

# **Příprava a charakterizace zeinových vrstev s obsahem kurkuminu**

Bc. Veronika Šatná

---

Diplomová práce  
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2021/2022

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Veronika Šatná**  
Osobní číslo: **T20140**  
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Příprava a charakterizace zeinových vrstev s obsahem kurkuminu**

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část:

1. V teoretické části se zaměřte na charakteristiku současných dostupných nosičů bioaktivních látek a techniky využívané pro jejich přípravu.
2. Zhodnotte jejich význam v praktických aplikacích s důrazem na využití aktivních polymerních filmů a nanovlákněných membrán.

#### II. Praktická část:

1. Připravte polymerní roztoky na bázi zeinu s kurkuminem a charakterizujte jejich vlastnosti (viskozita, vodivost, povrchové napětí).
2. Prostřednictvím dostupných technik z nich připravte vrstvy a vyhodnotte vliv inkorporace aktivní látky na strukturu, povrchové a antimikrobiální vlastnosti.
3. Dosažené výsledky diskutujte a vyhodnotte závěry.

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] Wang, H., Hao, L. et al. Release kinetics and antibacterial activity of curcumin loaded zein fibers. *Food Hydrocolloids* 2017, 63, 437-446.
- [2] Fereydouni, N., Movaffagh, J. et al. Synthesis of nanofibers containing curcumin in zein corn protein and its physicochemical and biological characteristics. *Scientific Reports* 2021, 11, 1902.
- [3] Walsh, G. *Proteins-Biochemistry and Biotechnology*, John Willey Sons, 2014, ISBN 978-0-470-66985-3. USA.
- [4] Dumitru, S. *Polymeric Biomaterials*. Marcel Dekker, Inc. 2002, ISBN 0.8247-0569-6.
- [5] Yong, Z., Lili, C. et al. Zein-based Films and Their Usage for Controlled Delivery: Origin, Classes and Current Landscape. *Journal of Controlled Release* 2015, 206, 206–219.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jana Sedlaříková, Ph.D.**  
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **25. února 2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**  
ředitel ústavu

## 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, považuji 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**

Teoretická část diplomové práce se věnuje charakteristice a účinkům vybrané aktivní látky kurkuminu. Druhá kapitola zahrnuje klasifikaci a metody přípravy dostupných nosičů, jako jsou polymerní částice, lipozomy, ale zejména pak filmy a membrány. Poslední kapitoly obsahují aplikační možnosti systémů na bázi polymer-kurkumin, zejména v oblastech potravinářského a farmaceutického průmyslu, a s tím související aktuální studie věnované této problematice.

Praktická část je zaměřena na přípravu zeinových vrstev s obsahem kurkuminu a charakterizaci jejich mechanických, povrchových, antibakteriálních a antioxidačních vlastností. U připravených systémů byla také studována kinetika uvolňování kurkuminu v závislosti na různém složení zeinové matrice a teplotních podmínkách.

Klíčová slova: kurkumin, aktivní látka, zein, polymer, nosný systém, kinetika uvolňování.

## **ABSTRACT**

The theoretical part of the thesis is devoted to the characteristics and effects of the selected active substance curcumin. The second chapter covers the classification and methods of preparation of available carriers such as polymer particles, liposomes, but especially films and membranes. The last chapters contain application possibilities of polymer-curcumin based systems, especially in the fields of food and pharmaceutical industry, and related recent studies devoted to this issue.

The practical part is focused on the preparation of zein layers containing curcumin and characterization of their mechanical, surface, antibacterial and antioxidant properties. The kinetics of curcumin release was also studied for the prepared systems depending on different zein matrix composition and temperature conditions.

Keywords: curcumin, active substance, zein, polymer, carrier system, kinetics of release.

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Janě Sedlaříkové, Ph.D. za její velkou ochotu, vstřícnost a rady, které mi byly během měření a psaní práce poskytnuty. Dále chci poděkovat Ing. Pavlu Plevovi, Ph.D., Ing. Petře Peer Ph.D., Ing. Lucii Bartošové a Ing. Lucii Pavlátkové za jejich pomoc při realizaci experimentální části práce.

V neposlední řadě chci z celého srdce poděkovat celé mé rodině, zejména mému manželovi a kamarádce Janči Hudečkové, za jejich neskutečnou podporu nejen během psaní práce, ale také v průběhu celého studia.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 KURKUMIN</b> .....	<b>12</b>
1.1 CHARAKTERISTIKA.....	12
1.2 ZDROJE.....	13
1.3 VLASTNOSTI.....	14
1.3.1 Protizánětlivé účinky.....	14
1.3.2 Antimikrobiální účinky.....	15
1.3.3 Antidiabetické účinky.....	15
1.4 ANTIOXIDAČNÍ ÚČINKY.....	16
<b>2 NOSNÉ SYSTÉMY PRO KURKUMIN</b> .....	<b>17</b>
2.1 BIOPOLYMERNÍ NANOČÁSTICE .....	17
2.2.1 Metoda odlévání z roztoku.....	19
2.2.2 Elektrostatické zvláknování.....	20
2.3 TUHÉ LIPIDOVÉ NANOČÁSTICE .....	20
2.3.1 Vysokotlaká homogenizace .....	22
2.3.2 Mikroemulzifikace .....	22
2.4 LIPOZOMY .....	23
2.4.1 Hydratace tenkého filmu.....	24
2.4.2 Injekční metoda.....	25
2.4.3 Emulzifikace .....	25
2.5 POLYMERNÍ MICELY .....	25
2.5.1 Odpařování rozpouštědla .....	26
2.5.2 Emulze o/v .....	27
2.5.3 Lyofilizace.....	27
<b>3 APLIKACE POLYMER-KURKUMIN SYSTÉMŮ</b> .....	<b>28</b>
3.1 HOJENÍ RAN.....	28
3.1.1 Hydrogely.....	28
3.1.2 Hemostatické houby.....	29
3.2 BIOAKTIVNÍ POTRAVINÁŘSKÉ OBALY .....	29
3.3 POLYMERNÍ MICELY S KURKUMINEM K LÉČBĚ RAKOVINY.....	30
3.4 NANOČÁSTICE NA BÁZI ZEINU .....	31
3.5 BIOAKTIVNÍ OBVAZOVÉ MATERIÁLY .....	31
<b>4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY</b> .....	<b>33</b>
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>35</b>
<b>5 CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>36</b>

<b>6</b>	<b>POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE</b> .....	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>PŘÍPRAVA VZORKŮ A JEJICH MĚŘENÍ</b> .....	<b>39</b>
7.1	PŘÍPRAVA FOSFÁTOVÉHO PUFRU (pH = 7,45) .....	39
7.2	PŘÍPRAVA ZEINOVÝCH ROZTOKŮ A FILMŮ .....	39
7.2.1	Filmy s obsahem kurkuminu Z/CUR .....	39
7.2.2	Filmy s vyšším obsahem glycerolu a kurkuminem Z/GLY/CUR.....	40
7.2.3	Filmy s obsahem kurkuminu a eugenolu Z/EUG/CUR .....	40
7.2.4	Filmy s obsahem kurkuminu v poloxameru Z/P/CUR.....	41
7.3	MĚŘENÍ VLASTNOSTÍ ROZTOKŮ ZEINU .....	42
7.3.1	Vodivost .....	42
7.3.2	Povrchové napětí .....	42
7.4	HODNOCENÍ MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ .....	43
7.4.1	Tahová zkouška.....	43
7.4.2	Zkouška vpichem .....	44
7.5	MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU .....	45
7.6	STANOVENÍ PROPUSTNOSTI PRO VODNÍ PÁRY .....	46
7.7	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	47
7.7.1	Příprava zásobního roztoku DPPH a Troloxu .....	47
7.7.2	Měření absorbance vzorků .....	47
7.8	HODNOCENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY .....	48
7.9	TEST UVOLŇOVÁNÍ KURKUMINU .....	48
7.10	FTIR ANALÝZA .....	48
7.11	SEM ANALÝZA.....	49
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>50</b>
8.1	MĚŘENÍ VLASTNOSTÍ ROZTOKŮ ZEINU .....	51
8.2	MECHANICKÉ VLASTNOSTI.....	51
8.2.1	Tahová zkouška.....	51
8.2.2	Měření vpichu .....	54
8.3	MĚŘENÍ KONTAKTNÍHO ÚHLU .....	55
8.4	STANOVENÍ PROPUSTNOSTI PRO VODNÍ PÁRY .....	57
8.5	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	58
8.6	HODNOCENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY .....	60
8.7	TEST UVOLŇOVÁNÍ KURKUMINU .....	63
8.7.1	Testování filmů Z/CUR.....	65
8.7.2	Testování filmů Z/P/CUR .....	67
8.8	FTIR ANALÝZA .....	71
8.9	SEM MIKROSKOPIE .....	74
	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>75</b>



<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>77</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>87</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>89</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>91</b>

## ÚVOD

V současné době je věnována pozornost nahrazování syntetických materiálů přírodními alternativami za účelem snížení dopadů na životní prostředí. V mnoha praktických aplikacích se dnes využívají materiály z obnovitelných zdrojů, které přispívají k udržitelnému rozvoji a cirkulární ekonomice. V oblasti obalových technologií jsou perspektivní biodegradovatelné polymery, které mohou představovat nosné systémy pro další látky, např. ve formě biopolymerních nanočástic, filmů nebo membrán. Pro inkorporaci lze využít různé organické či anorganické sloučeniny. Zajímavým zástupcem je kurkumin, známý pro své antibakteriální, resp. antioxidační účinky. Z důvodu jeho hydrofobní povahy a omezené rozpustnosti se v posledních letech studují možnosti jeho enkapsulace do různých typů nosičů, z nichž je transportován na požadované místo účinku.

Předkládaná práce je zaměřena na přípravu a charakterizaci zeinových vrstev s obsahem kurkuminu. Pro tvorbu vrstev byla použita biopolymerní matrice na bázi rostlinného proteinu zeinu, který je získáván z kukuřice. S ohledem na jeho biodegradabilitu a biokompatibilitu splňuje výše uvedené požadavky na environmentálně příznivé materiály. U připravených zeinových vrstev s obsahem kurkuminu byly analyzovány jejich mechanické, povrchové, antibakteriální a antioxidační vlastnosti, s cílem vyhodnotit jejich potenciál pro aktivní obaly.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

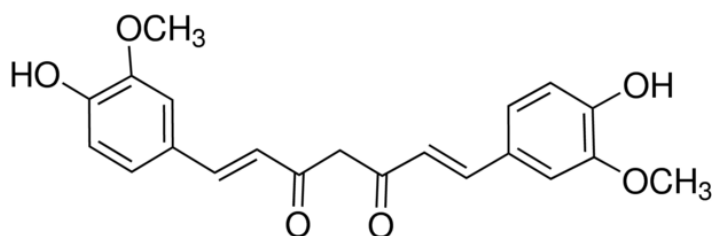
# 1 KURKUMIN

## 1.1 Charakteristika

Kurkumin je lipofilní polyfenolická látka, získávána jako přirozeně žlutý pigment z oddenků rostliny *Curcuma longa*. Kurkuma patří mezi byliny z čeledi zázvorovitých, která se hojně pěstuje v oblasti jižní a jihozápadní Asie. Často je používána jako součást koření, zejména kari, kterému dodává specifickou chuť a charakteristickou žlutou barvu. Je také známo, že kurkuma byla po staletí používána v Indii a Číně pro léčebné účely, jako jsou dermatologická onemocnění, infekce, stres a deprese [1, s. 65], [2, s. 22].

Samotný kurkumin, je díky své hydrofobní povaze nerozpustný ve vodě, je však rozpustný v organických rozpouštědlech, mezi které patří aceton, methanol, ethanol, glycerin a isopropanol. Taktéž je málo rozpustný v uhlovodíkových rozpouštědlech, jako je cyklohexan a hexan. Kurkumin je také považován za tautomerní sloučeninu, existující jako enolová forma v organických rozpouštědlech, a jako keto forma ve vodě [1, s. 65], [3, s. 31].

Chemický název pro kurkumin dle UIPAC je (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione, s molekulovou hmotností 368,38 g/mol. Často je také uváděn pod názvem diferuloylmethan, s obecným vzorcem  $C_{21}H_{20}O_6$ . Tato aktivní látka ve své molekule obsahuje důležité reaktivní skupiny, dvě fenolické a jednu diketonovou (Obr. 1). Přítomnost strukturních prvků, jako je  $\beta$ -diketon, hydroxylová skupina v poloze ortho v benzenovém kruhu a methoxy skupiny hrají významnou roli při antioxidační aktivitě kurkuminu [2, s. 22], [3, s. 31], [4, s. 2889].



Obrázek 1 Chemická struktura kurkuminu [5]

## 1.2 Zdroje

Kurkumin byl poprvé izolován v roce 1815, ovšem jeho struktura byla vysvětlena až v roce 1910. Jak již bylo zmíněno, kurkumin je získáván z byliny *Curcuma longa* (Obr. 2), v podobě prášku. Kořen kurkumy obsahuje vodu, sacharidy, bílkoviny, minerální látky, lipidy, silice a kurkuminoidy (2 – 9 %), které se řadí mezi nejvýznamnější bioaktivní složky kurkumy. Samotné kurkuminoidy se skládají z kurkuminu, demethoxykurkuminu, bidemethoxykurkuminu a cyklického kurkuminu [2, s. 22], [6, s. 236], [7, s. 20092], [8, s. 16].



Obrázek 2 *Curcuma longa* [9]

Již v minulých letech byl kurkumin získáván extrakcí a separací z kurkumového prášku. Často používanou metodou byla extrakce rozpouštědlem s následným použitím sloupcové chromatografie. Jako rozpouštědla, pro oddělení kurkuminu od kurkumy, byla používána polární a nepolární organická rozpouštědla, nejčastěji ethanol. Pro potravinářské využití kurkuminu se jako rozpouštědla používají triacylglyceroly.

V dnešní době jsou používány pokročilejší a sofistikovanější techniky extrakce. Mezi tyto metody patří Soxhletova extrakce, ultrazvuková a mikrovlnná extrakce. Jejich výhodou je především nízká teplota, krátká doba extrakce a použití menšího objemu rozpouštědla [2, s. 23], [7, s. 20092].

### 1.3 Vlastnosti

Díky dlouhé historii kurkumy jsou stále více uznávány léčivé vlastnosti kurkuminu, jako primárního farmakologického činidla v kurkumě. Chemická struktura této polyfenolické látky vykazuje antioxidační, antimikrobiální, protizánětlivé a antikarcinogenní vlastnosti. Nejdůležitější vlastností kurkuminu je to, že nevykazuje žádné vedlejší účinky, přestože působí jako terapeutické činidlo. Kurkumin je bezpečný i ve vysokých dávkách, což bylo prokázáno mnoha studiemi na lidech i zvířatech. Díky těmto vlastnostem se kurkumin hojně používá zejména v těchto odvětvích:

- Potravinářský průmysl: zde slouží kurkumin hlavně jako složka koření, díky jeho charakteristické barvě a chuti. Používá se také jako barvivo v mlékárenských produktech, jako jsou sýry a máslo.
- Kosmetický průmysl: použití kurkuminu v kombinaci s jinými rostlinnými extrakty k výrobě přírodní kosmetiky, které snižují oxidační stres pokožky a zlepšují její vzhled.
- Lékařství: aplikace kurkuminu a dalších kurkuminoidů pro terapeutické účely, léčbě dýchacích cest, anorexii, revmatismu apod. Kurkumin se také využívá k inhibici růstu, především bakterie *Helicobacter pylori*, která způsobuje žaludeční vředy a je spojována s rakovinou žaludku [1, s. 65], [3, s. 31], [6, s. 236].

Zejména v lékařském odvětví je nejvíce využíváno významných terapeutických účinků kurkuminu, které budou blíže popsány v následujících kapitolách.

#### 1.3.1 Protizánětlivé účinky

Kurkumin a těkavé oleje obsažené v kurkumě, vykazují silné protizánětlivé účinky, které jsou dány schopností inhibovat zánětlivé prostaglandiny z kyseliny arachidonové. Bylo prokázáno, že v případě akutních zánětů, je kurkumin při perorálním podání stejně účinný jako například kortizon nebo fenylobutazon. V případě chronického zánětu byl tento účinek poloviční. Kurkumin může být také aplikován lokálně k potlačení projevů, spojených se zánětlivými kožními onemocněními a alergiemi [1, s. 67], [10, s. 41].

### 1.3.2 Antimikrobiální účinky

Kurkumin vykazuje antimikrobiální aktivitu proti široké škále patogenních mikroorganismů. Gram pozitivní bakterie (*Staphylococcus aureus*) vykazují výrazně vyšší citlivost na kurkumin, než Gram negativní bakterie (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*). Je to dáno specifickou strukturou jejich buněčných stěn. Lipopolysacharidy, obsažené v buněčném obalu Gram negativních bakterií, představují permeabilní bariéru pro různé antimikrobiální látky, které jsou odpovědné za pomalý přísun lipofilních látek. Na rozdíl od porinových proteinů, které jsou uloženy ve vnější membráně, představují hlavní kanály pro vstup látky do buněk [11, s. 42559], [12, s. 2].

Kurkumin navíc vykazuje synergický antimikrobiální účinek s antibiotiky a antimykotiky proti různým patogenům, včetně *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Candida albicans* [12, s. 2].

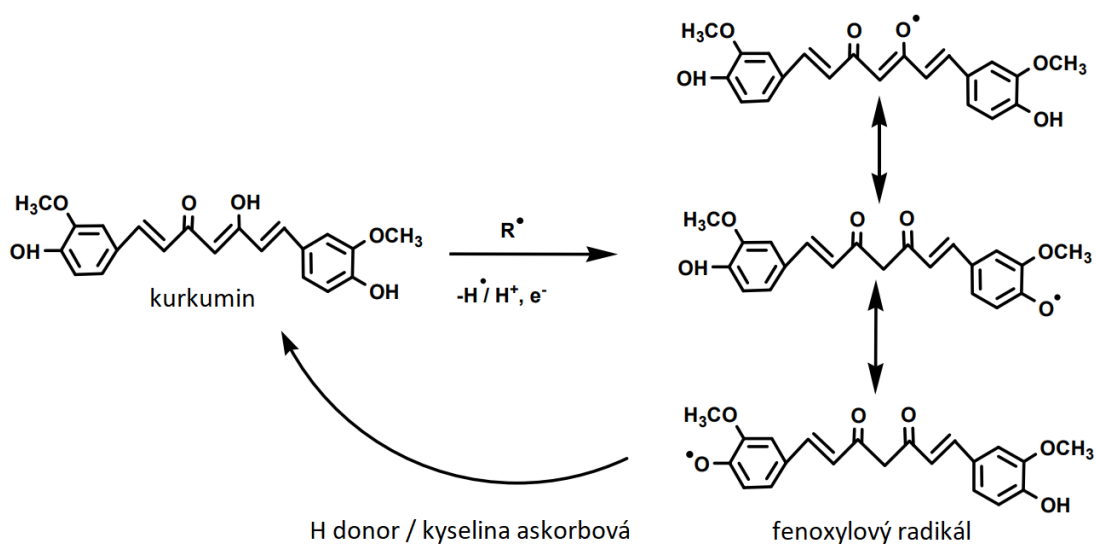
### 1.3.3 Antidiabetické účinky

Antidiabetickou aktivitu lze přiřadit k antioxidačním vlastnostem kurkuminu, což je dáno jeho schopností, jakožto aktivní látky, snížit tvorbu superoxidu a inhibovat tak vaskulární proteinkinázy C. Kurkumin může mít vliv na snížení buněčné smrti oxidačního stresu, a to buď nepřímo prostřednictvím indukce, nebo aktivací antioxidačních (superoxiddismutáza, kataláza, glutathionperoxidáza) či cytoprotektivních (hemoxygenáza) enzymů. Tyto antioxidační enzymy, potlačující tvorbu volných radikálů v buňkách, mají vliv na snížení oxidačního poškození a zároveň omezují funkci pankreatu [3, s. 33], [13, s. 1].

## 1.4 Antioxidační účinky

Antioxidanty jsou látky inhibující oxidaci jiných molekul. Oxidace je chemická reakce, která může produkovat volné radikály. Tyto vysoce nestabilní atomy spouštějí řetězové reakce, v jejichž důsledku dochází k poškození buněk. Antioxidanty jsou schopny tyto řetězové reakce zastavit a omezovat tak aktivitu kyslíkových radikálů. Antioxidanty lze přijímat přímo z potravy nebo potravinových doplňků, které tyto látky obsahují. Kromě inhibice oxidačních reakcí, mohou některé antioxidanty rostlinného původu také fungovat jako bioaktivní činidla pro prevenci infekcí, a to zejména díky svým antimikrobiálním vlastnostem [10, s. 41].

Jedním z hlavních přírodních sloučenin, obsažených v kurkumě, je právě kurkumin, který vykazuje již zmíněné antioxidační a protizánětlivé vlastnosti. Kurkumin má v molekule tři reaktivní funkční skupiny, jednu skupinu diketonovou a dvě fenolové. Právě tyto fenolové skupiny hrají důležitou roli pro uplatnění kurkuminu jako antioxidantu, jelikož OH skupina může poskytnout vodík pro tvorbu fenoxylových radikálů. Kurkumin tyto volné radikály vychytává a zároveň reguluje aktivitu enzymu. Pro regeneraci fenoxylových radikálů mohou být využívány ve vodě rozpustné antioxidanty, jako je kyselina askorbová (Obr. 3) [3, s. 32], [7, s. 20096], [14, s. 1].



Obrázek 3 Reakce peroxylového radikálu s kurkuminem [7, s. 20096]



## 2 NOSNÉ SYSTÉMY PRO KURKUMIN

Přestože má kurkumin mnoho zdraví prospěšných účinků, je stále těžké najít jeho místo v běžné aplikaci léčiv, kvůli špatné biologické dostupnosti a rozpustnosti. Pro zvýšení těchto vlastností kurkuminu, jsou využívány různé nosné systémy, které mají za úkol inkorporovat danou aktivní látku a transportovat ji za daných podmínek na požadované místo působení. Mezi takové nosiče aktivních látek řadíme například biopolymerní nanočástice, biopolymerní filmy a membrány, tuhé lipidové nanočástice, lipozomy a polymerní micely [2, s. 22], [15, s. 1].

### 2.1 Biopolymerní nanočástice

Jedná se o koloidní struktury, sestávající se z jednoho nebo více typů biopolymerních molekul, které jsou biokompatibilní a biodegradabilní. Tyto systémy dokážou transportovat aktivní látku na konkrétní místo působení, jsou schopny zlepšit stabilitu, dostupnost a zvýšit absorpci. Biopolymerní nanočástice lze klasifikovat na základě několika různých kritérií, jako je konkrétní složení, způsob přípravy a velikost. Hlavním typem biopolymerních nanočástic jsou proteinové nanočástice, mezi které patří albumin, zein a hedvábí [16, s. 5].

Albumin je vysoce stabilním a biokompatibilním hlavním proteinem v plazmě. Ve své matrici obsahuje velké množství vazebných míst, což z něj činí, i díky vysoké rozpustnosti, vhodný nosič právě pro kurkumin. Například lidský sérový albumin (HSA) výrazně zlepšuje buněčný příjem kurkuminu, a tím zvyšuje jeho účinky [16, s. 6].

Zein je kukuřičný protein, složený převážně z nepolárních aminokyselin, umožňující zapouzdření hydrofobních sloučenin. Je nerozpustný ve vodě, ale rozpustný v ethanolu. Využití zeinových nanočástic je však omezeno, z důvodu jejich špatné redispersovatelnosti ve vodě a vysoké citlivosti vůči agregaci (zejména za určitých podmínek, tj. v blízkosti izoelektrického bodu, při vysoké iontové síle a za zvýšené teploty). Z toho důvodu jsou v posledních letech studovány možnosti kombinace zeinu s jinými polymery, jako jsou například polysacharidy [16, s. 6], [17, s. 1].

## 2.2 Biopolymerní filmy a membrány

Biopolymery jsou biologicky rozložitelné materiály, pocházející z obnovitelných zdrojů. Vzhledem k jejich příznivým vlastnostem, jsou využívány pro výrobu biopolymerních obalových materiálů, ke zlepšení kvality potravin a prodloužení jejich trvanlivosti. Zároveň, díky jejich aplikaci, dochází ke snížení objemu obalového odpadu a ropných derivátů. Mimo jiné biopolymerní materiály nalézají uplatnění v biomedicínských sektorech, jako funkční matrice pro dodávání aktivních látek [18, s. 9], [19, s. 23].

Obecně se připravují biologicky rozložitelné obalové materiály z biopolymerů, jako jsou proteiny, sacharidy nebo lipidy. Mezi často používané filmotvorné látky patří zejména proteiny, které vykazují podobný charakter jako lipidová bariéra. Fyzikální a chemické vlastnosti těchto filmů jsou ovlivněny složením aminokyselin, elektrostatickým nábojem, změnami struktury vlivem tlaku, tepla, ozáření, mechanickým poškozením, chemickým a enzymovým působením. Ve srovnání se syntetickými filmy, vykazují filmy na bázi proteinů, špatnou odolnost vůči vodě, nižší mechanickou pevnost, a náchylnost k praskání. Tyto vlastnosti mohou být optimalizovány přidávkem různých aditiv. Jedná se zejména o změkčovadla, například na bázi mastných kyselin nebo olejů. [18, s. 9], [20, s. 348], [21, s. 140].

