: 102567. doi:10.1016/j.cis.2021.102567. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868621002086>.
13. Hewlings, Susan J. and Douglas S. Kalman. 2017. "Curcumin: A Review of its Effects on Human Health." *Foods* 6 (10): 92.
14. Kaur, Ramanpreet. "Turmeric: A Golden Herb with Health-Promoting Components." .
15. Klotjová, Iveta and Constantinos Stathopoulos. 2022. "The Potential Application of Pickering Multiple Emulsions in Food." *Foods* 11 (11): 1558.
16. Koláčková, Tereza., Sumczynski, Daniela., Minařík, Antonín., Yalçin, E., & Orsavová, Jana. (2022). The effect of in vitro digestion on matcha tea (*Camellia sinensis*) active components and antioxidant activity. *Antioxidants*, 11(5), 889.
17. Leister, Nico and Heike P. Karbstein. 2020. "Evaluating the Stability of Double emulsions—A Review of the Measurement Techniques for the Systematic Investigation of Instability Mechanisms." *Colloids and Interfaces* 4 (1): 8.
18. Lokhande, Sarika S. 2019. "Recent Trends in Multiple Emulsion-A Comprehensive Review." *Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science* 9 (3).
19. Nikzade, Vajihe, M. Mazaheri Tehrani, and M. Saadatmand-Tarzjan. 2012. "Optimization of Low-Cholesterol-low-Fat Mayonnaise Formulation: Effect of using Soy Milk and some Stabilizer by a Mixture Design Approach." *Food Hydrocolloids* 28 (2): 344-352.

20. Rathore, Surbhi, Mohammad Mukim, Pratishta Sharma, Siwani Devi, Jagdish Chandra Nagar, and Mohammad Khalid. 2020. "Curcumin: A Review for Health Benefits." *Int.J.Res.Rev* 7 (1): 273-290.
21. Schuch, A., K. Köhler, and H. P. Schuchmann. 2013. "Differential Scanning Calorimetry (DSC) in Multiple W/O/W Emulsions: A Method to Characterize the Stability of Inner Droplets." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 111: 1881-1890.
22. Shehzad, Adeeb, Gauhar Rehman, and Young Sup Lee. 2013. "Curcumin in Inflammatory Diseases." *Biofactors* 39 (1): 69-77.
23. Sumczynski, Daniela, Miroslav Fišera, Richardos Nikolaos Salek, and Jana Orsavová. 2023. "The Effect of Flake Production and in Vitro Digestion on Releasing Minerals and Trace Elements from Wheat Flakes: The Extended Study of Dietary Intakes for Individual Life Stage Groups." *Nutrients* 15 (11): 2509.
24. Syed, Haroon Khalid, Kai Bin Liew, Gabriel Onn Kit Loh, and Kok Khiang Peh. 2015. "Stability Indicating HPLC–UV Method for Detection of Curcumin in Curcuma Longa Extract and Emulsion Formulation." *Food Chemistry* 170: 321-326.
25. Vellaiyan, Suresh and K. S. Amirthagadeswaran. 2016. "The Role of Water-in-Diesel Emulsion and its Additives on Diesel Engine Performance and Emission Levels: A Retrospective Review." *Alexandria Engineering Journal* 55 (3): 2463-2472.
26. Verma, Navneet Kumar and Jai Narayan Mishra. 2019. "Multiple Emulsions and its Stabilization: A Review." *International Journal of Chemistry Studies* 3 (3): 12-16.
27. Zobot, Giovani Leone, Fabiele Schaefer Rodrigues, Lissara Polano Ody, Marcus Vinícius Tres, Esteban Herrera, Heidy Palacin, Javier S. Córdova-Ramos, Ivan Best, and Luis Olivera-Montenegro. 2022. "Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications." *Polymers* 14 (19): 4194.
28. Zhou, Hualu, Bingjing Zheng, and David Julian McClements. 2021. "Encapsulation of Lipophilic Polyphenols in Plant-Based Nanoemulsions: Impact of Carrier Oil on Lipid Digestion and Curcumin, Resveratrol and Quercetin Bioaccessibility." *Food & Function* 12 (8): 3420-3432.

9. Seznam použitých symbolů a zkratek

BL	bioaktivní látky
CLSM	konfokální laserová mikroskopie
CPI	index krémování
DE	vícenásobná emulze
DMD	stravitelnost vztažená na sušinu vzorku
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
ESI	index stability emulze
GIT	gastrointestinální trakt
HLB	hydrofilně-lipofilní rovnováha
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LbL	technika vrstva po vrstvě
MDSC	modulovaná diferenční skenovací kalorimetrie
O/V	olej/voda
O/V/O	olej/voda/olej
PAL	povrchově aktivní látky
PE	Pickeringovi emulze
RF	retenční faktor
VF	vnitřní fáze
W_{fs}	index mrznoucí vody

