

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

CHARAKTERIZACE NÁPOJŮ A DOPLŇKŮ STRAVY OBSAHUJÍCÍCH KOFEIN

CHARACTERIZATION OF BEVERAGES AND FOOD SUPPLEMENTS CONTAINING CAFFEINE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

BC. KLÁRA PATOČKOVÁ

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

doc. RNDr. IVANA MÁROVÁ, CSc.

BRNO 2014



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0832/2013	Akademický rok: 2013/2014
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Klára Patočková	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin	
(B2901) Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.	
Konzultanti:		

Název diplomové práce:

Charakterizace nápojů a doplňků stravy obsahujících kofein

Zadání diplomové práce:

1. Vypracujte literárního přehledu – nápoje a doplňky s obsahem kofeinu a jejich využití.
2. Popište použité metody – analýza kofeinu a dalších aktivních složek metodou HPLC a LC/MS, enkapsulace kofeinu a přírodních extraktů, charakterizace částic.
3. Příprava vhodných typů částic s aktivní složkou obsahující kofein; stabilita v modelových a reálných podmínkách, aplikace.
4. Vyhodnocení a diskuse výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 9.5.2014

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Klára Patočková
Student(ka)

doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2014

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na charakterizaci energetických nápojů a návrh jejich modifikovaného složení. Teoretická část se zabývá přehledem energetických nápojů a některých jejich přírodních složek, jako je guarana, goji a dále způsoby enkapsulace aktivních látek. V experimentální části byla analyzována koncentrace kofeinu, vitamínu C, celkových polyfenolů a sacharidů v komerčně zakoupených nápojích. Následně byly připraveny 3 druhy částic (částice s kofeinem, částice s guaranou a částice s guaranou a goji) 6 různými technikami. Účinnost enkapsulace byla stanovena pro kofein HPLC/UV-VIS, pro celkové polyfenoly spektrofotometricky a pro vitamin C pomocí HPLC/UV-VIS. Byla zjištěna stabilita částic v reálných potravinách a v simulovaném fyziologickém prostředí modelových trávicích šťáv. Velikost připravených částic byla stanovena pomocí dynamického rozptylu světla. V práci bylo zjištěno, že nejlepší účinnost a stabilitu vykazují částice připravené na enkapsulátoru. U manuálně vyrobených částic byly nejlepší výsledky dosaženy u liposomových částic. Liposomy vykazovaly nejmenší velikost částic, nejvyšší účinnost enkapsulace, vynikající stabilitu v reálných potravinách a šťávách a největší zeta potenciál.

ABSTRACT

This master thesis is focused on characterization of some energy drinks and formulation of their modified composition. The theoretical part was focused on summary of energy drinks and some of their natural components - guarana, goji as well as on techniques of encapsulation. In the experimental part concentrations of caffeine, vitamin C, polyphenols and carbohydrates in commercially purchased drinks was evaluated. Subsequently, three kinds of particles (particles with caffeine, particles with guarana and particles with guarana and goji) by 6 different techniques were prepared. The efficiency of encapsulation was determined by HPLC/UV-VIS (caffeine, vitamin C) and by spectrophotometry (phenolics). Stability of the particles was followed in real food and in a model physiological environment of artificial digestive juices. Size of prepared particles was determined by dynamic light scattering. In this work it was found that particles with best activity and stability were obtained by encapsulator. For manual particles the best results were found in the liposome particles. Liposomes exhibited the smallest particle size, the highest efficiency encapsulation, excellent stability in real food and juices and the best value of zeta potential.

KLÍČOVÁ SLOVA: kofein, energetické nápoje, enkapsulace, guarana, goji, liposomy, polysacharidové částice

KEYWORDS: caffeine, energy drinks, encapsulation, liposomes, guarana, goji, polysaccharide particles

PATOČKOVÁ, K: *Charakterizace nápojů a doplňků stravy obsahujících kofein*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 61 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc..

PROHLÁŠENÍ:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samotné a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkanem FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ:

Ráda bych poděkovala vedoucí diplomové práce RNDr. Ivaně Márové, CSc. za cenné informace, odborné vedení a všestrannou pomoc, dále Ing. Janě Hurtové za pomoc při experimentální práci, ochotu a trpělivost.

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1	Energetické nápoje	10
2.1.1	Charakterizace	10
2.1.2	Složení energetických nápojů.....	10
2.2	Rostliny obsahující kofein.....	11
2.2.1	Guarana.....	11
2.2.1.1	Výskyt	11
2.2.1.2	Zpracování semene guarany.....	11
2.2.1.3	Fyziologické účinky	12
2.2.2	Černý čaj.....	12
2.2.3	Zelený čaj	13
2.2.4	Káva.....	13
2.3	Kofein.....	14
2.3.1	Dostupnost kofeinu	14
2.3.2	Čajovník, kávovník.....	15
2.3.3	Fyziologické účinky	15
2.4	Kustovnice čínská	16
2.4.1	Rostlina.....	16
2.4.2	Použití v medicíně	17
2.4.3	Polysacharidy přítomné v goji.....	17
2.4.4	Karotenoidy	18
2.4.5	Flavonoidy	18
2.4.6	Vitamin C	18
2.5	Enkapsulace.....	19
2.5.1	Princip.....	19
2.5.2	Podmínky enkapsulace	20
2.5.3	Transport léčiv	20
2.5.4	Materiály pro enkapsulaci	20
2.5.5	Emulze	20
2.5.6	Hydrogely	21
2.5.7	Polysacharidové částice	21
2.5.7.1	Charakterizace.....	21
2.5.7.2	Polysacharidy	21
2.5.7.3	Chitosan.....	22
2.5.7.4	Alginát	22
2.5.8	Liposomy	23
2.5.8.1	Charakteristika	23
2.5.8.2	Příprava	24
2.5.8.3	Stabilita.....	24
2.5.8.4	Cholesterol	24
2.5.8.5	Lecithin.....	25
2.6	Metody využívané k analýze částic a enkapsulových látek	25
2.6.1	Stanovení velikosti částic metodou dynamického rozptylu světla	25

2.6.2	Stanovení stability částic pomocí analýzy zeta potenciálu.....	26
2.6.3	Enkapsulátor	27
2.7	Cíl práce	28
3	PRAKTICKÁ ČÁST	29
3.1	Použité chemikálie a přístroje	29
3.1.1	Použité chemikálie.....	29
3.1.2	Přístroje a pomůcky	29
3.1.3	Materiál a zpracování	30
3.2	Stanovení kofeinu metodou HPLC s UV-VIS a MS detekcí	31
3.3	Stanovení monosacharidů a disacharidů metodou HPLC s RI detekcí.....	31
3.4	Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC s UV-VIS detekcí.....	31
3.5	Stanovení celkových polyfenolů	31
3.6	Enkapsulace do liposomů.....	32
3.6.1	Liposomové částice - L.....	32
3.7	Enkapsulace do polysacharidových částic	32
3.7.1	Chitosan-alginátové částice – CHA.....	32
3.7.2	Chitosanové částice - CH	32
3.7.3	Alginátové částice – A.....	33
3.7.4	2% alginátové částice připravené pomocí enkapsulátoru – EA2%	33
3.7.5	4% alginátové částice připravené pomocí enkapsulátoru – EA4%	33
3.8	Stanovení enkapsulační účinnosti	33
3.9	Stanovení velikosti částic metodou dynamického rozptylu světla.....	33
3.10	Stanovení stability částic	33
3.10.1	Stanovení zeta potenciálu	33
3.10.2	Stanovení stability v reálných potravinách	34
3.10.3	Stabilita částic v modelovém fyziologickém prostředí.....	34
3.10.3.1	Žaludeční šťáva	34
3.10.3.2	Pankreatická šťáva	34
3.10.3.3	Žlučová šťáva	34
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	35
4.1	Charakterizace nápojů	35
4.1.1	Stanovení celkových polyfenolů	35
4.1.2	Stanovení vitamínu C	36
4.1.3	Stanovení sacharidů	37
4.1.4	Stanovení kofeinu	37
4.2	Enkapsulační účinnost.....	39
4.2.1	Chitosan-alginátové částice	39
4.2.1.1	Koncentrace kofeinu	39
4.2.1.2	Koncentrace celkových polyfenolů.....	39
4.2.1.3	Koncentrace vitamínu C.....	39
4.2.2	Chitosanové částice	40
4.2.2.1	Koncentrace kofeinu	40
4.2.2.2	Koncentrace celkových polyfenolů.....	40
4.2.2.3	Koncentrace vitamínu C.....	40
4.2.3	Alginátové částice.....	41
4.2.3.1	Koncentrace kofeinu	41

4.2.3.2	Koncentrace celkových polyfenolů	41
4.2.3.3	Koncentrace vitamínu C	41
4.2.4	2% alginátové částice z enkapsulátoru	41
4.2.4.1	Koncentrace kofeínu	41
4.2.4.2	Koncentrace celkových polyfenolů	42
4.2.4.3	Koncentrace vitamínu C	42
4.2.5	4% alginátové částice z enkapsulátoru	42
4.2.5.1	Koncentrace kofeínu	42
4.2.5.2	Koncentrace celkových polyfenolů	42
4.2.5.3	Koncentrace vitamínu C	43
4.2.6	Liposomové částice	43
4.2.6.1	Koncentrace kofeínu	43
4.2.6.2	Koncentrace celkových polyfenolů	43
4.2.6.3	Koncentrace vitamínu C	44
4.3	Stabilita částic v reálných potravinách	44
4.3.1	Chitosan-alginátové částice	44
4.3.1.1	Koncentrace kofeínu	44
4.3.1.2	Koncentrace celkových polyfenolů	46
4.3.2	Chitosanové částice	47
4.3.2.1	Koncentrace kofeínu	47
4.3.2.2	Koncentrace celkových polyfenolů	49
4.3.3	Alginátové částice	51
4.3.3.1	Koncentrace kofeínu	51
4.3.3.2	Koncentrace celkových polyfenolů	52
4.3.4	2% alginátové částice z enkapsulátoru	54
4.3.4.1	Koncentrace kofeínu	54
4.3.4.2	Koncentrace celkových polyfenolů	56
4.3.4.3	Koncentrace vitamínu C	58
4.3.5	4% alginátové částice z enkapsulátoru	59
4.3.5.1	Koncentrace kofeínu	59
4.3.5.2	Koncentrace celkových polyfenolů	61
4.3.6	Liposomové částice	63
4.3.6.1	Koncentrace kofeínu	63
4.3.6.2	Koncentrace celkových polyfenolů	65
4.3.6.3	Koncentrace vitamínu C	67
4.4	Stabilita částic v trávicích šťávách	68
4.4.1	Chitosan-alginátové částice	68
4.4.1.1	Koncentrace kofeínu	68
4.4.1.2	Koncentrace celkových polyfenolů	71
4.4.1.3	Koncentrace vitamínu C	73
4.4.2	Chitosanové částice	73
4.4.2.1	Koncentrace kofeínu	73
4.4.2.2	Koncentrace celkových polyfenolů	76
4.4.2.3	Koncentrace vitamínu C	78
4.4.3	Alginátové částice	78
4.4.3.1	Koncentrace kofeínu	78

4.4.3.2	Koncentrace celkových polyfenolů	81
4.4.3.3	Koncentrace vitamínu C	83
4.4.4	2% alginátové částice z enkapsulátoru	83
4.4.4.1	Koncentrace kofeinu	83
4.4.4.2	Koncentrace celkových polyfenolů	86
4.4.4.3	Koncentrace vitamínu C	88
4.4.5	4% alginátové částice z enkapsulátoru	88
4.4.5.1	Koncentrace kofeinu	88
4.4.5.2	Koncentrace celkových polyfenolů	90
4.4.5.3	Koncentrace vitamínu C	90
4.4.6	Liposomové částice	91
4.4.6.1	Koncentrace kofeinu	91
4.4.6.2	Koncentrace celkových polyfenolů	93
4.4.6.3	Koncentrace vitamínu C	95
4.7	Stanovení velikosti částic metodou dynamického rozptylu světla.....	95
4.8	Změření stability částic pomocí zeta potenciálu	95
5	ZÁVĚR.....	97
6	LITERATURA.....	99
7	SEZNAM ZKRATEK.....	104

1 ÚVOD

Energetické nápoje řadíme mezi nealkoholické nápoje s povzbuzujícími účinky. Stimulující účinky jsou způsobeny především obsahem kofeinu. Účinky kofeinu jsou podpořeny přidáním látek jako jsou taurin, karnitin, glukuronolakton, inositol, bylinné extrakty a vitaminy. Může obsahovat umělá sladidla či cukr, který napomáhá efektu nabuzení organismu.

Energetická hodnota nápojů je bez sporu vysoká, přesto hlavním efektem jsou stimulační dopady na centrální nervovou soustavu, dojde ke zvýšení pozornosti a nárůstu fyzické i psychické výkonnosti. Nejčastějšími konzumenti energetických nápojů jsou studenti ve věku 13 až 25 let, kteří je pijí několikrát do měsíce. Další cílovou skupinou jsou řidiči, workoholici, lidí zotavujících se po nemoci, sportovci a v neposlední řadě i návštěvníci diskoték. Média podporují konzumaci energetických drinků, i když cena za jednu plechovku nápoje je poměrně vysoká, proto někteří jedinci berou pití energetických nápojů jako jejich image a životní styl.

V současné době neexistuje právní nařízení, které by nějak omezovalo prodej v EU. Některé jednotlivé státy se snaží prodej omezit na vyhraněná místa v podobě lékáren. Jiné státy upravují složení energetického nápoje, aby byl co nejméně závadný. Kofein může způsobit dehydrataci, po odeznění účinků psychický a fyzický útlum a po dlouhodobé konzumaci závislost.

Předložená diplomová práce se zabývá charakterizací vybraných komerčně dostupných energetických nápojů a dále návrhem modifikovaného složení založeného na využití enkapsulovaných přírodních extraktů s prodlouženou dobou uvolňování do organismu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Energetické nápoje

2.1.1 Charakterizace

Popularizace energetických nápojů nastala především ke konci dvacátého století, kdy byl zaznamenán výrazný nárůst prodeje nápojů a zavedení nových značek do obchodních řetězců. V některých zemích omezili prodej energetických nápojů v lékárnách kvůli narůstajícím obavám ze špatného používání produktu.

Nápoje neobsahují pouze kofein, ale i jiné účinné látky, jako sacharidy, riboflavin, taurin, nikotinamid, pyridoxin, vitamin B, popřípadě vitamin C a v některých případech i bylinné deriváty. V nealkoholických nápojích s kofeinem typu Coca Cola je stanovena maximální koncentrace kofeinu 0,02 % (20 mg/100 ml). Obsah kofeinu v energetických nápojích může být mnohonásobně vyšší než u Coca Coly. Množství kofeinu na jednu plechovku či láhev (250 ml) se pohybuje v rozmezí 50 až 505 mg, což je vyšší koncentrace než je obsažena v jednom šálku kávy (77 - 150 mg/100 ml) [1].



Obrázek 1: Energetické nápoje [2]

2.1.2 Složení energetických nápojů

Pokud se pominou účinky kofeinu, i další látky jako taurin a další aminokyseliny vykazují účinky na kosterní svalstvo, centrální nervovou soustavu, mají vliv na chronotropii a antiarytmické vlastnosti. [3]. Taurin, neboli kyselina 2-aminoethansulfonová, patří mezi nekódované aminokyseliny, není esenciální a člověk je schopen si jej syntetizovat z cysteinu v játrech. I přes schopnost syntézy je taurin často součástí produktů doplňků stravy. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna v játrech a srdci. Ovlivňuje hlavně nervový systém, pomáhá tlumit abstinenční příznaky kofeinu. V nápojích se nachází kolem 1 000 mg na plechovku energetického nápoje (250 ml).

Glukosa je hlavním zdrojem energie, patří mezi nepostradatelnou složku energetického nápoje. V nápojích je obsaženo kolem 27 g na plechovku energetického nápoje (250 ml). Některé studie potvrdily zlepšení pozornosti a verbální paměti se společným účinkem kofeinu [4].

2.2 Rostliny obsahující kofein

2.2.1 Guarana

2.2.1.1 Výskyt

Guarana neboli *Paullinia cupana* patří do rodu *Sapindaceae*, nachází se v Amazonské oblasti, proto je skoro jediným producentem guarany Brazílie, výjimku tvoří Peru a Venezuela. Přibližné celkové množství guarany na trhu je 4 300 tun ročně, prodává se ve formě větviček nebo jako opečené semeno. Až 70 % z celkového množství se použije do nealkoholických nápojů nebo sirupů [5].



Obrázek 2: Guarana [6]

2.2.1.2 Zpracování semene guarany

Zpracování semene zahrnuje několik fází: sušení, spalování, v některých případech vytvrzování (kvůli vzniku polycyklických aromatických uhlovodíků během spalování). Během zpracování je nejdůležitější fáze spalování semene, kdy při nedokonalém spalování mohou vzniknout karcinogenní a mutagenní látky naftalen a fenantren. Byla testována guarana se slupkou a bez slupky, větší přítomnost karcinogenních a mutagenních látek se nachází v osivu se slupkou. Avšak po zpracování se slupka odstraní a s ní i většina škodlivin, které nepronikly k vnitřku semene. I přes případné nálezy byly hodnoty natolik nízké, že splňovaly normu stanovenou Evropskou komisí [5].

2.2.1.3 Fyziologické účinky

Guarana se skládá z následujících chemických sloučenin, které jsou odpovědné za její fyziologické účinky: methylxantin, theofylin a theobromin, třísloviny, epikatechiny, saponiny, proanthokyanidoly, cholin, škrob, tuky, katechiny a pigmenty.