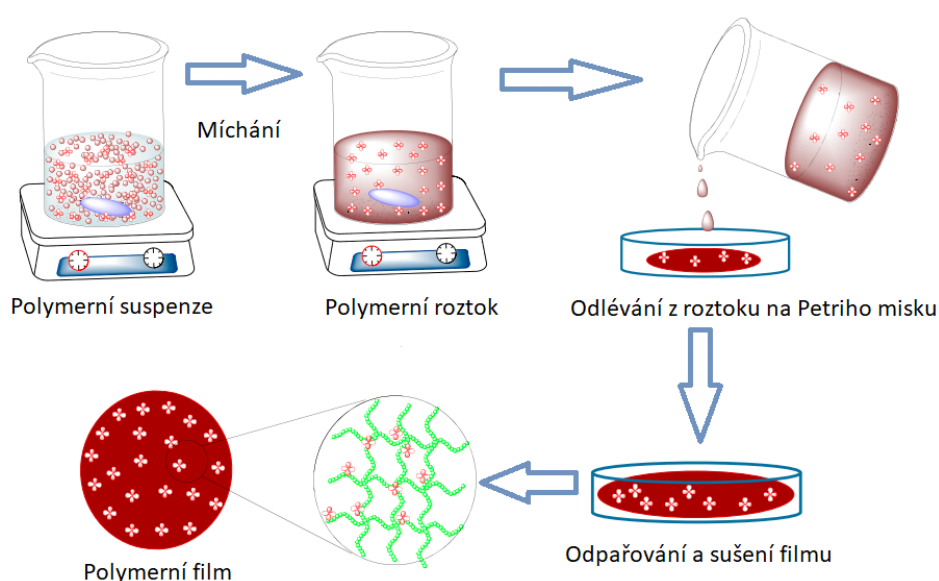
Polysacharidy a jejich deriváty jsou další biopolymery využívané při výrobě biologicky rozložitelných obalových materiálů. Polysacharidové filmy vynikají výbornými mechanickými a strukturálními vlastnostmi. Na druhou stranu, vzhledem k jejich hydrofilní povaze, vykazují horší bariérové charakteristiky, zejména propustnost pro vodní páry, což následně limituje jejich praktické aplikace [18, s. 6].

Další skupinou biopolymerů jsou lipidy, které jsou schopny tvořit neprůhledné filmy s nižší elasticitou. Lipidové biofilmy se běžně používají jako povlaky potravin, pro ochranu před ztrátou vlhkosti a pro zvýšení lesku. Vzhledem k jejich hodnotám propustnosti pro vodní páry, které jsou blízké syntetickým plastovým obalům, jsou lipidy kombinovány s jinými výše uvedenými biopolymery, ve formě vícevrstvých povlaků, právě pro zlepšení bariérových vlastností [18, s. 9].

K výrobě polymerních filmů jsou využívány různé metody, jako je lisování do forem, extruze nebo odlévání z roztoku [18, s. 9], [22, s. 2].

### 2.2.1 Metoda odlévání z roztoku

Metoda odlévání je založena na redukci molekulové hmotnosti a reorganizaci polymerních řetězců ve filmové matici, která se používá pro výrobu polysacharidových a proteinových biofilmů. Při této technice se polymer a všechny ostatní nezbytné složky (aktivní látka, změkčovač) rozpustí ve vhodném rozpouštědle, za účelem získání homogenního roztoku, který se následně nalije do příslušné formy. Po vysušení a odpaření rozpouštědla vzniká polymerní film (Obr. 4) [18, s. 9], [23, s. 22].



Obrázek 4 Metoda odlévání z roztoku pro přípravu biopolymerních filmů [23, s. 23]

Jako další nosný systém lze využít nanovláknenné membrány. Nanovláknna, spadající do odvětví nanomateriálů, tj. s průměrem do 1000 nm, se v posledních letech díky svým vlastnostem hojně využívají v biomedicíně a mnoha dalších aplikacích. Nanovláknna lze syntetizovat z přírodních a syntetických polymerů, nebo jejich různých kombinací. Nanovláknna jsou využívána pro transport léčiv, nebo jako krytí pro hojení ran. Proces uvolňování aktivních látek z nanovláknenných membrán lze řídit pomocí různých parametrů, jako je poměr léčiva a polymeru, průměr, morfologie anebo pórovitost nanovlákn [24, s. 1, 2].

Pro výrobu nanovláken existují různé techniky, mezi které patří nanolitografie nebo elektrostatické zvlákňování, které umožňuje produkovat velmi jemná vlákna z široké škály polymerních materiálů [25, s. 62].

### 2.2.2 Elektrostatické zvlákňování

Touto metodou lze získat vlákna v rozsahu mikro až nano rozměrů, prostřednictvím elektricky nabitého proudu polymerního roztoku nebo taveniny. Zvlákňován může být téměř každý rozpustný polymer s dostatečně vysokou molekulovou hmotností. Před samotným zvlákňováním je vybraný polymer zcela rozpuštěn ve vhodném rozpouštědle a vpraven do zvlákňovací trysky. Během procesu elektrostatického zvlákňování se používá vysoké napětí, k vytvoření elektricky nabitého proudu roztoku polymeru, vedoucí ke vzniku odpudivé síly. Po dosažení určitého napětí odpudivá síla překoná povrchové napětí roztoku polymeru, a ze zvlákňovací trysky se vytvoří proud. Ten je stabilní pouze v blízkosti zvlákňovací trysky, poté podléhá nestabilitě. Jakmile se nabitý proud blíží směrem k oblasti s nižším potenciálem, rozpouštědlo se odpařuje a dochází ke vzniku jemných vláken. Tato rychlá a relativně nenákladná metoda je vhodná pro farmaceutické a biomedicínské aplikace [26, s. 157, 158], [27, s. 5], [28, s. 40, 41].

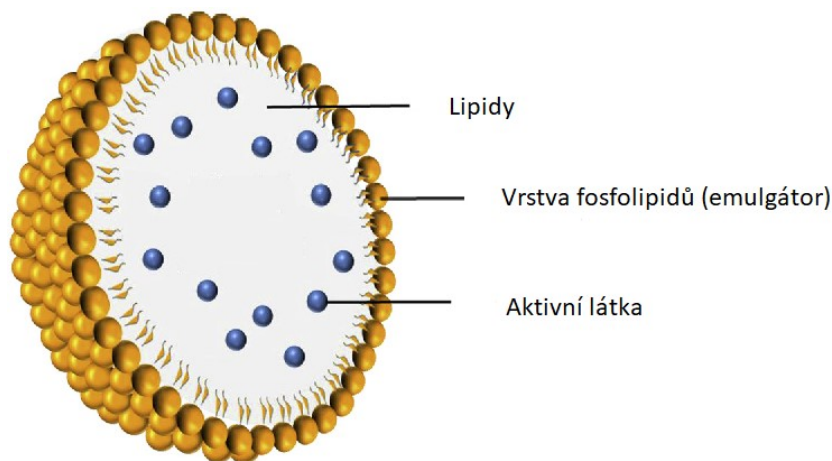
Nanovláken mohou být deponována do netkané membrány, sestávající se z agregovaných nanovláken, které se vzájemně propojují a vytvářejí síťovou strukturu. Tyto membrány jsou charakterizovány velkým specifickým povrchem, pružností a vysokou pórovitostí. Z farmaceutického hlediska jsou vhodným nosným systémem pro řízené uvolňování terapeutických léčiv a jiných aktivních látek [29, s. 5].

Aktuálně studované systémy na bázi biopolymerů budou podrobněji zmíněny v kapitolách 3 a 4.

## 2.3 Tuhé lipidové nanočástice

Tuhé lipidové nanočástice (z ang. solid lipid nanoparticles, SLN) jsou nejnovější oblastí nanotechnologií, které nabízejí požadované vlastnosti jako je biokompatibilita, malá velikost, ochrana proti chemické degradaci, fyzikální stabilita, zvýšený buněčný příjem a řízené uvolňování ve srovnání s jinými transportními vehikuly, včetně lipozomů, nanoemulzí, micel a polymerních nanočástic [30, s. 2], [31, s. 259].

Lipidové nanočástice se skládají z pevných lipidů o průměru 50 až 1000 nm, které jsou rozptýleny ve vodě nebo vodném roztoku povrchově aktivních látek. Lipidová nanočástice je tvořena hydrofobním jádrem a jednou vrstvou fosfolipidů. Fosfolipidové hydrofobní řetězce jsou zabudovány v tukové matrici a mají schopnost inkorporovat hydrofilní nebo lipofilní látky (Obr. 5) [31, s. 261].



Obrázek 5 Struktura tuhé lipidové nanočástice [31, s. 259]

Mezi hlavní výhody použití SLN patří:

- použití biologicky odbouratelných fyziologických lipidů, které snižují nebezpečí akutní a chronické toxicity,
- prevence použití organických rozpouštědel při přípravě,
- schopnost dodání aktivní látky na požadované místo účinku,
- lepší biologická dostupnost molekul nerozpustných ve vodě,
- zvýšená penetrace aktivních látek do kůže prostřednictvím dermální aplikace,
- lepší stabilita ve srovnání s lipozomy.

Pevné lipidové nanočástice mají také své nevýhody, mezi které patří vysoký obsah vody, růst částic během skladování, dále potenciální procesy krystalizace lipidů, kdy může dojít ke zmenšení prostoru pro inkorporaci dané aktivní látky [15, s. 2], [31, s. 261].

Existují různé metody pro získávání tuhých lipidových částic, jako je například vysokotlaká homogenizace (za tepla/za studena), mikroemulzifikace, ultrazvuková metoda a metoda odpařování rozpouštědla. Nejpoužívanější způsoby přípravy SLN budou popsány níže.

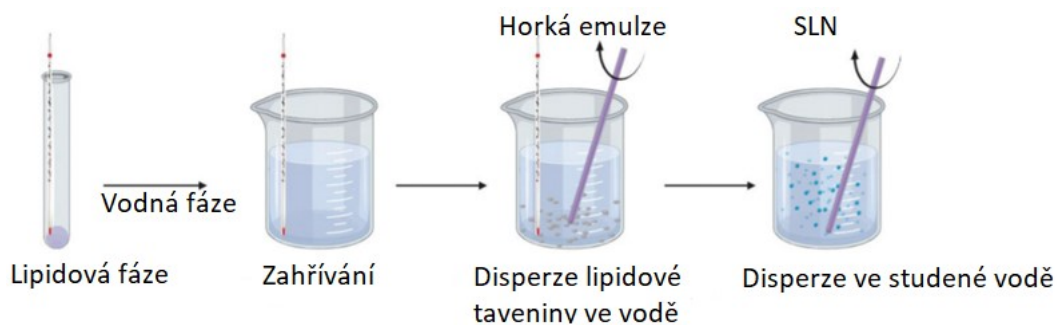
### 2.3.1 Vysokotlaká homogenizace

Vysokotlakou homogenizaci lze provádět za tepla nebo za studena. V prvním případě se pracuje nad teplotou tání lipidu. Lipidová tavenina s obsahem aktivní látky a vodné emulgační fáze se získá pomocí vysokotlakého míchacího zařízení. Výsledným produktem je horká emulze o/v, jejímž ochlazením dochází ke krystalizaci lipidu a tvorbě SLN. Menší velikosti částic se získávají při vyšších teplotách, v důsledku snížené viskozity lipidové fáze. Vysoká teplota však vede k degradaci a vypuzení aktivní látky. Při zvýšení teploty homogenizace nebo počtu cyklů, většinou dochází ke zvětšení velikosti částic, v důsledku vysoké kinetické energie částic. Obecně se používá 3 – 5 homogenizačních cyklů při tlaku 500 – 1500 bar [32, s. 127].

Proces homogenizace za studena se používá pro zamezení problémů souvisejících s vyšší teplotou, které vedou k degradaci a ztrátě enkapsulované látky. Tato metoda spočívá v zapouzdření aktivní sloučeniny do roztaveného lipidu, který se pak rychle ochladí pomocí suchého ledu nebo tekutého dusíku. Připravené lipidové mikročástice se dispergují ve studeném roztoku emulgátoru při laboratorní teplotě. Pro SLN homogenizované za studena jsou typické větší částice s širší distribucí velikostí [32, s. 127, 128].

### 2.3.2 Mikroemulzifikace

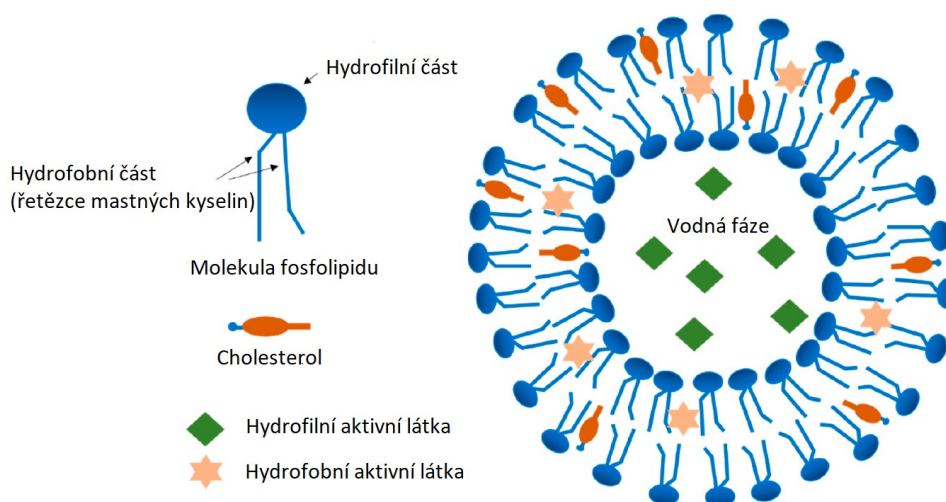
Tato metoda je založena na ředění mikroemulzí, což jsou dvoufázové systémy, složené z vnitřní a vnější fáze vyráběné za přítomnosti emulgátoru a koemulgátorů. Horká mikroemulze se za míchání disperguje ve studené vodě, a tím dochází ke vzniku SLN (Obr. 6). Vysokoteplotní gradienty usnadňují rychlou krystalizaci lipidů a zabraňují agregaci. Kvůli kroku ředění je množství lipidů podstatně nižší, ve srovnání s vysokotlakou homogenizací za tepla [32, s. 130], [33, s. 86].



Obrázek 6 Proces mikroemulzifikace [32, s. 131]

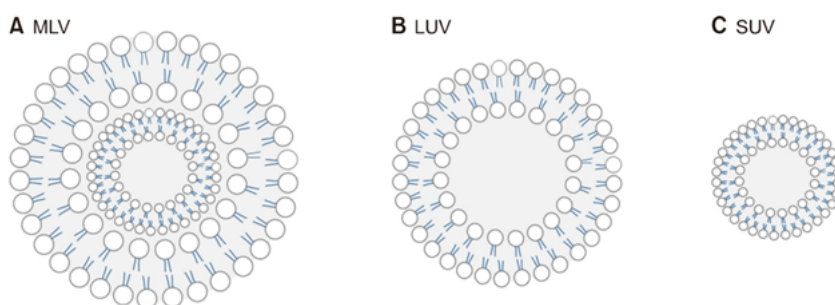
## 2.4 Lipozomy

Jedná se o sférické vezikuly tvořené fosfolipidovou dvojvrstvou (Obr. 7). Velikost těchto částic se pohybuje v rozmezí od 25 nm do 2,5  $\mu\text{m}$ , v závislosti na konkrétní použité formulaci a metodě přípravy. Jejich struktura je podobná biologické buněčné stěně membrány. Fosfolipidovou molekulu tvoří hydrofilní a hydrofobní skupiny, sestávající se ze dvou řetězců mastných kyselin. Polární část je orientovaná ven z molekuly, naopak hydrofobní směřuje do středu. Lipozomy mají uvnitř koloidní částice polární a nepolární skupiny, které částici dávají amfifilní charakter. Tato vlastnost umožňuje zapouzdření jedné nebo více aktivních látek s různými polaritami v rámci jednoho aplikačního systému [34, s. 13], [35, s. 1074].



Obrázek 7 Detailní struktura lipozomu zapouzdřující hydrofilní a hydrofobní aktivní látky [36, s. 3]

Lipozomy lze dělit do dvou kategorií na základě jejich velikosti a počtu dvojvrstev, a to na multilamelární vezikuly (MLV), které jsou větší než 500 nm, a unilamelární vezikuly. Unilamelární vezikuly lze dále klasifikovat na velké unilamelární vezikuly (LUV) o velikostech větších než 100 nm a malé unilamelární vezikuly (SUV) o velikostech menších než 100 nm [37, s. 27, 28]. Tyto struktury jsou znázorněny na Obr. 8.



Obrázek 8 Struktura MLV (A), LUV (B) a SUV (C) [37, s. 28]

Stejně jako u tuhých lipidových nanočástic, existuje několik způsobů přípravy lipozomů. Mezi nejčastěji používané metody patří hydratace tenkého filmu, mikroemulzifikace, sonikace, membránová extruze, zmrazování, rozmrazování, vstřikování éteru a vstřikování ethanolu.

#### 2.4.1 Hydratace tenkého filmu

Tato metoda je jednou z nejpoužívanějších technik přípravy lipozomů. Je založena na vytvoření tenkého lipidového filmu na vnitřní stěně baňky rotační odparky, který se později hydratuje vodou nebo roztokem pufru. Před hydratací je velmi důležité, aby se lipidový film, stejně jako roztok voda/pufr, v případě potřeby předehřál nad přechodovou teplotu lipidů ( $T_m$ ), aby došlo k lepšímu vytvoření dvojvrstvy. Intenzivním protřepáním a potenciální sonikací v ultrazvukové lázni, dojde k odloupení filmu z baňky a tvorbě lipozomů. Takto připravené lipozomy se řadí mezi MLV různých velikostí. Enkapsulační látka může být přidána společně s lipidy před vytvořením tenkého filmu (v případě lipofilních sloučenin) nebo s roztokem voda/pufr (v případě hydrofilních sloučenin). Výhodou této metody je vysoká reprodukovatelnost i při práci s malým množstvím sloučenin, zatímco nevýhodou je nízká enkapsulační účinnost [38, s. 3].



### 2.4.2 Injekční metoda

Jedná se o jednoduchou a rychlou techniku pro přípravu lipozomů o velikostech 30 – 170 nm, konkrétně tedy malých unilamelárních vezikul (SUV). Metoda spočívá ve vstříkání lipidové suspenze (pro hydrofobní nebo hydrofilní organická rozpouštědla) do vodné fáze. Samotná velikost vezikul závisí na koncentraci lipidů a rychlosti vstříkání. Následně je rozpouštědlo odstraněno a roztok se za stálého míchání hydratuje. Jako organická rozpouštědla jsou nejčastěji používány ethanol a éter [38, s. 5].

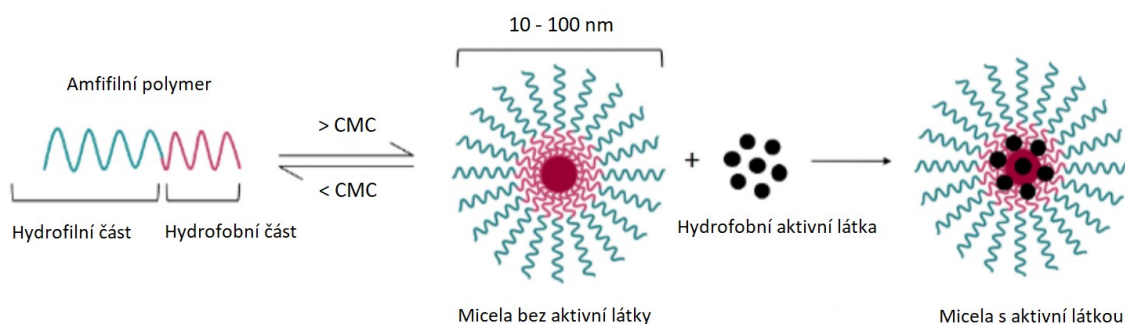
### 2.4.3 Emulzifikace

Tato metoda je podobná již zmíněným injekčním metodám. Lipidy jsou rozpuštěny v organickém rozpouštědle a poté je organická a vodná fáze smíchána dohromady. Na rozdíl od injekční metody se do organické fáze přidává menší množství vodné fáze a organická část není hned odstraněna, místo toho se vytvoří emulze vody v organické fázi. Dochází k tvorbě monovrstvy lipidů kolem kapiček vody a poté se organické rozpouštědlo odpaří, čímž dochází k tvorbě lipozomů kolem molekul vody. Výhodou emulzifikace je, že poskytuje vyšší účinnost zapouzdření ve srovnání s injekčními metodami [38, s. 5].

## 2.5 Polymerní micely

Polymerní micely jsou nanočástice o velikostech v rozmezí od 10 do 100 nm. Slouží jako nosné systémy aktivních látek, které se vyznačují strukturou core-shell, umožňující začlenit špatně rozpustné látky, a tím zlepšit jejich biologickou dostupnost a chránit před inaktivací v biologických médiích [39, s. 2923], [40, s. 315].

Na rozdíl od micel, tvořených klasickými povrchově aktivními látkami, se polymerní micely sestávají z amfifilních polymerů, které se samovolně skládají do polymerních agregátů (Obr. 9) [39, s. 2923], [40, s. 315].



Obrázek 9 Schéma polymerních micel [40, s. 314]

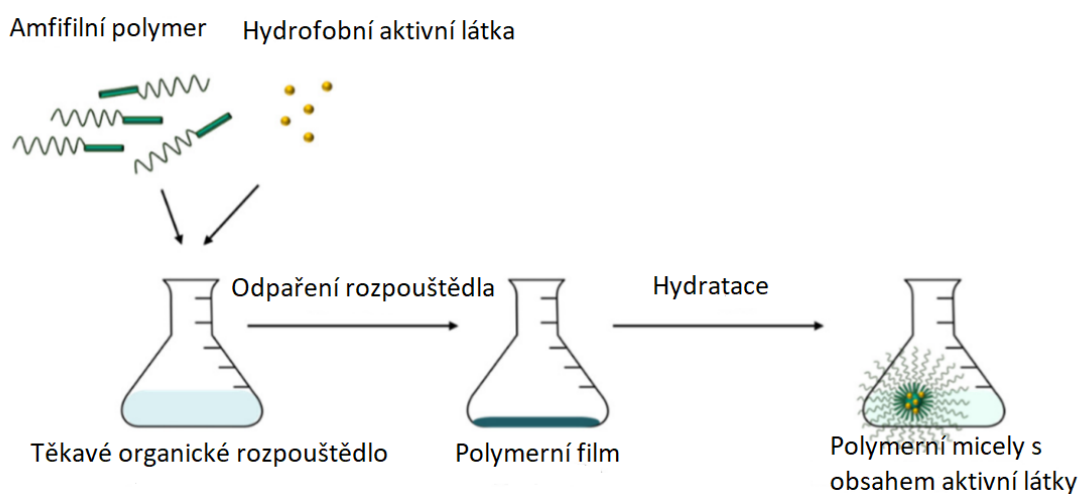
Důležitým parametrem při tvorbě micel je kritická micelární koncentrace (CMC), tj. minimální koncentrace polymerů v roztoku, při které dochází k tvorbě micel. Ve srovnání s micelami povrchově aktivních látek s nízkou molekulovou hmotností, spočívají hlavní výhody polymerních micel v jejich nižší CMC a vyšší stabilitě. Vyšší kinetická stabilita spolu s nižší toxicitou jsou důvodem zvýšení zájmu aplikace polymerních micel jako systémů pro dodávání léčiv [39, s. 2923], [40, s. 315].

Pro tvorbu polymerních micel lze použít různé blokové polymery. Nejčastěji používanými polymery jsou amfifilní diblokové kopolymery (např. polystyren a poly(ethylenglykol)) a triblokové kopolymery (např. poloxamery). Hydrofilní část se obvykle skládá z polyethylenglykolu (PEG), ale lze využít například i poly(vinylpyrrolidon), poly(akryloylmorfolin) nebo poly(trimethylenkarbonát). Hydrofobní část může být na bázi poly(propylenoxidu) nebo polyesterů, jako je poly( $\epsilon$ -kaprolakton) nebo polymerů a kopolymerů kyseliny glykolové a mléčné [40, s. 315].

Příprava polymerních micel je poměrně jednoduchá a nenákladná. Jsou využívány různé metody, zahrnující například metodu odpařování rozpouštědla, emulzifikaci typu o/v a lyofilizaci.

### 2.5.1 Odpařování rozpouštědla

Tato technika, známá také jako metoda hydratace tenkého filmu, spočívá v rozpuštění aktivní látky a polymerů v těkavém organickém rozpouštědle nebo směsi, která se následně odpaří a vytvoří tenký polymerní film na dně baňky. Film se poté hydratuje vodou prostřednictvím sonikace nebo mícháním (Obr. 10) [41, s. 5].



Obrázek 10 Proces odpařování rozpouštědla pro přípravu polymerních micel [41, s. 5]

### 2.5.2 Emulze o/v

Při tomto procesu je hydrofobní aktivní látka, spolu s polymerními micelami, rozpuštěna v těkavém rozpouštědle nemísitelném s vodou (např. chloroform). Tento roztok se pomalu přidá k míchanému vodnému roztoku, čímž se vytvoří emulze o/v, která je ponechána přes noc ve tmě za dané teploty a v otevřené atmosféře, umožňující odpaření rozpouštědla. K tvorbě micel dochází po míchání a odpaření rozpouštědla [41, s. 5].

### 2.5.3 Lyofilizace

Při lyofilizaci se používá terc-butanol nebo jiná organická rozpouštědla. Kopolymer a aktivní látka je rozpuštěna ve směsi voda/terc-butanol a následuje proces lyofilizace, čímž dojde k odstranění použitého rozpouštědla. Poté se k výslednému prášku přidá voda, což vede k tvorbě micel. Nevýhodou této techniky může být přítomnost zbytkových organických rozpouštědel, použitých během procesu přípravy, v konečném produktu [41, s. 5].

### 3 APLIKACE POLYMER-KURKUMIN SYSTÉMŮ

Jak bylo uvedeno výše, kurkumin je sloučenina přírodního původu, která vykazuje významnou biologickou aktivitu. Především díky jeho antimikrobiálním a antioxidačním vlastnostem je velmi účinný při léčbě poranění a prevenci mikrobiálních infekcí. Kromě biomedicínských aplikací lze systémy na bázi polymer-kurkumin využít k výrobě bioaktivních obalů. Některé aplikace budou podrobněji popsány v dalších podkapitolách.

#### 3.1 Hojení ran

V biomedicínských aplikacích hraje kurkumin významnou roli, zejména v materiálech aplikovaných pro hojení ran. Využívá se jeho antioxidačních vlastností, schopnosti eliminovat reaktivní formy kyslíku a peroxidaci lipidů v oblasti poranění. Kurkumin také zvyšuje buněčnou proliferaci, syntézu, zrání a zesíťování kolagenu, a také biosyntézu extracelulární matrix [42, s. 1], [43, s. 2].