10. Seznam obrázků

- Obr1: Typy vícenásobných emulzí 8
- Obr.2: Grafy povrchu odezvy znázorňující vliv teploty přípravy, množství oleje a metody homogenizace na CPI (%) a ESI (%) pro optimalizaci vícenásobné emulze.....22
- Obr. 3: Grafy povrchu odezvy znázorňující vliv množství emulgátoru, množství oleje a metody homogenizace na CPI (%) a ESI (%) pro optimalizaci vícenásobné emulze.....22
- Obr. 4: Index krémování a stabilita emulze připravených vzorků během doby skladování. Vzorky měřené ihned po přípravě (černé sloupce), po 15 dnech (světle šedé sloupce), po 30 dnech (šedé sloupce) a po 50 dnech (bílé sloupce). Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku tří měření. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku tří měření.....23
- Obr 5: Hodnoty enkapsulační účinnosti připravených vzorků během doby skladování. Vzorky byly měřeny ihned po přípravě (černé sloupce), po 15 dnech (světle šedé sloupce), po 30 dnech (šedé sloupce) a po 50 dnech (bílé sloupce). Chybové úsečky reprezentují standardní odchylku tří měření.....24
- Obr. 6: Fotografie vícenásobných emulzí získané pomocí konfokálního laserového skenovacího mikroskopu. Obrázky A byly měřeny ihned po přípravě, obrázky B byly měřeny po 50 dnech skladování.....25
- Obr. 7: Stravitelnost jednoduché (černé sloupce) a vícenásobné emulze (bílé sloupce) po fázi simulace trávení žaludku a žaludku + tenkého střeva.....28
- Obr. 8: Stravitelnost sušeného a čerstvého kořene vyjádřena jako stravitelnost sušiny (%)pro různé formy kurkumy.....30

11. Seznam tabulek

Tabulka 1 Obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin (MK) v použitých olejích a značení vzorků.....	13
Tabulka 2 Popis jednotlivých vzorků kurkumy.....	14
Tabulka 3 Obsah sušiny a popela vzorků kurkumy	29

12. Seznam příloh

Příloha A: Podmínky optimalizace.....	90
Příloha B: Analýza jednotlivých kurkuminoidů.....	92
Příloha C: Kalibrační křivky jednotlivých kurkuminoidů.....	94

13. Přílohy

Příloha A: Podmínky optimalizace

Tabulka 1 Optimalizační metoda pro jednoduchou emulzi

Běh	Faktor X ₁ olej (ml)	Faktor X ₂ teplota (°C)	Faktor X ₃ Homogenizace (RPM)	Y ₁ (CPI ₃₀ , %)	Y ₂ (ESI, %)
1	17,5 (0)	47,5 (0)	20000 (0)	25	27,3 ±0,4
2	5 (-1)	25 (-1)	15000 (-1)	90	91,0 ±1,4
3	17,5 (0)	47,5 (0)	20000 (0)	25	27,4 ±0,2
4	17,5 (0)	15 (-α)	20000 (0)	95	89,0 ±1,4
5	5 (-1)	25 (-1)	25000 (+1)	100	99,0 ±1,4
6	30 (+1)	70 (+1)	15000 (-1)	10	0,0 ±0,0
7	17,5 (0)	47,5 (0)	20000 (0)	25	25,8 ±1,1
8	17,5 (0)	47,5 (0)	20000 (0)	25	29,3 ±1,1
9	17,5 (0)	47,5 (0)	20000 (0)	25	27,3 ±0,4
10	17,5 (0)	47,5 (0)	20000 (0)	25	27,4 ±0,2
11	30 (+1)	25 (-1)	15000 (-1)	50	89,8 ±0,4
12	17,5 (0)	47,5 (0)	28000 (+α)	32	34,5 ±0,7
13	2 (-α)	47,5 (0)	20000 (0)	50	35,0 ±0,3
14	30 (+1)	70 (+1)	25000 (+1)	0	0,0 ±0,0
15	30 (+1)	25 (-1)	25000 (+1)	95	95,9 ±0,1
16	17,5 (0)	47,5 (0)	11591 (-α)	31	20,0 ±0,7
17	5 (-1)	70 (+1)	15000 (-1)	5	9,6 ±0,5
18	17,5 (0)	85,3 (+α)	20000 (0)	0	0,0 ±0,0
19	5 (-1)	70 (+1)	25000 (-1)	8	5,1 ±0,1
20	38 (+α)	47,5 (0)	20000 (0)	28	21,5 ±0,7