Taniny se nacházejí v koncentraci až 16 % a mají prokazatelné účinky proti rakovině. Guarana stimuluje centrální nervový systém, snižuje syntézu krevních destiček tromboxanu, ochraňuje proti žaludeční léze vyvolané ethanolem, snižuje hmotnost, zlepšuje paměť a působí jako afrodisiakum [7]. Další studie prokázaly účinnost guarany na kardiovaskulární systém, léčbu proti migréně, útlum bolesti, horečce, diuretiku, antineuralgické účinky a snížení usazování nežádoucí mikroflory. Fenolové sloučeniny v guaraně vykazují antioxidační aktivitu a antimikrobiální účinky proti mnoha bakteriím a některým druhům hub. Existují prokazatelné účinky proti potlačení růstu bakterií *E. coli*, *P. glurescens*, *B. cereus* a hub *A. niger*, *P. cyclopium* a *T. viride*. Guarana vykazuje komplexní vlastnosti, které zvyšují popularitu jejího použití jako látku, která se přidá do potravin pro zachování kvality, prodloužení trvanlivosti, zvýšení stability oleje a tuku a jako kontrola rostlin mikrobiálního původu či lidských onemocnění.

Pro průmyslové použití je nutné vybrat správné rozpouštědlo, díky kterému vznikne nejlepší extrakt. Pro získání nejvíce fenolů lze použít 35 % aceton při teplotě varu, naopak nejméně fenolů bylo nalezeno ve vodném extraktu při 100°C. Extrakt s největším obsahem kofeinu a katechinů (v podobě katechinu, epikatechinu, apikatechinigallatu) byl získán při použití vody při pokojové teplotě jako rozpouštědla. Použité rozpouštědlo má vliv nejen na složení roztoku, ale i na vlastnosti extraktu. Při použití vody vznikne extrakt s nejmenším množstvím celkových polyfenolů a s nejnižšími antimikrobiálními a antioxidačními účinky. Naopak alkoholová rozpouštědla měla největší množství celkových polyfenolů. Teplota rozpouštědla neměla velký efekt na složení a koncentraci látek v extraktu [8].

2.2.2 Černý čaj

Čaj (*Camellia sinensis*) je druhý nejkonsumovanější nápoj na světě hned po vodě. I když obsahuje méně kofeinu než káva, tak patří k významnějším zdrojům kofeinu z potravy. Několik šálku čaje během dne zvýší subjektivní bdělost a pomáhá udržet pozornost. Mimo kofeinu obsahuje jeden šálek 32 mg theaninu, dále fenoly a aminokyseliny, Theanin sám o sobě synchronizuje mozkovou aktivitu související s poznáváním a pozorností. Snižuje fyzický a duševní stres a zvyšuje dobrou náladu. Účinky mají trvalejší charakter než účinky kofeinu [9]. V černém čaji je obsaženo 50 mg·l⁻¹ kyseliny gallové, 32 mg·l⁻¹ flavonolů, 90 mg·l⁻¹ theaflavinů a 42 mg·l⁻¹ flavan-3-olů.

Již jeden šálek čaje vyvolá změny v lidském organismu. Hladina glukosy v krvi poklesne u mužů 20,3 % a u žen 14,8 %. Koncentrace cholesterolu se výrazně nezmění u mužské populace, u ženské naroste o 14 %. Hladiny triglyceridů se sníží u obou pohlaví, mužská o 38,6 % a ženská 28,6 % [10].



Obrázek 3: Čajovník [11,12]

2.2.3 Zelený čaj

Zelený čaj neboli *Camellia sinensis* pochází ze stejné rostliny jako černý čaj, rozdíl mezi černým a zeleným čajem je v jejich zpracování. Má antioxidační a protizánětlivé vlastnosti, která se používají pro hojení ran [13].

Důvody stárnutí organismu jsou především oxidační procesy v těle, které jsou zvyšovány produkcí reaktivních forem kyslíku. Mozek patří k nejvíce zasaženému orgánu oxidací v těle, protože ke své funkci potřebuje velké množství kyslíku. Více volných radikálů vzniká v přítomnosti většího množství kyslíku. Obsahuje hodně celkových polyfenolů, hlavně katechiny a jeho deriváty (epikatechin-3-gallát, epigallokatechin a epigallokatechiny-3-gallát). Pozitivní účinky na organismus jsou antibakteriální, antizánětlivý a antioxidační účinky. Zabraňuje tvorbě nádorů, snižuje vznik obezity a reguluje koncentraci glukosy v těle. Prokázala se role zeleného čaje při snižování oxidačního stresu a regeneraci enzymů.

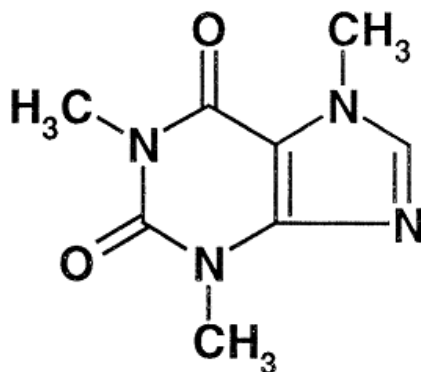
Celkové množství katechinu je přibližně $260 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvíce zastoupený je epigallokatechin-3-gallát 58 %, epikatechin-3-gallát 14 % a epigallokatechin 11%. V listech je 81 až 88 % celkových katechinů [14].

2.2.4 Káva

Kávová semena dostávají charakteristickou vůni, chuť a barvu po pražení. Během pražení dojde k vzniku pigmentu melanoidinu, několik set těkavých látek a k uvolnění oxidu uhličitého odstraněním organických látek. Po zpracování semene zůstane nepatrné množství sacharidů (glukosa, fruktosa a sacharosa), které jsou z lékařského hlediska nepodstatné. Jednotlivé druhy kávovníku se liší obsahem tuků, kofeinu a jiných látek. V kávě arabica je vysoký obsah tuků - kolem 20 % a kofeinu pouze 1,3 %, v robustě je skoro dvojnásobné množství, tedy 2,4 % kofeinu a obsah tuků je nad 10 %. Vápník, fosfáty, kahweol, kafestol, draslík a hořčík se nacházejí v kávových semenech [15].

2.3 Kofein

Kofein patří mezi nejdůležitější složku guarany, která je jeho největším přírodním zdrojem [3]. Po chemické stránce se jedná o sloučeninu 1,3,7-trimethylxanthin, která patří mezi purinové alkaloidy. Skupina alkaloidů je odvozena od xanthinu, který vzniká při oxidaci purinu [16]. Kofein se vyskytuje v pevném stavu jako bílá látka, bez zápachu a silné hořké chuti. Molekulová hmotnost je 194,19 a sumární vzorec pro sloučeninu je $C_8H_{10}N_4O_2$, bod tání se nachází v rozmezí 235-239°C a patří mezi hořlavé látky, které by neměly přijít do styku s ohněm [17].



Obrázek 4: Kofein [18]

2.3.1 Dostupnost kofeinu

Kofein je obsažen v celé řadě potravin, které lze volně koupit v obchodech. Pokud se vynechají káva a čaj, tak nejpobulárnější výrobek je právě čokoláda, dále také alkoholické i nealkoholické nápoje a doplňky potravy, které jsou spojené s úbytkem hmotnosti. Jak již bylo zmíněno, největším přírodním zdrojem kofeinu je guarana, která obsahuje 2-8 % kofeinu v sušině. V čajovníku se nachází 2 % kofeinu, listy keře „yerba maté“ mají 1,4-2,7 % v sušině. V kakaových bobech je přibližně od 0,02 do 0,5 % kofeinu.

Obsah kofeinu v kávových zrnech se pohybuje v rozmezí 0,5-2,7 % v sušině, jeho množství se liší jednak zemí původu a rovněž způsobem přípravy. Nejvíce kofeinu je obsaženo ve filtrované kávě, a to 93-127 mg na 100 ml, v překapávané kávě 37-132 mg na 100 ml, v instantní kávě je 23-91 mg na 100 ml a v dekofeinované kávě 1-6 mg na 100 ml. Limitní hodnoty pro množství kofeinu v potravinách: energetické nápoje $320 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$, nealkoholické nápoje $250 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ a v lihovinách je pouze nezbytné množství [16].

Tabulka 1: Obsah kofeinu v nápojích a čokoládě (100 g) [19,20]

Nápoj	Množství kofeinu	Nápoj	Množství kofeinu
Káva (cca 2dl)	115 mg	Burn (250 ml)	90 mg
Čaj (cca 2dl)	50 mg	Red bull (250 ml)	80 mg
Ledový čaj (cca 2dl)	30 mg	Semtex (250 ml)	78 mg
Limonáda	15 mg	Imola (250 ml)	66 mg
Coca-cola (3dl)	46 mg	Shock (250 ml)	72 mg
Cherrycola	45 mg	Mixxed Up (250 ml)	62 mg
Dr. Pepper	40 mg	Kakao (nápoj)	4 mg
Pepsi cola	38 mg	Čokoládové mléko	3 mg
RC Cola	36 mg	Mléčná čokoláda	30 mg
7up	0 mg	Hořká čokoláda	130 mg

2.3.2 Čajovník, kávovník

Čínský čajovník se vyznačuje přítomností kofeinu v listech rostliny. Obecně platí, že čím mladší je rostlina, tím větší je koncentrace účinné látky. Během stárnutí dochází k poklesu koncentrace. Pro zpracování čaje existují různé cesty. Pokud se jedná o zelený čaj, tak po sběru listů nastává fáze sušení na pánvi. Naopak v případě černého čaje se listy nechají uvadnout, po směru se smotají a v konečné fázi se fermentují. Díky různému postupu má každý čaj svoji charakteristickou vůni, chuť a barvu.

Kávovník vyprodukuje plody, kterým se musí mechanicky odstranit slupka a dužnina, v případě vzniku zbytků následuje proces fermentace. Samotná semena se zbaví slupky a praží při 200-250°C. Při procesu pražení je nutná přítomnost kondenzátoru, který obsahuje kyselinu chlorogenovou, a to kvůli částečné sublimaci kofeinu [21].

2.3.3 Fyziologické účinky

Předpokládaná denní spotřeba kofeinu v Severní Americe je 168-220 mg za den, ve Skandinávských zemích to je 390-410 mg za den [22]. Byla testována maximální koncentrace kofeinu a došlo se k závěru, že běžná denní spotřeba až 1 000 mg kofeinu nepředstavuje riziko pro lidské zdraví [23]. Jeho účinky po požití působí 4-12 hodin, záleží na fyzické konstrukci jedince. Konzumenti, kteří pijí kávu v krátkých časových rozestupech, tímto působením kofeinu snižují, namísto dosažení žádoucího efekt nabuzení organismu. Zmiňované snížení účinnosti je způsobeno dehydratačními vlastnostmi kofeinu, který se vyloučí z organismu, aniž by došlo k jeho vstřebání. Proto se pro maximální pozitivní odezvu doporučuje větší dávka kofeinu a menší opakovatelnost dávkování [19].

Nelze úplně vyloučit spojitost mezi snižováním koncentrace vápníku v kostech a konzumací potravin obsahujících kofein [19]. Rovněž není možné opomenout dehydratační účinky kofeinu, proto se káva nezapočítává do pitného režimu, jelikož spíše napomáhá vyloučení vody z těla. Smrtelná dávka byla popsána v množství 6,5 až 50 g kofeinu – vztaženo na jedince, rozmezí je poměrně široké, jelikož limitní koncentrace je pro každou osobu jiná, záleží na věku, fyzické zdatnosti, návykovosti jedince [15]. Při náhlém přerušení dávkování kofeinu mohou nastat abstinenční příznaky, jedná se hlavně o bolest hlavy, nervozitu, ospalost a vyčerpanost. Vedou se určité spory ohledně konzumace kávy během těhotenství. Někteří odborníci tvrdí, že není problém, pokud těhotná žena vypije 2 šálky kávy denně. Přítomnost kofeinu v těle nijak nepřispívá k vyvolání potratu. Na druhé straně, dochází

k možnému transportu kofeinu z krevního oběhu matky do krevního oběhu plodu. Transport kofeinu způsobí zvýšení frekvence tepu plodu a po porodu může dojít k abstinenčním příznakům plodu kvůli ztrátě příjmu kofeinu [19]. Při překročení určitého množství kofeinu se dostaví zčervenání obličeje, zvýšené močení, napětí a nervozita, nespavost a střevní potíže [15]. Malé dávky vyvolají únavu u starších osob [24]. Koncentrace kofeinu ovlivňuje srdeční činnost, při nízké koncentraci dojde ke zpomalení tepu, naopak při vysoké koncentraci dojde k zrychlení srdečního tepu. U osob s oslabenou činností může dojít k srdeční arytmií [15].

Léčebné účinky jsou připisovány blokaci receptoru adenosinu, případně možné inhibici fosfodiesterázy. Kofein utlumuje bolest, je obsažen v analgetických prostředcích, pooperačních lécích [22]. Při přiměřeném dávkování kofeinu jsou prokázány pozitivní účinky na kognitivní vlastnosti, fyzický výkon, na denní energetický výdej, na zvýšení bdělosti, pozornosti a schopnosti logického myšlení. Kofein má rovněž schopnost snížit pocit únavy, pocit námahy spojený s fyzickou aktivitou, dokáže zrychlit reakce, zlepšit krátkodobou paměť a schopnost soustředit se. Kofein působí i zvýšením koncentrace mozkového serotoninu, má excitační projekci na míšňní neurony. Působí na snížení tělesné hmotnosti tím, že dochází k vyššímu energetickému výdeji lidského těla během 24 hodin a zrychlení metabolismu během odpočinku i spánku. U zdravého necvičícího může, který se nacházel v klidové fázi, vzrostl energetický výdej po požití 50 mg kofeinu o 6 % během 4 hodin. [23]. Stimulující dávka kofeinu je převážně méně než 3 mg na jeden kilogram hmotnosti člověka. Hlavní oblast působení kofeinu je v centrální nervové soustavě, spojená s aktivitou mozkové kůry. Po vstřebání látky dojde k blokaci adenosinových receptorů, uvolnění noradrenalinu z centrální nervové soustavy, uvolnění adrenalinu z ledvin, zvýšení rychlosti metabolismu glykogenolýzy a zvýšení krevního tlaku [24]. V některých studiích byly pozorovány pozitivní účinky u neurodegenerativních onemocnění a u Parkinsonovy nemoci [25]. I deriváty kofeinu mají své uplatnění v medicíně, potlačují příznaky migrény a snižuje bolest hlavy díky zúžení průsvitu mozkových cév [15].

2.4 Kustovnice čínská

2.4.1 Rostlina

Goji neboli *Lycium barbarum* je mnoho let používána v tradiční čínské medicíně. Patří k čeledi lilkovitých a nachází se na území Číny, Tibetu a dalších částech Asie. Plody tvoří elipsoidní tvar délky kolem 1 až 2 cm, jsou zářivě oranžovo červené. Bobule se sbírají během léta až začátkem podzimu. Existují dvě možnosti, jak připravit produkt z goji, buď se vymačká šťáva z čerstvých plodů, anebo se nechají usušit [26].



Obrázek 5: Goji [26]

2.4.2 Použití v medicíně

Goji má vícestranné použití v medicíně i v potravinářství jako funkční potravina, především díky jejím imonomodulačním a protinádorovým schopnostem. Kustovnice se dále vyznačuje antigenními efekty, antioxidačními vlastnostmi, podporou metabolismu, zlepšuje vytrvalost a podporuje dlouhověkost. Protinádorové účinky fungují díky imunomodulačním vlastnostem, kdy se potlačí růst nádorových buněk aktivací T a B buněk v těle. Aktivací dojde k biochemické změně mechanismu, zabrání se proliferaci, indukci buněčného cyklu pozastavením na různých kontrolních bodech, zvýšení apoptózy a regulací signálních drah [27].

2.4.3 Polysacharidy přítomné v goji

Polysacharidy jsou nejlépe prozkoumaná skupina obsahující ve vodě rozpustné glykokonjugáty okolo 5-8 % ze sušených plodů [26]. Jsou tvořeny monosacharidy a to z 97,54 %: D-rhamnosou, D-fruktosou, D-arabinosou, D-galaktosou a D-glukosou. Polysacharidy mají antioxidační účinky, to znamená, že zabraňují napadení nenasycených mastných kyselin v biomembráně volnými radikály. Ve výsledku nedochází k peroxidaci lipidové membrány, snížení tekutosti membrány, ztrátě enzymů, aktivity receptorů, poškození membránových proteinů a v některých případech i inaktivaci buněk. Antioxidant hraje důležitou roli v prevenci kardiovaskulárních chorob a rakoviny. Bylo pozorováno zlepšení stavu nemocného u neurodegenerativních onemocnění včetně Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby, zánětů a jiných problémů způsobených buněčným nebo kožním stárnutím [28]. Všechny monosacharidy se podílejí na zlepšení kvality potravin z pohledu

obsahu železa a zinku v těle, podporují syntézu bílkovin, detoxikují organismus, obnovují normální funkci jaterních buněk a jejich případnou regeneraci [26].

2.4.4 Karotenoidy

Karotenoidy jsou odpovědné za charakteristické zbarvení plodu goji, i když jejich množství v plodech je pouze z 0,03-0,5 %. Bylo objeveno 11 volných karotenoidů a 7 jejich esterů. Nejvíce zastoupen je zeaxanthin, a to především ve formě dipalmitátu. Zeaxanthin představuje jednu třetinu až jednu polovinu z celkového množství karotenoidů v plodu. Je to žlutý pigment, izomer luteinu a derivát β -karotenu, jenž se hromadí v tukových tkáních, ale i v makule či na sítnici. Chrání makuli před degenerací způsobenou oxidačními procesy či nadměrným slunečním zářením [26].

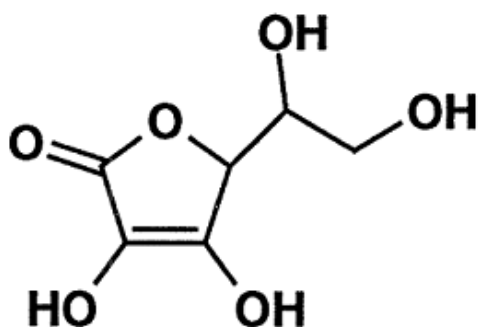
2.4.5 Flavonoidy

Flavonoidy, izolované z plodů goji, se používají jako nutriční doplněk stravy. Jejich fyziologická aktivita působí především proti rakovině, dále proti ateroskleróze a proti tvorbě zánětů [29]. Celkový počet flavonoidů je $21,25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvíce zastoupený je rutin, jenž se nachází v listech rostliny v množství kolem $16 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, oproti tomu v ovoci pouze od 0,09 až $1,38 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Kromě výše popsaných polysacharidů, karotenoidů a flavonoidů, goji obsahuje i řadu malých molekul jako cerebrosid, beta-sitosterol, betain, kyselinu p-kumarovou a vitamíny (hlavně vitamín C). Ve stopovém množství jsou zastoupeny: gluramin, taurin, asgaragin, lanosterol, minerály K, Ca, Zn, Mg, Co, Se, Mn a Fe [26].