Terapeutické materiály, určené k léčbě a hojení ran, mohou být vyráběny z přírodních nebo syntetických polymerů. Z biopolymerů lze využít kyselinu hyaluronovou (HA), alginát, dextran, elastin, celulózu, chitosan, fibrin, kolagen, želatinu apod. Mezi výhody těchto biopolymerů patří jejich netoxičita, biokompatibilita a biodegradabilita. Syntetické polymery mohou být na bázi polyethylenglykolu (PEG)/polyethylenoxidu (PEO), polyvinylpyrrolidonu (PVP), polyvinylalkoholu (PVA) aj. [42, s. 2].

##### 3.1.1 Hydrogely

Hydrogely jsou vysoce zbotnalé, hydrofilní, trojrozměrné polymerní struktury schopné absorbovat velké množství vody. Využívají se při hojení ran, zejména díky své vysoké pórovitosti, schopnosti enkapsulovat a uvolňovat aktivní látky, dobré biokompatibilitě a biodegradabilitě. Hydrogely s obsahem kurkuminu hrají důležitou roli v procesu hojení ran, kde zvyšují rychlost botnání a umožňují vysokou životaschopnost buněk, která jim udává jejich dobrou biokompatibilitu. Kurkumin je schopen snižovat oxidační stres v místě poranění, a to zejména díky jeho schopnosti vychytávat reaktivní formy kyslíku. Mimo jiné mohou hydrogely na bázi biopolymerů prodlužovat uvolňování kurkuminu v simulovaném gastrointestinálním prostředí. Mnoho studií prokázalo potenciál kurkuminu, jakožto bioaktivní látky s antimikrobiální aktivitou, která má schopnost regenerovat poškození žaludku způsobené infekcí bakterií *Helicobacter pylori*. Díky těmto vlastnostem mají

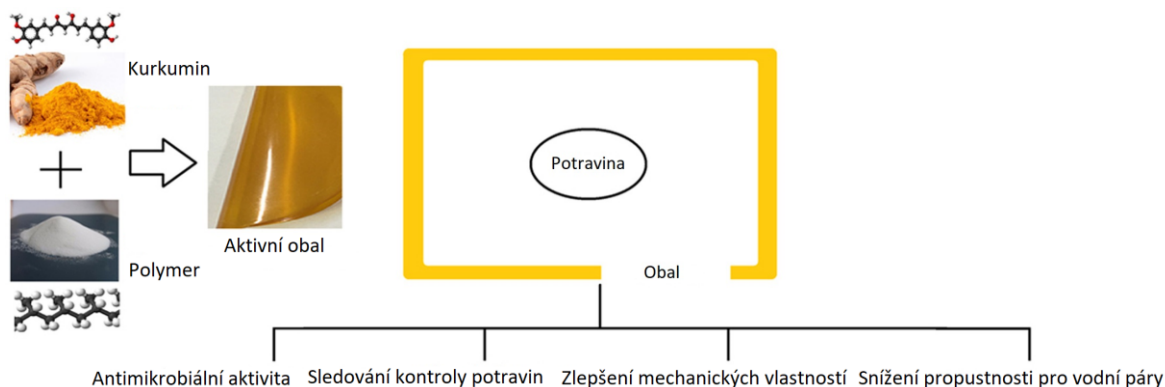
hydrogely na bázi biopolymerů velký potenciál, jako účinná vehikula pro dodávání hydrofobních bioaktivních látek [42, s. 5], [44, s. 1].

### 3.1.2 Hemostatické houby

Hemostatické houby jsou měkké, flexibilní obvazové materiály se vzájemně propojenou porézní strukturou. Díky jejich porézní struktuře jsou jim připisovány různé výhody, jako je vysoká hemostatická účinnost, schopnost botnat a absorbovat velké množství vody. Houby, které mají velikost pórů v rozmezí 10 až 100  $\mu\text{m}$ , podporují buněčnou adhezi a proliferaci. Inkorporace kurkuminu do hemostatických systémů pro krytí ran má zásadní vliv na urychlení procesu hojení. Dochází také k pozvolnějšímu uvolňování kurkuminu, což vede ke zlepšení jeho biologické dostupnosti v místě poranění [42, s. 11].

## 3.2 Bioaktivní potravinářské obaly

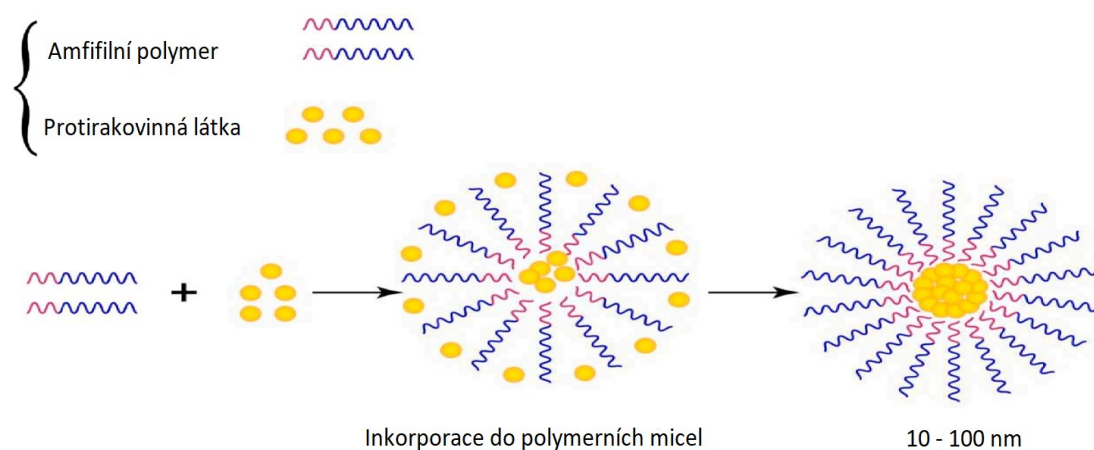
V současné době je velká pozornost věnována vývoji nových aktivních obalových systémů pro ochranu a prodloužení trvanlivosti potravin. Kurkumin se řadí mezi bezpečné a cenově výhodné přírodní sloučeniny, které jsou v potravinářství využívány z mnoha důvodů. Jeho funkční vlastnosti jsou dány především jeho jedinečnou strukturou. Je známo, že při pH větším než 7 dochází k reakci fenolické hydroxylové skupiny kurkuminu s hydroxylovými skupinami a také k produkci fenoxidového anionu, která má za následek změnu barvy aktivní látky. Vzhledem k této vlastnosti je možno díky kurkuminu detekovat nejen mikrobiální růst, ale i produkci oxidu uhličitého a amoniaku, ke kterým dochází při procesech kažení potravin. Kromě monitoringu kvality potravin inkorporace kurkuminu do obalového materiálu zlepšuje biologickou dostupnost a stabilitu aktivní látky vůči okolním podmínkám. Hlavními polymerními materiály používanými k výrobě obalů jsou proteiny, polysacharidy a lipidy. Vzhledem k jejich hydrofilní povaze mají filmy na této bázi vysokou propustnost pro vodní páry (WVP), což je pro potravinářské obaly nežádoucí. Přídavek hydrofobního kurkuminu do polymerních matric vede ke zlepšení mechanických a bariérových vlastností obalových materiálů (Obr. 11). Díky své silné antioxidační aktivitě může bránit oxidaci lipidů v potravinách během skladování [45, s. 1, 2], [46, s. 1, 2].



Obrázek 11 Vlastnosti bioaktivního potravinářského obalu s obsahem kurkuminu [45]

### 3.3 Polymerní micely s kurkuminem k léčbě rakoviny

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2, polymerní micely (Obr. 12) představují perspektivní nosný systém pro aktivní látky, který má velký význam pro biomedicínské aplikace a lze jej využít právě pro inkorporaci látek k léčbě rakoviny. Chemoterapeutika, určená pro léčbu rakoviny, mají asociovanou toxicitu pro zdravé tkáně a často nejsou dodávána na požadované místo působení *in vivo*. Tato činidla jsou špatně rozpustná ve vodě, vykazují nízkou biologickou dostupnost a mohou vyvolávat mnohočetnou lékovou rezistenci, což může komplikovat jejich klinické použití a vyvolávat nežádoucí vedlejší účinky. Kurkumin je znám pro svou protinádorovou aktivitu, tzn. je schopen potlačovat proliferaci nádorových buněk, indukovat apoptózu a zástavu nádorového buněčného cyklu, inhibovat proteinkinázy a indukovat expresi buněčných receptorů smrti, což vede k inhibici růstu nádoru. Lze jej enkapsulovat do jádra polymerní micely a využít pro intravenózní podání u různých typů léčby rakoviny, zejména rakovinu prsou, jater a plic [47, s. 1].



Obrázek 12 Inkorporace protirakovinné látky do polymerních micel [47, s. 3]

### 3.4 Nanočástice na bázi zeinu

Nanočástice jsou v současnosti velmi oblíbenými systémy pro dodávání aktivních látek. Umožňují zajistit zvýšení rozpustnosti a dispergovatelnosti aktivních látek, které se následně řízeně uvolňují. Díky jejich malé velikosti zlepšují permeabilitu membrány a biologickou dostupnost. Nanočástice na bázi zeinu, lze vzhledem k jeho hydrofobní povaze snadno připravit metodou srážení s využitím anti-rozpouštědel. Limitace v podobě jejich nerozpustnosti ve vodě a zhoršené stability za určitých podmínek (např. vysoká teplota) je možné překonat přidáním povrchově aktivních látek (Tween 80), jako stabilizátoru, které jsou také schopny snížit hydrofobicitu povrchu těchto částic. Enkapsulaci kurkuminu do nanočástic na bázi zeinu lze významně zvýšit jeho stabilitu a zajistit řízené uvolňování na požadované místo v porovnání se samotným kurkuminem [48, s. 1], [49, s. 1].

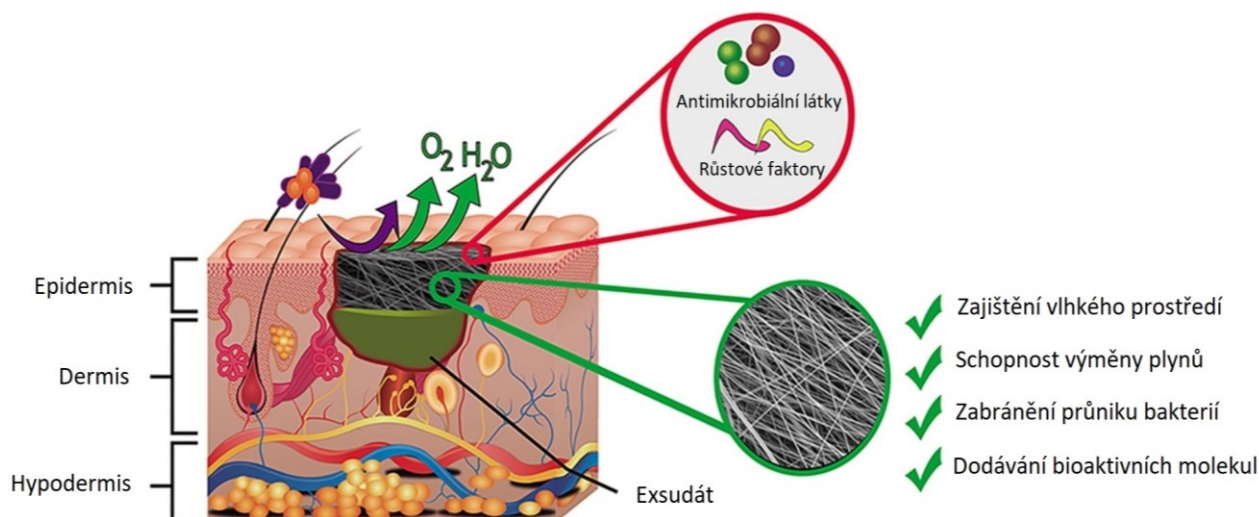
### 3.5 Bioaktivní obvazové materiály

Bioaktivní obvazové materiály mohou být na bázi přírodních nebo syntetických polymerů, jako je chitosan, celulóza, zein, hedvábný fibroin, alginát, pektin, elastin apod. Tento typ materiálů vykazuje dobrou biokompatibilitu a biologickou odbouratelnost.

Terapeutické obvazové materiály jsou obvykle tvořeny přilnavým, transparentním polymerem, který umožňuje přenos vodní páry, vody, oxidu uhličitého a kyslíku, mezi ránou a vnějším prostředím. Zlepšují proces hojení a chrání otevřené poranění před mikrobiální infekcí. Proces hojení lze, vzhledem k jejich transparentnosti, vizuálně sledovat. Jedná se

o ideální obvazy na povrchové, epitelizující a mělké rány. Naopak tyto obvazy nejsou určeny na rány se zánětlivým projevem, jelikož nejsou schopny ve velkém měřítku absorbovat biologické tekutiny. Přídavek aditiv a aktivních látek může zajistit lepší mechanické vlastnosti, jako je elasticita a ohebnost, která napomáhá lepší manipulaci při aplikaci. Tato skutečnost byla také prověřena studií Ponnaniakajamideen a kol. [50], kteří připravili nanofilmy na bázi chitosan-polyvinylpyrrolidon s obsahem kurkuminu. Tyto filmy vykazovaly lepší mechanické vlastnosti, větší pórovitost a vysokou botnací schopnost ve srovnání s filmy bez aktivní látky [42, s. 8].

Pro krytí a léčbu ran se využívají i nanovláknenné membrány, které jsou schopny stimulovat hemostázu poškozených tkání, buněčné dýchání, podporovat transdermální dodávání léčiv, zajistit vlhké prostředí, zvyšovat absorpci tekutin a podporovat vysokou propustnost plynů, čímž inhibují mikrobiální infekce (Obr. 13). Mezi vlastnosti nanovláken patří také jejich schopnost dodávat bioaktivní látky, které vykazují lepší mechanické vlastnosti a vysokou poréznost. Kurkumin je v těchto aplikacích používán hlavně díky jeho vynikajícím biologickým vlastnostem. Je schopen zajistit zvýšení hydrofility povrchu, což je důležité pro uchycení a proliferaci buněk, a následně pro urychlení procesu hojení ran. Nanovláknenné membrány s obsahem kurkuminu také prokázaly lepší mechanické vlastnosti a vyšší stabilitu [42, s. 12].



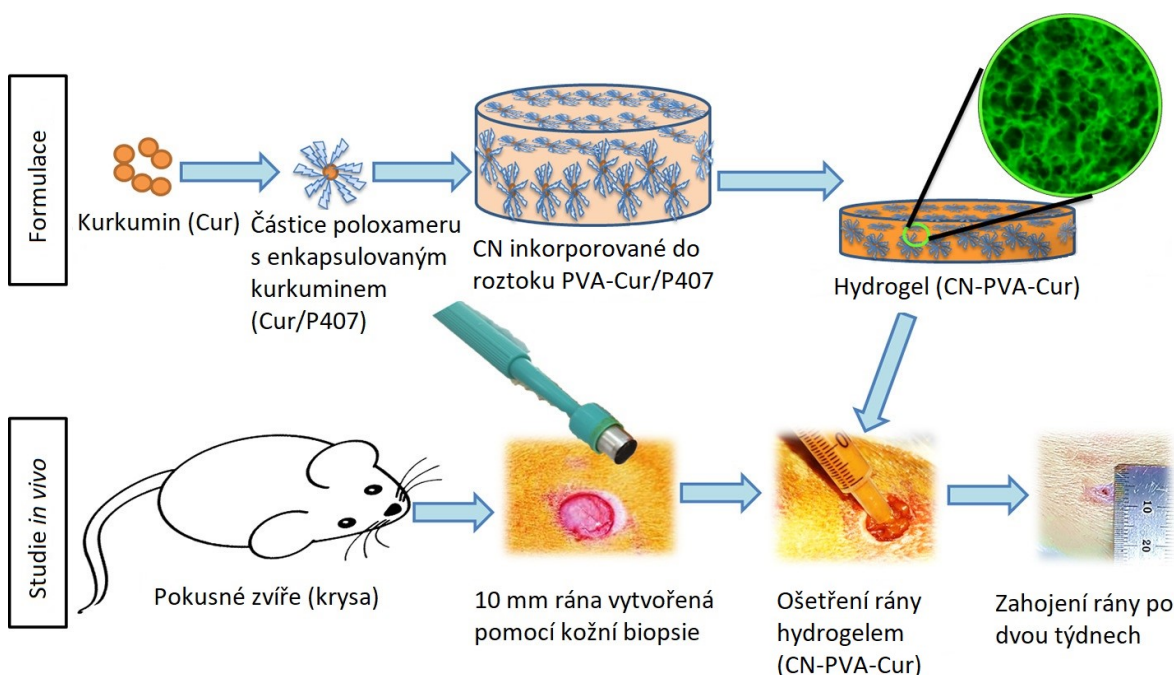
Obrázek 13 Vlastnosti nanovláken jako bioaktivního obvazového materiálu [51]



## 4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Na základě provedené literární rešerše lze konstatovat, že polymerní nosiče s inkorporovaným kurkuminem představují významné systémy pro řadu praktických aplikací.

Existuje řada studií, které se zabývají studiem hydrogelů na bázi různých polymerů s obsahem kurkuminu, pro hojení ran. Shefa a kol. [43], připravili fyzikálně zesíťovaný hydrogel na bázi celulózových nanovláken (CN), polyvinylalkoholu (PVA) a kurkuminu enkapsulovaného do částic Poloxameru 407. Hydrogel byl připraven procesem zmrazení-rozmrazení, který vedl k uvolňování aktivní látky a tím i k urychlení procesu hojení. Účinky připraveného hydrogelu byly testovány *in vivo* na modelu kůže krysy. Po aplikaci hydrogelu s obsahem kurkuminu na kožní ránu, bylo po dvou týdnech pozorováno výrazné zlepšení hojení, ve srovnání s referenčními vzorky bez aktivní látky (Obr. 14) [42, s. 5], [43, s. 1].



Obrázek 14 Vývoj a studie *in vivo* formulace hydrogelu (CN-PVA-Cur)

[upraveno dle 43, s. 1]

V další studii se autoři Pham a kol. [52] zabývali syntézou hybridních hydrogelů na bázi chitosan-Pluronic P123 s obsahem kurkuminu a želatiny, za účelem hojení ran. *In vitro* studie prokázaly počáteční prudké uvolňování aktivní látky během prvních dvou hodin, po kterém následovalo zpomalení kinetiky. Testem *in vivo* byla potvrzena účinnost připravených hydrogelů s obsahem kurkuminu a želatiny při regeneraci bariérové funkce poškozené pokožky.

Přípravou nanočástic na bázi zeinu a poloxameru (Pluronic) s obsahem kurkuminu se zabývali autoři aktuální studie z roku 2022 [48]. Zein byl modifikován prostřednictvím Pluronicu, který zajistil zvýšení hydrofility a stability systému, který nebyl ovlivněn pH a iontovou silou v porovnání se samotnými zeinovými částicemi. *In vitro* test prokázal kontrolované uvolňování kurkuminu do simulovaného prostředí. Vzhledem k pozitivním výsledkům testů cytotoxicity připravené zein/Pluronic/kurkumin částice představují velký potenciál pro použití do systémů určených k orálnímu dodávání léčiv.

Další metoda pro stabilizaci zeinových nanočástic s obsahem kurkuminu byla studována v práci Li a kol. [49]. Konkrétně se jednalo o využití depozice vrstev na bázi polysacharidu, získaného z netradiční houby *Tremella fuciformis* (TP). Výsledky studie ukázaly, že depozice polysacharidových vrstev na povrchu zeinových nanočástic, na základě elektrostatické interakce, vede ke zlepšení hydrofility zeinu, lepší ochraně a stabilitě kurkuminu. Ve srovnání se zeinovými nanočásticemi (55 %), vykazovaly nanočástice na bázi zein/TP (93 %), vyšší účinnost enkapsulace kurkuminu a vynikající redispergovatelnost. Vystavením připravených nanočástic zein/TP s obsahem kurkuminu UV záření a tepelnému působení při 80 °C a to po dobu 2 hodin bylo prokázáno významné zlepšení stability celého systému.

Řada nedávných studií se zabývá přípravou a charakterizací nanovláknenných membrán obohacených o aktivní látky, jako nové generace obvazových materiálů se schopností urychlení procesu hojení ran. Nguyen a kol. [53] připravili nanovláknena na bázi polymeru kyseliny mléčné s obsahem kurkuminu jako aktivní látky. Enkapsulací kurkuminu do nanovláken, došlo k výraznému zvýšení pevnosti v tahu až na 3,5 MPa, což mělo pozitivní vliv na samotnou aplikaci a krytí rány. Výsledky studie *in vivo*, které byly prováděny na zvířecím modelu krys, odhalily již 7. den po aplikaci zhojení rány až na 87 %. Patnáctý den byla rána téměř zahojena, a to z 99 % [42, s. 12], [54 s. 4].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍLE PRÁCE

Mezi cíle této diplomové práce patří následující:

- příprava polymerních roztoků a filmů na bázi zeinu s obsahem kurkuminu, resp. kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru,
- charakterizace roztoků (vodivost, povrchové napětí),
- charakterizace zeinových vrstev (mechanické zkoušky, povrchové, strukturní a bariérové vlastnosti),
- testování uvolňování kurkuminu ze zeinových matric, hodnocení antibakteriální a antioxidační aktivity připravených zeinových systémů.

## 6 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE

### 6.1 Použité chemikálie

Zein, Sigma Life Science

Ethylalkohol (96%)

Kurkumin pro syntézu, Merck spol. s r.o.

Tween 80, Lach-Ner, s. r. o.

Glycerol, Iplub

Poloxamer 407, Sigma Life Science

Eugenol, Sigma Aldrich

Fosfátový pufr (pH 7,45)

Chlorid sodný, mikroCHEM

Chlorid draselný, mikroCHEM

Hydrogenfosforečnan sodný, Lachema n. p.

Dihydrogenfosforečnan draselný, Lachema n. p.

2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH)

Trolox

Methanol

Mueller Hinton Agar

Mikroorganismy *Escherichia coli* (CCM 3954) a *Staphylococcus aureus* (CCM 3953)

## 6.2 Použité přístroje a pomůcky

Magnetická míchačka Heidolph MR Hei-Standard

Spektrofotometr photoLab 6600 UV-VIS + kyvety

Optický tenziometr Attension Theta, Biolion Scientific

Analytické váhy Sartorius Basic 110 S

FTIR spektrofotometr Nicolet 6700, Thermo Scientific

Texturometr AMETEK TA1 from Lloyd Instruments

Laboratorní konduktometr, inoLAB Cond 7110

Vakuová rotační odparka Heidolph

Tenziometr EasyDyne, Krüss

Mikropipety Eppendorf reaserch plus

Digitální mikrometr, Schut Geometrical Metrology

Sušárna Memmert ULM 400

pH metr CPH 51 kombinovanou pH elektrodou HC 103

Plastové centrifugační zkumavky, 15 ml

Ultrazvuková lázeň KAITEK K-10LE, Kraittek

Třepačka Heathrow Scientific

Denziometr DEN-1B, Biosan

Vortex V-1 plus, Biosan

Centrifuga, EBA 20, Hettich

Exsikátor ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )

Vlhkoměr

Termostat Memmert INE 600

Eppendorf mikrozukavky

Petriho misky PS

Běžné laboratorní sklo

## 7 PŘÍPRAVA VZORKŮ A JEJICH MĚŘENÍ

### 7.1 Příprava fosfátového pufru (pH = 7,45)

Do odměrné baňky o objemu 1000 ml byl připraven fosfátový pufr (PBS) smícháním jednotlivých chemikálií (Tab. 1) a rozpuštěním v destilované vodě. K takto připravenému roztoku bylo přidáno 0,5 hm. % Tweenu 80, a následně byla směs převedena kvantitativně do odměrné baňky a doplněna destilovanou vodou po rysku. Hodnota pH byla ověřena pomocí bateriového pH metru.

Tabulka 1 Použité chemikálie a navážky pro přípravu fosfátového pufru (pH = 7,45)

Chemikálie	Množství [g]	Molární koncentrace [mol/l]
NaCl (Mw: 58,44 g/mol)	8,00	0,137
KCl (Mw: 74,55 g/mol)	0,20	0,003
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Mw: 141,96 g/mol)	1,44	0,010
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Mw: 136,09 g/mol)	0,25	0,002

### 7.2 Příprava zeinových roztoků a filmů

#### 7.2.1 Filmy s obsahem kurkuminu Z/CUR

Biopolymerní filmy na bázi kukuřičného proteinu zeinu byly připraveny technikou odlévání z roztoku, přičemž rozpouštědlem byl 96% ethanol. Vypočítané množství zeinu (8,6 g) bylo naváženo na analytických vahách s přesností na 0,0001 g a smícháno s 50 ml 96% ethanolu. Směs byla míchána na magnetickém míchadle (Obr. 15) a zahřívána na cca 70 °C, při 250 ot./min. po dobu 30 minut. Poté, co byly roztoky zeinu zcela homogenní, byly přidány 2 gramy glycerolu a celá směs byla přivedena k varu po dobu 5 minut. Po zchlazení roztoku bylo přidáno vypočtené množství kurkuminu, v rozsahu koncentrací od 0,1 do 0,5 hm. %. Z důvodu špatné rozpustnosti aktivní látky, byly ke směsi přidány 2 kapky surfaktantu Tween 80. Získaná homogenní směs (16 ml) byla odlita do Petriho misek a vložena do sušárny při cca 30 °C po dobu 24 hodin. Jako referenční vzorek sloužil zeinový roztok připravený stejným způsobem, pouze bez přídavku aktivní látky kurkuminu (označen jako Z).

Před dalšími testy byly vzorky filmů uloženy v exsikátoru s relativní vlhkostí 60 %.



Obrázek 15 Příprava roztoku zeinu

### 7.2.2 Filmy s vyšším obsahem glycerolu a kurkuminem Z/GLY/CUR

Tyto vzorky byly připraveny analogickým způsobem jako v kapitole 7.2.1 s tím rozdílem, že bylo přidáno vyšší množství glycerolu (5 hm. %) do 50 ml ethanolu. Referenční vzorek bez obsahu kurkuminu se značil jako Z/GLY.