Tabulka 2 Optimalizační metoda pro vícenásobnou emulzi

Běh	Faktor X ₁ olej (ml)	Faktor X ₂ Emulgátor (ml)	Faktor X ₃ Homogenizace (RPM)	Y ₁ (CPI ₃₀ , %)	Y ₂ (ESI, %)
1	50 (0)	0,55 (0)	6500 (0)	95	90,3 ±0,4
2	70 (+1)	0,1 (-1)	12000 (+1)	40	45,2 ±0,1
3	30 (-1)	0,1 (-1)	12000 (+1)	0	45,4 ±0,2
4	30 (-1)	1 (+1)	1000 (-1)	95	49,8 ±0,4
5	70 (+1)	0,1 (-1)	1000 (-1)	90	14,8 ±0,4
6	50 (0)	0,55 (0)	6500 (0)	90	95,3 ±0,4
7	50 (0)	0,55 (0)	6500 (0)	100	95,5 ±0,7
8	50 (0)	0,55 (0)	6500 (0)	90	95,2 ±0,5
9	50 (0)	0,55 (0)	15 000 (+α)	85	100,0 ±0,0
10	50 (0)	0,55 (0)	0 (-α)	85	0,0 ±0,0
11	30 (-1)	1 (+1)	12000	100	99,9 ±0,1
12	70 (+1)	1 (+1)	1000 (-1)	15	50,6 ±0,8
13	70 (+1)	1 (+1)	12000 (+1)	0	99,3 ±1,1
14	16 (-α)	0,55 (0)	6500 (0)	30	95,3 ±0,4
15	30 (-1)	0,1 (-1)	1000 (-1)	15	15,3 ±0,4
16	85 (+α)	0,55 (0)	6500 (0)	100	80,8 ±1,1
17	50 (0)	1,3 (+α)	6500 (0)	95	99,0 ±1,4
18	50 (0)	0 (-α)	6500 (0)	90	0,0 ±0,0
19	50 (0)	0,55 (0)	6500 (0)	95	90,5 ±0,7
20	50 (0)	0,55 (0)	6500 (0)	95	90,8 ±0,4

14. Seznam publikací autora

Príspevky v časopisech s IF:

- Lapčiková, B., Lapčik, L., Valenta, T., Majar, P., & Ondroušková, K. (2021). Effect of the rice flour particle size and variety type on water holding capacity and water diffusivity in aqueous dispersions. *LWT*, 142, 111082.
- Opustilová, K., Lapčiková, B., Lapčik, L., Gautam, S., Valenta, T., & Li, P. (2023). Physico-chemical study of curcumin and its application in O/W/O multiple emulsion. *Foods*, 12(7), 1394.
- Salek, R. N., Lorencová, E., Gál, R., Kůrová, V., Opustilová, K., & Buňka, F. (2022). Physicochemical and sensory properties of Czech lager beers with increasing original wort extract values during cold storage. *Foods*, 11(21), 3389.
- Šantová, K., Salek, R. N., Kůrová, V., Mizera, A., Lapčiková, B., Vincová, A., Opustilová, K., & Karhánková, M. (2024). Potassium-based emulsifying salts in processed cheese: A rheological, textural, tribological and thermal approach. *Journal of Dairy Science*.
- Opustilová, K., Lapčiková, B., Kocourková, K., & Lapčik, L. (2024). The Composition Optimization of Curcumin-Loaded Double Oil–Water–Oil Emulsions and Their Stability Evaluation. *Molecules*, 29(17), 4035.

Príspevky ve sbornících z konferencí:

Ondroušková, K., Lapčiková, B., Valenta, T., Lapčik, L., LI, P. 2022. Application of curcumin emulsions to enhance the bioavailability in food supplements. Bespečnosť a kontrol potravín. Zborník odborných prác z XIX. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou.

Ondroušková, K., Lapčiková, B., Valenta, T., Lapčik, L., Warszynska, L., Buresova, R. 2021 Encapsulation of fortifying ingredients in colloidal emulsions of lecithin. MendelNet 2021; 296-301.

15. Životopis autora

Jméno a příjmení: Kristýna Opustilová

Bydliště: Bystřice pod Hostýnem

E-mail: k1_ondrouskova@utb.cz

VZDĚLÁNÍ:

2020–současnost Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická – doktorské studium ve studijním oboru Technologie potravin

2018–2020 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická – navazující magisterské studium ve studijní oboru Technologie potravin

2014–2018 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická – bakalářské studium ve studijní oboru Technologie potravin

2008–2014 Obchodní akademie a jazyková škola s právem státní jazykové zkoušky, Přerov

STÁŽE:

2023–Erasmus+, Polish Academy of Sciences, Jerzy Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry, Krakow, Polsko, 3 měsíce

PROJEKTOVÁ ČINNOST:

2020–Vliv vybraných faktorů na vlastnosti a kvalitu potravin, IGA/FT/2020/006, spoluřešitel

2021–Vliv technologických trendů na kvalitu a vlastnosti vybraných potravin, IGA/FT/2021/004, spoluřešitel

2022–Technologické trendy ovlivňující kvalitu a vlastnosti vybraných potravin, IGA/FT/2022/005, spoluřešitel

2023–Souhrnné hodnocení disperzních systémů se zaměřením na fyzikálně-chemické a mechanické vlastnosti potravinářských produktů, IGA/FT/2023/007, hlavní řešitel

2024– Vliv různých potravinářských přídatných látek a technologických parametrů na vybrané vlastnosti potravinových systémů, IGA/FT/2024/005, spoluřešitel

Kristýna Opustilová

Studium a příprava vícenásobných emulzí
Study and preparation of multiple emulsions

Teze disertační práce

Vydala Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín.

Náklad: vyšlo elektronicky

Sazba: autor

Publikace neprošla jazykovou ani redakční úpravou.

Rok vydání 2024

Pořadí vydání: první

ISBN 978-80-7678-281-5