2.4.6 Vitamin C

V přírodě se vyskytují 4 stereoizomery kyseliny askorbové, ale pouze jeden vykazuje aktivitu pro vitamin C, a to kyselina 2-keto-L-gulonová, též L-askorbová. Kyselina askorbová je syntetizována všemi zelenými rostlinami, které zajišťují svoji energii pomocí fotosyntézy. Schopnost vyrobit si kyselinu askorbovou má i většina živočichů, ale pouze pro některé savce včetně člověka se jedná o vitamin [30].

Při dlouhodobém nedostatku kyseliny askorbové v potravě dochází k manifestaci avitaminózy formou kurdějí. Dále nastává kapilární krvácení, špatný růst osteoblastů, fibroblastů, snížená syntéza kolagenu. Při běžné konzumaci potravin ve vyspělých zemích nedochází k podobnému nedostatku vitamínu C v těle. Hypovitaminóza u kyseliny askorbové bývá zaznamenána v případě lidí s nízkými finančními příjmy, špatnou životosprávou, u starších osob, chronicky nemocných jedinců, alkoholiků a lidí s psychickou poruchou. Zdravotní účinky vitamínu C na snížení tvorby modřin a otoků dolních končetin pozorujeme již během prvního týdne při dávce 1 g na den [31]. Vitamin C působí proti reaktivním formám kyslíku a má vynikající účinky na léčbu nádorů. Askorbát existuje přirozeně ve dvou redoxních stavech, jako stabilnější a fyziologicky aktivní forma kyselina askorbová a pouze 5 % zastoupení kyseliny dehydroaskorbové, která se může v lidském těle redukcí přeměnit na zpět na kyselinu askorbovou [32].



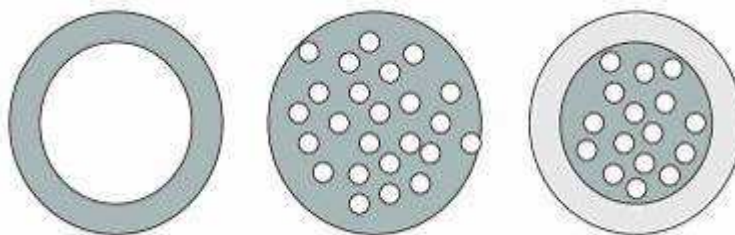
Obrázek 6: Kyselina askorbová [18]

2.5 Enkapsulace

2.5.1 Princip

Enkapsulace neboli zapouzdření je z přírody známo jako přirozená reakce bakterií na stresující prostředí. Jedná se o proces, který si během evoluce vytvořily téměř všechny bakteriální buňky jako ochranu před toxickým prostředím [33].

Enkapsulace je děj, při kterém se jedna látka zapouzdří druhou. Metoda jako technologická procedura datuje svůj vznik v 60. letech 19. století, kdy se začala uplatňovat především v biotechnologii a farmacii. V dnešní době se často používá v potravinářství pro přenos živých buněk či bioaktivních molekul do potraviny [34]. Účelem zapouzdření je ochrana jádra proti degradaci, snížení reaktivity s okolním prostředím, zamezení fyzikálních změn původního materiálu, postupné uvolňování aktivní látky z obalu, snížení odpařování, maskování nežádoucí vůně nebo chuti a zamezení ředění materiálu okolním roztokem [35]. Kapsule se skládá z povlaku, který zapouzdří aktivní látku uvnitř pouzdra. Povlak má určitou životnost, po kterou nedojde k uvolnění vnitřní látky. Po určité době dojde k rozkladu obalu a vzniku prasklinek. Ovšem při chemickém, fyzikálním či mechanickém působení dojde k poškození obalu dříve. Velikost částic se pohybuje v rozmezí nanometrů až milimetrů. Na fázi aktivní látky nezáleží, může být plynná, kapalná i pevná [34]. Enkapsulace je velice důležitá pro dávkování léčiv. Léky mají mnohdy nízkou stabilitu, rozpustnost nebo problém s udržení terapeutické koncentrace léčiva. Uzavření do nanočástice ochrání lék a dostane jej nezměněný na místo působení. Díky ochráně léku před degradací není potřeba dávat větší dávky léku než je zcela nezbytné. Počítá se s tím, že enkapsulovaný lék bude mít stejnou koncentraci po celou dobu skladování, jako měl po výrobě. Optimální velikost částic se nachází v řádech nanometrů kolem hodnoty 100 nm. Bylo prokázáno, že i větší částice o velikosti 500 nm usnadňují přepravu protinádorových látek přes střevní bariéru. Doba potřebnou k uvolnění léku z částice lze ovlivnit materiálem obalové látky a způsobem přípravy částice. Hlavní cíl je dosažení dlouhodobého a trvalého uvolnění s minimální pravděpodobností předčasného rozrušení obalu [36]. Vitaminy rozpouštějící se v hydrofobním prostředí, jako vitamin A, D, E, K a β -karoten lze mnohem lépe zapouzdřit než vitaminy rozpustné ve vodě [37].



Obrázek 7: Možnosti enkapsulace [38]

2.5.2 Podmínky enkapsulace

Možností, jak, co a čím enkapsulovat, je v dnešní době nespočet. Nadále však zůstává prioritní otázkou aktivní látka a její následné použití. V první řadě musí být zachovány nutriční vlastnosti sloučeniny a schopnost zlepšit kvalitu výrobku. Enkapsulace, která je prováděna na začátku výroby, musí zajistit, že povlak odolá po celou dobu zpracování provozním podmínkám. Pokud by došlo k poškození obalu, musí se buď krok vynechat, anebo se zapouzdření zařadí až na konec procesu. Během zpracování je kritická teplota a pH výrobku. Po dokončení výroby jsou důležité podmínky skladování výrobku (pokojová teplota nebo teplota lehce nad 0°C) [38].

2.5.3 Transport léčiv

Podobně jak u polysacharidových částic, tak i liposomy se používají pro přepravu léčiv do cíleného místa v těle. Částice se vyznačují rychlou a jednoduchou přípravou, bez potřeby zvláštních podmínek či vzácných sloučenin, a hlavně vysokou enkapsulační účinností. Aplikace v medicíně je vcelku rozsáhlá, a to od léků proti rakovině, přes antibakteriální a protivirové látky až k vakcínám [39]. Možnosti enkapsulace jsou například zachycení léku adsorbci na povrchu membrány, zapouzdření ve vnitřním objemu liposomu, připevnění k hydrofilní hlavě nebo k lipidovému konci [40]. Přidáním polymeru nebo povrchového sacharidu se připraví stabilizované liposomy, které cirkulují v těle po delší časový úsek než liposomy klasické. Pokud by nedošlo ke stabilizaci, metoda transportu léčiv by se stala méně účinnou. Klasické liposomy se občas vyloučí z těla bez požadovaného uvolnění léku [39].

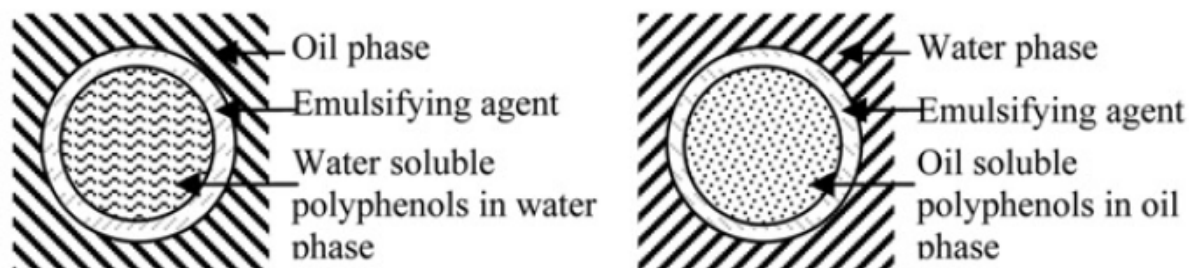
2.5.4 Materiály pro enkapsulaci

Protože se jedná o výrobky, které se vyskytují v potravinářství, musí splňovat určité legislativní předpisy. Materiály pro enkapsulaci lze rozdělit do tří kategorií: lipidové, polysacharidové a bílkovinové. Ve skupině lipidů mají své místo fosfolipidy, mastné kyseliny, mastné alkoholy, glycerid a vosky. Nejpoužívanější materiály pro zapouzdření jsou polysacharidy, především se využívá rostlinných extraktů, v menší míře mikrobiálních, živočišných a mořských extraktů. Poslední skupinou jsou bílkoviny, u kterých se používá želatina, lepek nebo kasein jako materiál pro zapouzdření [38].

2.5.5 Emulze

Emulze se skládá ze dvou navzájem nemísitelných kapalin, obvykle z vody a oleje. Kulovité kapičky jedné kapaliny jsou rozptýleny v druhé. Existuje klasické dvojí rozdělení uspořádání. Systém skládající se z olejových kapiček dispergovaných ve vodní fázi se nazývá olej ve vodě (O/W). Opačný případ nastává při rozptýlení vodních kapiček v oleji a dojde

k emulzi voda v oleji (W/O). Lze připravit i složitější systém o třech a více fázích, například (O/W/O) nebo (W/O/W) [35]. Zapouzdření aktivní látky nastává působením elektrostatických interakcí, hydrofobních interakcí nebo vodíkových vazeb. Přídavkem povrchově aktivní látky se indikuje enkapsulace vytvořením micel, dvojvrstev, reverzních micel a puchýřků [33].



Obrázek 8: Možnosti fázového rozdělení v emulzi [35]

2.5.6 Hydrogely

Polymery jsou schopné vytvořit síť vláken s volnými prostory pro zapouzdření látek. K vytvoření gelů se používají polysacharidy, hlavně chitosan a alginát. Princip enkapsulace je založen na reakci mezi chitosanem a tripolyfosfátem sodným. Zesítnění dochází přikapáváním tripolyfosfátu do roztoku chitosanu, nekontrolovanému gelování se zabrání přídavkem roztoku chloridu sodného. Pro uvolnění aktivní látky z gelu se používá opačně nabitý elektrolyt - karagenan. Hydrogely patří mezi sloučeniny, které nejsou rozpustné ve vodném prostředí. Lze připravit hydrogel s kladným i se záporným nábojem. Pro výrobu kladně nabitého polymeru se používá chitosan, pro výrobu záporného karagenan [41].

2.5.7 Polysacharidové částice

2.5.7.1 Charakterizace

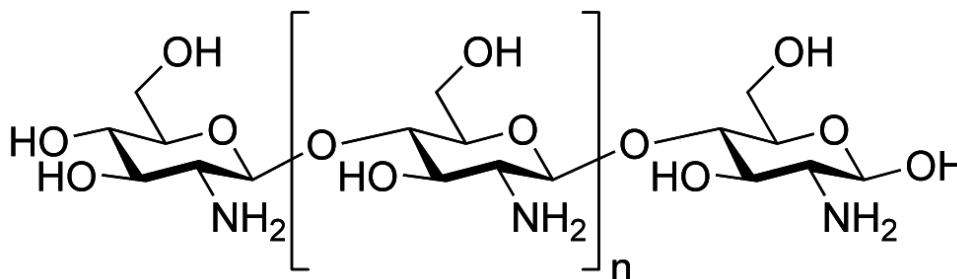
Polysacharidy se běžně vyskytují v lidském těle, živočiších a rostlinách, proto se nejčastěji používá v potravinářském průmyslu díky jejich nezávadnosti. Často se vyrábí ze známých homopolysacharidů jako škrob a celulóza. V poslední době se využívají i jiné přírodní a živočišné materiály: sójové polysacharidy, mořské extrakty, rostlinné extrakty, mikrobiální a živočišné polysacharidy [34]. K zapouzdření aktivní látky dojde jejím navázáním na volné vazebné místo v řetězci polysacharidu, její odpoutání nastane po přidání opačně nabitého elektrolytu, který vykazuje větší afinitu [30, 42]. Částice vykazují stabilitu, netoxicitu a zdravotní nezávadnost a umožňují dopravení léku na místo působení [43].

2.5.7.2 Polysacharidy

Polysacharidy se v přírodě nachází ve volné formě nebo jako součást sloučenin [44]. Při rozpadu všech glykosidických vazeb v polysacharidu vznikne 100 až 1 000 podjednotek monosacharidů. Existují dva druhy: heteropolysacharidy, kdy jsou nalezeny minimálně 2 různé sloučeniny monosacharidů a homopolysacharidy, které se skládají z jedné stejné jednotky opakující se v celém řetězci [43].

2.5.7.3 Chitosan

Chitosan patří mezi homopolysacharidy, odvozené z přírodního chitinu alkalickou deacetylací [43]. Krunýře koryšů a mušlí jsou tvořeny chitosanem. Je biokompatibilní, zlepšuje propustnost slizniční bariéry, je biologicky degradovatelný a mukoadhezivní. Tvorba částic probíhá za příznivých podmínek, nevyžadují se žádné extrémní tlaky či teploty. Dostačující je pokojová teplota a atmosférický tlak, které neohrožují zapouzdřenou látku. Existují dva způsoby zapouzdření: při zgelování nebo během gelování a následném zesílení matrice. Pro tvorbu gelu je nezbytná přítomnost tripolyfosfátu sodného jako ionotropního činidla, pro zesílení existuje více variant jako genipin, glyoxal a nebo méně toxická alternativa glutaraldehyd. Chitosanové částice chrání aktivní látku před rozpadem a řídí rychlost uvolňování. Uvolnění látky dochází pomocí difuze přes matrici a následným rozložením nanočástic. Tento proces může být zpomalen zachycením aktivní látky kovalentními vazbami na vnější straně nanočástice. Princip uvolnění obsahu kapsle lze provést více způsoby. Obecně platí, že pokud je látka zachycena v matrici mezi příčnými vazbami tripolyfosfátu a chitosanu (látka se nachází v obalu a ne uvnitř nanočástice), dojde k vysokému nárůstu koncentrace aktivní látky po prasknutí obalu. V druhém případě, kdy se aktivní sloučenina nachází uvnitř polymeru, dochází k difuzi pomaleji. Částice může vlivem vnějšího prostředí začít bobtnat, bobtnáním se zvětšují póry v obale a uvolňuje se vnitřní tekutina. Kromě bobtnání může nastat destrukce nanočástice, popřípadě degradace erozí. Všechny tyto procesy jsou na sobě nezávislé a mohou se vyskytovat jak separovaně, tak i společně [36]. V potravinářské aplikaci polysacharidů se hojně využívá spojení chitosanu s polymerem, který odolává nízké hodnotě pH, protože chitosan je snadno rozpustitelný v kyselém prostředí [33].

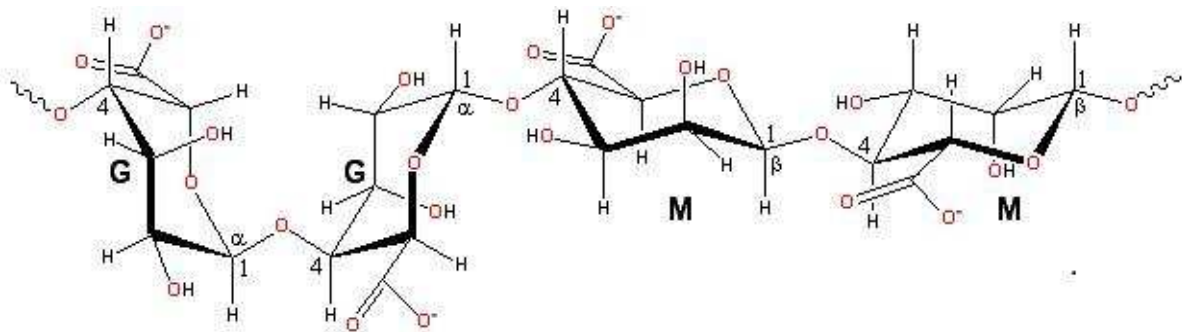


Obrázek 9: Chitosan [45]

2.5.7.4 Alginát

Alginát tvoří biokompatibilní, biologicky odbouratelné, netoxické gely s bioadhezivními vlastnostmi. Gel se vytvoří z aniontového polysacharidu kombinací s dvojmocným kationtem. Alginát sodný obsahuje 65 až 75 % kyseliny guluronové a 25-35 % kyseliny mannuronové, proto se řadí mezi heteropolysacharidy [46]. Termostabilita gelu je určena množstvím kyseliny guluronové v alginátu. Principem vzniku filmu je navázání vápenatého iontu na volné vazebné místo čtyř jednotek kyseliny guluronové [30]. Enkapsulace za použití alginátu jako obalové látky je vhodná pro zapouzdření biomakromolekul jako jsou peptidy, nukleové kyseliny, proteiny. Biomolekuly jsou citlivé na vysoké teploty a okolní prostředí, často dochází během manipulace a skladování k degradaci. Další nedostatek biomolekul je problém s jejich velikostí a nábojem. Všechny negativní vlastnosti s podáváním a aplikací biomolekul byly vyřešeny zapouzdřením do alginátového gelu o velikosti 1-3 mm [46]. Za přírodní zdroje

alginátu se považují především hnědé mořské řasy. Alginát se z nich získává extrakcí řas s alkáliemi. Používá se nejen pro výrobu gelu, ale i jako emulgátor, stabilizátor a zahušťovadlo [30].