### 7.2.3 Filmy s obsahem kurkuminu a eugenolu Z/EUG/CUR

Roztok zeinu potřebný pro tvorbu filmů, byl připraven stejným postupem jako v kapitole 7.2.1. Do kádinek o objemu 25 ml bylo naváženo vypočítané množství aktivních látek, které odpovídalo koncentraci 3 hm. % pro eugenol a 0,1, 0,3 a 0,5 hm. % pro kurkumin. Do takto připravené směsi bylo nalito 10 ml připraveného roztoku zeinu, následně byla směs míchána na magnetickém míchadle (teplota 70 °C, při 250 ot./min. po dobu 10 minut). Po získání homogenní směsi byla tato směs odlita do Petriho misky (10 ml) a vložena do sušárny při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin. Stejným způsobem byl připraven srovnávací vzorek s obsahem eugenolu bez kurkuminu (značení Z/EUG).



#### 7.2.4 Filmy s obsahem kurkuminu v poloxameru Z/P/CUR

Částice Poloxameru 407 s aktivní látkou byly připraveny navážením daného množství kurkuminu (koncentrace 0,1, 0,3 a 0,5 hm. %) spolu s poloxamerem (koncentrace 1 hm. %), které byly smíchány s 20 ml 96% ethanolu. Následně byla směs umístěna na míchadlo s ohřevem a homogenizována při teplotě 40 °C po dobu 30 minut. Pro odstranění rozpouštědla byla připravená směs převedena do 100 ml baněk a následně umístěna na vakuovou rotační odparku (6 – 10 minut, 65 ot./min, teplota 60 °C). Po odpaření rozpouštědla byly vzorky vloženy do exsikátoru, který byl uložen do tmy po dobu 24 hodin. Po této době byly vzorky rehydratovány 10 ml destilované vody a vloženy do ultrazvukové lázně na dobu cca 50 minut při teplotě 40 °C. Následně byly vzorky přefiltrovány přes stříkačkový filtr (velikost pórů 1,2 μm) a umístěny do skleněných vialek. Poté bylo odebráno 5 ml přefiltrovaného vzorku, který byl smíchán s 12 ml roztoku zeinu (připraveného dle postupu v kapitole 7.2). Tato směs byla míchána na magnetickém míchadle bez ohřevu po dobu cca 5 – 10 minut a následně přelita (16 ml) na Petriho misku a vložena do sušárny při 30 °C po dobu 24 hodin. Složení jednotlivých vzorků je uvedeno v Tab. 2.

Tabulka 2 Zastoupení jednotlivých složek použitých pro tvorbu filmů na bázi zeinu

Vzorek	Glycerol [hm. %]	Kurkumin [hm. %]	Eugenol [hm. %]	Poloxamer 407 [hm. %]
Z	4	-	-	-
Z/GLY	5	-	-	-
Z/EUG	4	-	3	-
Z/P	4	-	-	1
Z/CUR 0,1	4	0,1	-	-
Z/CUR 0,3	4	0,3	-	-
Z/CUR 0,5	4	0,5	-	-
Z/GLY/CUR 0,1	5	0,1	-	-
Z/GLY/CUR 0,3	5	0,3	-	-
Z/GLY/CUR 0,5	5	0,5	-	-

Tabulka 2 pokrač. Zastoupení jednotlivých složek použitých pro tvorbu filmů na bázi zeinu

<b>Vzorek</b>	<b>Glycerol [hm. %]</b>	<b>Kurkumin [hm. %]</b>	<b>Eugenol [hm. %]</b>	<b>Poloxamer 407 [hm. %]</b>
Z/EUG/CUR 0,1	4	0,1	3	-
Z/EUG/CUR 0,3	4	0,3	3	-
Z/EUG/CUR 0,5	4	0,5	3	-
Z/P/CUR 0,1	4	0,1	-	1
Z/P/CUR 0,3	4	0,3	-	1
Z/P/CUR 0,5	4	0,5	-	1

### 7.3 Měření vlastností roztoků zeinu

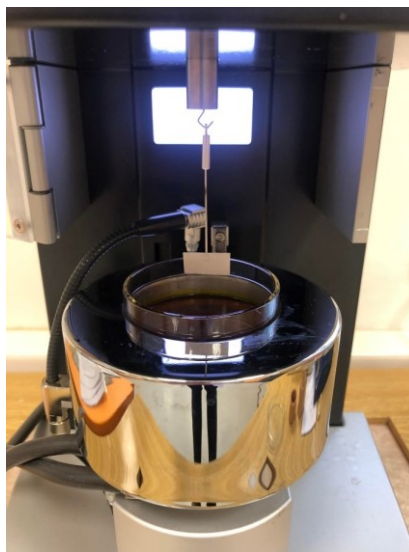
Vlastnosti roztoků byly charakterizovány pomocí měření vodivosti a povrchového napětí. Pro měření byly použity roztoky zeinů bez a s obsahem kurkuminu o koncentraci 0,5 hm. %, které byly připraveny dle postupu uvedeného v kapitole 7.2.1.

#### 7.3.1 Vodivost

Měření vodivosti bylo prováděno pomocí přístroje konduktometru s vodivostní sondou, při  $T=25 \pm 0,5$  °C ve dvou opakováních.

#### 7.3.2 Povrchové napětí

Povrchové napětí připravených zeinových roztoků bylo měřeno pomocí Wilhelmyho destičkové metody na přístroji tenziometru EasyDyne (Obr. 16). Měření bylo prováděno při  $T=26 \pm 0,1$  °C ve dvou opakováních.



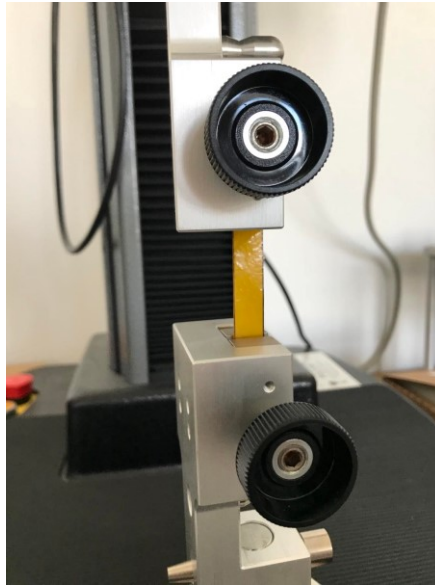
Obrázek 16 Měření povrchového napětí roztoků

## 7.4 Hodnocení mechanických vlastností

Mechanické vlastnosti byly hodnoceny u vzorků filmů Z/CUR, Z/GLY/CUR a Z/EUG/CUR. Jako kontrola sloužil vzorek zeinového filmu bez aktivní látky. Měření bylo realizováno na přístroji texturometru AMETEK TA1, kde byla data vyhodnocena s využitím softwaru NEXYGENPlus.

### 7.4.1 Tahová zkouška

Ze zeinových filmů byly vystříženy proužky o rozměrech 1 x 6 cm, které byly umístěny do oboustranných čelistí texturometru tak, aby pracovní plocha proužku byla cca 1 x 4 cm. Pro lepší přichycení proužků do držáků byla použita oboustranná lepicí páska (Obr. 17). Při této zkoušce byla u jednotlivých filmů hodnocena pevnost v tahu v MPa a procento celkového přetržení. Výsledky byly vyhodnoceny jako průměry ze čtyř měření.



Obrázek 17 Tahová zkouška

#### 7.4.2 Zkouška vpichem

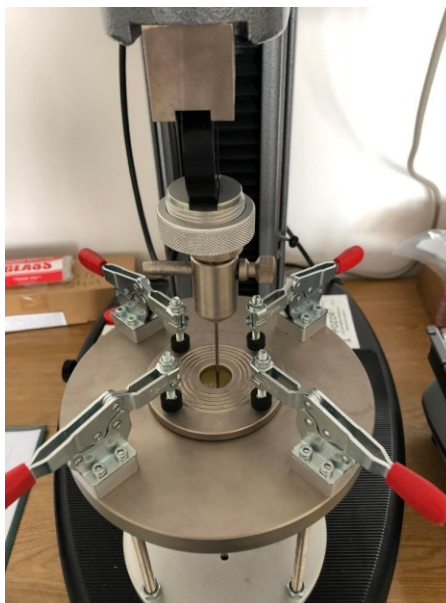
Pro tuto zkoušku byly připraveny vzorky o rozměrech 4 x 4 cm, které byly vloženy mezi dva kovové kruhové nástavce s otvorem o průměru 20 mm. Pro zajištění fixace filmů mezi nástavci, byly připevněny svorky. Pomocí sondy o průměru 2 mm byla měřena deformace (PD) a pevnost při vpichu (PS) zeinových filmů (Obr. 18), která byla vypočítána dle následujícího vzorce (Rovnice 1). Výsledky byly vyhodnoceny jako průměry ze čtyř měření.

$$PS = \frac{F_{max}}{T} [N \cdot mm^{-1}] \quad (1)$$

Kde:

$F_{max}$  – maximální síla při vpichu [N]

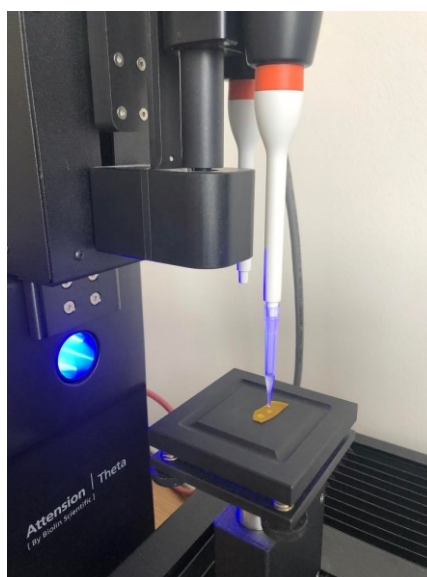
$T$  – průměrná tloušťka vzorku [mm]



Obrázek 18 Zkouška vpichem

## 7.5 Měření kontaktního úhlu

Filmy bez a s obsahem kurkuminu, byly umístěny na podložní stolek optického tenziometru Attension Theta (Biolion Scientific) (Obr. 19). Pomocí metody přisedlé kapky byla analyzována smáčivost daného filmu. Na povrch filmu byla pomocí mikropipety nadávkována kapka destilované vody ( $3\mu\text{l}$ ). Obrazový záznam a naměřené hodnoty byly zpracovávány pomocí softwaru OneAttension. Hodnota kontaktního úhlu pro jednotlivá měření byla odečítána v rozmezí 5. až 6. sekundy. Každý vzorek byl měřen třikrát.



Obrázek 19 Měření kontaktního úhlu

## 7.6 Stanovení propustnosti pro vodní páry

Z připravených zeinových filmů, byly vystřiženy kruhové vzorky o průměru 3,6 cm, které byly umístěny do testovacích misek naplněných 20 ml destilované vody (Obr. 20). Misky byly vloženy do exsikátoru se silikagelem a v hodinových intervalech váženy na analytických vahách (s přesností na 0,0001 g). Stanovení propustnosti bylo provedeno dvakrát vedle sebe. Získané hodnoty hmotností byly použity pro sestavení grafu v závislosti na čase. Z lineární regrese byla vypočítána propustnost pro vodní páry, pomocí následujících vzorců (Rovnice 2):

$$WVT = \frac{k}{A} [g/h \cdot m^2]$$

$$WVP = \frac{WVT}{\Delta p} = \frac{WVT}{S \cdot (R_1 - R_2)} [g/Pa \cdot h \cdot m^2] \quad (2)$$

Kde:

$WVT$  – rychlost přenosu vodní páry [ $g/h \cdot m^2$ ]

$WVP$  – propustnost pro vodní páry [ $g/Pa \cdot h \cdot m^2$ ]

$k$  – ztráta hmotnosti v čase [ $g/h$ ]

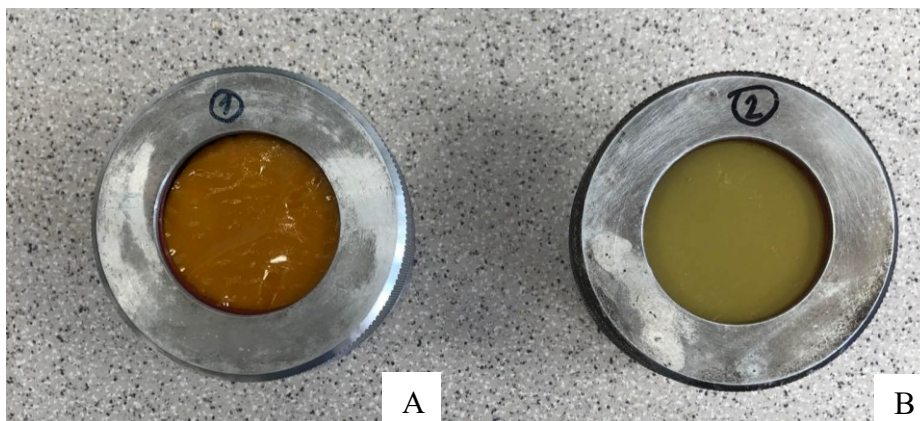
$A$  – plocha vzorku [ $m^2$ ]

$\Delta p$  – rozdíl tlaku vodní páry [ $Pa$ ]

$S$  – tlak nasycené vodní páry [ $Pa$ ]

$R_1$  – relativní vlhkost v testovací misce [%]

$R_2$  – relativní vlhkost prostředí [%]



Obrázek 20 Zeinové filmy umístěné v testovacích miskách: A – film s obsahem 0,5 hm. % kurkuminu, B – kontrolní film bez aktivní látky

## 7.7 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla sledována u vzorků bez aktivní látky a s obsahem 0,5 hm. % kurkuminu. Filmy na bázi zeinu, byly nasekány v množství 0,5 g, do centrifugační plastové zkumavky. Následně byly doplněny methanolem (1,5 ml) a destilovanou vodou v poměru 30:70. Takto připravené vzorky byly umístěny do ultrazvukové lázně s třepačkou po dobu 60 minut při 50 °C. Poté bylo z každé zkumavky odpipetováno 1,5 ml vzorku do Eppendorf zkumavek, které byly vloženy do odstředivky (3 minuty, 14 500 rpm). Připravené extrakty byly použity pro měření absorbance. Měření bylo provedeno třikrát vedle sebe.

### 7.7.1 Příprava zásobního roztoku DPPH a Troloxu

Na analytických vahách bylo naváženo 0,006 g DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl), s přesností na 0,0001 g. Navážená látka byla kvantitativně převedena do 25 ml odměrné baňky a doplněna methanolem po rysku. Pro dosažení lepší rozpustnosti byl připravený roztok vložen do ultrazvukové lázně na 10 minut a poté umístěn do tmy po dobu 1 hodiny. Následně byla u zásobního roztoku DPPH proměřena absorbance při vlnové délce 515 nm, třikrát vedle sebe.

Pro zhotovení kalibrační přímky v rámci stanovení antioxidační aktivity byl použit standard Trolox, který byl navážen na analytických vahách (0,001 g) a následně kvantitativně převeden do 25 ml odměrné baňky a doplněn methanolem po rysku. Zásobní roztok byl vložen do ultrazvukové lázně po dobu 1 minuty. Následně bylo provedeno ředění roztoku methanolem, a to v koncentracích 40, 60, 80, 100, 120, 160 a 200 µg/ml, do Eppendorf zkumavek, které byly umístěny v lednici po dobu 1 hodiny.

### 7.7.2 Měření absorbance vzorků

Do skleněných zkumavek o objemu 8 ml byly odpipetovány 4 ml zásobního roztoku DPPH, k němuž bylo přidáno 210 µl extraktu vzorku (viz podkapitola 7.7). Takto připravené vzorky byly uloženy po dobu 60 minut do tmy. Následně bylo provedeno měření absorbance při vlnové délce 515 nm proti methanolu, a to třikrát vedle sebe.

Stejný postup byl použit i v případě sestavení kalibrační přímky, kdy bylo k roztoku DPPH přidáno 210 µl zásobního roztoku Troloxu, o koncentracích 40, 60, 80, 100, 120, 160 a 200 µg/ml.

## 7.8 Hodnocení antimikrobiální aktivity

Pomocí diskové difúzní metody byla stanovena antimikrobiální aktivita zeinových filmů. Toto hodnocení bylo provedeno u referenčního vzorku bez aktivní látky i u filmů Z/CUR a Z/EUG/CUR, z nichž byly vyseknuty disky o průměru 9 mm. Inhibiční účinek byl testován vůči Gram pozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* a Gram negativní *Escherichia coli*.

V prvním kroku došlo k naředění dané mikrobiální kultury, předem připraveným fyziologickým roztokem, k získání požadované koncentrace 0,5 McF. Takto vzniklé inokulum bylo pipetováno v objemu 1 ml na danou živnou Mueller-Hintonovu půdu. Následně byly na připravenou půdu s inokulem umístěny testované vzorky a poté byly Petriho misky vloženy do termostatu (teplota 37 °C po dobu 24 hodin). Inhibiční zóny byly odečítány jako průměry kolem vzorků.

## 7.9 Test uvolňování kurkuminu

Z vysušených filmů byly vystříhány vzorky o velikosti 2 x 2 cm. Pomocí digitálního mikrometru byla v různých místech změřena tloušťka těchto filmů a zaznamenána hmotnost s přesností na 0,0001 g. Připravené vzorky byly vloženy do 50 ml reagenčních lahví s 20 ml PBS pufru (pH 7,45) s obsahem 0,5 hm. % Tweenu 80. Takto připravené vzorky byly umístěny na třepačku o rychlosti 120 ot./min., při laboratorní teplotě a teplotě 37 °C. Ve stanovených časových intervalech (0,5, 1, 2, 4, 8, 24 až 168 hod.) byly odebírány vzorky (o objemu 1,5 ml) do mikrozkušavek Eppendorf. Odebrané množství bylo vždy opět nahrazeno čerstvým pufrem. Vzorky byly následně analyzovány měřením absorbance na UV-Vis spektrofotometru při vlnové délce 426 nm.

Test uvolňování byl stejným způsobem proveden i na vzorcích zeinových nanovláčkových membrán s kurkuminem, které nám byly dodány z AV ČR v Praze. Cílem bylo srovnat kinetiku uvolňování aktivní látky z filmů a nanovláčků.

## 7.10 FTIR analýza

Struktura připravených zeinových filmů byla analyzována pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) na přístroji Nicolet 6700 s detektorem DTGS KBr. Spektra byla zaznamenávána a vyhodnocena při rozlišení 2 cm<sup>-1</sup> v rozsahu od 4000 do 400 cm<sup>-1</sup>, pomocí softwaru OMNIC Paradigm.

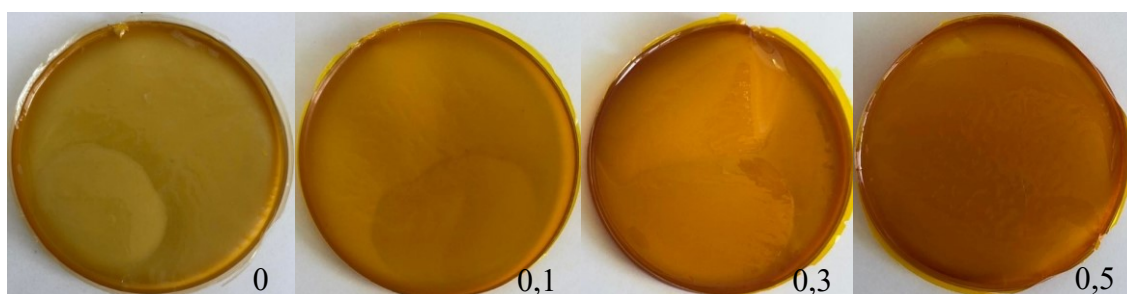


### **7.11 SEM analýza**

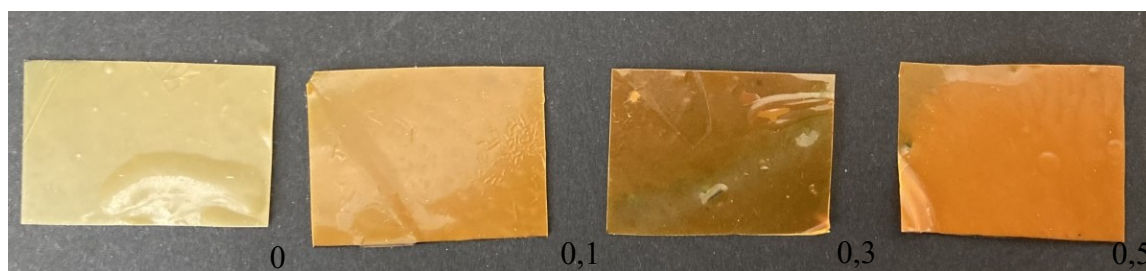
Měření bylo prováděno pomocí SEM mikroskopie na Ústavu pro hydrodynamiku Akademie věd ČR v Praze. Pro tuto metodu byl použit skenovací elektronový mikroskop Vega 3 s vysokým rozlišením (Tescan), na kterém byly analyzovány povrchy a průřezy zeinových filmů s obsahem kurkuminu a poloxameru.

## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

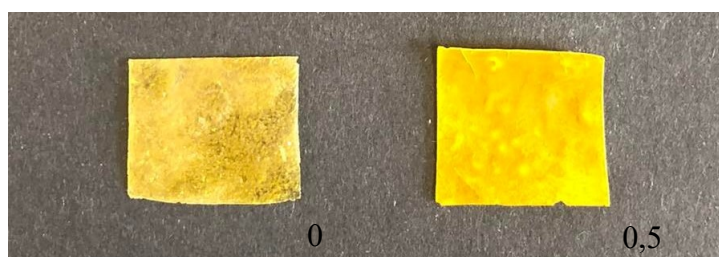
Stěžejní částí této práce byla příprava a charakterizace zeinových filmů s obsahem kurkuminu, případně další aktivní látky. Vzorky řady Z a Z/CUR byly homogenní se žlutým až žlutohnědým barevným odstínem, přičemž sytost barvy se zvyšovala s rostoucí koncentrací kurkuminu (Obr. 21). Kontrolní filmy bez aktivní látky byly obecně dosti křehké, což ztěžovalo jak samotnou manipulaci, tak následná měření, zejména pak mechanické zkoušky. Filmy s obsahem eugenolu byly homogenní, světle až sytě oranžového zbarvení, oproti vzorkům Z a Z/CUR, však vykazovaly vyšší elasticitu (Obr. 22). Vzorky s obsahem kurkuminu inkorporovaného v částicích poloxameru, měly výraznou žlutou barvu a byly značně nehomogenní, v porovnání se vzorky předchozími (Obr. 23).



Obrázek 21 Sada vzorků Z a Z/CUR



Obrázek 22 Sada vzorků Z/EUG a Z/EUG/CUR



Obrázek 23 Sada vzorků Z/P a Z/P/CUR

## 8.1 Měření vlastností roztoků zeinu

Elektrická vodivost a povrchové napětí bylo měřeno u zeinových roztoků bez (Z) a s aktivní látkou (Z/CUR 0,5). Z Tab. 3 je patrné, že vodivost roztoku s přidavkem kurkuminu mírně klesla, z 363 na 347  $\mu\text{S/cm}$ . V případě povrchového napětí byla naměřena hodnota 23,6 mN/m, bez ohledu na to, zda vzorek obsahoval aktivní látku, či ne. Podobných hodnot okolo 24,5 mN/m, bylo dosaženo ve studii Wongsasulak a kol. [55], kteří analyzovali zeinové roztoky. Co se týká elektrické vodivosti, bylo dosaženo vyšších hodnot ve srovnání s naší studií, a to od 510 do 531  $\mu\text{S/cm}$ , v závislosti na koncentraci glycerolu.

Tabulka 3 Hodnoty vodivosti a povrchového napětí zeinových roztoků

Roztoky	Měřené vlastnosti roztoků	
	Vodivost [ $\mu\text{S/cm}$ ]	Povrchové napětí [mN/m]
Destilovaná voda	3	72,1
Z	363	23,6
Z/CUR 0,5	347	23,6

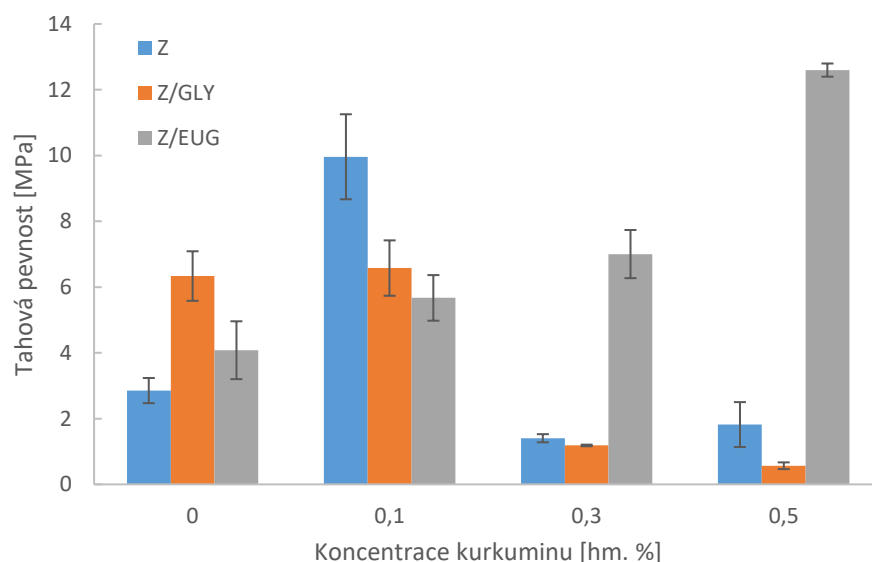
## 8.2 Mechanické vlastnosti

Důležitou charakteristikou polymerních filmů jsou jejich mechanické vlastnosti, které mají významný vliv pro uplatnění v potravinářském i farmaceutickém průmyslu. Konkrétně se jedná například o bioaktivní potravinářské obalové či obvazové materiály, kde zajišťují ohebnost a dostatečnou pružnost daného materiálu. U kontrolního zeinového filmu a vzorků s obsahem aktivních látek byla charakterizována tahová pevnost a prodloužení při přetržení, dále pak pevnost a deformace při vpichu.

### 8.2.1 Tahová zkouška

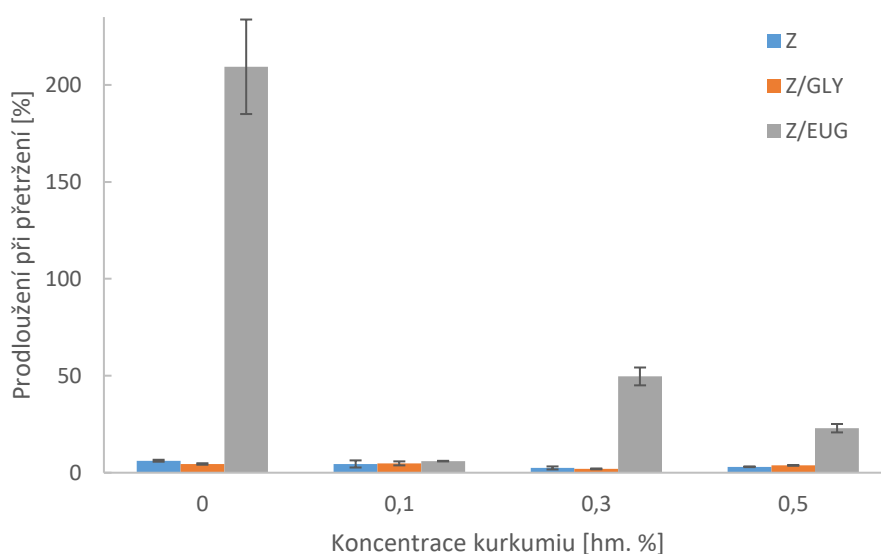
Výsledky tahové zkoušky jednotlivých vzorků jsou znázorněny na Obr. 24. Je patrné, že u vzorků s nižším obsahem glycerolu a kurkuminu (0,1 hm. %) došlo nejdříve k zásadnímu zvýšení (71 %) pevnosti oproti kontrole, zatímco vyšší přídavky kurkuminu způsobily opětovný významný pokles tohoto parametru. Je známo, že inkorporace aktivních látek do polymerní matrice většinou vyvolá zhoršení mechanických vlastností, v důsledku narušení polymerní struktury [56]. Podobný trend se projevil v práci [57], kde autoři studovali

systemy na bázi zeinu a kaseinátu sodného v různých poměrech s obsahem kurkuminu. Příznivě se zde projevila zvyšující se koncentrace zeinu, kdy došlo ke zvýšení tahové pevnosti, zřejmě v důsledku silných hydrofobních interakcí mezi molekulami zeinu. Z důvodu poměrně vysoké křehkosti filmů (sady Z a Z/CUR), bylo navýšeno množství glycerolu jako plastifikátoru (vzorky Z/GLY a Z/GLY/CUR). Tento přírůstek se pozitivně projevil pouze u kontrolního filmu bez přidaného kurkuminu, kdy došlo až k dvojnásobnému nárůstu pevnosti (z 2,9 na 6,3 MPa). Na druhou stranu, u vzorků s obsahem kurkuminu měl přírůstek glycerolu opačný efekt, tj. došlo k poklesu pevnosti (téměř o 91 % u vzorku s nejvyšší testovanou koncentrací kurkuminu 0,5 hm. %). Za účelem optimalizace mechanických vlastností byla připravena další sada vzorků, s obsahem eugenolu (sada Z/EUG a Z/EUG/CUR). Z grafu je patrné, že přírůstek eugenolu se velmi pozitivně projevil při tahové zkoušce, kdy největší pevnost v tahu, která je definovaná jako maximální napětí vyvíjené na vzorek, vykazoval právě film s eugenolem a nejvyšším množstvím kurkuminu (Z/EUG/CUR 0,5). Rozdíl mezi vzorkem Z/GLY/CUR 0,5 a Z/EUG/CUR 0,5 činil až 96 %. Obecně lze tedy konstatovat, že u filmů s obsahem eugenolu docházelo s rostoucí koncentrací kurkuminu k zásadnímu zlepšení tahové pevnosti.



Obrázek 24 Tahová pevnost filmů na bázi zeinů bez a s obsahem aktivních látek

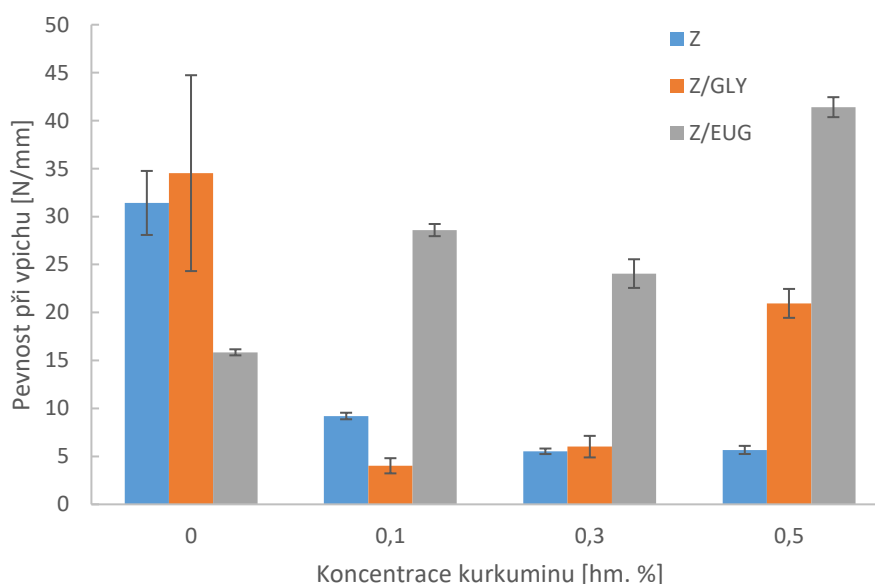
Zvýšení koncentrace glycerolu se nijak zásadně neprojeví ani na další hodnocené charakteristice, prodloužení při přetržení, která udává stupeň pružnosti a elasticity materiálu. Na druhou stranu, přídavek eugenolu vedl k dramatickému zvýšení elasticity (Obr. 25). U kontrolního filmu bez kurkuminu (Z/EUG) bylo prodloužení zvýšeno až o 97 %, ve srovnání se vzorkem bez eugenolu (Z). I v případě filmů s 0,3 a 0,5 hm. % kurkuminu došlo ke zvýšení hodnot, a to až o 95 a 87 % oproti filmům Z/CUR 0,3 a Z/CUR 0,5. Výrazné zvýšení elasticity zeinových filmů v přítomnosti eugenolu, resp. eugenolu a monolaurinu bylo zaznamenáno autory studie [58]. Stejně jako v případě pevnosti v tahu lze potvrdit pozitivní vliv eugenolu na elastické vlastnosti filmů s kurkuminem. Tyto plastifikační vlastnosti eugenolu je možné vysvětlit přítomností vodíkových vazeb nacházejících se mezi hydroxylovými skupinami fenolických sloučenin a peptidovými karbonylovými skupinami zeinového proteinu [58].



Obrázek 25 Prodloužení při přetržení filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivních látek

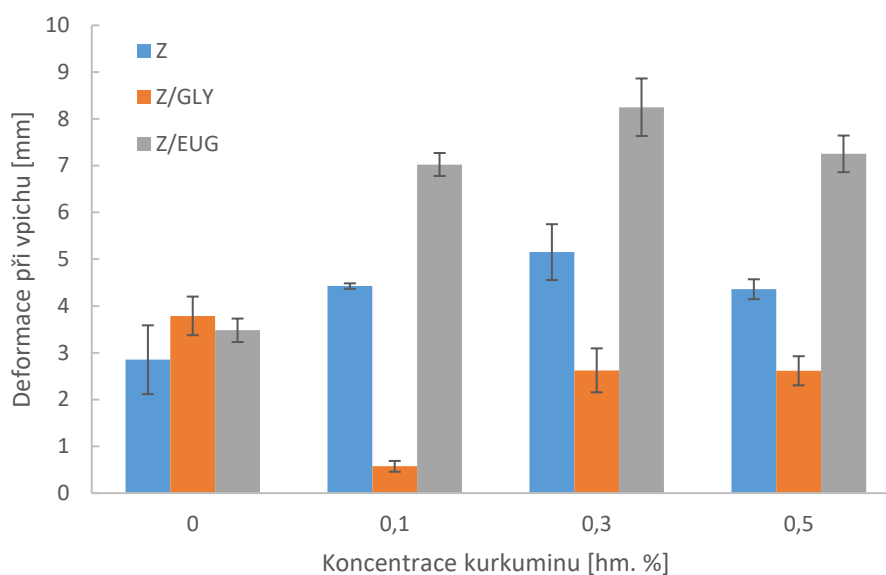
### 8.2.2 Měření vpichu

Níže uvedený graf (Obr. 26) znázorňuje výsledky měření pevnosti při vpichu zeinových filmů bez a s obsahem jednotlivých aktivních látek. Dle teoretického předpokladu došlo ke snížení pevnosti při vpichu u modifikovaných vzorků bez obsahu eugenolu, při srovnání s kontrolou. Nejvýznamnější snížení je patrné u směsi Z/GLY/CUR 0,1. Opačný jev je patrný u vzorků s eugenolem. Podobně, jako v případě pevnosti v tahu lze zde pozorovat zvýšení hodnot, přičemž největší nárůst (na 41 N/mm) byl dosažen u filmu Z/EUG/CUR 0,5. Opět lze tedy potvrdit pozitivní vliv přídatku eugenolu na mechanické vlastnosti zeinových filmů s kurkuminem.



Obrázek 26 Pevnost při vpichu u filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivní látky

Z výsledků měření deformace při vpichu (Obr. 27) lze pozorovat nárůst hodnot u filmů s nižším obsahem glycerolu (Z/CUR) a směsí s eugenolem (Z/EUG/CUR), oproti referenci bez kurkuminu. Překvapivě u vzorků s vyšší koncentrací glycerolu došlo naopak k poklesu hodnot deformace při vpichu v porovnání s kontrolním filmem. Nejvýznamnější snížení (85 %) bylo zaznamenáno u filmu Z/GLY/CUR 0,1. Inkorporace eugenolu opět zapříčinila zásadní zvýšení u vzorků s 0,3 a 0,5 hm. % kurkuminu, kdy hodnoty deformace při vpichu byly zhruba dvojnásobné oproti kontrolnímu filmu Z/EUG.

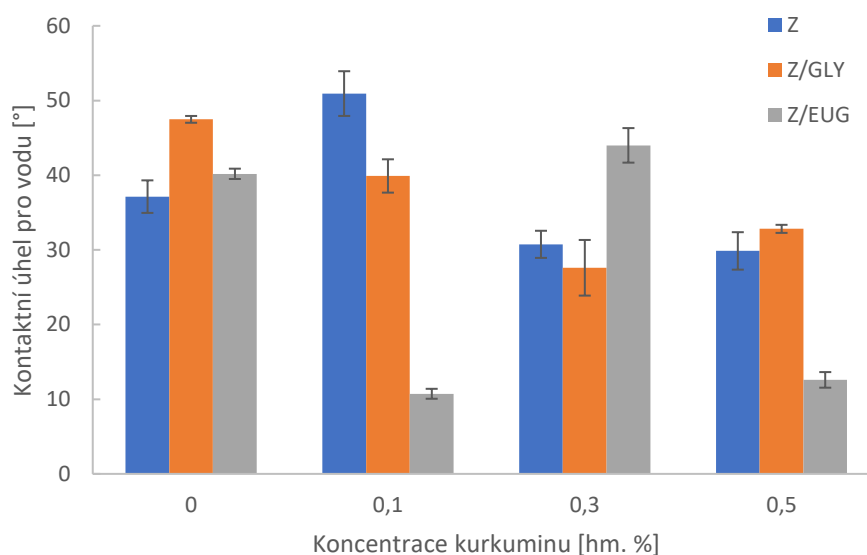


Obrázek 27 Deformace při vpichu u filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivní látky

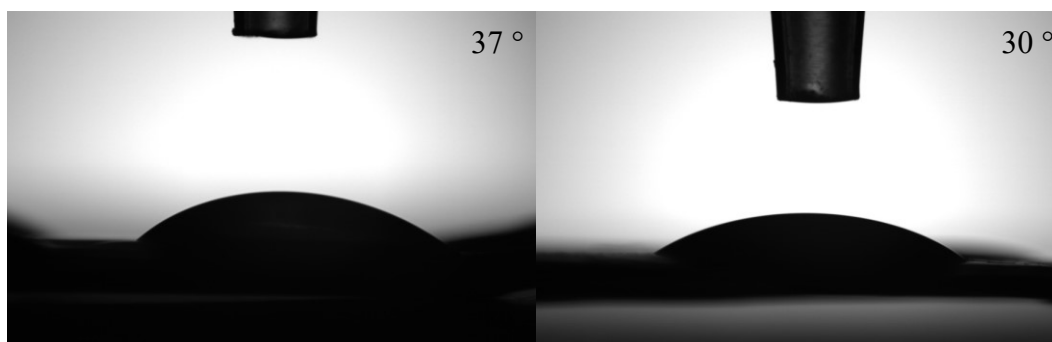
### 8.3 Měření kontaktního úhlu

Povrchové vlastnosti zeinových filmů byly charakterizovány měřením velikosti kontaktního úhlu metodou přisedlé kapky vody. Obecně je známo, že povrchy mohou být hydrofilní nebo hydrofobní. Jelikož použité aktivní látky (kurkumin a eugenol) jsou hydrofobní povahy, dalo by se očekávat, že u testovaných vrstev dojde ke zvýšení hydrofobicity, tj. hodnot kontaktního úhlu. Tento fakt ovšem z výsledků nebyl jednoznačně potvrzen. Naopak došlo ve většině případů ke snížení smáčecího úhlu pro vodu (Obr. 28), indikující zvýšení hydrofility. Hodnoty kontaktních úhlů filmů bez kurkuminu se pohybovaly od 37 do 47° bez ohledu na to, zda vzorek obsahoval nižší, či vyšší obsah glycerolu, případně eugenol. Přídavkem nejnižší koncentrace kurkuminu (0,1 hm. %) do vzorků řady s označením Z došlo k nárůstu kontaktního úhlu na cca 51°, který ale s rostoucí koncentrací aktivní látky opětovně klesl (Obr. 28). Téměř stejný jev byl pozorován také u filmů s vyšším množstvím glycerolu (Z/GLY). Tato fakta však nejsou v souladu se studií Chiaoparakobkij a kol. [59], ve které byl u kompozitních polymerních filmů na bázi celulózy, alginátu a želatiny s obsahem kurkuminu (o koncentracích řádově odpovídajících našim vzorkům) sledován stoupající trend kontaktního úhlu se zvyšující se koncentrací aktivní látky.

U filmů s přídavkem 3 hm. % eugenolu lze vidět značné kolísání hodnot, v závislosti na množství kurkuminu. Zatímco u nejnižší a nejvyšší koncentrace kurkuminu (0,1 a 0,5 hm. %) došlo k výraznému snížení kontaktního úhlu oproti kontrole (o 73 a 69 %), u vzorku Z/EUG/CUR 0,3 se úhel smáčení opět značně zvýšil (nad hodnotu stanovenou u směsi bez kurkuminu). Je evidentní, že je třeba vzít v potaz více faktorů, které mohou ovlivnit vzájemné interakce mezi jednotlivými složkami a následně pak povrchové vlastnosti polymerního filmu. Přesto lze potvrdit, že všechny vzorky vykazovaly hydrofilní charakter, což lze považovat za pozitivní aspekt při vývoji nosičů aktivních látek, které by měly být schopny adherovat k povrchům a zajistit tak požadovaný kontakt po dostatečně dlouhou dobu. Smáčivost povrchů také ovlivňuje adhezi proteinů a buněčnou proliferaci [59]. Fotografie kapek pořízené z 5. až 6. minuty měření lze vidět na Obr. 29 až 31, z nichž je patrné zvýšení smáčivosti povrchu filmů po inkorporaci aktivní látky.

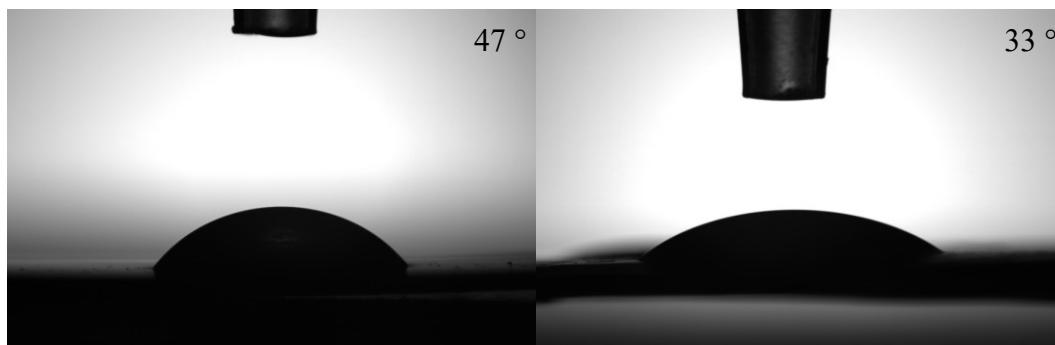


Obrázek 28 Kontaktní úhel filmů na bázi zeinů bez a s obsahem aktivních látek

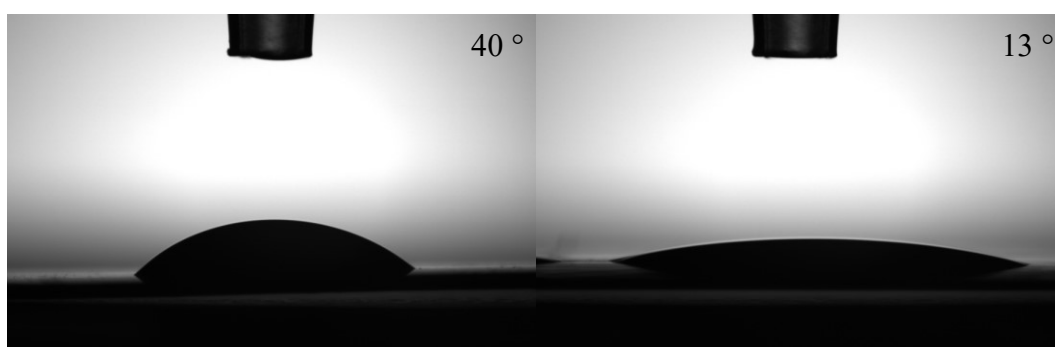


Obrázek 29 Profily kapek směsí Z a Z/CUR 0,5





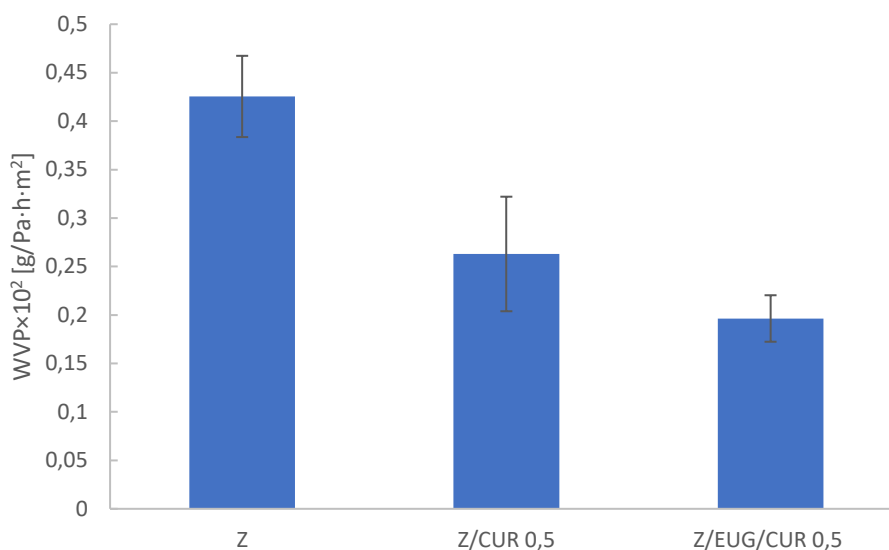
Obrázek 30 Profily kapek směsí Z/GLY a Z/GLY/CUR 0,5



Obrázek 31 Profily kapek směsí Z/EUG a Z/EUG/CUR 0,5

#### 8.4 Stanovení propustnosti pro vodní páry

Propustnost pro vodní páry (WVP) je hlavním parametrem pro obalové materiály potravin, kdy by její hodnoty měly být co nejnižší. Z grafu (Obr. 32) je patrné, že největší hodnotu propustnosti ( $0,4 \text{ g/Pa}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^2$ ) vykazoval kontrolní film, tedy film bez aktivních látek. U filmů modifikovaných kurkuminem, resp. kurkuminem a eugenolem (Z/CUR 0,5 a Z/EUG/CUR 0,5) došlo k výraznému poklesu hodnot WVP, a to o 38 a 53 %. Je tedy zřejmé, že modifikace filmů prostřednictvím vybraných hydrofobních aktivních látek má pozitivní vliv na snížení propustnosti pro vodní páry a tedy zlepšení bariérových vlastností. Vliv přídavku aktivních látek a esenciálních olejů do polymerních filmů byl sledován v mnoha studiích. Perdones a kol. [60] se zabývali přípravou a charakterizací filmů na bázi chitosanu s obsahem bazalkového a tymiánového esenciálního oleje v kombinaci s kyselinou olejovou, kdy přídavek těchto látek výrazně zlepšil propustnost pro vodní páry. Podobně ve studii [58], v níž byly analyzovány filmy na bázi zeinu s obsahem směsi monolaurin/eugenol a esenciálních olejů, bylo taktéž dosaženo snížení WVP oproti filmům nemodifikovaným.



Obrázek 32 Propustnost pro vodní páry filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivních látek

## 8.5 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita filmů na bázi zeinu bez a s obsahem 0,5 hm. % kurkuminu byla stanovena spektrofotometricky pomocí DPPH metody. Kalibrační přímka (Obr. 33) byla sestavena jako závislost úbytku absorbance, vyjádřená v procentech, v závislosti na koncentraci Troloxu (příprava roztoků uvedena v kapitole 7.7.2).

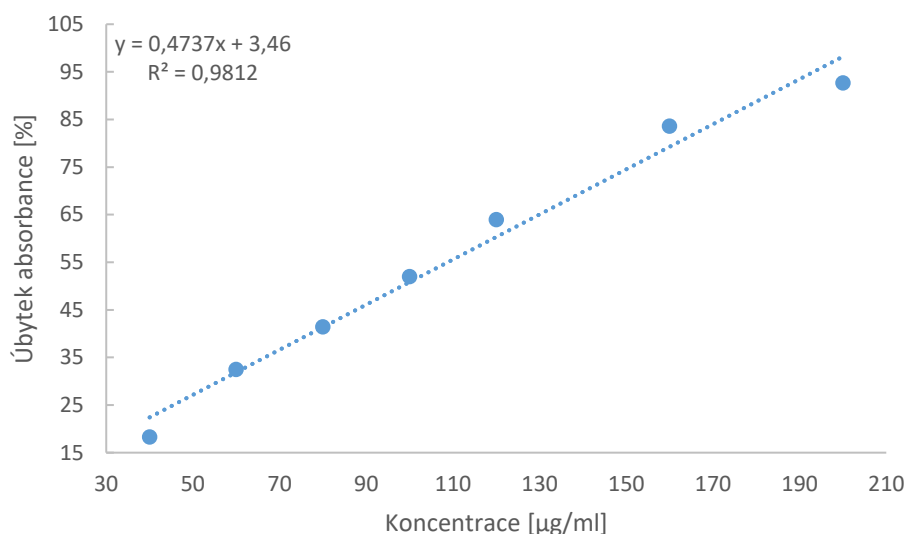
Procentuální úbytek absorbancí, potřebný pro sestavení kalibrační přímky a stanovení obsahu antioxidačních látek, byl vypočítán dle vzorce (Rovnice 3):

$$\text{Úbytek absorbance (\%)}: \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (3)$$

Kde:

$A_0$  – hodnoty absorbance pracovního roztoku DPPH

$A_1$  – hodnoty absorbance testovaných vzorků



Obrázek 33 Kalibrační přímka zásobního roztoku Troloxu měřená při vlnové délce 515 nm

V Tab. 4 jsou uvedeny vypočítané hodnoty úbytku absorbancí a průměrný obsah antioxidantních látek v testovaných zeinových filmech. Z výsledků je zřejmé, že u filmu s obsahem kurkuminu došlo k významnějšímu úbytku absorbance (34 %), oproti filmu bez aktivní látky (19 %). Co se týká množství antioxidantů, zeinový film modifikovaný kurkuminem obsahoval téměř dvojnásobné množství, v porovnání s kontrolní směsí. Ve studii [57], byla hodnocena antioxidantní aktivita pomocí DPPH metody u filmů na bázi zeinu s kaseinátem sodným (NaCas/zein) a obsahem kurkuminu. Inkorporací kurkuminu do systému NaCas/zein byly získány vyšší hodnoty úbytku absorbance pohybující se v rozmezí 41 až 56 % oproti filmům bez kurkuminu, kde tato hodnota dosahovala hodnoty 7 %.

Antioxidantní aktivita kurkuminu souvisí s existencí ortho-methoxy skupin, které jsou součástí jejich chemické struktury. Tyto skupiny jsou schopny tvořit intramolekulární vodíkové vazby s fenolickým vodíkem, díky čemuž dochází k snadnému oddělení atomu vodíku z ortho-methoxyfenolů [61]. Hypoteticky mohlo u námi připravených formulací dojít k částečné degradaci kurkuminu, což pak vedlo ke slabším antioxidantním účinkům.

Tabulka 4 Antioxidační aktivita zeinových filmů

Vzorek	Úbytek absorbance [%]	Průměrný obsah antioxidačních látek ve vzorku [mg/g]
Z	19,46 ± 0,90	0,34 ± 0,02
Z/CUR 0,5	33,82 ± 0,83	0,64 ± 0,02

## 8.6 Hodnocení antibakteriální aktivity

Antibakteriální účinnost polymerních filmů je dalším klíčovým parametrem pro použití v bioaktivních obalech. Pro stanovení byla vybrána disková difúzní metoda, pomocí níž jsou sledovány inhibiční zóny okolo vzorků. Testovanými mikroorganismy byly Gram pozitivní a Gram negativní bakterie *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*.