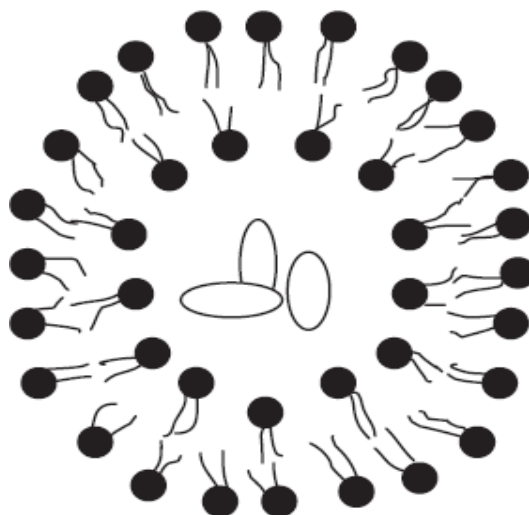


Obrázek 10: Struktura alginátu [47]

2.5.8 Liposomy

2.5.8.1 Charakteristika

Fosfolipidy vytvoří ve vodném prostředí biomembránu, skládající se z dvojvrstvy hydrofobních a hydrofilních konců sloučenin. Ve vodném prostředí dojde k orientování hydrofobních konců směrem k sobě v dvojvrstvě. I když je jejich tvorba závislá na přítomnosti vody, lze enkapsulovat hydrofilní i hydrofobní látky [40]. U multilamelárních liposomů je tvořen obal minimálně dvěma dvojvrstevnými membránami, velikost je určena počtem membrán, proto se pohybuje v širokém rozmezí od 50 do 10 000 nm. V unilamelárníliposomech se nachází pouze jedna dvojvrstva, i tak mohou dosáhnout rozměru 25-1 000 nm. V případě unilamelárních částic existuje určitá míra reprodukovatelnosti uvolňování aktivních látek a vysoká účinnost zapouzdření látek ve vodném prostředí v porovnání s multilamelárními liposomy [48].



Obrázek 11: Liposom [32]

2.5.8.2 Příprava

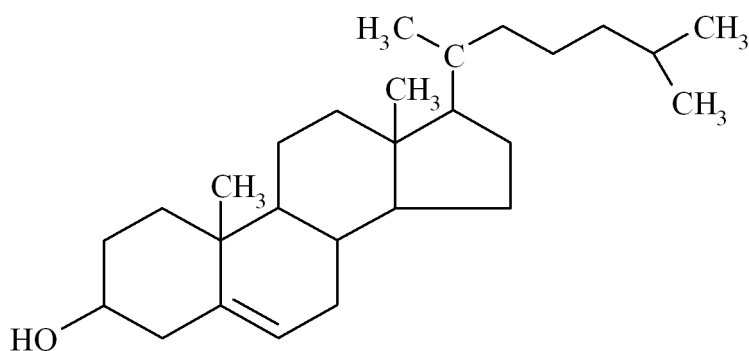
Nej snadnější příprava liposomových částic malého rozměru je injekční ethanolové vstřikování [48]. Kromě přípravy částic ethanolovým vstřikováním lze použít ruční protřepání lamelárních váčků, ultrazvuk, vysokotlakou homogenizaci, odpaření na reverzní fázi nebo na obrácené reverzní fázi, zmrazení nebo vysušení částic [50]. Účinnost zapouzdření liposomů je nejvyšší u přípravy metodou zmrazení a tání. Menší účinnost byla zjištěna u metody odpařování na tenké vrstvě, potom odpařování na reverzní fázi, tavení a nakonec u ultrazvuku. [35]. Pro vyrobení multilamelárních liposomů je nezbytná přítomnost fosfolipidů, připravují se pouze ze samotných fosfolipidů nebo z fosfolipidů s ekvimolárním množstvím cholesterolu. Spojení sacharosy a roztoku chloroformu se využívá pro přípravu proliposomů, roztok chloroformu je obohacen cholesterolem a lecithinem v poměru 1:1 [50].

2.5.8.3 Stabilita

Posouzení stability může být hodnoceno pomocí mnoha hledisek, které lze rozdělit do 3 základních kategorií: chemické, fyzikální a biologické. Biologickou stabilitu liposomů ovlivňuje okolní prostředí. Dlouhodobě stabilní liposomy vzniknou po vysušení mrazem nebo po důkladné sterilizaci a uchování při 4°C. Tekutá forma liposomů za přítomnosti solí a antioxidantů vykazuje stabilnější částice. Oxidace nebo hydrolyza lipidů je příčinou chemického rozložení částic, více častý je proces oxidace na nenasycených vazbách hydrofilního řetězce. Velikost částic a stabilita obsaženého tuku je kritériem pro fyzikální stabilitu liposomů [48].

2.5.8.4 Cholesterol

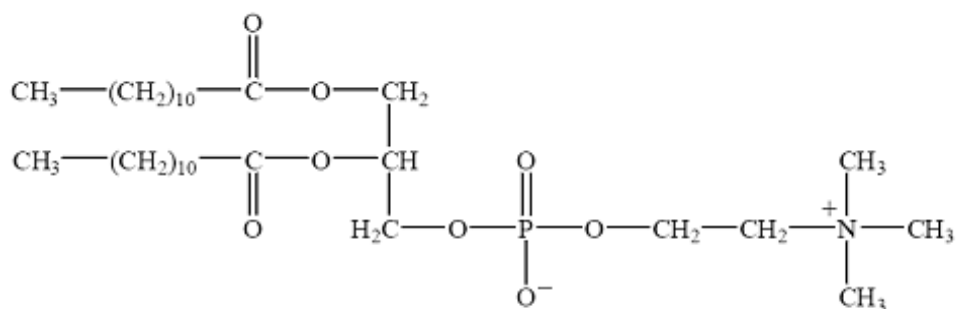
Cholesterol se vyskytuje v přírodních zdrojích, ale v nedostatečném množství dochází k jeho syntéze v těle pro potřeby člověka. Živočišné potraviny obsahující cholesterol jsou mozek, mléko, vaječný žloutek, svalovina, sádlo, ryby, krevety a sýr. Rostlinnou potravinou s největší koncentrací cholesterolu je palmový olej. Existují dva druhy látky, cholesterol s nízkou hustotou (LDL) a s vysokou koncentrací (HDL). Zdravotně škodlivé je spojení cholesterolu s lipoproteiny o nízké hustotě a jejich následný transport ze střevní části do krevního řetězce. Doporučená dávka odpovídá 300 mg cholesterolu [30].



Obrázek 12: Cholesterol [51]

2.5.8.5 Lecithin

Lecithin se nachází ve většině vnitřních orgánů jako je srdce, ledviny, mozek a játra a též v potravinách se zvýšeným obsahem lipidů (sádlo, obilí, vaječný žloutek, zelenina, máslo a rostlinné oleje). Průmyslová výroba lecithinu se provádí rafinací rostlinného oleje, spolu s lecithinem dojde i k izolaci dalších látek: steroly, volné mastné kyseliny, barviva, acylglyceroly, tokoferoly. Pro průmyslově vyrobenou látku se používá název lecithin, z chemického hlediska se jedná o fosfatidylcholin patřící mezi fosfolipidy. Využití lecithinu v potravinářství je široké, používá se například ke snížení viskozity během výroby čokolády, při přípravě těsta, emulgátor při technologické výrobě majonézy [30]. V neposlední řadě se aplikuje během přípravy liposomů [52].



Obrázek 13: Lecithin [53]

2.6 Metody využívané k analýze částic a enkapsulových látek

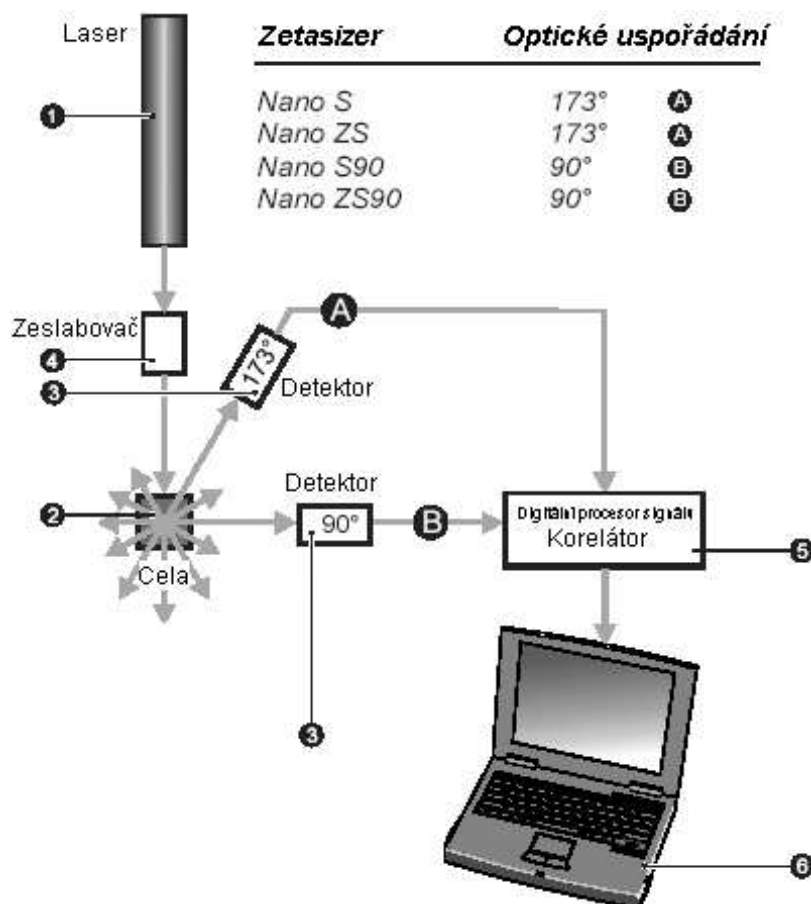
2.6.1 Stanovení velikosti částic metodou dynamického rozptylu světla

Princip metody je založen na difrakci laserového paprsku přítomností částic ve vzorku. Existuje nepřímá závislost mezi velikostí částic a difrakcí paprsku. Pokud se ve vzorku nacházejí malé částice, dojde k ohnutí paprsku pod velkým úhlem, ale intenzita paprsku je slabá. Při přítomnosti velkých částic se paprsek zakříví pod malým úhlem a odezva detektoru bude velká.

Pohyb laserového paprsku je veden přes kyvetu do roztoku, kde dojde k dvěma dějům. Paprsek projde nezměněn roztokem s částicemi, anebo menší část se díky střetu s částicemi v roztoku rozptýlí. Intenzita rozptýleného světla se měří umístěním detektoru v úhlu 90° nebo častěji v úhlu 173°. Paprsek, který dorazí k detektoru, dopadá na digitální desku pro zpracování korelátozem. Korelátor slouží k zaznamenávání intenzity paprsku v po sobě jdoucích intervalech a srovnává, jak rychle se intenzita světla mění. Podle záznamů z korelátoru vyhodnotí počítač velikost částic a jejich zastoupení v roztoku. Kvůli možnému přetížení detektoru se používá zeslabovač v případech, kdy koncentrace částic ve vzorku je vysoká nebo se ve vzorku nachází hodně velkých částic. Zeslabovač je z aparatury vynechán v opačném případě, kdy je koncentrace částic v roztoku nízká nebo je ve vzorku převaha částic s menším poloměrem.

V přítomnosti částic o malém rozměru dochází k rozptylu laseru na všechny strany. Fotodetektor v blízkosti částice měří fázový posun mezi paprskem, který prochází kyvetou nezměněn a paprskem, který je odražen a má jinou dráhu než první. Vyhodnocením fotodetektoru jsou bílá a černá místa. Nejjasnější oblast vznikne při dopadu paprsků se stejnou fází (síla paprsků se sčítá), nejtmavší místo nastane po dopadu laseru s obrácenou fází

(intenzity se vzájemně odečtou a výsledná hodnota je nulová). Popsané hodnoty jsou krajní meze možných případů, pokud je mírně paprsek posunutý od druhého, dojde k zaznamenání hodnoty podle výsledné intenzity [54].



Obrázek 14: Schéma zařízení pro analýzu dynamického rozptylu světla [54]

2.6.2 Stanovení stability částic pomocí analýzy zeta potenciálu

Zeta potenciál vyhodnocuje elektroforetickou pohyblivost s pomocí Henryovy rovnice. Každá částice má určitý náboj, po zavedení elektrického pole do roztoku dojde k vytvoření elektrické dvojvrstvy kolem částice. Síla a náboj elektrické dvojvrstvy závisí na vloženém elektrickém poli a orientaci částice. Dvojvrstva má dvě části, první, která těsně obtéká kolem kapsulí, je tzv. Sternova vrstva, po ní následuje druhá oblast vnější difuze. V difuzní vrstvě se měří zeta potenciál pomocí hranice, iontů pohybujících se s částicí a iontů, které se s částicí nepohybují. Pohyb nabitých částí v kapalině vlivem elektrického pole se nazývá elektroforéza. Další aspekt pohybu závislý na elektrickém poli je kapalina a její elektroosmóza. Proudění kapaliny kolem stacionárně nabitého povrchu v elektrickém poli se označuje jako potenciál proudění. Opačný případ, kdy se částice pohybuje proti stacionární fázi, je potenciál sedimentační [54].

Nejlepší stabilitu mají částice, které nesou náboj větší než ± 60 mV. Jako dobrá stabilita se označuje v rozmezí od ± 40 mV do ± 10 mV, stabilní částice mají ± 30 až ± 40 mV. Mírně oslabená stabilita se nachází v rozmezí ± 30 do ± 10 mV. Pokud je hodnota menší, tak je částice nestabilní. Nestabilita částic značí tendenci shlukovat se a fluktuovat. Částice nezůstávají separovány a nepoškozeny, během skladování nebo vlivem okolních podmínek

dochází k vytváření shluků a uvolnění aktivní látky z pouzdra [55]. Hodnota zeta potenciálu se odvíjí od hodnoty pH. Pokud má částice záporný náboj, přidáním kyseliny se velikost náboje změní na nulovou hodnotu. Při nulové hodnotě se částice nachází v izoelektrickém bodě, proto je také nejmenší stabilita. Dalším přidáním kyseliny se z kladného náboje stane záporný[54].

2.6.3 Enkapsulátor

Aktivní látka se smíchá se zapouzdřovacím polymerem a vzniklá směs se vhní ze stříkačky nebo tlakové láhve do pulzační komory. Kapalina prochází skrz trysku s otvorem o požadovaném průměru a rozděljuje se na jednotlivé kapičky o stejné velikosti. Povrchový náboj dosáhnou kapičky po projití elektrickým polem mezi elektrodou a tryskou. Působením elektrostatických odpuzivých sil dojde k oddělení kapek dopadajících do vytvrzovacího roztoku. Velikost kapiček ovlivňuje mnoho faktorů: amplituda, velikost trysky, frekvence vibrací, fyzikální vlastnosti směsi produktu s polymerem a rychlost průtoku. Pro výrobu částic o určité velikosti se použije tryska o poloviční velikosti. Odchylka ve velikosti může narůst až na $\pm 15\%$ kvůli změně rychlosti toku a frekvence. Optimální podmínky pro přípravu částic lze zjistit díky stroboskopické lampě, která jasně ukáže požadovaný stálý řetízek kapiček. Důležitý parametr k homogenitě kapsliček je kvalitní tryska a její otvor. Čerpání směsi nastává dvěma způsoby, použije se stříkačkové čerpadlo nebo čerpání tlakem vzduchu. První případ se použije při malém objemu tekutiny, při potřebě přesně regulovat průtok a za použití malého mrtvého objemu [56].



Obrázek 15: Enkapsulátor [57]

2.7 Cíl práce

Cílem práce je charakterizace energetických a povzbudivých nápojů s kofeinem a též některých přírodních extraktů obsahujících kofein za účelem návrhu aktivní formy částice s pozvolným uvolňováním kofeinu.

V rámci práce byly řešeny následující dílčí úkoly:

- Vypracování literárního přehledu – nápoje a doplňky s obsahem kofeinu a jejich využití.
- Použité metody – analýza kofeinu a dalších aktivních složek metodou kapalinové chromatografie, enkapsulace kofeinu a přírodních extraktů, charakterizace částic.
- Příprava vhodných typů částic s aktivní složkou obsahující kofein; stabilita částic s různého materiálu a s různou náplní.
- Dlouhodobá stabilita částic v modelových fyziologických podmínkách, v modelových potravinách a v reálných podmínkách, potenciální aplikace.

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Použité chemikálie a přístroje

3.1.1 Použité chemikálie

Methanol - Vitrum–LachNer (ČR)
Acetonitril pro HPLC, Gradient Grade – Sigma (SRN)
Folin-Ciocalteuovo činidlo – RNDr. Jan Kulich, Hradec Králové (ČR)
Ethanol - Vitrum–LachNer (ČR)
Kyselina chlorovodíková, 35 % - Vitrum–LachNer (ČR)
Kyselina octová, 98 % - Vitrum–LachNer (ČR)
Methanol pro HPLC – Vitrum–LachNer (ČR)
Kofein - Sigma–Aldrich (SRN)
Kyselina L-askorbová 99% - Sigma Aldrich (SRN)
Sacharosa, p.a. – Lach-Ner (SRN)
Glukosa monohydrát, p.a. – Lach-Ner (SRN)
Lecithin ze sóje - Serva (SRN)
Cholesterol – směs hydroxy-5-cholestenu a cholesten-3 β -olu - Serva (SRN)
Chitosan z chitinu - Sigma–Aldrich (SRN)
Alginát sodný - Sigma–Aldrich (SRN)
Tripolyfosfát sodný - Sigma–Aldrich (SRN)
Bile salts-směs kyseliny cholové a deoxycholové - Sigma–Aldrich (SRN)
Pankreatin z vepřové slinivky - Sigma–Aldrich (SRN)
Pepsin z prasečí žaludeční sliznice - Sigma–Aldrich (SRN)
Dihydrát chloridu vápenatého - Vitrum–LachNer (SRN)
Kyselina orthofosforečná, p.a., 85 % - Lachema (ČR)
Kyselina metafosforečná – Lachema (ČR)
Hydrogenuhličitan sodný - Vitrum–LachNer (SRN)

3.1.2 Přístroje a pomůcky

UV/VIS spektrofotometr Helios Delta, Unicam (UK)
Mikrocentrifuga Mikro 200 Hettich Zentrifugen (SRN)
Dynamický rozptyl světla - Zetasizer Nano ZS–Malvern (UK)
Enkapsulátor B-395 Pro – Büchi (CH)
Sestava HPLC Ecom spol s.r.o. (ČR)

- Programátor gradientu GP5
- Vysokotlaké čerpadlo LCP 4020
- Dávkovací analytický ventil smyčkový C R54157
- Termostat kolon LCO 101
- Spektrofotometrický detektor LCD 2084
- Integrátor DataApex CSW verze 1.7
- Kolona Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 x 150 mm, 5 μ m)
- Kolona Supercosil LC- NH₂ (25 cm x 4,6 mm; 5 μ m) Supelco analytical

Sestava HPLC/RI Ecom spol. s.r.o. (ČR)

- Pumpa, programátor gradientu Beta 10
- Termostat kolon LCO 102
- Degaser – DG 3014

- Refraktometrický detektor – RIDK 102
- Kolona Supercosil LC- NH₂ (25 cm x 4,6 mm; 5 μm) Supelco analytical
- Předkolony – NH₂, Phenomenex
- Držák předkolony – KJO-4282, ECOM
- Vyhodnocovací software Clarity

Hmotnostní detektor LCQ Advantage Max (Thermo Scientific, USA)

Analytické váhy – Boeco (SRN)

Mikropipety – U-32-R, Boeco (SRN)

Mikropipety – Discovery (SRN)

Ultrazvuk – PS02000 Ultrasonic Compact Cleaner 1,25L, PowerSonic (SR)

Vortex – Genius 3, IKA Vortex (SRN)

3.1.3 Materiál a zpracování

V experimentální části byly použity jako reálné potraviny vzorky komerčních nápojů dostupné v běžné síti supermarketů.

- Právý černý čaj
 - Výrobce: Jemča
 - Příprava: 1 sáček byl louhován ve 100 ml vařící vody po dobu 20 minut
- Zelený čaj
 - Výrobce: Ahmad Tea
 - Příprava: 1 sáček byl louhován ve 100 ml vařící vody po dobu 20 minut
- Pražená káva
 - Výrobce: Jihlavanka
 - Příprava: 20 g kávy bylo louhováno ve 100 ml vařící vody po dobu 20 minut
- Citronová minerálka
 - Výrobce: Ondrášovka
 - Složení na 100 ml: 4,6 g sacharidů, méně než 0,3 g bílkovin, méně než 0,1 g tuků a 0,008 g soli, 19 kcal
- Nestea zelený čaj citrus
 - Výrobce: Nestea
 - Složení na 100 ml: 4,5 g sacharidů, 0,02 g sodíku, 48 kcal
- Pepsi
 - Výrobce: Pepsi
 - Složení na 100 ml: 11 g sacharidů, 41 kcal
- Coca Cola
 - Výrobce: Coca Cola
 - Složení na 100 ml: 10,5 g sacharidů, 42 kcal
- Kofola
 - Výrobce: Kofola
 - Složení na 100 ml: 8 g sacharidů, méně než 0,1 g bílkovin, méně než 0,1 g tuků, 0,05 g soli, 32 kcal
- Monster
 - Výrobce: Monster
 - Složení na 100 ml: 12 g sacharidů z toho 11 g cukrů, 0,18 g sodíku, 0,7 mg riboflavínu, 8,5 mg niacinu, 0,8 mg vitamínu B6, 2,5 μg vitamínu B12, 32 mg kofeinu, 48 kcal

- Red bull
 - Výrobce: Red bull
 - Složení na 100 ml: 11 g sacharidů z toho 11 g cukrů, 0,04 g sodíku, 8 mg kyseliny pantothenové, 2 mg niacinu, 2 mg vitamínu B6, 2 µg vitamínu B12, 32 mg kofeinu, 45 kcal
- Pomerančový džus Hello
 - Výrobce: Linea Nivnice
 - Složení na 100 ml: 11 g sacharidů z toho 8 g cukrů, méně než 0,1 g bílkovin, méně než 0,1 g tuků, 0,05 g, 40 kcal

3.2 Stanovení kofeinu metodou HPLC s UV-VIS a MS detekcí

Vzorky kofeinu byly analyzovány na koloně Agilent Eclipse (150 x 4,6 mm) naplněné reversní fází C 18 (5 µm) při 30 °C. Aplikace na kolonu byla provedena pomocí nástřiku do dávkovacího ventilu o objemu smyčky 20 µl. Eluce probíhala izokraticky při průtoku mobilní fáze 0,6 ml·min⁻¹. Jako mobilní fáze byl použit roztok okyselené vody a methanolu pro HPLC 40:60. Okyselená voda byla připravena z kyseliny chlorovodíkové a destilované vody v objemovém poměru 1:99. Vzorky byly detekovány na spektrofotometrickém detektoru při vlnové délce 280 nm. Z chromatogramů o různých koncentracích kofeinu byly zjištěny plochy píků a sestavena externí kalibrační křivka pro kvantitativní stanovení koncentrace kofeinu.

Metoda HPLC/UV-VIS byla využívána pro veškerá rutinní měření koncentrace kofeinu ve vzorcích potravin i při sledování stability částic. Pro verifikaci složení standardu kofeinu a jeho přítomnosti v jednom z reálných vzorků (extrakt - zelený čaj) byla použita metoda hmotnostní spektrometrie s přímým nástřikem. Hmotnostní spektrum typu „full scan“ bylo získáno pomocí ESI ionizace v negativním modu, jako detektor byla použita iontová past.

3.3 Stanovení monosacharidů a disacharidů metodou HPLC s RI detekcí

Vzorky byly analyzovány na koloně Superkosil (25 cm x 4,6 mm) naplněné reversní fází NH₂ (5 µm) při 25°C. Jako mobilní fáze byla použita směs destilované vody a acetonitrilu v poměru 25:75. Eluce probíhala při průtoku mobilní fáze 0,75 ml·min⁻¹. Vzorky byly detekovány refraktometrickým detektorem. Z naměřených hodnot byla sestavena externí kalibrační křivka pro kvantitativní stanovení koncentrace sacharosy a glukosy.

3.4 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC s UV-VIS detekcí

Vzorky obsahující kyselinu askorbovou byly analyzovány na koloně Superkosil (25 cm x 4,6 mm) naplněné reversní fází NH₂ (5 µm) při 30°C. Jako mobilní fáze byl použit roztok 0,05 M octanu sodného a acetonitrilu v poměru 95:5. Analýza probíhala při průtoku mobilní fáze 0,6 ml·min⁻¹. Vzorek byl nástřikován na kolonu pomocí dávkovací smyčky o objemu 20 µl, detekce byla měřena při 254 nm. Z výsledných ploch píků a byla sestavena externí kalibrační křivka pro kvantitativní stanovení koncentrace kyseliny askorbové.

3.5 Stanovení celkových polyfenolů

50 µl vzorku bylo napipetováno do zkumavek spolu s 1 ml zředěného roztoku Folin-Ciocaltauova činidla (bylo použito ředění 1:9 voda: Folin-ciocaltauovo činidlo) a 1 ml destilované vody. Každá zkumavka byla promíchána na vortexu a po 5 minutách byl přidán 1 ml roztoku uhličitanu sodného. Nasycený roztok uhličitanu sodného byl připraven

rozpuštěním 7,5 g krystalického NaCO₃ v 95 ml destilované vodě. Po uplynutí 15 minut byly vzorky proměřeny na spektrofotometru Helios při vlnové délce 750 nm. Při měření byl použit jako slepý vzorek roztok, kdy se místo vzorku obsahující celkové polyfenoly přidala destilovaná voda.

3.6 Enkapsulace do liposomů

3.6.1 Liposomové částice - L

Byly nachystány tři roztoky určené k enkapsulaci. První roztok byl připraven přidáním kofeinu do destilované vody na koncentraci 1 mg·ml⁻¹, v druhém roztoku bylo extrahováno 200 mg guarany ve 20 ml destilované vody při pokojové teplotě po dobu 20 minut. Třetí roztok byl připraven stejně jako druhý roztok a navíc bylo přidáno 0,2 ml extraktu goji. Do 20 ml připraveného roztoku s kofeinem, guaranou nebo směsí guarany a goji bylo přidáno 50 mg cholesterolu a 450 mg lecithinu. Připravený roztok byl ultrazvukován pomocí tyčového ultrazvukového homogenizátoru po dobu maximálně 40 sekund [47]. Částice byly použity k určení stability v reálných potravinách a v trávicích šťávách. Supernatant byl použit ke stanovení enkapsulační účinnosti a k určení stability a velikosti částic.

3.7 Enkapsulace do polysacharidových částic

3.7.1 Chitosan-alginátové částice – CHA

Při manuální přípravě částic byl připraven roztok obsahující extrakt z 800 mg guarany v 40 ml destilované vody o pokojové teplotě. Při přípravě druhého roztoku byl použit postup jako u prvního a bylo přidáno 0,4 ml extraktu goji do roztoku s guaranou. Poslední roztok byl připraven přidáním 40 mg kofeinu do 40 ml destilované vody. Ke každému roztoku bylo přidáno 40 mg alginátu sodného a pH bylo upraveno na hodnotu 5. Vzniklý roztok byl ultrazvukován a po malých dávkách bylo do něj přidáváno 15 ml roztoku CaCl₂ v koncentraci 3,35 mg·ml⁻¹. Následně bylo přidáno 30 ml chitosanu o koncentraci 0,8 mg·ml⁻¹. Chitosan byl připraven rozpuštěním v 2% kyselině octové a pH bylo upraveno na hodnotu 5; CaCl₂ byl rozpuštěn v destilované vody a pH bylo upraveno na 5. Částice byly použity k určení stability v reálných potravinách a v trávicích šťávách. Supernatant byl použit ke stanovení enkapsulační účinnosti a k určení stability a velikosti částic [58].

3.7.2 Chitosanové částice - CH

Bylo připraveno 50 ml 5% roztoku kyseliny octové s kofeinem o koncentraci 1 mg·ml⁻¹. V druhém roztoku bylo přidáno 1 000 mg guarany do 50 ml 5% roztoku kyseliny octové. Pro přípravu třetího roztoku byl použit návod pro druhý roztok, ke kterému se přidalo 0,4 ml goji. Do připraveného roztoku bylo přidáno 50 mg chitosanu. Pro přípravu manuálních částic byl vzniklý roztok ultrazvukován a po malých dávkách do něj byly přidávány 4 ml 2% tripolyfosfátu sodného. Část supernatantu byla použita ke stanovení enkapsulační účinnosti a druhá část byla použita pro stanovení stability v reálných potravinách, třetí část pro stanovení velikosti a čtvrtá část pro určení stability částic v trávicích šťávách [59].

3.7.3 Alginátové částice – A

Pro enkapsulaci do manuálně připravených alginátových částic bylo připraveno 10 ml roztoku s kofeinem o koncentraci $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. K druhému roztoku byla použita směs 200 mg guarany a 0,2 ml goji. Pro přípravu třetího roztoku byl použit stejný postup jako u druhého roztoku bez přidání goji. K připraveným roztokům byl přidán alginát tak, aby výsledná koncentrace byla 0,3 %. Do směsi bylo za stlého míchání přikapáváno 3 ml 0,5% CaCl_2 . Supernatant byl použit ke stanovení enkapsulační účinnosti a k určení stability a velikosti částic. Částice byly použity k určení stability v reálných potravinách a v trávicích šťávách.

3.7.4 2% alginátové částice připravené pomocí enkapsulátoru – EA2%

Polysacharidové částice byly prosrovnání připraveny též pomocí enkapsulátoru Pro350 (Büchi). Byl připraven 2% roztok alginátu pro vytvoření obalu kolem aktivní látky. Jako srážecí roztok byl použit 50 ml 2% roztok CaCl_2 . 20 ml vzorku bylo tlačeno tryskou o průměru 150 μm rychlostí $8,1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Velikost trysky pro obalovou látku byl 300 μm . Podmínky během enkapsulace byly 6 000 Hz, 2 500 V a tlak v rozmezí 242-471 mBar.

3.7.5 4% alginátové částice připravené pomocí enkapsulátoru – EA4%

Mikročástice z alginátu byly připraveny ze 4% roztoku alginátu použitého pro vytvoření obalu kolem aktivní látky. Jako srážecí roztok bylo použito 50 ml 2% roztok CaCl_2 . 20 ml vzorku bylo tlačeno tryskou o průměru 200 μm rychlostí $10,4 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Velikost trysky pro obalovou látku byl 400 μm . Podmínky během enkapsulace byly 6 000 Hz, 2 500 V a tlak v rozmezí 372-576 mBar.

3.8 Stanovení enkapsulační účinnosti

Vzorky po enkapsulaci byli centrifugovány po dobu 20 minut při 14 000 otáčkách. Supernatant byl slit a byla v něm stanovována pomocí HPLC koncentrace volných celkových polyfenolů, vitamínu C a kofeinu. Účinnost enkapsulace byl vypočítána z rozdílu hodnot koncentrace před enkapsulací a po enkapsulaci.

3.9 Stanovení velikosti částic metodou dynamického rozptylu světla

Přístroj Zetasizer Nanoseries, který využívá dynamického rozptylu světla, byl využit ke stanovení velikosti manuálně připravených částic; mikročástice z enkapsulátoru mají velikost větší než je rozsah měření přístroje. Byla změřena časová závislost kolísání intenzity rozptýleného světla způsobeného Brownovým pohybem. Pomocí analýzy intenzity rozptýleného světla lze určit difuzní koeficient částic a vypočítat distribuci velikosti částic v daném vzorku.

Připravené vzorky byly zředěny 100krát Mili-Q vodou a následně analyzovány. Velikost částic nebyla před měřením upravena.

3.10 Stanovení stability částic

3.10.1 Stanovení zeta potenciálu

Na přístroj Zetasizer Nanoseries byl použit i pro měření zeta potenciálu. Analýza je založena na technice „Laser Doppler Velocimetry“, tj. rychlost pohybujících se částice

v kapalině za působení elektrického pole. Rozdílem potenciálů na pohybovém rozhraní se zjistí zeta potenciál, který se ustavuje při relativním pohybu tuhé fáze s elektrickou dvojrivrstvou vůči roztoku. Znaménko zeta potenciálu je opačného charakteru než znaménko iontů vnější vrstvy elektrické dvojrivrstvy.

3.10.2 Stanovení stability v reálných potravinách

Jako reálné potraviny byly použity: Nestea zelený čaj, extrakt zelený čaj, extrakt černý čaj, pomerančový džus, citronová minerálka, Coca Cola a voda s medem (50 ml vody a 5,5 g medu). Byla zjištěna stabilita částic v reálné potravine v čase nula, jeden týden a čtyři týdny. U ručně vyrobených částic (alginátové, chitosanové, chitosan-alginátové a liposomové) bylo použito ředění v poměru 1,3:0,2 ml reálná potravina:částice. V případě částic z enkapsulátoru bylo použito ředění 1 ml reálné potraviny a 0,2 g částic. Byla změřena koncentrace kofeinu, vitamínu C a celkových polyfenolů ve vzorcích ve třech časových intervalech (0, 1 týden, 4 týdny).

3.10.3 Stabilita částic v modelovém fyziologickém prostředí

3.10.3.1 Žaludeční šťáva

Žaludeční šťáva byla připravena z 0,25 g pepsinu rozpuštěného ve 100 ml destilované vody. V druhém kroku bylo přidáno 0,84 ml 35 % HCl. Hodnota pH byla upravena na 0,9 [60]. Vzorky pro sledování stability částic s reálnými potravinami byly připraveny v poměru 5:4:1 žaludeční šťáva:reálná potravina:částice po enkapsulaci, v případě samotných částic byla připravena směs žaludeční šťáva:částice po enkapsulaci v poměru 1:1. Byla změřena koncentrace kofeinu, vitamínu C a celkových polyfenolů v čase nula a po 20-minutové inkubaci v umělé žaludeční šťávě při 37° C. Z rozdílu koncentrace bylo vypočteno množství uvolněného kofeinu, vitamínu C nebo celkových polyfenolů působením žaludeční šťávy.

3.10.3.2 Pankreatická šťáva

Pankreatická šťáva byla připravena z 1,5 g NaHCO₃ a 0,25 g pankreatinu, které byly rozpuštěny ve 100 ml destilované vody, pH bylo upraveno na hodnotu 8,9 [60]. Vzorky pro sledování stability částic s reálnými potravinami byly připraveny v poměru 5:4:1 žaludeční šťáva:reálná potravina:částice po enkapsulaci, v případě samotných částic byla připravena směs žaludeční šťáva:částice po enkapsulaci v poměru 1:1. Bylo zjištěno uvolnění kofeinu, vitamínu C nebo celkových polyfenolů z částic po 20 minutách inkubace při 37°C.

3.10.3.3 Žlučová šťáva

Přidáním 0,8 g žlučových solí do 200 ml pufr pH 8 byla připravena žlučová šťáva [60]. Vzorky pro sledování stability částic s reálnými potravinami byly připraveny v poměru 5:4:1 žaludeční šťáva:reálná potravina:částice po enkapsulaci, v případě samotných částic byla připravena směs žaludeční šťáva:částice po enkapsulaci v poměru 1:1. Byla změřena koncentrace vitamínu C, celkových polyfenolů a kofeinu v čase nula a 40 minut po působení solí žlučových kyselin při 37°C. Z rozdílu koncentrace bylo zjištěno množství kofeinu, celkových polyfenolů nebo vitamínu C uvolněného z částic působením žlučové šťávy.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Charakterizace nápojů

Zakoupené nápoje byly analyzovány na obsah přítomných aktivních látek, jako jsou sacharidy, kofein, polyfenolické látky a vitamin C. Zjištěné koncentrace analyzovaných přítomných látek byly použity pro návrh složení modifikovaných energetických nápojů. Vitamin C, kofein a celkové polyfenoly byly kritériem pro určení účinnosti enkapsulace. Mezi komerční nápoje byly zařazeny 2 energetické nápoje, 3 nealkoholické nápoje, které obsahují kofein a 2 bezkofeinové nápoje. Dále byly připraveny 3 teplé nápoje s kofeinem: černý čaj (výluh), zelený čaj (výluh) a káva (extrakt). V kapitole 3.1.3 je popsáno složení uvedené na obalu nápoje, výrobce a u teplých nápojů postup přípravy.