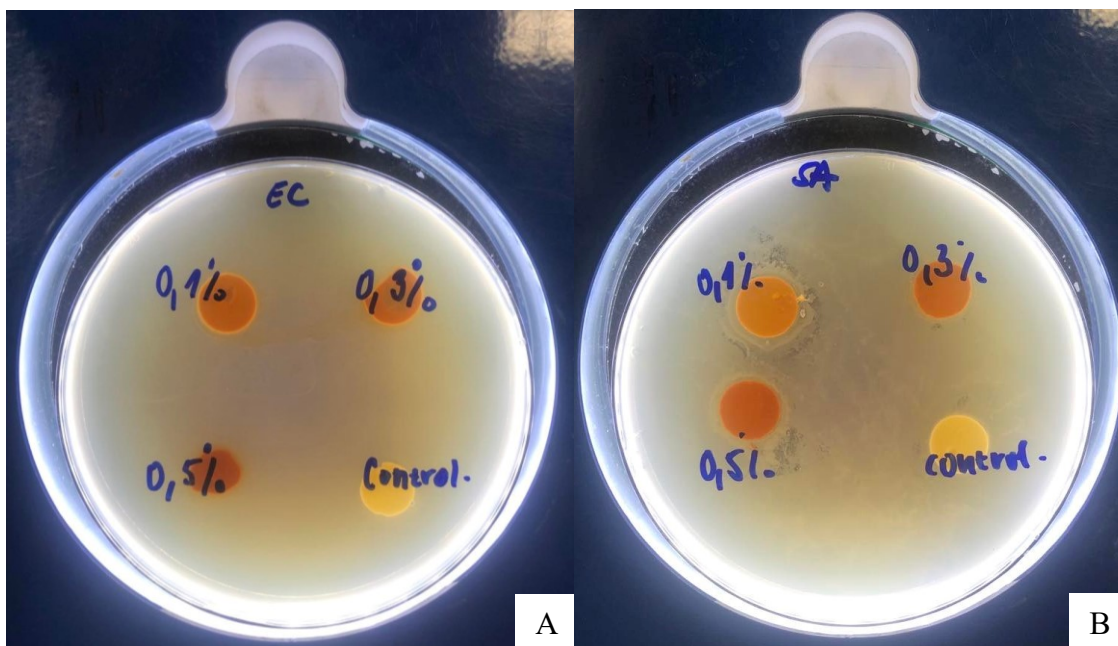
V případě zeinových filmů bez a s obsahem jednotlivých koncentrací kurkuminu, testovaných vůči oběma typům mikroorganismů, nebyly pozorovány inhibiční zóny (Obr. 34). Podobný závěr, tj. žádná inhibiční aktivita vůči stejné dvojici mikroorganismů, byl dosažen autory Musso a kol. [62], kteří testovali želatinový film s obsahem 0,02 % kurkuminu.

Na druhou stranu, řada studií dokládá antimikrobiální účinky kurkuminu inkorporovaného do polymerních matic. Například Manna a kol. [63] pomocí diskové difúzní metody prokázali, že filmy na bázi guarové gumy a želatiny s obsahem kurkuminu účinně inhibují růst jak Gram pozitivních, tak Gram negativních bakterií. Antibakteriální a antifungální aktivita filmů na bázi chitosanu s obsahem kurkuminu byla prokázána i v práci Bajpai a kol. [64].

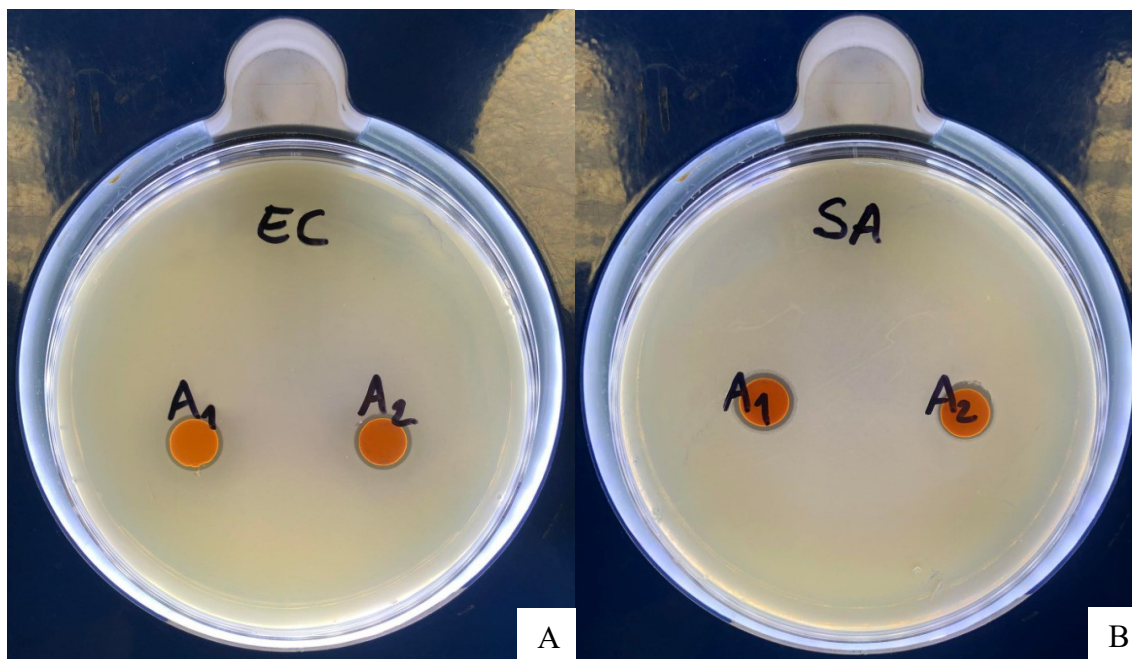
Je tedy patrné, že u námi studovaných filmů na bázi zeinu s kurkuminem, za daných podmínek nedocházelo k difúzi aktivní látky do prostředí. Nepřítomnost inhibičních zón může být důsledkem jeho nízké koncentrace. Ovšem vzhledem k tomu, že námi testované koncentrace (0,1 až 0,5 hm. %) odpovídají řádově množství kurkuminu ve studovaných polymerních systémech [63, 64], mohou být důvodem nedostatečné inhibiční aktivity případné degradační mechanismy kurkuminu způsobené citlivostí vůči světlu či například alkalickému prostředí [65].

Disková difúzní metoda byla využita i k hodnocení zeinových filmů s obsahem eugenolu (Z/EUG a Z/EUG/CUR). V porovnání s výše zmíněnými vzorky byla u těchto filmů pozorována mírná antibakteriální účinnost, přičemž z výsledků je patrné, že eugenol v dané směsi hrál klíčovou roli (Tab. 5). Překvapivě byla zaznamenána o něco vyšší aktivita vůči Gram negativní bakterii *Escherichia coli*, jak je patrné i z Obr. 36 a 37, přestože řada studií dokládá vyšší účinnost esenciálních olejů a fenolických látek vůči Gram pozitivním mikroorganismům. Jedná se například o práce [66] a [67], kde byly zkoumány esenciální oleje tymiánu a hřebíčku.

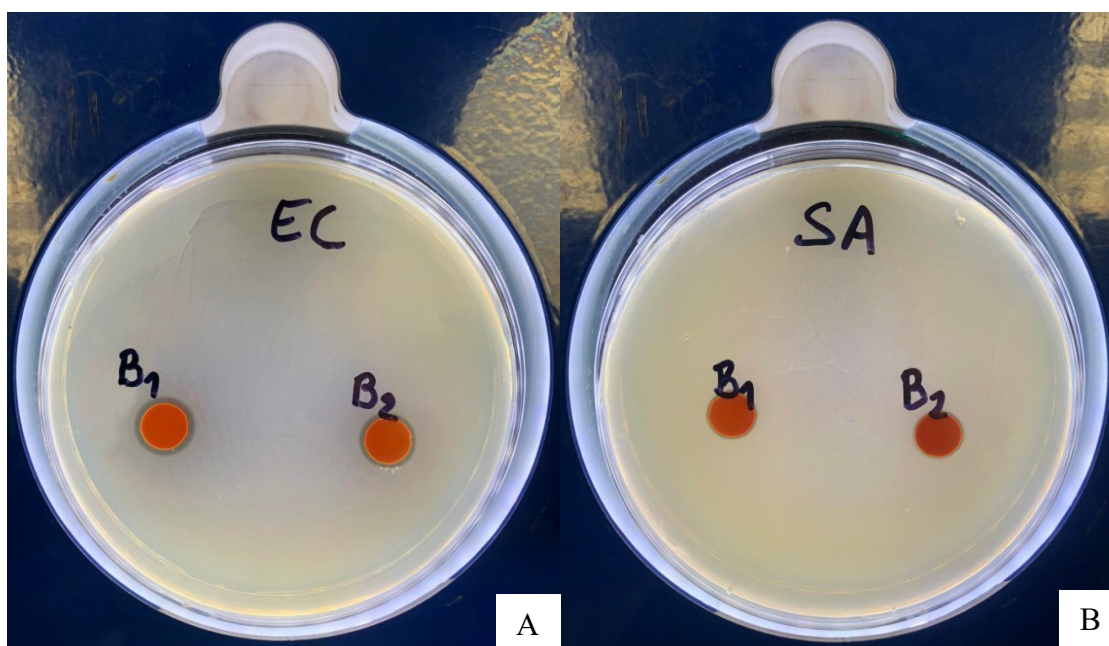
Na základě získaných výsledků lze s jistotou konstatovat, že přidavek eugenolu měl pozitivní vliv na antibakteriální aktivitu filmů s obsahem kurkuminu.



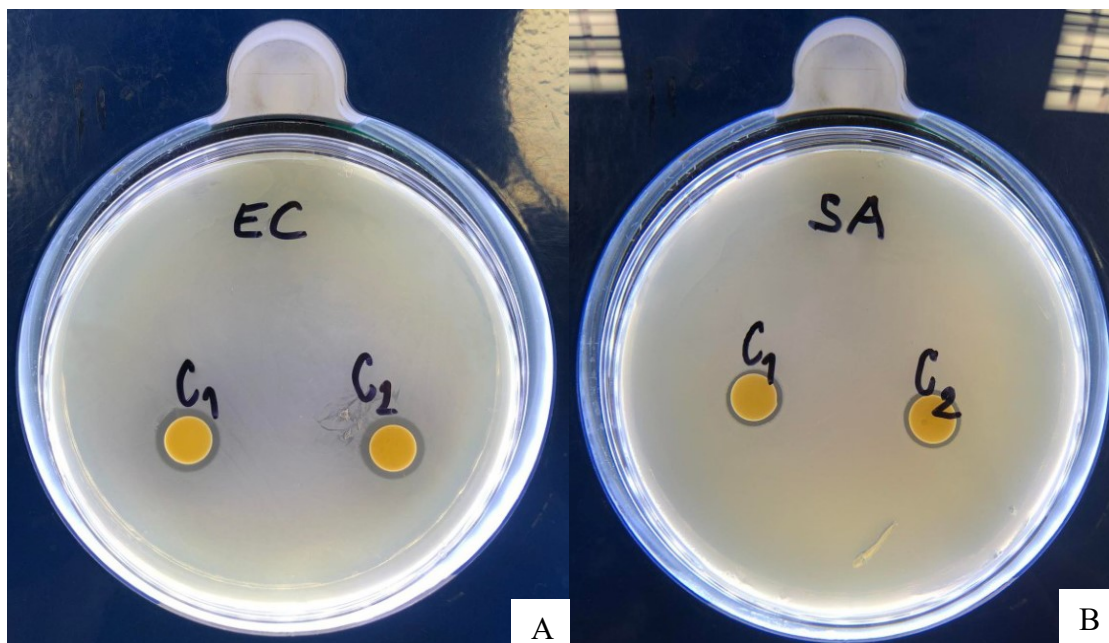
Obrázek 34 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/CUR 0,1 až 0,5 proti mikroorganismům: A – *Escherichia Coli* a B – *Staphylococcus aureus*



Obrázek 35 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/EUG/CUR 0,1 proti mikroorganismům: A – *Escherichia coli* a B – *Staphylococcus aureus*



Obrázek 36 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/EUG/CUR 0,5 proti mikroorganismům: A – *Escherichia coli* a B – *Staphylococcus aureus*



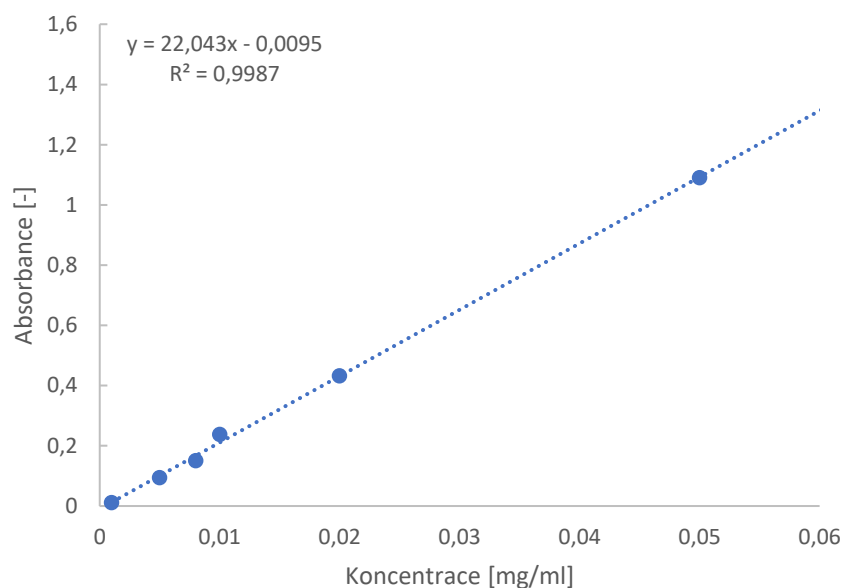
Obrázek 37 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/EUG proti mikroorganismům: A – *Escherichia coli* a B – *Staphylococcus aureus*

Tabulka 5 Velikost inhibičních zón zeinových vzorků

Vzorek	Průměr zóny [mm]	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Z/EUG/CUR 0,1	10 ± 0,01	11 ± 0,01
Z/EUG/CUR 0,5	11 ± 0,01	9,5 ± 0,01
Z/EUG	12 ± 0,01	10 ± 0,01

## 8.7 Test uvolňování kurkuminu

Dialyzační metodou byl proveden test uvolňování kurkuminu *in vitro*, v prostředí PBS pufru o pH 7,45 s obsahem 0,5 hm. % Tweenu 80. Nejdříve byla stanovena maximální vlnová délka pro kurkumin (426 nm) a následně byla provedena kalibrace (Obr. 38).



Obrázek 38 Kalibrační přímka pro kurkumin měřená při vlnové délce 426 nm

Ze získaných hodnot absorpací z jednotlivých odběrů, byly následně sestaveny grafy závislosti kumulativní koncentrace na čase. Křivky byly poté hodnoceny prostřednictvím kinetického modelu prvního řádu (Rovnice 4). Metodou nejmenších čtverců s použitím subprogramu Řešitel v Microsoft Excel 2016 byla zpracována regrese. Příklad grafu závislosti kumulativní koncentrace na čase s proloženou funkcí je znázorněn na Obr. 39.

$$C_{REL} = C_{MAX} \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (4)$$

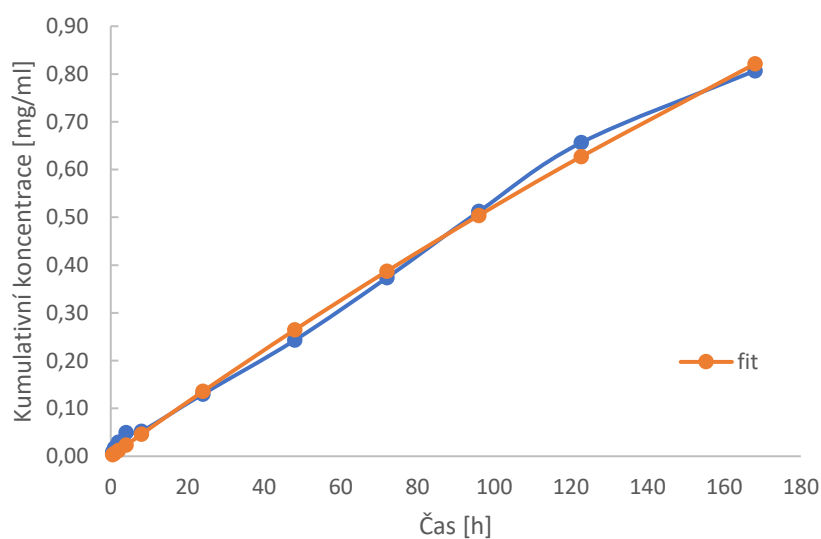
Kde:

$C_{REL}$  – koncentrace aktivní látky, uvolněné v čase  $t$

$C_{MAX}$  – maximální koncentrace aktivní látky

$k$  – rychlostní konstanta





Obrázek 39 Grafické znázornění fitování kinetickým modelem 1. řádu pro Z/CUR 0,1 při 37 °C

### 8.7.1 Testování filmů Z/CUR

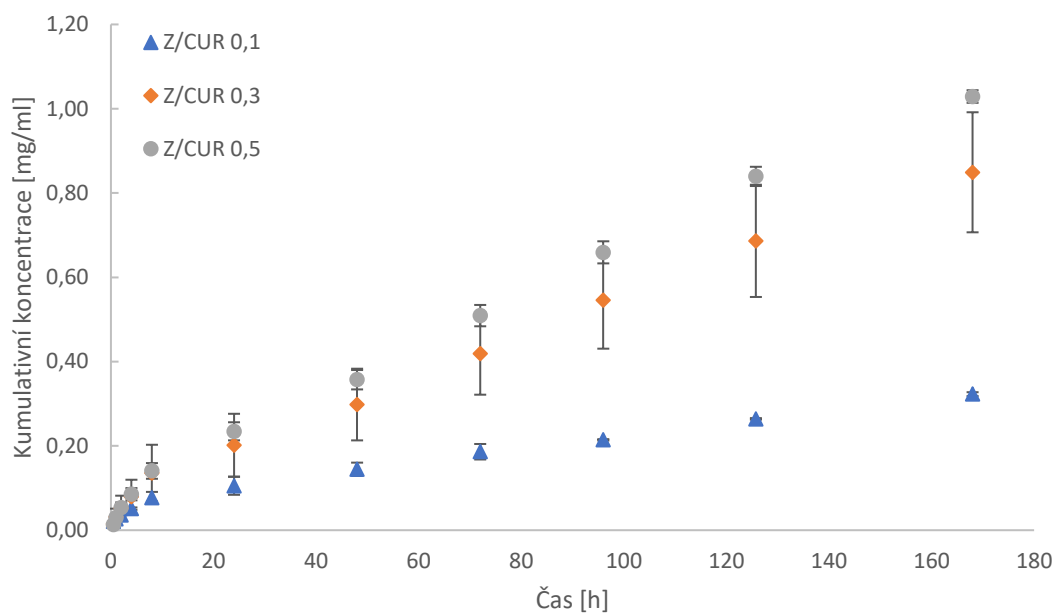
Z hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu ze vzorků Z/CUR a konstant uvedených v Tab. 6 a 7 vyplývá, že hodnoty maximální koncentrace  $C_{MAX}$  rostou přímo úměrně se zvyšující se koncentrací kurkuminu ve směsi, a to od 0,6 do 2 mg/ml pro teplotu 25 °C a od 2,6 do 9 mg/ml v případě teploty 37 °C. Přestože vyšší maximální koncentrace byly zaznamenány při 37 °C, z rychlostních konstant je patrné, že těchto hodnot bylo dosaženo rychleji při nižší teplotě 25 °C. Trendy jednotlivých křivek lze pozorovat na Obr. 40 a 41, přičemž maximální procentuální uvolněné množství činilo cca 70 % pro 25 °C a více jak 100 % pro 37 °C.

Tabulka 6 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu při 25 °C

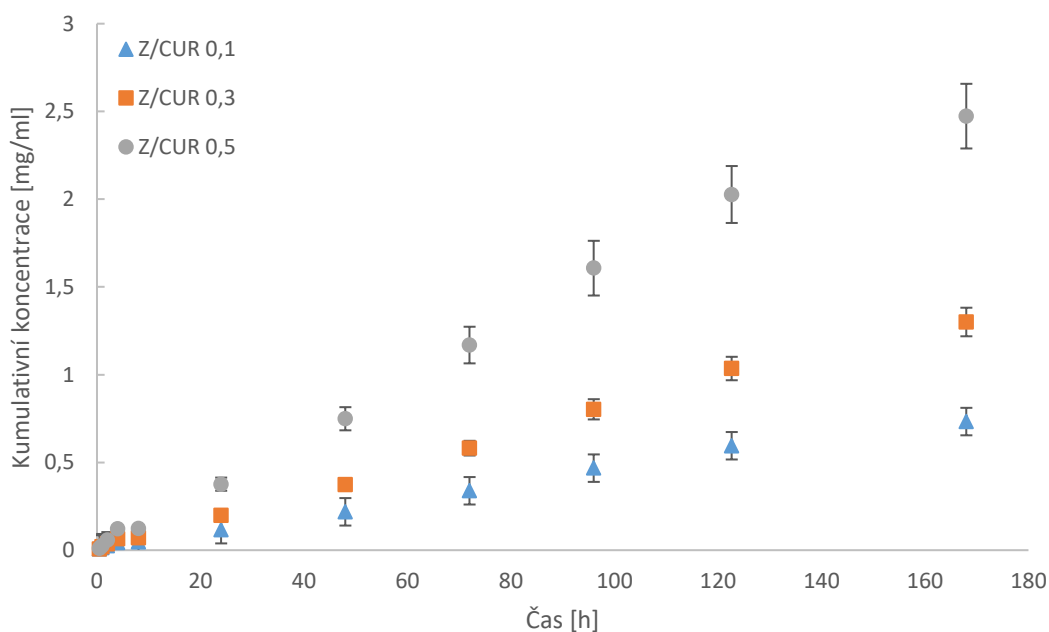
Vzorek	$C_{MAX}$ [mg/ml]	$-k \cdot 10^{-3}$ [1/h]	$r^2$
Z/CUR 0,1	0,58	9,37	0,99
Z/CUR 0,3	1,69	4,69	0,99
Z/CUR 0,5	1,96	5,02	0,99

Tabulka 7 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu při 37 °C

Vzorek	C <sub>MAX</sub> [mg/ml]	-k · 10 <sup>-3</sup> [1/h]	r <sup>2</sup>
Z/CUR 0,1	2,58	2,03	0,99
Z/CUR 0,3	6,59	1,33	0,99
Z/CUR 0,5	9,16	2,22	0,99



Obrázek 40 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu při 25 °C



Obrázek 41 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu při 37 °C

### 8.7.2 Testování filmů Z/P/CUR

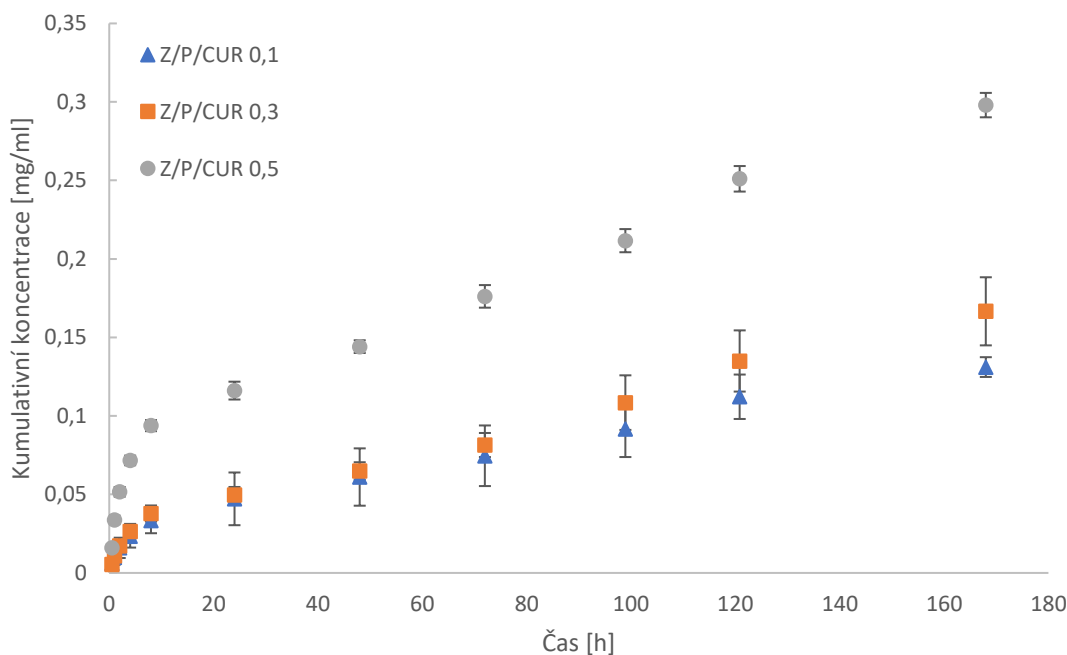
V případě filmů, kde byl kurkumin enkapsulován do částic poloxameru a pak teprve inkorporován do zeinového filmu, lze pozorovat výrazné snížení hodnot maximální koncentrace, oproti předchozí formulaci. Při teplotě 25 °C se hodnoty  $C_{MAX}$  pohybovaly v rozmezí od 0,2 do 0,3 mg/ml (Tab. 8). Při vyšší teplotě testování došlo k jejich nárůstu, i když ne k tak zásadnímu jako u vzorků Z/CUR (Tab. 9). Hodnoty rychlostních konstant se v případě obou teplot pohybovaly od 6 do 9,5 h<sup>-1</sup>. Výjimku tvořila formulace s nejvyšší koncentrací kurkuminu 0,5 hm. % testovaná při 25 °C, kdy rychlostní konstanta byla o řád vyšší (Tab. 8). Je ovšem nutno zmínit, že v tomto případě byl průběh uvolňování odlišný a proložení funkcí dle modelu prvního řádu bylo méně přesné, což dokládá i nižší korelační koeficient. Maximální uvolněná množství činila pouze 20 a 37 % pro nižší a vyšší testovanou teplotu. Trendy křivek získaných testem uvolňování ze systémů s obsahem poloxameru a kurkuminu jsou patrné z Obr. 42 a 43.