Množství jednotlivých analyzovaných sloučenin bylo vztaženo na 1 ml a též pro srovnání na 250 ml, tedy obsah v jedné plechovce nápoje, případně v jedné dávce čaje.

4.1.1 Stanovení celkových polyfenolů

Stanovení obsahu celkových polyfenolů v 11 vzorcích bylo provedeno podle návodu v kapitole 3.5. Všechna spektrofotometrická měření byla provedena třikrát a z naměřených hodnot byl vypočítán průměr. Pro kalibrační křivku byla použita kyselina gallová jako standard.

Tabulka 2: Koncentrace celkových polyfenolů v komerčních nápojích

Vzorky	$\text{ØA} [-]$	<i>Smodch</i> [-]	$c [\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$c [\text{mg}\cdot 250 \text{ ml}^{-1}]$
Coca Cola	0,107	0,009	0,496	123,916
Pepsi	ND	ND	ND	ND
Kofola	ND	ND	ND	ND
Káva	ND	ND	ND	ND
Monster	0,027	0,008	0,124	30,979
Redbull	ND	ND	ND	ND
Nestea	0,301	0,045	1,397	349,288
Citronová minerálka	ND	ND	ND	ND
Zelený čaj	0,334	0,015	1,552	388,011
Černý čaj	0,298	0,005	1,385	346,190
Pomerančový džus	0,301	0,008	1,397	349,288

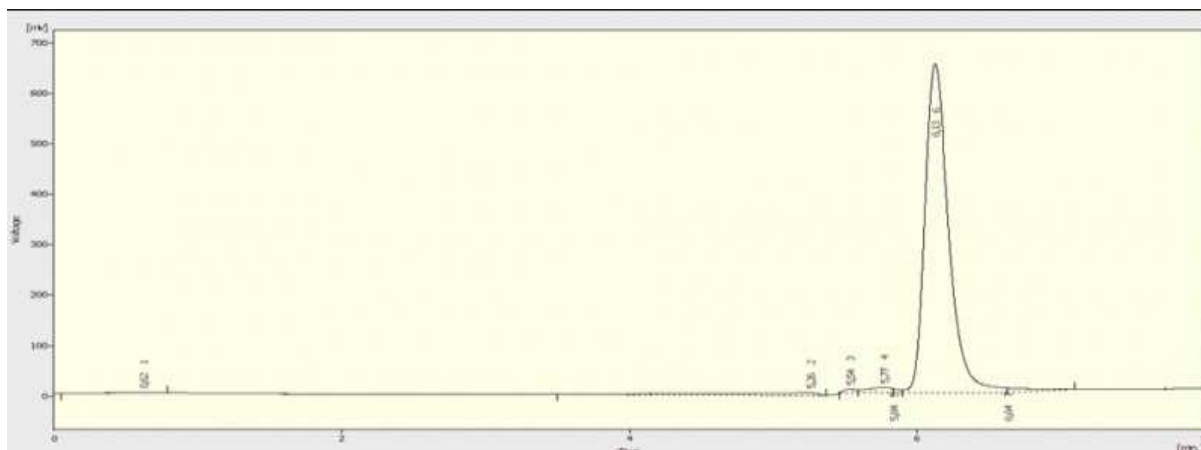
Z 11 vzorků byla nalezena přítomnost celkových polyfenolů stanovovaných použitou metodou pouze ve 4 nápojích. Nejvíce polyfenolů bylo obsaženo ve výluhu zeleného čaje, kde koncentrace celkových polyfenolických látek byla $1,552 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Menší množství bylo v komerčním výrobku Nestea zelený čaj, pomerančovém džusu a černém čaji, přibližně $1,4 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Skoro třetinové množství bylo identifikováno v nápoji Coca Cola a nejméně v energetickém nápoji Monster, který jako jediný energetický nápoj obsahoval celkové polyfenoly.

Přítomnost celkových polyfenolů v nápoji lze považovat za důkaz, že pro přípravu nápoje byl použit nějaký komplexní přírodní extrakt a nejedná se pouze o směs více či méně umělých přísad.

4.1.2 Stanovení vitamínu C

Ve vzorcích bylo analyzováno množství vitamínu C podle návodu v kapitole 3.4. Byla připravena kalibrační křivka pomocí standardu vitamínu C. Příklad chromatogramu HPLC analýza kyseliny askorbové je uveden na Obr. 16.

Pro vyhodnocení obsahu askorbátu byl každý vzorek proměřen dvakrát a v tabulce je uvedena průměrná hodnota.



Obrázek 16: Příklad HPLC chromatogramu kyseliny askorbové

Tabulka 3: Koncentrace vitamínu C

	c [$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$]	c [$\text{mg}\cdot 250 \text{ ml}^{-1}$]
Coca Cola	ND	ND
Pepsi	ND	ND
Kofola	ND	ND
Káva	ND	ND
Monster	ND	ND
Redbull	ND	ND
Nestea	0,014	3,500
Citronová minerálka	ND	ND
Zelený čaj	ND	ND
Černý čaj	ND	ND
Pomerančový džus	0,059	14,790

Z tabulky 3 je patrné, že přítomnost vitamínu C byla zjištěna pouze v případě pomerančového džusu a zeleného čaje Nestea. Množství vitamínu ve 250 ml bylo 14,79 mg v pomerančovém džusu a 3,5 mg v nealkoholickém nápoji Nestea. Lze předpokládat, že alespoň část vitamínu C byla do nápojů přidána v rámci fortifikace.

4.1.3 Stanovení sacharidů

Ve vzorcích byla měřena přítomnost sacharidů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie popsané v kapitole 3.3.

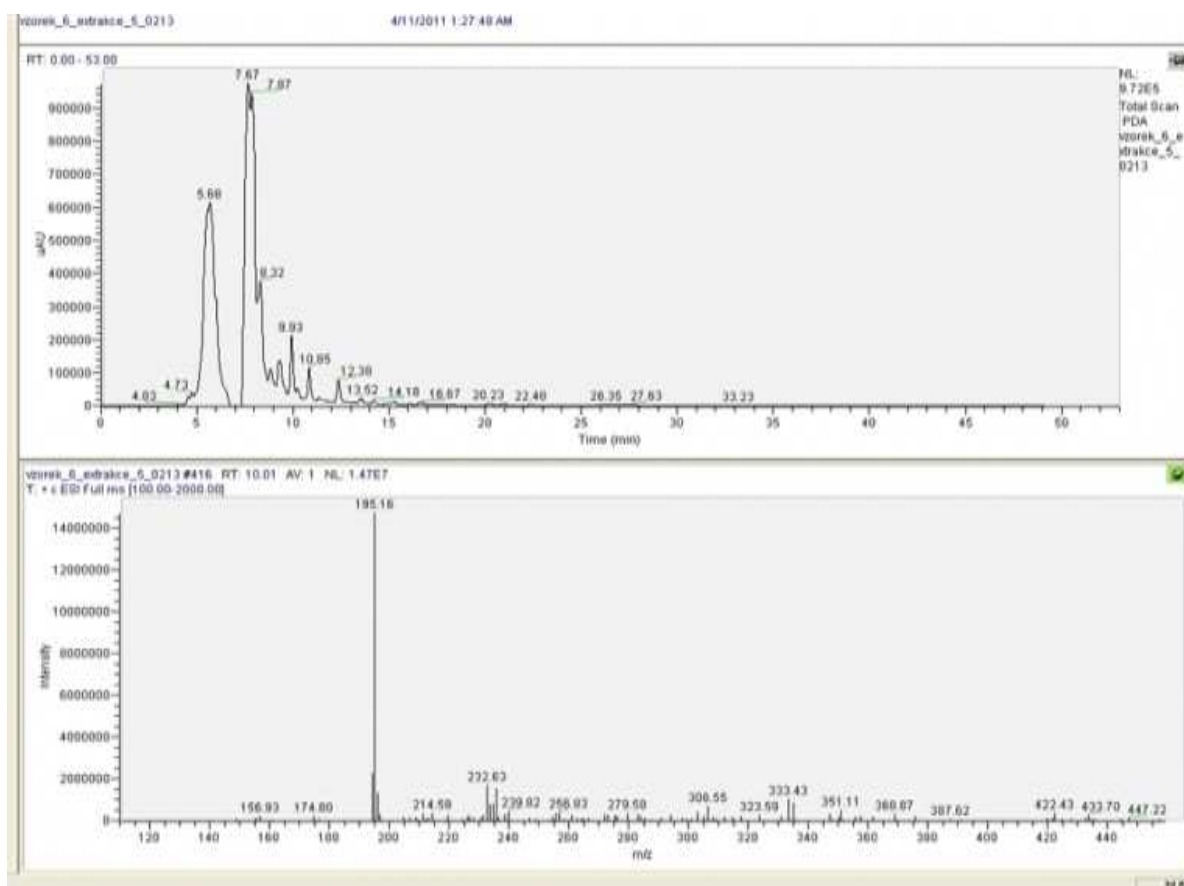
Tabulka 4: Stanovení sacharidů

	Glukosa		Sacharosa	
	<i>c</i> [mg·ml ⁻¹]	<i>c</i> [mg·250 ml ⁻¹]	<i>c</i> [mg·ml ⁻¹]	<i>c</i> [mg·250 ml ⁻¹]
Coca Cola	13,38	3 346,03	0,42	104,95
Pepsi	11,98	2 994,59	ND	ND
Kofola	11,82	2 953,93	3,30	826,18
Káva	ND	ND	ND	ND
Monster	6,21	1 553,12	9,81	2 453,10
Redbull	11,39	2 847,14	9,28	2 319,07
Nestea	1,55	388,60	3,31	826,73
Citronová minerálka	2,33	581,72	3,60	898,80
Zelený čaj	ND	ND	ND	ND
Černý čaj	ND	ND	ND	ND
Pomerančový džus	14,31	3 576,79	5,13	1 282,26

V tabulce 4 je uvedeno, že přítomnost glukosy byla potvrzena ve všech analyzovaných nápojích s výjimkou čajových extraktů a kávy. Koncentrace glukosy v nápojích se pohybovala nad 10 mg·ml⁻¹, Monster obsahoval poloviční množství a nejméně se nacházelo v minerálce Ondrášovka a Nestea. Koncentrace sacharosy byla ve všech vzorcích nižší než u glukosy, sacharosa nebyla detekována v nápoji Pepsi a dále v kávě a v čajových výluzích.

4.1.4 Stanovení kofeinu

Obsah kofeinu ve vzorcích byl stanoven s podle postupu popsáno v kapitole 3.2. Analýza byla provedena pro každý vzorek vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s UV detekcí. Vzorek zeleného čaje a kofeinu byl analyzován metodou hmotnostní spektrometrie s přímým nástřikem. Příklad chromatogramu extraktu zeleného čaje a hmotnostní spektrum kofeinu je uvedeno na Obr. 17. Z hmotnostního spektra typu MS/full scan je patrné, že kofein tvoří stabilní molekulový ion o molekulové hmotnosti 195,16 odpovídající velikosti molekuly. Pro průběžná rutinní měření kofeinu ve vzorcích reálných nápojů i při sledování stability částic s enkapsulovaným kofeinem nebo přírodními extrakty nebylo nutné používat nákladnou a časově náročnější LC/MS analýzu, dostatečnou citlivost vykazovala metoda HPLC s UV detekcí. Oprávněnost tohoto přístupu potvrzují i výsledky uvedené v Tab. 5, kde jsou uvedeny hodnoty koncentrace kofeinu zjištěné v několika běžných energetických a povzbuzujících nápojích. Zjištěné koncentrace odpovídají literárním údajům (kap. 2.2).



Obrázek 17: Příklad chromatogramu výluhu zeleného čaje a hmotnostního spektra kofeinu

Tabulka 5: Koncentrace kofeinu v nápojích a extraktech

	c [$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$]	c [$\text{mg}\cdot 250 \text{ ml}^{-1}$]
Coca Cola	0,099	24,854
Pepsi	0,132	33,095
Kofola	0,123	30,773
Káva	0,398	99,556
Monster	0,313	78,181
Redbull	0,304	75,946
Nestea	0,124	31,019
Citronová minerálka	ND	ND
Zelený čaj	0,175	43,755
Černý čaj	0,277	69,335
Pomerančový džus	ND	ND

Kofein byl detekován ve všech testovaných vzorcích s výjimkou citronové minerálky a pomerančového džusu. Největší množství bylo nalezeno v kávě - cca 100 mg na 250 ml, následně v energetických nápojích, většinou pod 80 mg na 250 ml. V zeleném čaji bylo zjištěno 69 mg/250 ml a v černém čaji 43 mg/250 ml. V nealkoholických nápojích, které obsahovaly kofein, bylo změřeno okolo 30 mg, nejméně bylo obsaženo v nápoji Coca Cola.

4.2 Enkapsulační účinnost

Tabulka 5A: Obsah aktivních látek v přírodních extraktech

materiál	Obsah kofeinu	Obsah polyfenolů	Obsah vitamínu C	Obsah sacharidů
	$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
guarana	$113 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$463 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	ND	ND
goji	ND	$131 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$481 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	ND

V extraktu z guarany byla prokázána přítomnost kofeinu a polyfenolů v množství uvedeném v Tab.5A. V extraktu z goji byl navíc přítomen i vitamin C.

Stanovené aktivní látky byly využity k monitorování účinnosti enkapsulace a stability částic.

4.2.1 Chitosan-alginátové částice

4.2.1.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 6: Procentuální úspěšnost zabalení chitosan-alginátových částic pomocí měření koncentrace kofeinu

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{\text{počáteční}} [\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$C_{\text{konečná}} [\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$
CHA _{kofein}	39,53	61,47	1 000	400
CHA _{guarana}	65,25	34,75	113	74
CHA _{guarana,goji}	63,51	36,49	116	73

Účinnost zapouzdření v případě chitosan-alginátových částic byla nejvyšší při zapouzdření kofeinu (Tab. 6). Bylo zabaleno 61,47 % kofeinu, při spojení guarany a goji bylo zabaleno 36,49 % a v případě samotné guarany 34,75 %. Skoro o polovinu nižší účinnost enkapsulace u částic s guaranou a s guaranou a goji byla způsobena jejich strukturou a vazbou s jinými látkami. Částice byly připraveny podle postupu v kapitole 3.7.1.

4.2.1.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 7: Procentuální úspěšnost zabalení chitosan-alginátových částic pomocí měření koncentrace celkových polyfenolů

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{\text{počáteční}} [\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$C_{\text{konečná}} [\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$
CHA _{guarana}	27,66	72,34	299	83
CHA _{guarana,goji}	15,18	84,82	429	65

Enkapsulační účinnost zapouzdření celkových polyfenolů byla stanovena na 84,82 % u částic s guaranou a goji a 72,34 % u částic s pouhou guaranou (Tab. 7).

4.2.1.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 8: Procentuální úspěšnost zabalení chitosan-alginátových částic pomocí měření koncentrace vitamínu C

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{\text{počáteční}} [\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$	$C_{\text{konečná}} [\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}]$
CHA _{guarana,goji}	22,75	77,25	27	6

Účinnost enkapsulace byla měřena pouze v případě částic, které obsahovaly goji (Tab. 8).

Úspěšnost byla 77,25 %. Srovnáním výsledků účinnosti enkapsulace kofeinu a komplexních extraktů do manuálně připravených chitosan- alginátových částic bylo zjištěno, že lépe se enkapsulovaly polyfenoly a vitamin C, zatímco u kofeinu cca 2/3 zůstaly neenkapsulovány. Čistý kofein se přitom enkapsulovat s podobnou účinností jako polyfenoly a askorbát. Je možné, že v komplexních extraktech jsou přítomny látky, které ovlivňují stabilitu a enkapsulační účinnost a daleko více bude záležet na kombinaci materiálu částic a způsobu jejich přípravy.

4.2.2 Chitosanové částice

4.2.2.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 9: Procentuální úspěšnost zabalení chitosanových částic pomocí měření koncentrace kofeinu

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
CH _{kofein}	12,36	87,64	1 000	124
CH _{guarana}	52,59	47,41	232	50
CH _{guarana,goji}	69,18	30,82	224	60

Z tabulky 9 vyplývá vysoká účinnost zapouzdření kofeinu, která se blížila 90 %. Chitosanové částice s guarany měly poloviční účinnost a částice s guaranou a goji pouze 30 %. Snížená efektivnost enkapsulace u kapslí s guaranou a s guaranou a goji, mohla být způsobena složitostí látek a jejich koncentrací v roztoku.

4.2.2.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 10: Procentuální úspěšnost zabalení chitosanových částic pomocí měření koncentrace celkových polyfenolů

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
CH _{guarana}	53,16	46,84	340	180
CH _{guarana,goji}	48,10	61,90	279	106

Zapouzdření celkových polyfenolů bylo účinné na 61,90 % u částic s guaranou a goji a 46,84 % u částic s pouhou guaranou (Tab. 10).

4.2.2.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 11: Procentuální úspěšnost zabalení chitosanových částic pomocí měření koncentrace vitamínu C

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
CH _{guarana,goji}	31,45	68,55	14	4

Tabulka 11 ukazuje, že účinnost zapouzdření vitamínu C byla 68,55 %.

Srovnáním výsledků účinnosti enkapsulace kofeinu a komplexních extraktů do manuálně připravených chitosanových částic bylo zjištěno, že podobně jako u předchozích částic se dobře enkapsuloval čistý kofein, hůře kofein z komplexních směsí a nižší účinnost byla zjištěna i u polyfenolů guarany.

4.2.3 Alginátové částice

4.2.3.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 12: Procentuální úspěšnost zabalení alginátových částic pomocí měření koncentrace kofeinu

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
A_{kofein}	14,19	85,81	1000	141
A_{guarana}	49,44	50,56	54	27
$A_{\text{guarana,goji}}$	30,03	69,97	59	18

Efekt zapouzdření alginátových částic s kofeinem měl hodnotu 85,81 %. U částic s guaranou a goji byly účinné na 69,97 % a nejméně účinné kapsle s guaranou (Tab. 12).