Tabulka 8 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru (P407) při 25 °C

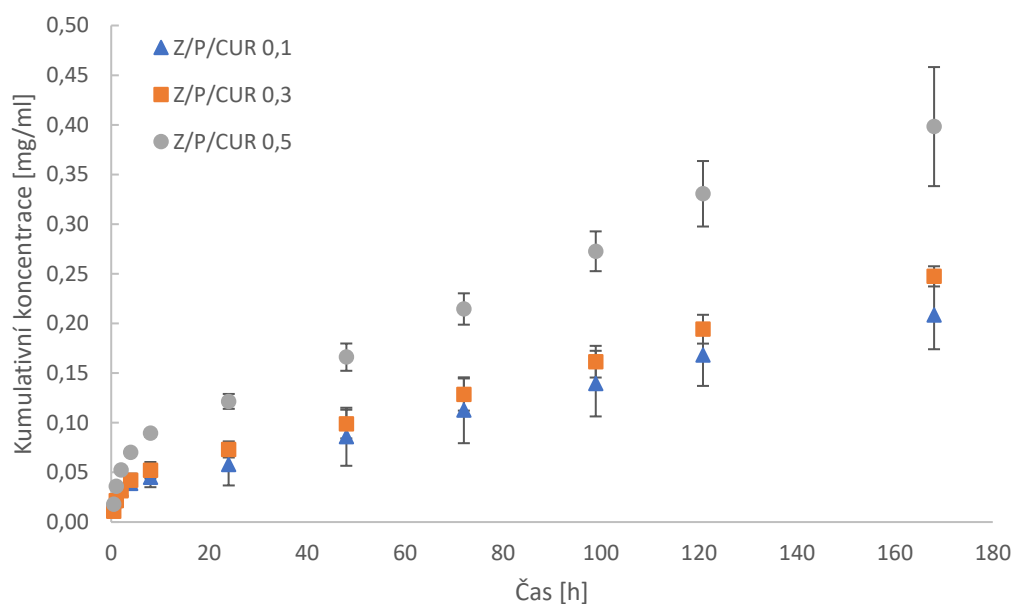
Vzorek	$C_{MAX}$ [mg/ml]	$-k \cdot 10^{-3}$ [1/h]	$r^2$
Z/P/CUR 0,1	0,16	6,05	0,99
Z/P/CUR 0,3	0,23	7,21	0,99
Z/P/CUR 0,5	0,29	17,00	0,97

Tabulka 9 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru (P407) při 37 °C

Vzorek	$C_{MAX}$ [mg/ml]	$-k \cdot 10^{-3}$ [1/h]	$r^2$
Z/P/CUR 0,1	0,28	8,57	0,99
Z/P/CUR 0,3	0,33	7,90	0,99
Z/P/CUR 0,5	0,50	9,47	0,99



Obrázek 42 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru (P407) při 25 °C



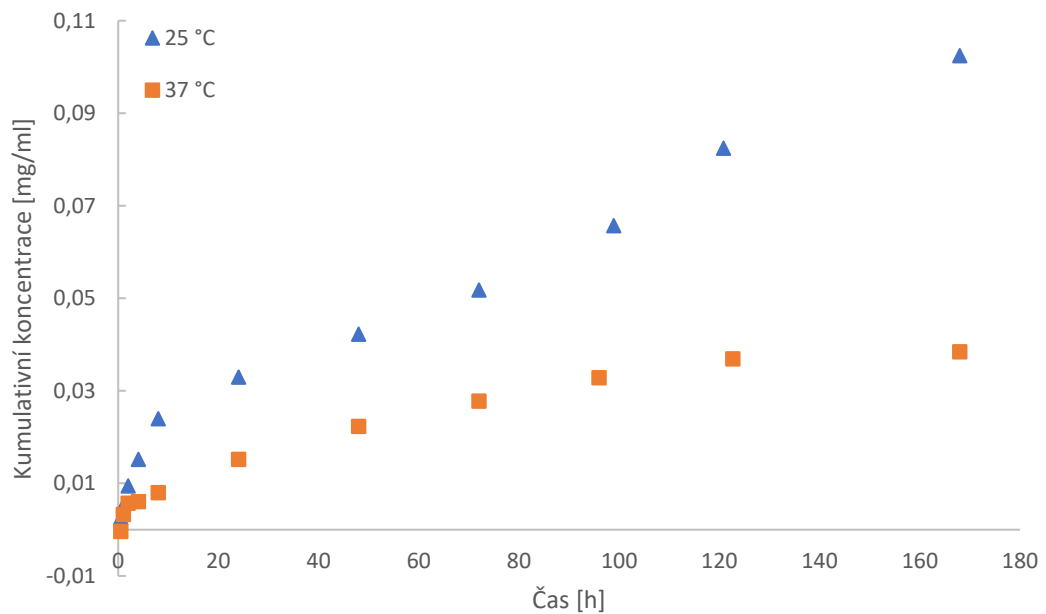
Obrázek 43 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru (P407) při 37 °C

### 8.7.3 Testování nanovláčkových membrán s obsahem kurkuminu

Výsledky uvolňování kurkuminu z nanovláčkových membrán jsou znázorněny v Tab. 10 a na Obr 44. Je zřejmé, že při testovaných teplotách 25 a 37 °C bylo dosaženo poměrně zásadních rozdílů v dosažených hodnotách  $C_{MAX}$ , které se lišily až o dva řády. Ze srovnání obou křivek (Obr. 44) lze pozorovat odlišný trend, přičemž graf získaný měřením při 25 °C vykazoval nerovnoměrný průběh uvolňování kurkuminu, což vedlo k méně přesnému proložení funkcí dle modelu prvního řádu. Je pravděpodobné, že aktivní látka kurkumin nebyla rovnoměrně rozptýlena v nanovláčkové zeinové membráně, což zásadně ovlivnilo kinetiku uvolňování. Lze také vyslovit hypotézu, že technika zvláčňování a charakter vláčkové vrstvy neumožňuje inkorporaci většího množství aktivní látky do struktury polymeru, a tudíž by teoretickému předpokladu více odpovídaly nižší hodnoty uvolněného množství, v porovnání s polymerními filmy. V rámci měření byla tedy prokázána významně nerovnoměrná kinetika uvolňování, což se odrazilo i na špatné reprodukovatelnosti experimentu.

Tabulka 10 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu z nanovláken při dvou různých teplotách

Teplota měření [°C]	$C_{MAX}$ [mg/ml]	$-k \cdot 10^{-3}$ [1/h]	$r^2$
25	0,31	5,03	0,98
37	0,06	18,64	0,99

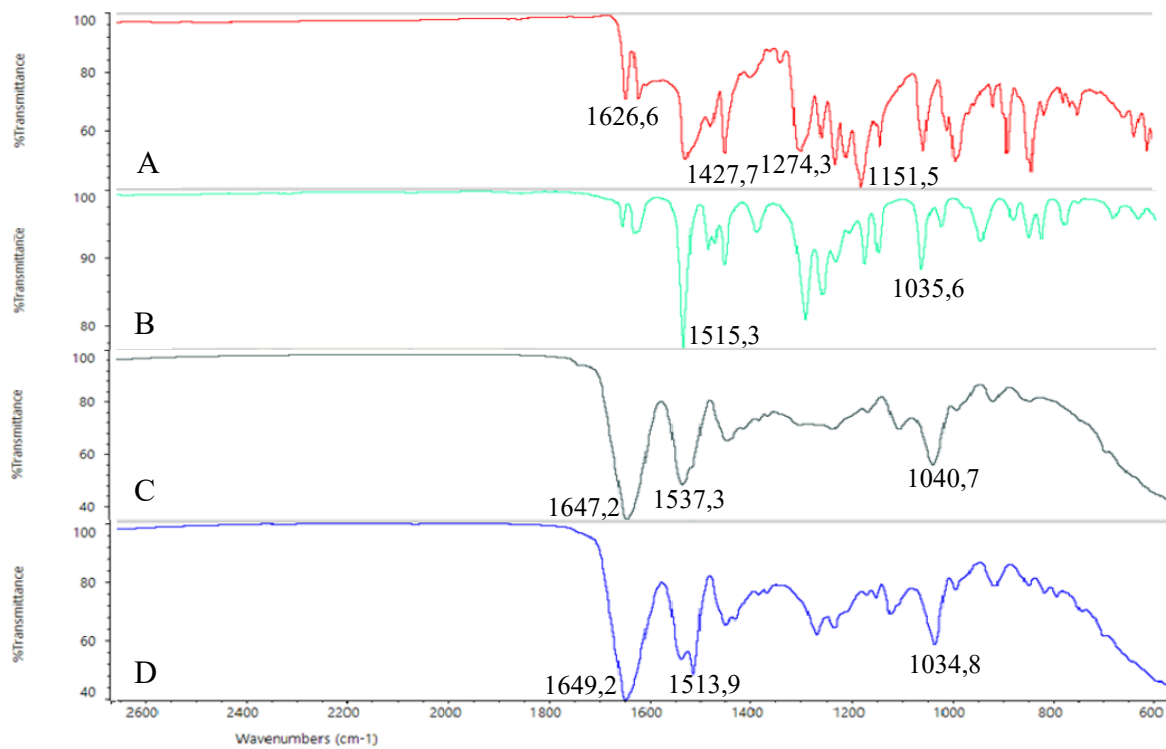


Obrázek 44 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro nanovláčkové membrány s obsahem kurkuminu při dvou různých teplotách měření

## 8.8 FTIR analýza

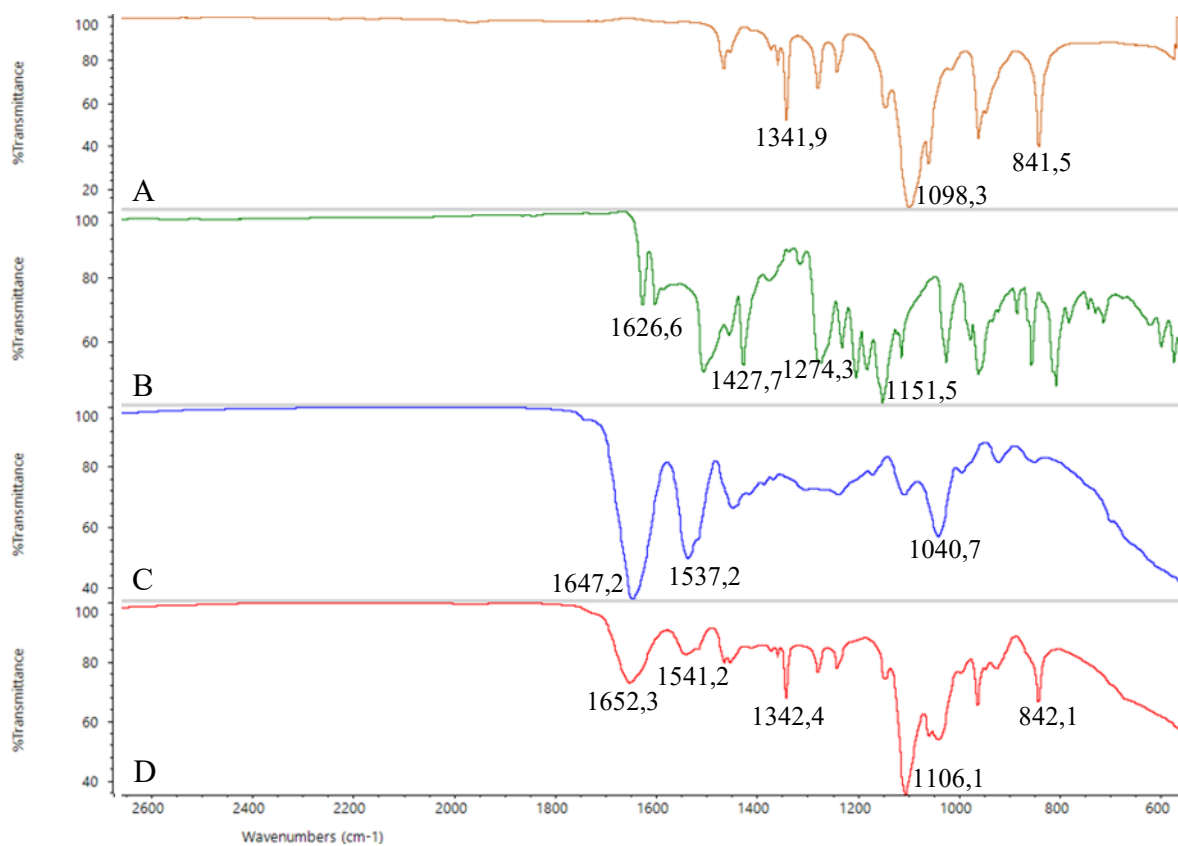
Pomocí FTIR metody byl analyzován vliv modifikace zeinových vrstev aktivními látkami na případné strukturní změny. Chemická struktura čistého kurkuminu (Obr. 45 A), vykazuje charakteristický absorpční pík při  $1626,6 \text{ cm}^{-1}$  odpovídající C=C vazbám. Další absorpční píky, které jsou charakteristické pro aromatické struktury kurkuminu, se nacházejí při  $1428$ ,  $1274$  a  $1152 \text{ cm}^{-1}$ . Na spektrech kontrolního filmu bez aktivní látky (Obr. 45 C) lze vidět výrazné absorpční píky v oblastech  $1647$  a  $1537 \text{ cm}^{-1}$ , které jsou charakteristické pro chemickou strukturu studovaného proteinu a odpovídají amidovým I (C=O) a II (C-N, H-N) skupinám. Mimo jiné lze v této formulaci pozorovat také větší pík při  $1040,7 \text{ cm}^{-1}$  (C-O), který indikuje přítomnost glycerolu [68]. V případě filmu Z/EUG/CUR 0,5, lze pozorovat absorpční píky téměř shodné se spektry pro kontrolní film bez aktivní látky (Z), což znamená, že původní charakter zeinového polymeru nebyl modifikací aktivními látkami porušen. Píky charakteristické pro kurkumin zde nebyly patrné, což by mohlo znamenat, že aktivní látka byla uzavřena ve vnitřní struktuře matrice. K podobnému jevu došlo ve studii [69], kde byl kurkumin enkapsulován do nanočástic zeinu obohaceným o k-karagenan a Tween 80. Co se týká formulace Z/EUG/CUR 0,5 (Obr. 45 D) je na spektru možno pozorovat charakteristický pík při  $1514 \text{ cm}^{-1}$ , který odpovídá výskytu C=C vazeb a přítomnosti aromatické skupiny [70]. Důkaz eugenolu lze pozorovat i v oblasti  $1200$  až  $1300 \text{ cm}^{-1}$ , kde jsou dva výrazné píky odpovídající aromatickému kruhu C-O-C. Další absorpční pík se nachází při  $1035 \text{ cm}^{-1}$ , který se shoduje se spektrem čistého eugenolu (Obr. 45 B) a potvrzuje tak vzájemnou interakci mezi složkami.

Na Obr. 45 jsou výsledky FTIR analýzy filmů, v nichž byl kurkumin enkapsulován do částic Poloxameru 407 (Z/P/CUR 0,5). Ze získaných absorpčních spekter lze u filmu Z/P/CUR 0,5 (Obr. 46 D) potvrdit přítomnost poloxameru při hodnotách  $1342$  (O-H),  $1098$  (-C-O-C) a  $842 \text{ cm}^{-1}$ , které byly prokázány i u samotného poloxamerního prášku (Obr. 46 A) [71, 72]. Na základě provedeného měření nelze s určitostí potvrdit interakce mezi zeinovým polymerem a kurkuminem. Absence charakteristických signálů kurkuminu by ale mohla být způsobena enkapsulací do poloxamerní částice.



Obrázek 45 FTIR-ATR spektra pro vzorky: A – kurkumin, B – eugenol,  
C – Z (kontrolní vzorek), D – Z/EUG/CUR 0,5

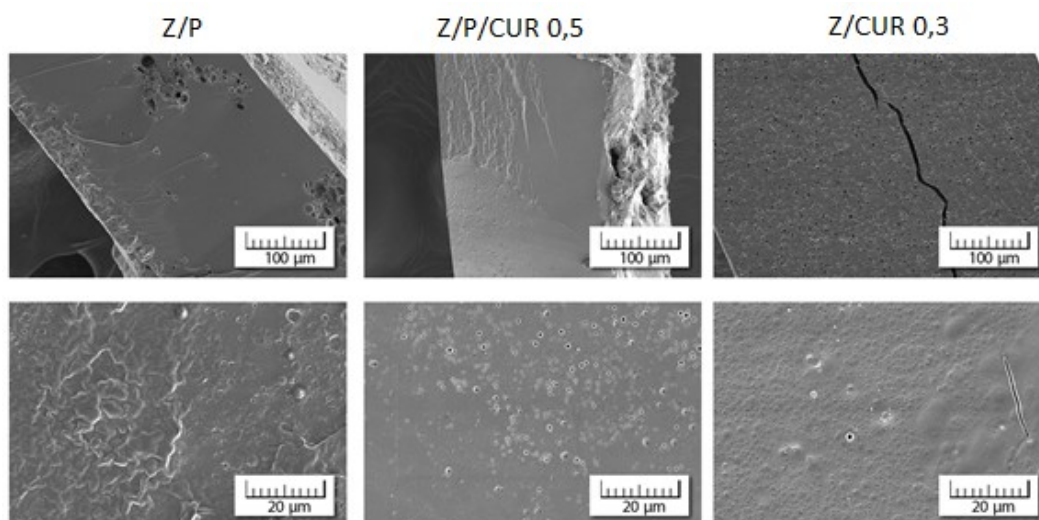




Obrázek 46 FTIR-ATR spektra pro vzorky: A – Poloxamer 407, B – kurkumin, C – Z (kontrolní vzorek), D – Z/P/CUR 0,5

## 8.9 SEM mikroskopie

SEM mikroskopie byla využita ke sledování případných morfologických změn zeinového polymeru vlivem inkorporace aktivních látek. SEM analýza referenčního filmu, který byl připraven ze zeinu a glycerolu odléváním z roztoku, byl homogenní bez žádných viditelných deformací ani agregátů [58]. Na Obr. 47 jsou zobrazeny povrchy a řezy vzorků zeinu s kurkuminem, resp. kurkuminem enkapsulovaným do poloxamerní částice. U filmu obsahujícího prázdné poloxamerní částice, tedy bez aktivní látky, je možné obzvláště na řezu vidět porušení zeinové struktury v podobě nerovnoměrně rozmístěných pórů, soustředěných především v horní části filmu. Povrch filmu je díky tomu značně zdrsňelý. Na druhou stranu, u vzorku Z/P/CUR 0,5 je řez i povrch vzorku hladší, přestože se na povrchu objevují póry a bublinky o průměrné velikosti do 1  $\mu\text{m}$ . Poslední vzorek s obsahem 0,3 hm. % kurkuminu bez poloxameru vykazuje zřetelné trhliny na povrchu částice tvořené částicemi kurkuminu. Tento fakt je v souladu se zjištěnou vyšší křehkostí Z/CUR formulací a výsledky mechanických zkoušek.



Obrázek 47 Snímky SEM mikroskopie filmů na bázi zeinu

## ZÁVĚR

Cílem této práce byla příprava a charakterizace biopolymerních vrstev na bázi kukuřičného proteinu zeinu s obsahem kurkuminu. U připravených filmů byly hodnoceny mechanické, povrchové, antioxidační a antibakteriální vlastnosti. Za účelem srovnání chování různých typů nosičů byl proveden test uvolňování aktivní látky kurkuminu ze zeinových filmů a nanovláčených membrán.

V rámci experimentu byly připraveny čtyři sady vzorků filmů, lišící se obsahem glycerolu, případně eugenolu, jako potenciálních plastifikátorů, s přidavkem tří různých koncentrací kurkuminu jako aktivní látky, který byl přimíchán přímo, nebo po předchozí enkapsulaci do poloxamerní částice. Filmy s obsahem 4 hm. % glycerolu byly obecně dosti křehké, bez ohledu na to, zda se jednalo o kontrolní vzorek nebo formulaci s aktivní látkou. Bohužel ani zvýšení obsahu glycerolu nijak významně nepřispělo ke zvýšení elasticity a zlepšení mechanických vlastností. Proto byla další sada zeinových filmů s kurkuminem obohacena o další složku, eugenol, která je známá nejen díky antimikrobiálním, ale právě i změkčujícím účinkům. Tato modifikace příznivě ovlivnila zejména tahové vlastnosti. V další části byly studovány povrchové vlastnosti filmů, přičemž s rostoucí koncentrací kurkuminu docházelo ke snížení smáčivosti. Kontaktní úhly pro vodu všech hodnocených filmů byly menší než 60°, povrchy lze tedy hodnotit jako hydrofilní, což je pro nosné aktivní systémy pozitivním aspektem. Při použití aktivních obalových materiálů hraje důležitou roli hodnota propustnosti pro vodní páry. Bylo zjištěno, že přidavkem aktivní látky, popř. jejich kombinace do zeinové vrstvy došlo ke snížení hodnoty WVP a tím zlepšení bariérových vlastností.

Pro praktické aplikace hraje významnou roli i antibakteriální, případně antioxidační aktivita polymerních systémů. Agar difúzní metodou nebyla za daných podmínek prokázána antibakteriální účinnost vzorků filmů s obsahem kurkuminu vůči testovaným bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Na druhou stranu, u sady formulací s eugenolem byly inhibiční účinky potvrzeny, přičemž největší aktivitu vykazoval vzorek s nejvyšší koncentrací kurkuminu a eugenolem vůči Gram negativní bakterii *Escherichia coli*. U vzorků s kurkuminem byla pomocí DPPH metody prokázána slabší antioxidační aktivita oproti čistým zeinovým filmům.

V další části práce byla sledována kinetika uvolňování aktivní látky měřená pomocí dialyzační metody v prostředí fosfátového pufru o pH 7,45. Z dosažených výsledků lze usoudit, že na tento měřený parametr měla vliv použitá teplota měření, kdy se při nižší teplotě uvolňovalo menší množství kurkuminu. V případě polymerních vrstev s částicemi Poloxameru 407, došlo k výraznému poklesu uvolněného množství aktivní látky. Pro srovnání byly tomuto experimentu podrobeny také nanovláčené membrány obsahující kurkumin, u kterých byly pozorovány značné rozdíly v hodnotách uvolněného množství při testovaných teplotách. Výsledné nízké hodnoty vypovídají o faktu, že takto modifikované nanovláčenné struktury nejsou schopny inkorporovat větší množství aktivních látek, resp. během procesu zvláknění může dojít k jejímu částečnému odpaření.

Poslední část této práce byla věnována spektroskopické analýze zeinových vrstev s obsahem kurkuminu a eugenolu. Ze získaných spekter lze potvrdit vzájemné interakce mezi eugenolem a zeinovým polymerem, naopak přítomnost kurkuminu daným měřením jednoznačně prokázána nebyla.

Závěrem lze poukázat na pozitivní vliv inkorporace aktivních látek do biopolymerních zeinových vrstev, díky čemuž je možné kontrolovat mechanické i bariérové vlastnosti. Na základě provedených testů uvolňování byl prokázán významný vliv složení polymerní matrice a teploty okolního media. V souvislosti se zjištěnými závěry lze potvrdit možnost využití připravených systémů na bázi zeinu jako bioaktivních obalů.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

1. AKRAM, M., A. AFZAL, M. ASIF a E. MOHIUDDIN. *Curcuma longa and Curcumin: A review article* [online]. 2010 [cit. 2021-9-20]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/284415430\\_Curcuma\\_longa\\_and\\_Curcumin\\_A\\_review\\_article/citations](https://www.researchgate.net/publication/284415430_Curcuma_longa_and_Curcumin_A_review_article/citations).
2. HASAN, M., Ch. MAHESHWARI, A. YADAV a A. KATE. Curcumin: From extraction to bioavailability. *Biotech express* [online]. 2020, **7**(80), 22-26 [cit. 2021-10-3].
3. KUMARI, A., M. KAUR a S. SHARMA. A Review on Curcumin and its Medicinal Properties. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences* [online]. 2021, **5**(2), 31-37 [cit. 2021-10-27]. ISSN 2581-5423.
4. KOCAADAM-BOZKURT, B. Curcumin, an Active Component of Turmeric (*Curcuma longa*), and Its Effects on Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2017, **57**(13), 2889-895 [cit. 2021-10-4]. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2015.1077195.
5. Curcumin [online]. [cit. 2021-10-28]. Dostupné z: [https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sigma/c1386?gclid=EAIaIQobChMIInqz7cvS8wIVidV3Ch2o1wAbEAAAYASAAEgIwkfD\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sigma/c1386?gclid=EAIaIQobChMIInqz7cvS8wIVidV3Ch2o1wAbEAAAYASAAEgIwkfD_BwE).
6. SEBASTIÀ, N., J. SORIANO, J. MAÑESA a A. MONTORO. Medicinal properties and health benefits of curcumin. SASAKI, J. a M. KICHIDA. *Curcumin, biosynthesis, medicinal uses and health benefits* [online]. 2012, s. 235-248 [cit. 2021-10-4]. ISBN 978-1-61942-481-4.
7. PRIYADARSINI, K. I. The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. *Molecules* [online]. 2014, **19**(12), 20091-20112 [cit. 2021-10-26]. Dostupné z: doi:10.3390/molecules191220091.
8. HANZLÍKOVÁ, H. *Charakteristika, vlastnosti a využití kurkuminu* [online]. Zlín, 2019 [cit. 2021-10-27]. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.

9. Curcuma longa roots [online]. [cit. 2021-10-28]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Curcuma\\_longa\\_roots.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Curcuma_longa_roots.jpg).
10. KÖSE, M. D., O. BAYRAKTAR, M. HELVACIOĞLU a B. ENGIN. Preparation and Characterization of Biopolymer Based Bioactive Mucoadhesive Films with Turmeric Extract. *Journal of Pharmaceutical and Applied Chemistry* [online]. 2018, 4(1), 41-45 [cit. 2021-10-27]. Dostupné z: doi:10.18576/jpac/040106.
11. SHLAR, I., A. DROBY, R. CHOUDHARYC a V. RODOV. The mode of antimicrobial action of curcumin depends on the delivery system: monolithic nanoparticles vs. supramolecular inclusion complex. *Royal society of chemistry* [online]. 2017, 7, 42559-42569 [cit. 2021-11-01]. Dostupné z: doi:10.1039/c7ra07303h.
12. ADAMCZAK, A., M. OZAROWSKI a T. M. KARPINSKI. Curcumin, a Natural Antimicrobial Agent with Strain-Specific Activity. *Pharmaceuticals* [online]. 2020, 13(7), 1-12 [cit. 2021-11-01]. Dostupné z: doi:10.3390/ph13070153.
13. MEGHANA, K., G. SANJEEV a B. RAMESH. Curcumin prevents streptozotocin-induced islet damage by scavenging free radicals: A prophylactic and protective role. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2007, 577(1-3), 183-191 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00142999. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejphar.2007.09.002.
14. PRIYADARSINI, K.I., D. K. MAITY, G.H. NAIK, M.S. KUMAR, M.K. UNNIKRISHNAN, J.G. SATAV a H. MOHAN. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2003, 35(5), 475-484 [cit. 2022-05-01]. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/S0891-5849(03)00325-3.
15. MISHRA, V., K. BANSAL, A. VERMA, N. YADAV, S. THAKUR, K. SUDHAKAR a J. ROSENHOLM. Solid Lipid Nanoparticles: Emerging Colloidal Nano Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics* [online]. 2018, 10(4) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics10040191.
16. ZIELIŃSKA, A., Henrique A., V. MARQUES, et al. Properties, Extraction Methods, and Delivery Systems for Curcumin as a Natural Source of Beneficial Health Effects. *Medicina* [online]. 2020, 56(7) [cit. 2022-02-02]. ISSN 1648-9144. Dostupné z: doi:10.3390/medicina56070336.

17. MENG, R., Z. WU, Q-T. XIE, J-S. CHENG a B. ZHANG. Preparation and characterization of zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles to encapsulate curcumin: Physicochemical stability, antioxidant activity and controlled release properties. *Food Chemistry* [online]. 2021, 340 [cit. 2022-02-09]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127893.
18. SUPUT, D., V. LAZIC, S. POPOVIC, N. HROMIS a S. BULUT. Biopolymer films synthesis and characterisation. *Journal on Processing and Energy in Agriculture* [online]. 2017, **21**(2), 9-12 [cit. 2022-03-30]. ISSN 1821-4487. Dostupné z: doi:10.5937/JPEA1701009S.
19. PIERGIOVANNI, L. a S. LIMBO. *Food Packaging Materials* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2016 [cit. 2022-05-03]. SpringerBriefs in Molecular Science. ISBN 978-3-319-24730-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-24732-8.
20. SERNA P., C. a J. F. LOPES FILHO. Biodegradable Zein-Based Blend Films: Structural, Mechanical and Barrier Properties. *Food Technology and Biotechnology* [online]. 2015, **53** [cit. 2022-03-30]. ISSN 13309862. Dostupné z: doi:10.17113/ftb.53.03.15.3725.
21. NINING, N., R. ELFIYANI a E. WULANDARI. Comparison eugenol and oleic acid as a plasticizer on characteristic of dextromethorphan hydrobromide film by solvent casting method. *Pharmaceutical Sciences Asia* [online]. 2021, 48(2), 139-146 [cit. 2022-05-03]. ISSN 25868195. Dostupné z: doi:10.29090/psa.2021.02.20.023.
22. LU, Y., Q. LUO, Y. CHU, N. TAO, S. DENG, L. WANG a L. LI. Application of Gelatin in Food Packaging: A Review. *Polymers* [online]. 2022, 14(3) [cit. 2022-03-30]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym14030436.
23. ROY, S. a N. SINGHA. Polymeric Nanocomposite Membranes for Next Generation Pervaporation Process: Strategies, Challenges and Future Prospects. *Membranes* [online]. 2017, **7**(3) [cit. 2022-03-30]. ISSN 2077-0375. Dostupné z: doi:10.3390/membranes7030053.

24. FERAYDOUNI, N., J. MOVAFFAGH, N. AMIRI, S. DARROUDI, A. GHOLLOBI, A. GOODARZI, A. HASHEMZADEH a M. DARROUDI. Synthesis of nano-fibers containing nano-curcumin in zein corn protein and its physicochemical and biological characteristics. *Scientific Reports* [online]. 2021, 11(1) [cit. 2022-03-30]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-020-73678-w.
25. WANG, X. a B. S. HSIAO. Electrospun nanofiber membranes. *Current Opinion in Chemical Engineering* [online]. 2016, 12, 62-81 [cit. 2022-03-30]. ISSN 22113398. Dostupné z: doi:10.1016/j.coche.2016.03.001.
26. FOCARETE, M. L., Ch. GUALANDI a S. RAMAKRISHNA, ed. *Filtering Media by Electrospinning* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018 [cit. 2022-03-30]. ISBN 978-3-319-78162-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-78163-1.
27. KUREČIČ, M. a M. SFILIGOJ SMOLE. Electrospinning: Nanofibre Production Method. *Tekstilec* [online]. 2013, 56(1), 4-12 [cit. 2022-03-30]. ISSN 03513386. Dostupné z: doi:10.14502/Tekstilec2013.56.4-12.
28. RAMAKRISHNA, S., K. FUJIHARA, W. TEO, T. YONG, Z. MA a R. RAMASESHAN. Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials Today* [online]. 2006, 9(3), 40-50 [cit. 2022-03-30]. ISSN 13697021. Dostupné z: doi:10.1016/S1369-7021(06)71389-X.
29. GAO, Z., Q. WANG, Q. YAO a P. ZHANG. Application of Electrospun Nanofiber Membrane in the Treatment of Diabetic Wounds. *Pharmaceutics* [online]. 2022, (1) [cit. 2022- 03- 31]. ISSN 1999- 4923. Dostupné doi:10.3390/pharmaceutics1410006.
30. GUPTA, T., J. SINGH, S. KAUR, S. SANDHU, G. SINGH a I. P. KAUR. Enhancing Bioavailability and Stability of Curcumin Using Solid Lipid Nanoparticles (CLEN): A Covenant for Its Effectiveness. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. 2020, 8 [cit. 2022-02-04]. ISSN 2296-4185. Dostupné z: doi:10.3389/fbioe.2020.00879.



31. ALSAAD, A. A. A., A. A. HUSSIEN a M. M. GAREEB. Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as a Novel Drug Delivery System: A Theoretical Review. *Systematic Review Pharmacy* [online]. 2020, **11**(5) [cit. 2022-02-04]. ISSN 09762779. Dostupné z: doi:10.31838/srp.2020.5.39.
32. SASTRI, K. T., G. V. RADHA, S. PIDIKITI a P. VAJJHALA. Solid lipid nanoparticles: Preparation techniques, their characterization, and an update on recent studies. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* [online]. 2020, **10**(6), 126-141 [cit. 2022-02-04]. ISSN 2231-3354. Dostupné z: doi:10.7324/JAPS.2020.10617.
33. EKAMBARAM, P., A. A. H. SATHALI a K. PRIYANKA. Solid lipid nanoparticles: a review. *Scientific Reviews & Chemical Communications* [online]. 2012, **2**(1), 80-102 [cit. 2022-02-04]. ISSN 2277-2669.
34. ZHENG, B. a D. J. MCCLEMENTS. Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability. *Molecules* [online]. **25**(12) [cit. 2022-02-04]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25122791.
35. VISHVAKRAMA, P. a S. SHARMA. Liposomes: An Overview. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* [online]. 2012, **3**(3) [cit. 2022-02-04]. ISSN 2229-3701. Dostupné z: doi:10.22270/jddt.v0i0.843.
36. LEE, M-K. Liposomes for Enhanced Bioavailability of Water-Insoluble Drugs: In Vivo Evidence and Recent Approaches. *Pharmaceutics* [online]. 2020, **12**(3) [cit. 2022-02-04]. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics12030264
37. KIM, E-M. a H-J. JEONG. Liposomes: Biomedical Applications. *Chonnam Medical Journal* [online]. 2021, **57**(1) [cit. 2022-02-06]. ISSN 2233-7385. Dostupné z: doi:10.4068/cmj.2021.57.1.27.
38. ŠTURM, L. a N. POKLAR ULRIH. Basic Methods for Preparation of Liposomes and Studying Their Interactions with Different Compounds, with the Emphasis on Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(12) [cit. 2022 02-06]. ISSN 1422 0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22126547.

39. ZHOU, Q., L. ZHANG, T. YANG a H. WU. Stimuli-responsive polymeric micelles for drug delivery and cancer therapy. *International Journal of Nanomedicine* [online]. 2018, **13**, 2921-2942 [cit. 2022-02-06]. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S158.
40. GHEZZI, M., S. PEScina, C. PADULA, P. SANTI, E. DEL FAVERO, L. CANTÙ a S. NICOLI. Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions. *Journal of Controlled Release* [online]. 2021, **332**, 312-336 [cit. 2022-02-06]. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2021.02.031.
41. PARRA, A., I. JARAK, A. SANTOS, F. VEIGA a A. FIGUEIRAS. Polymeric Micelles: A Promising Pathway for Dermal Drug Delivery. *Materials* [online]. 2021, **14**(23) [cit. 2022-02-06]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma14237278.
42. ALVEN, S., X. NQORO a B. A. ADERIBIGBE. Polymer-Based Materials Loaded with Curcumin for Wound Healing Applications. *Polymers* [online]. 2020, **12**(10) [cit. 2022-03-30]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12102286.
43. SHEFA, A. A., T. SULTANA, M. K. PARK, S. Y. LEE, J-G. GWON a B.-T. LEE. Curcumin incorporation into an oxidized cellulose nanofiber-polyvinyl alcohol hydrogel system promotes wound healing. *Materials & Design* [online]. 2020, **186** [cit. 2022-05-03]. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2019.108313.
44. GUNATHILAKE U., T., Y. CHING a CH. CHUAH. Enhancement of Curcumin Bioavailability Using Nanocellulose Reinforced Chitosan Hydrogel. *Polymers* [online]. 2017, **9**(12) [cit. 2022-03-30]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym9020064.
45. ALIABBASI, N., M. FATHI a Z. EMAM-DJOMEH. Curcumin: A promising bioactive agent for application in food packaging systems. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. 2021, **9**(4) [cit. 2022-03-30]. ISSN 22133437. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2021.105520.

46. ROY, S., R. PRIYADARSHI, P. EZATI a J-W. RHIM. Curcumin and its uses in active and smart food packaging applications - a comprehensive review. *Food Chemistry* [online]. 2022, 375 [cit. 2022-03-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.131885.
47. FARHOUDI, L., P. KESHARWANI, M. MAJEED, T. P. JOHNSTON a A. SAHEBKAR. Polymeric nanomicelles of curcumin: Potential applications in cancer. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2022, **617** [cit. 2022-03-30]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2022.121622
48. YE, L., W. HUANG, Y. DENG, Z. LI, Y. JIANG a Q. XIE. Development of a pluronic-zein-curcumin drug delivery system with effective improvement of hydrophilicity, stability and sustained-release. *Journal of Cereal Science* [online]. 2022, **104** [cit. 2022 03-30]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2022.103412.
49. LI, D., Z. WEI, J. SUN a CH. XUE. Tremella polysaccharides-coated zein nanoparticles for enhancing stability and bioaccessibility of curcumin. *Current Research in Food Science* [online]. 2022, **5**, 611-618 [cit. 2022-03-30]. ISSN 26659271. Dostupné z: doi:10.1016/j.crfs.2022.03.008.
50. PONNANIKAJAMIDEEN, M., S. DEVI PRIYA, M. VANAJA, K. PAULKUMAR, S. RAJESHKUMAR a G. ANNADURAI. *In-Vivo* Wound Healing Efficiency of Curcumin Loaded on Chitosan Polyvinyl Propylene Nanofilm. *Advanced Science, Engineering and Medicine* [online]. 2016, **8**(10), 763-770 [cit. 2022-03-30]. ISSN 21646627. Dostupné z: doi:10.1166/ asem.2016.1902.
51. MIGUEL, S. P., D. R. FIGUEIRA, D. SIMÕES, M. P. RIBEIRO, P. COUTINHO, P. FERREIRA a I. J. CORREIA. Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2018, **169**, 60-71 [cit. 2022-03-30]. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2018.05.011.
52. PHAM, L., L. H. DANG, M. D. TRUONG, et al. A dual synergistic of curcumin and gelatin on thermal-responsive hydrogel based on Chitosan-P123 in wound healing application. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. 2019, 117 [cit. 2022-04-20]. ISSN 07533322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2019.109183.

53. NGUYEN, T. T. T., CH. GHOSH, S-G. HWANG, L. D. TRAN a J. S. PARK. Characteristics of curcumin-loaded poly (lactic acid) nanofibers for wound healing. *Journal of Materials Science* [online]. 2013, **48**(20), 7125-7133 [cit. 2022-03-30]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/s10853-013-7527-y.
54. MOUSAVI, S-M., Z. M. NEJAD, S. A. HASHEMI, M. SALARI, A. GHOLAMI, S. RAMAKRISHNA, W-H. CHIANG a CH. W. LAI. Bioactive Agent-Loaded Electrospun Nanofiber Membranes for Accelerating Healing Process: A Review. *Membranes* [online]. 2021, **11**(9) [cit. 2022-03-30]. ISSN 2077-0375. Dostupné z: doi:10.3390/membranes11090702.
55. WONGSASULAK, S., P. TONGSIN, N. INTASANTA a T. YOOVIDHYA. Effect of glycerol on solution properties governing morphology, glass transition temperature, and tensile properties of electrospun zein film. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2010, n/a-n/a [cit. 2022-04-20]. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.32433.
56. CAGRI, A., Z. USTUNOL a E.T. RYSER. Antimicrobial, Mechanical, and Moisture Barrier Properties of Low pH Whey Protein-based Edible Films Containing p-Aminobenzoic or Sorbic Acids. *Journal of Food Science* [online]. 2001, 66(6), 865-870 [cit. 2022-05-05]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb15188.x.
57. WANG, L., J. XUE a Y. ZHANG. Preparation and characterization of curcumin loaded caseinate/zein nanocomposite film using pH-driven method. *Industrial Crops and Products* [online]. 2019, 130, 71-80 [cit. 2022-04-20]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2018.12.072.
58. SEDLARIKOVA, J., M. JANALIKOVA, P. PEER, L. PAVLATKOVA, A. MINARIK a P. PLEVA. Zein-Based Films Containing Monolaurin/Eugenol or Essential Oils with Potential for Bioactive Packaging Application. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, 23(1) [cit. 2022-04-26]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23010384.
59. CHIAOPRAKOBKIJ, N., T. SUWANMAJO, N. SANCHAVANAKIT a M. PHISALAPHONG. Curcumin-Loaded Bacterial Cellulose/Alginate/Gelatin as A Multifunctional Biopolymer Composite Film. *Molecules* [online]. 2020, **25**(17) [cit. 2022-04-26]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25173800.

60. PERDONES, Á., A. CHIRALT a M. VARGAS. Properties of film-forming dispersions and films based on chitosan containing basil or thyme essential oil. *Food Hydrocolloids* [online]. 2016, **57**, 271-279 [cit. 2022-04-26]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2016.02.006.
61. SOMPARN, P., Ch. PHISALAPHONG, S. NAKORNCHAI, S. UNCHERN a N. P. MORALES. Comparative Antioxidant Activities of Curcumin and Its Demethoxy and Hydrogenated Derivatives. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* [online]. 2007, **30**(1), 74-78 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0918-6158. Dostupné z: doi:10.1248/bpb.30.74.
62. MUSSO, Y. S., P. R. SALGADO a A. N. MAURI. Smart edible films based on gelatin and curcumin. *Food Hydrocolloids* [online]. 2017, **66**, 8-15 [cit. 2022-04-20]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2016.11.007.
63. MANNA, P. J., T. MITRA, N. PRAMANIK, V. KAVITHA, A. GNANAMANI a P.P. KUNDU. Potential use of curcumin loaded carboxymethylated guar gum grafted gelatin film for biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2015, **75**, 437-446 [cit. 2022-04-20]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.01.047.
64. BAJPAI, S. K., Navin CHAND a Sonam AHUJA. Investigation of curcumin release from chitosan/cellulose micro crystals (CMC) antimicrobial films. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2015, **79**, 440-448 [cit. 2022-04-20]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.05.012.
65. MONDAL, S., S. GHOSH a S. P. MOULIK. Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. 2016, **158**, 212-218 [cit. 2022-04-29]. ISSN 10111344. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.03.004.
66. SEDLAŘÍKOVÁ, J., M. JANALÍKOVÁ, O. RUDOLF, J. PAVLAČKOVÁ, P. EGNER, P. PEER, V. VARAĐOVÁ a J. KREJČÍ. Chitosan/Thyme Oil Systems as Affected by Stabilizing Agent: Physical and Antimicrobial Properties. *Coatings* [online]. 2019, **9**(3) [cit. 2022-05-03]. ISSN 2079-6412. Dostupné z: doi:10.3390/coatings9030165.

67. HASHEM HOS, M., S. HADI RAZAV, S. MOHAMMAD A, S. AHMAD SHAH a A. GHORBANI H. Improving Antibacterial Activity of Edible Films Based on Chitosan by Incorporating Thyme and Clove Essential Oils and EDTA. *Journal of Applied Sciences* [online]. 2008, **8**(16), 2895-2900 [cit. 2022-04-29]. ISSN 18125654. Dostupné z: doi:10.3923/jas.2008.2895.2900.
68. GAO, Y., H. ZHENG, J. WANG, J. WU, X. LI a G. LIU. Physicochemical properties of zein films cross-linked with glutaraldehyde. *Polymer Bulletin* [online]. [cit. 2022-04-29]. ISSN 0170-0839. Dostupné z: doi:10.1007/s00289-021-03723-9.
69. SUN, X., Ch. PAN, Z. YING, D. YU, X. DUAN, F. HUANG, J. LING a X. OUYANG. Stabilization of zein nanoparticles with k-carrageenan and tween 80 for encapsulation of curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **146**, 549-559 [cit. 2022-04-29]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.053.
70. MAKUCH, E., A. NOWAK, A. GÜNTHER, R. PEŁECH, Ł. KUCHARSKI, W. DUCHNIK a A. KLIMOWICZ. Enhancement of the antioxidant and skin permeation properties of eugenol by the esterification of eugenol to new derivatives. *AMB Express* [online]. 2020, **10**(1) [cit. 2022-05-07]. ISSN 2191-0855. Dostupné z: doi:10.1186/s13568-020-01122-3.
71. PONTREMOLI, C., M. BOFFITO, S. FIORILLI, et al. Hybrid injectable platforms for the in situ delivery of therapeutic ions from mesoporous glasses. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2018, **340**, 103-113 [cit. 2022-05-06]. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2018.01.073.
72. GARALA, K., P. JOSHI, J. PATEL, A. RAMKISHAN a M. SHAH. Formulation and evaluation of periodontal in situ gel. *International Journal of Pharmaceutical Investigation* [online]. 2013, **3**(1) [cit. 2022-05-06]. ISSN 2230-973X. Dostupné z: doi:10.4103/2230-973X.108961.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

CMC	Kritická micelární koncentrace
CN	Celulóзовé nanovlákná
CUR	Kurkumin
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EUG	Eugenol
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GLY	Glycerol
HA	Kyselina hyaluronová
HSA	Lidský sérový albumin
KCl	Chlorid draselný
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Dihydrogenfosforečnan draselný
LUV	Velké unilamelární vezikuly
MLV	Multilamelárnívezikuly
NaCl	Chlorid sodný
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	Hydrogenfosforečnan sodný
P	Poloxamer
PBS	Fosfátový pufr
PEG	Polyethylenglykol
PEO	Polyethylenoxid
PVA	Polyvinylalklohol
PVP	Polyvinylpyrrolidon
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
SLN	Tuhé lipidové nanočástice
SUV	Malé unilamelární vezikuly

TP	<i>Tremella fuciformis</i>
WVP	Propustnost pro vodní páry
Z	Zein



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Chemická struktura kurkuminu [5] .....	12
Obrázek 2 <i>Curcuma longa</i> [9] .....	13
Obrázek 3 Reakce peroxylového radikálu s kurkuminem [7, s. 20096].....	16
Obrázek 4 Metoda odlévání z roztoku pro přípravu biopolymerních filmů [23, s. 23].....	19
Obrázek 5 Struktura tuhé lipidové nanočástice [31, s. 259] .....	21
Obrázek 6 Proces mikroemulzifikace [32, s. 131].....	23
Obrázek 7 Detailní struktura lipozomu zapouzdřující hydrofilní a hydrofobní aktivní látky [36, s. 3] .....	23
Obrázek 8 Struktura MLV (A), LUV (B) a SUV (C) [37, s. 28].....	24
Obrázek 9 Schéma polymerních micel [40, s. 314].....	25
Obrázek 10 Proces odpařování rozpouštědla pro přípravu polymerních micel [41, s. 5]....	26
Obrázek 11 Vlastnosti bioaktivního potravinářského obalu s obsahem kurkuminu [45]....	30
Obrázek 12 Inkorporace protirakovinné látky do polymerních micel [47, s. 3].....	31
Obrázek 13 Vlastnosti nanovláken jako bioaktivního obalového materiálu [51].....	32
Obrázek 14 Vývoj a studie <i>in vivo</i> formulace hydrogelu (CN-PVA-Cur) [upraveno dle 43, s. 1] .....	33
Obrázek 15 Příprava roztoku zeinu .....	40
Obrázek 16 Měření povrchového napětí roztoků .....	43
Obrázek 17 Tahová zkouška.....	44
Obrázek 18 Zkouška vpichem .....	45
Obrázek 19 Měření kontaktního úhlu .....	45
Obrázek 20 Zeinové filmy umístěné v testovacích miskách: A – film s obsahem 0,5 hm. % kurkuminu, B – kontrolní film bez aktivní látky .....	46
Obrázek 21 Sada vzorků Z a Z/CUR.....	50
Obrázek 22 Sada vzorků Z/EUG a Z/EUG/CUR .....	50
Obrázek 23 Sada vzorků Z/P a Z/P/CUR .....	50
Obrázek 24 Tahová pevnost filmů na bázi zeinů bez a s obsahem aktivních látek.....	52
Obrázek 25 Prodloužení při přetržení filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivních látek .....	53
Obrázek 26 Pevnost při vpichu u filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivní látky.....	54
Obrázek 27 Deformace při vpichu u filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivní látky....	55
Obrázek 28 Kontaktní úhel filmů na bázi zeinů bez a s obsahem aktivních látek .....	56
Obrázek 29 Profily kapek směsí Z a Z/CUR 0,5 .....	56
Obrázek 30 Profily kapek směsí Z/GLY a Z/GLY/CUR 0,5 .....	57
Obrázek 31 Profily kapek směsí Z/EUG a Z/EUG/CUR 0,5 .....	57

Obrázek 32 Propustnost pro vodní páry filmů na bázi zeinu bez a s obsahem aktivních látek .....	58
Obrázek 33 Kalibrační přímka zásobního roztoku Troloxu měřená při vlnové délce 515 nm .....	59
Obrázek 34 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/CUR 0,1 až 0,5 proti mikroorganismům: A – <i>Escherichia Coli</i> a B – <i>Staphylococcus aureus</i> .....	61
Obrázek 35 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/EUG/CUR 0,1 proti mikroorganismům: A – <i>Escherichia coli</i> a B – <i>Staphylococcus aureus</i> .....	62
Obrázek 36 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/EUG/CUR 0,5 proti mikroorganismům: A – <i>Escherichia coli</i> a B – <i>Staphylococcus aureus</i> .....	62
Obrázek 37 Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity vzorků Z/EUG proti mikroorganismům: A – <i>Escherichia coli</i> a B – <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
Obrázek 38 Kalibrační přímka pro kurkumin měřená při vlnové délce 426 nm .....	64
Obrázek 39 Grafické znázornění fitování kinetickým modelem 1. řádu pro Z/CUR 0,1 při 37 °C .....	65
Obrázek 40 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu při 25 °C .....	66
Obrázek 41 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu při 37 °C .....	67
Obrázek 42 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu enkapsulovaného do částic Poloxameru při 25 °C .....	68
Obrázek 43 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro jednotlivé koncentrace kurkuminu enkapsulovaného do částic Poloxameru při 37 °C .....	69
Obrázek 44 Závislost kumulativní koncentrace na čase pro nanovláknenné membrány s obsahem kurkuminu při dvou různých teplotách měření .....	70
Obrázek 45 FTIR-ATR spektra pro vzorky: A – kurkumin, B – eugenol, C – Z (kontrolní vzorek), D – Z/EUG/CUR 0,5 .....	72
Obrázek 46 FTIR-ATR spektra pro vzorky: A – Poloxamer P407, B – kurkumin, C – Z (kontrolní vzorek), D – Z/P/CUR 0,5 .....	73
Obrázek 47 Snímky SEM mikroskopie filmů na bázi zeinu .....	74

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 Použité chemikálie a navážky pro přípravu fosfátového pufru (pH = 7,45) .....	39
Tabulka 2 Zastoupení jednotlivých složek použitých pro tvorbu filmů na bázi zeinu .....	41
Tabulka 3 Hodnoty vodivosti a povrchového napětí zeinových roztoků .....	51
Tabulka 4 Antioxidační aktivita zeinových filmů .....	60
Tabulka 5 Velikost inhibičních zón zeinových vzorků .....	63
Tabulka 6 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu při 25 °C .....	65
Tabulka 7 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu při 37 °C .....	66
Tabulka 8 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru (P407) při 25 °C .....	68
Tabulka 9 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu enkapsulovaného do částic poloxameru (P407) při 37 °C .....	68
Tabulka 10 Konstanty rovnice (4) pro hodnocení kinetiky uvolňování kurkuminu z nanovláken při dvou různých teplotách .....	70