4.2.3.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 13: Procentuální úspěšnost zabalení alginátových částic pomocí měření koncentrace celkových polyfenolů

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
A_{guarana}	30,93	60,07	436	262
$A_{\text{guarana,goji}}$	65,16	44,84	399	179

Enkapsulační účinnost zapouzdření celkových polyfenolů byla naměřena na 60,07 % u částic s guaranou a 44,84 % u částic s guaranou a goji (Tab. 13).

4.2.3.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 14: Procentuální úspěšnost zabalení alginátových částic pomocí měření koncentrace vitamínu C

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
$A_{\text{guarana,goji}}$	63,22	46,78	55	29

Částice obsahující guaranu s goji došlo k poklesu koncentrace vitamínu C o 46,78 % (Tab. 14).

Srovnáním výsledků účinnosti enkapsulace do alginátových částic bylo zjištěno, že lépe se enkapsulovaly kofein čistý i z komplexních extraktů a polyfenoly z guarany, zatímco vitamín C a polyfenoly ze směsi z goji se enkapsulovaly hůře. Tyto výsledky potvrzují, že při přípravě polysacharidových částic bude záležet na kombinaci materiálu částic a způsobu jejich přípravy.

4.2.4 2% alginátové částice z enkapsulátoru

4.2.4.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 15: Procentuální úspěšnost zabalení 2% alginátových částic pomocí měření koncentrace kofeinu

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
EA2% _{kofein}	2,54	97,46	1 000	25
EA2% _{guarana}	16,18	83,82	97	16
EA2% _{guarana,goji}	18,90	81,10	94	15

Účinnost zapouzdření v případě 2% alginátových částic byla nejvyšší při zapouzdření kofeinu. Bylo zabaleno 97,46 % kofeinu, při spojení guarany a goji bylo zabaleno 81,10 % a v případě samotné guarany 83,82 %. Díky enkapsulátoru se podstatně zvyšuje účinnost enkapsulace oproti ručně připraveným částicím (Tab. 15).

4.2.4.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 16: Procentuální úspěšnost zabalení 2% alginátových částic pomocí měření koncentrace celkových polyfenolů

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
EA2% _{guarana}	59,75	40,25	128	76
EA2% _{guarana,goji}	64,25	35,75	181	116

Účinnost enkapsulace celkových polyfenolů byla stanovena na 40,25 % u částic s guaranou a 35,75 % u částic s guaranou a goji. Nižší efekt zapouzdření celkových polyfenolů je způsobeno charakterem sloučenin a částic (Tab. 16).

4.2.4.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 17: Procentuální úspěšnost zabalení 2% alginátových částic pomocí měření koncentrace vitamínu C

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
EA2% _{guarana,goji}	67,68	42,32	70	40

Účinnost zapouzdření byla měřena pouze v případě částic, které obsahovaly goji (Tab. 17). Úspěšnost byla 42,32 %.

4.2.5 4% alginátové částice z enkapsulátoru

4.2.5.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 18: Procentuální úspěšnost zabalení 4% alginátových částic pomocí měření koncentrace kofeinu

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
EA4% _{kofein}	9,78	90,22	1 000	90
EA4% _{guarana}	46,43	53,57	113	52
EA4% _{guarana,goji}	30,73	69,27	58	18

Nejvyšší účinnost zapouzdření částic s kofeinem a to 90,22 %. U částic s guaranou a goji bylo zabaleno 69,27 % a v případě samotné guarany 53,57 %. Vyšší koncentrace alginátu měla špatné účinky na zapouzdření složitějších sloučenin (Tab. 18).

4.2.5.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 19: Procentuální úspěšnost zabalení 4% alginátových částic pomocí měření koncentrace celkových polyfenolů

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
EA4% _{guarana}	87,08	12,92	429	374
EA4% _{guarana,goji}	78,44	21,56	399	313

Tabulka 19 ukazuje podstatně nízkou účinnost enkapsulace jak v případě částic s guaranou a goji a o něco nižší u částic s guaranou. Spojení 4% alginátu a zapouzdření polyfenolických látek byla nejnižší ze všech použitých metod.

4.2.5.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 20: Procentuální úspěšnost zabalení 4% alginátových částic pomocí měření koncentrace vitamínu C

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
EA4% _{guarana,goji}	76,63	23,37	11	9

Zapouzdření vitamínu C bylo stejně jako u účinnosti enkapsulace celkových polyfenolů nejnižší ze všech použitých metod. Důvody jsou nevyhovující koncentrace alginátu a nedostatečně zapouzdření vitamínu C.

Srovnáním výsledků účinnosti enkapsulace alginátových částic připravených na enkapsulátoru je patrné, že enkapsulace kofeinu čistého i z komplexních extraktů je podstatně vyšší než u manuálně připravených částic, hůře se naopak enkapsulovaly polyfenoly a vitamin C. Výhodnějším materiálem byl 2% alginát, vyšší koncentrace vedla k nestabilitě částic s komplexními extrakty.

4.2.6 Liposomové částice

4.2.6.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 21: Procentuální úspěšnost zabalení liposomových částic pomocí měření koncentrace kofeinu

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
L_{kofein}	5,91	94,09	1 000	59
L_{guarana}	45,38	54,62	97	45
$L_{\text{guarana,goji}}$	43,62	56,38	97	44

Tabulka 21 zobrazuje účinnost enkapsulace do liposomových částic, v případě částic s kofeinem byla dosažena činnost přes 90 %. V případě složitějších sloučenin je efekt zapouzdření nižší, pouze přes 50 %.

4.2.6.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 22: Procentuální úspěšnost zabalení liposomových částic pomocí měření koncentrace celkových polyfenolů

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
L_{guarana}	42,08	57,92	713	308
$L_{\text{guarana,goji}}$	42,84	57,16	775	357

Účinnost zapouzdření celkových polyfenolů byla stanovena na 57,92 % u částic s guaranou a 57,16 % u částic s goji a guaranou (Tab. 22).

4.2.6.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 23: Procentuální úspěšnost zabalení liposomových částic pomocí měření koncentrace vitamínu C

Vzorek	Nezabaleno [%]	Zabaleno [%]	$C_{počáteční}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	$C_{konečná}$ [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
$L_{\text{guarana,goji}}$	53,22	46,78	55	29

V tabulce 23 je uvedena enkapsulační účinnost liposomových částic s goji 46,78 %.

Srovnáním výsledků účinnosti enkapsulace kofeinu a komplexních extraktů do manuálně připravených liposomů bylo zjištěno, že z komplexních extraktů se srovnatelně enkapsulovaly veškeré aktivní látky – kofein, polyfenoly i vitamin C. Čistý kofein se enkapsuloval s nejvyšší účinností.

4.3 Stabilita částic v reálných potravinách

4.3.1 Chitosan-alginátové částice

V následujících experimentech byla sledována stabilita vytvořených částic s kofeinem a komplexními extrakty v průběhu dlouhodobého uchování ve vybraných typech reálných potravin. Jako základ byly vybrány černý a zelený čaj, Coca Cola, Nestea, minerálka, voda s medem a pomerančový džus.

4.3.1.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 24: Stabilita chitosan-alginátových částic v reálných potravinách

CHA_{kofein}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
Reálná potravina	Týden	Měsíc
Černý čaj	1,01	12,80
Zelený čaj	-3,81	11,91
Coca Cola	-2,70	25,06
Nestea	-2,62	4,19
Minerálka	-42,36	-33,44
Voda (50ml+5,5 g med)	-40,32	-41,89
Pomerančový džus	-52,65	-47,35
CHA_{guarana}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
Reálná potravina	týden	měsíc
Černý čaj	3,89	2,54
Zelený čaj	9,40	0,08
Coca Cola	-1,32	4,01
Nestea	2,81	2,34
Minerálka	0,62	1,13
Voda (50ml+5,5 g med)	1,26	5,67
Pomerančový džus	-43,75	-55,20
$CHA_{\text{guarana a goji}}$	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	54,46	-6,28

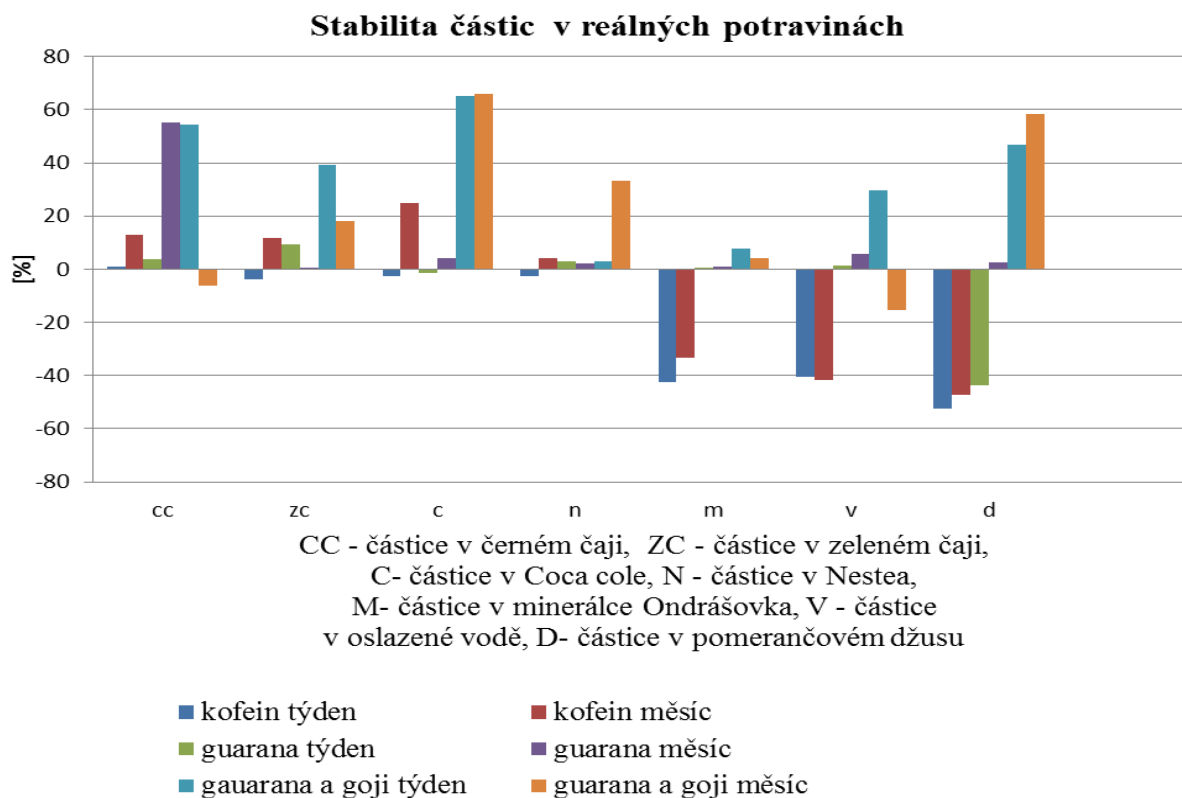
Zelený čaj	39,40	18,24
Coca Cola	65,36	65,84
Nestea	2,91	33,23
Minerálka	7,83	4,09
Voda (50ml+5,5 g med)	29,56	-15,35
Pomerančový džus	46,93	58,49

Stabilita částic byla hodnocena jako množství aktivní látky uvolněné z částic v průběhu dlouhodobého uchovávání. Přírůstek koncentrace v roztoku předpokládá rozpad částice a uvolnění obsahu.

Změna koncentrace kofeinu u chitosan-alginátových částic byla v případě potravin obsahujících kofein (čaj, Coca Cola) téměř nulová po prvním týdnu u částic s enkapsulovaným čistým kofeinem a s guaranou. U částic s guaranou a goji již po prvním týdnu došlo až k šedesátiprocentnímu nárůstu obsahu kofeinu v roztoku. Navýšení koncentrace u částic s guaranou a goji po prvním týdnu došlo díky uvolnění kofeinu z reálných částic. U bezkofeinových nápojů (minerálka, voda, džus) klesla koncentrace kofeinu u částice s kofeinem a v prvním týdnu u částic s guaranou v pomerančovém džusu. Snížení koncentrace vzniklo pravděpodobně navázáním kofeinu z roztoku na částice. Částice s guaranou a goji byly nestabilního charakteru a během prvního týdne došlo k významnému uvolnění kofeinu (Tab. 24).

V grafu 1 je názorně shrnut přehled výsledků kofeinu uvolněného z částic v různém prostředí. Čím vyšší hodnota uvolněného kofeinu byla zjištěna, tím menší je stabilita částic v daném prostředí.

Graf 1: Stabilita částic v reálných potravinách – hodnoceno jako % uvolněného kofeinu



4.3.1.2 Koncentrace celkových polyfenolů

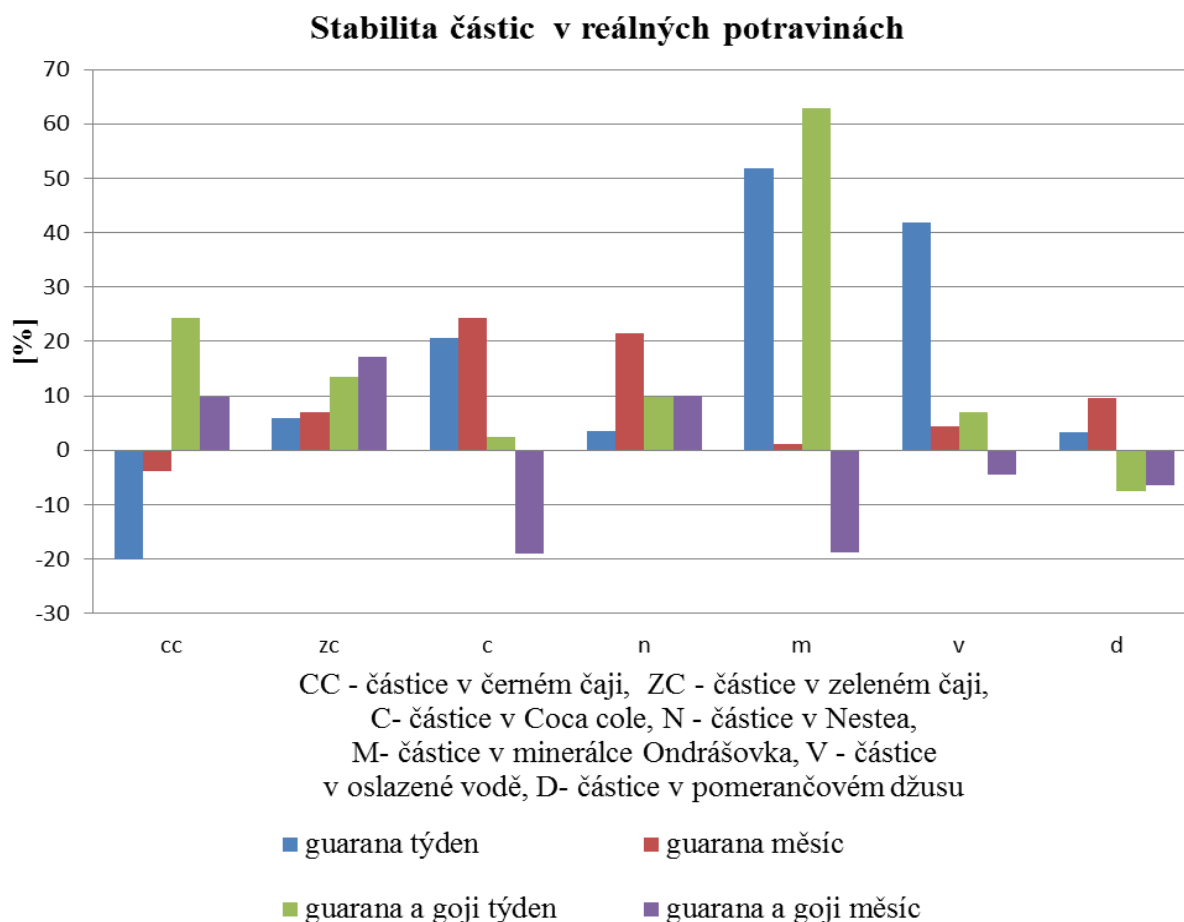
Tabulka 25: Stabilita chitosan-alginátových částic v reálných potravinách

CHA _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku[%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-20,12	-3,95
Zelený čaj	5,92	7,03
Coca Cola	20,64	24,34
Nestea	3,58	21,42
Minerálka	51,93	1,16
Voda (50ml+5,5 g med)	41,94	4,46
Pomerančový džus	3,34	9,61
CHA _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	24,29	9,87
Zelený čaj	13,39	17,15
Coca Cola	2,33	-19,07
Nestea	9,90	10,10
Minerálka	62,97	18,80
Voda (50ml+5,5 g med)	6,98	-4,39
Pomerančový džus	-7,59	-6,43

Enkapsulované polyfenolické látky vykazují v částicích menší stabilitu než kofein. V černém čaji došlo k poklesu množství celkových polyfenolů v roztoku částic s guaranou, v ostatních potravinách naopak došlo vesměs ke zvýšení koncentrace, tedy k uvolnění obsahu částic (Tab. 25). V minerálce a vodě došlo k největšímu nárůstu po týdnu, přibližně o 50 %. U nápoje Coca Cola a Nestea se uvolnilo přes 20 % celkových polyfenolů po měsíčním měření. Nejmenší stabilita částic s guaranou a goji byla změřena v minerálce, kdy po týdenním působení minerálky došlo k 63 % uvolnění celkových polyfenolů. Pokles celkových polyfenolů v obou měření byl pouze v případě pomerančového džusu, kdy se koncentrace zmenšila přibližně o 7 %, což je pravděpodobně v rozsahu experimentální chyby. Celkové polyfenoly měly větší tendenci se uvolňovat z částice než kofein (Graf 2).

Koncentrace vitamínu C se zvýšila po týdenním měření, především v kole, černém čaji a pomerančovém džusu. Pokles koncentrace je způsoben s největší pravděpodobností degradací vitamínu C a jeho částečným navázáním na částice.

Graf 2: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění celkových polyfenolů



4.3.2 Chitosanové částice

4.3.2.1 Koncentrace kofeinu

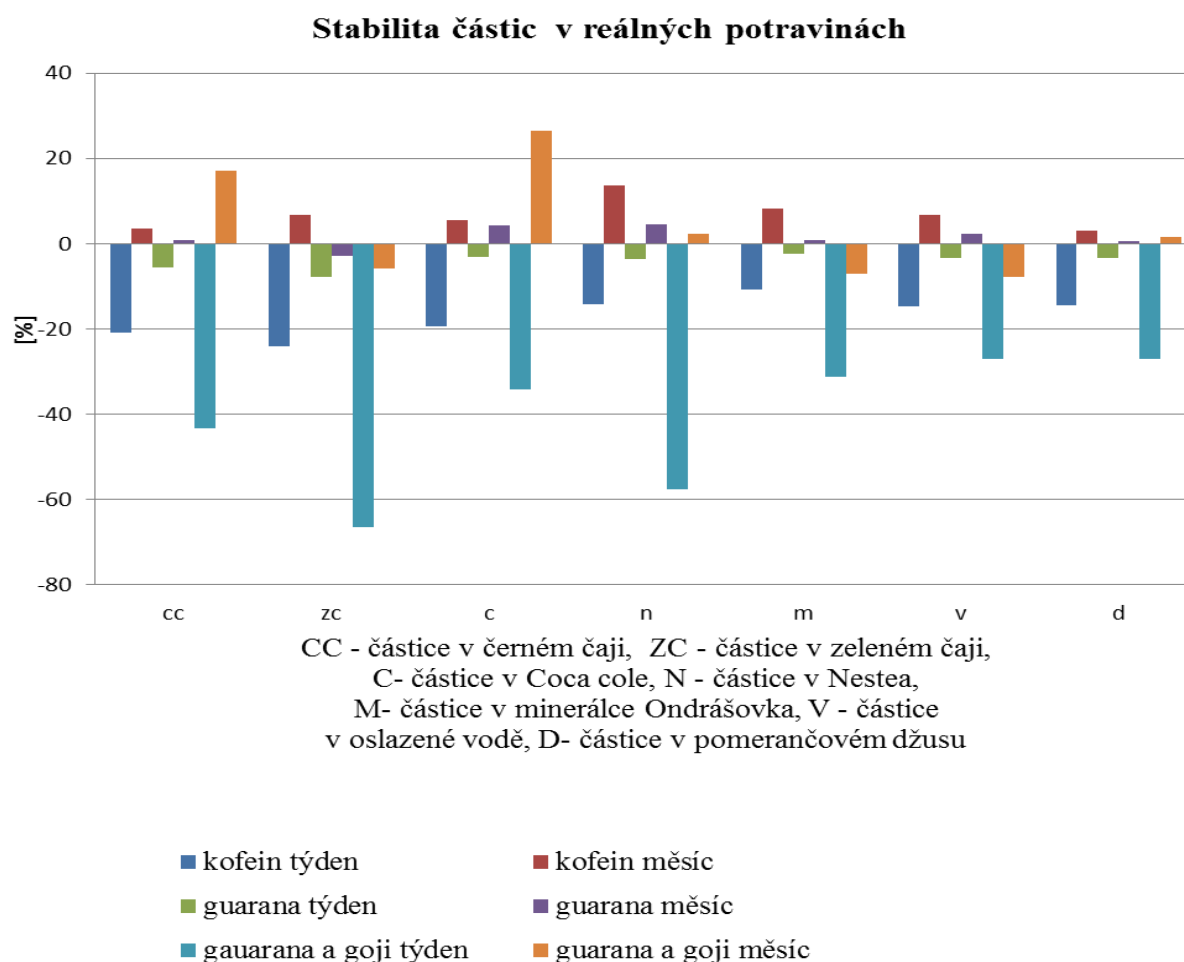
Tabulka 26: Stabilita chitosanových částic v reálných potravinách

CH _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-20,85	3,62
Zelený čaj	-24,16	6,75
Coca Cola	-19,38	5,40
Nestea	-14,24	13,54
Minerálka	-10,83	8,24
Voda (50ml+5,5 g med)	-14,64	6,66
Pomerančový džus	-14,40	2,97
CH _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-5,56	0,82
Zelený čaj	-7,75	-2,79
Coca Cola	-2,99	4,36

Nestea	-3,54	4,47
Minerálka	-2,32	0,77
Voda (50ml+5,5 g med)	-3,35	2,19
Pomerančový džus	-3,40	0,60
CH_{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-43,33	17,18
Zelený čaj	-66,55	-5,91
Coca Cola	-34,07	26,57
Nestea	-57,62	2,24
Minerálka	-31,11	-6,93
Voda (50ml+5,5 g med)	-27,13	-7,79
Pomerančový džus	-26,98	1,69

U chitosanových částic s kofeinem bylo po týdenním uchování naměřeno mírné snížení koncentrace kofeinu v roztoku (o 10 až 20 %), nejnižší byla v zeleném a černém čaji. Stabilita po měsíci inkubace v reálných potravinách byla velmi dobrá, došlo pouze k mírnému uvolnění kofeinu z částic do 10 %. Chitosanové částice s kofeinem možná navázaly na svůj povrch během prvního týdne kofein z roztoku, po měsíci došlo k rozpadu vazeb a mírného uvolnění kofeinu zevnitř částic. Chitosanové částice s guaranou vykazovaly vynikající stabilitu jak v týdenním, tak i v měsíčním měření. Koncentrace kofeinu byla po týdnu inkubace prakticky nezměněna, po měsíci inkubace bylo maximální uvolnění kofeinu nižší než 5 %. Podobně jako u částic s kofeinem došlo ke snížení koncentrace ve všech částicích s guaranou a goji. U zeleného čaje a Nestea byl zaznamenán největší pokles. Záporné hodnoty změny koncentrace byly zjištěny v případě zeleného čaje a vody i po měsíčním měření. Naopak uvolnění kofeinu nastalo především u nápoje Coca Cola a černý čaj. Kofein v roztoku se navázal na částice s guaranou a goji během prvního týdne a během 4 týdnu se vazba rozpadla (Tab. 26).

Graf 3: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění kofeinu



4.3.2.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 27: Stabilita chitosanových částic v reálných potravinách

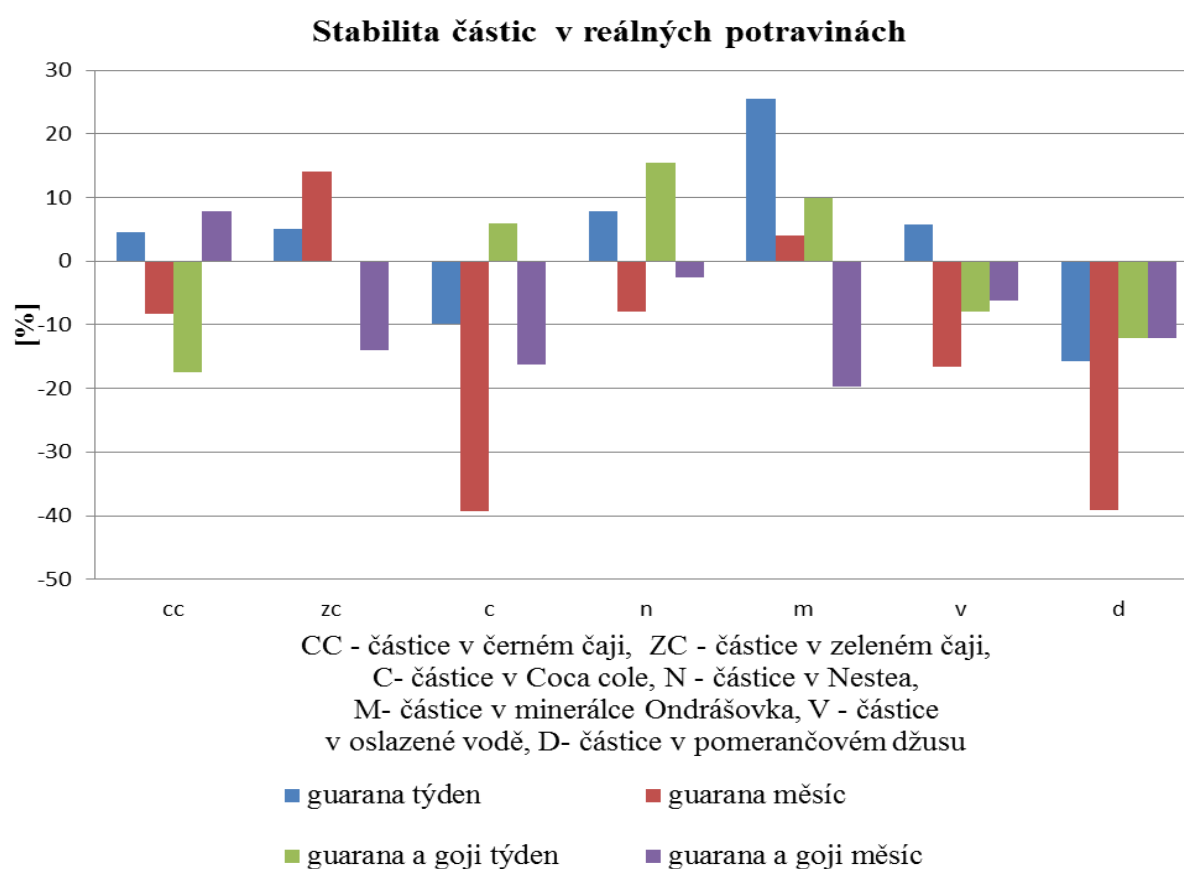
CH _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	4,55	-8,29
Zelený čaj	5,07	14,05
Coca Cola	-9,83	-39,26
Nestea	7,89	-7,86
Minerálka	25,50	3,95
Voda (50ml+5,5 g med)	5,83	-16,58
Pomerančový džus	-15,75	-39,17
CH _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-17,53	7,79
Zelený čaj	-0,13	-14,08
Coca Cola	5,88	-16,27
Nestea	15,42	-2,53
Minerálka	10,00	-19,67

Voda (50ml+5,5 g med)	-7,98	-6,14
Pomerančový džus	-12,06	-12,06

Měření stálosti částic s guaranou v reálných potravinách ukázalo pokles koncentrace celkových polyfenolů u pomerančového džusu skoro o 16 % a oproti tomu nárůst koncentrace o 26 % v případě minerálky po týdnu (Tab. 27). V měsíčním měření bylo zjištěno snížení o 39 % u pomerančového džusu a zeleného čaje, zvýšení u zeleného čaje o 14 % a u minerálky téměř o 4 %, v ostatních nápojích byla koncentrace celkových polyfenolů snížena. Černý čaj a pomerančový džus vykazovaly nejnižší změny koncentrace polyfenolických látek po týdnu v částicích s guaranou a goji, maximální pokles byl 17,53 %. U Nestea byla prokázána vyšší koncentrace o 15,42 %. V měření po měsíci byla zjištěna vyšší koncentrace pouze v případě černého čaje, u ostatních vzorků byla naměřena nižší koncentrace, především u minerálky. Během prvního týdny nastalo uvolnění celkových polyfenolů v minerálce Ondráškovka a Nestea. Měsíční měření ukázalo rozložení celkových polyfenolů ve většině vzorků, výjimkou byl zelený čaj a minerálka.

Koncentrace vitamínu C poklesla v měření po týdnu i po měsíci. Vitamin C byl degradován v roztoku vlivem oxidačních reakcí.

Graf 4: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění celkových polyfenolů



4.3.3 Alginátové částice

V další části práce byla sledována stabilita manuálně připravených alginátových částic v reálných prostředích.

4.3.3.1 Koncentrace kofeinu

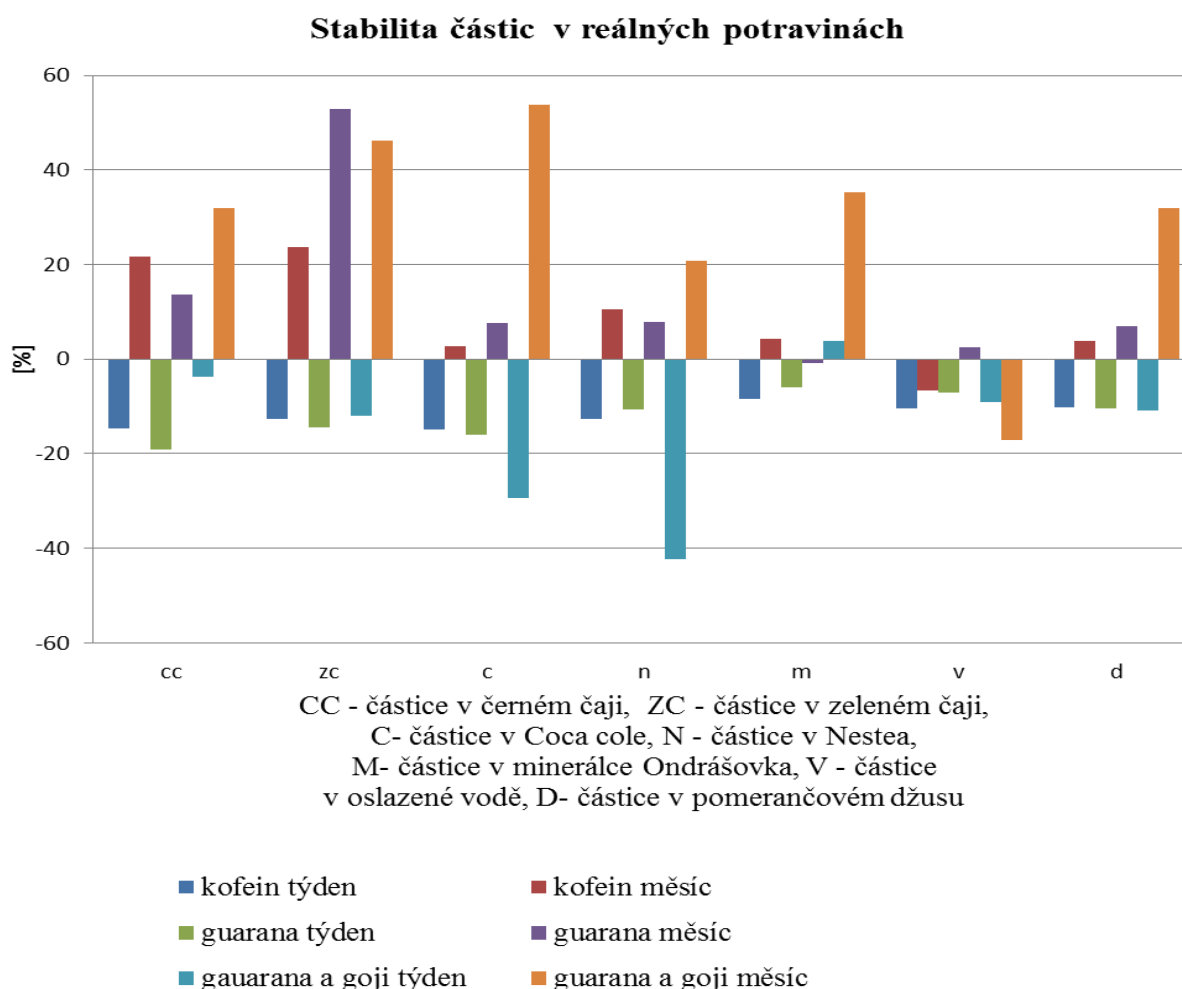
Tabulka 28: Stabilita alginátových částic v reálných potravinách

A _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-14,59	21,62
Zelený čaj	-12,55	23,65
Coca Cola	-14,90	2,84
Nestea	-12,71	10,56
Minerálka	-8,46	4,32
Voda (50ml+5,5 g med)	-10,31	-6,69
Pomerančový džus	-10,12	3,80
A _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-19,19	13,62
Zelený čaj	-14,33	52,96
Coca Cola	-16,10	7,74
Nestea	-10,71	7,92
Minerálka	-6,07	-0,81
Voda (50ml+5,5 g med)	-6,98	2,43
Pomerančový džus	-10,52	6,98
A _{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-3,82	32,03
Zelený čaj	-12,09	46,29
Coca Cola	-29,38	53,82
Nestea	-42,39	20,86
Minerálka	3,87	35,33
Voda (50ml+5,5 g med)	-9,09	-17,09
Pomerančový džus	-10,98	32,00

Změna koncentrace kofeinu u alginátových částic s čistým kofeinem byla v případě nápojů obsahujících kofein záporná (čaj, Coca Cola) po prvním týdnu a kladná po čtyřech týdnech, po měsíci uchovávání se tedy část kofeinu z částic uvolnila. Výjimku tvoří voda, kde bylo i po měsíci pořád nižší množství kofeinu než na začátku uchovávání. U bezkofeinových nápojů došlo po týdnu k mírnému poklesu přítomnosti kofeinu zhruba o 10 %. Čaje se prokázaly nejvyšším nárůstem koncentrace kofeinu přes 20 % po měsíci. Podobně jako u částic s kofeinem došlo ke snížení koncentrace i v roztoku všech částic s enkapsulovanou guaranou

(Tab. 28). Záporné hodnoty změny koncentrace byly zjištěny pouze v případě minerálky i po měsíčním měření. Naopak uvolnění kofeinu bylo zjištěno u všech ostatních prostředí, především u zeleného čaje. Měření stálosti částic s guaranou a goji po týdnu ukázalo pokles koncentrace u Neastea o 42,39 % a oproti tomu jediný nárůst koncentrace o 3,87 % v případě minerálky. Po měsíčním uchovávání ve většině vzorků byla koncentrace zvýšena až o 54 % u nápoje Coca Cola. Snížení koncentrace nastalo pouze u vody. Během prvního se pravděpodobně část kofeinu z roztoku navázal adsorpčními vazbami na částice. Po měsíc se už kofein z částic uvolnil. Nejstabilnější byly alginátové částice čistým kofeinem, nejméně stabilní s obsahem směsi guarany a goji; komplexní extrakty vedou tedy k destabilizaci částic v průběhu dlouhodobého uchovávání.

Graf 5: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění kofeinu



4.3.3.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 29: Stabilita alginátových částic v reálných potravinách

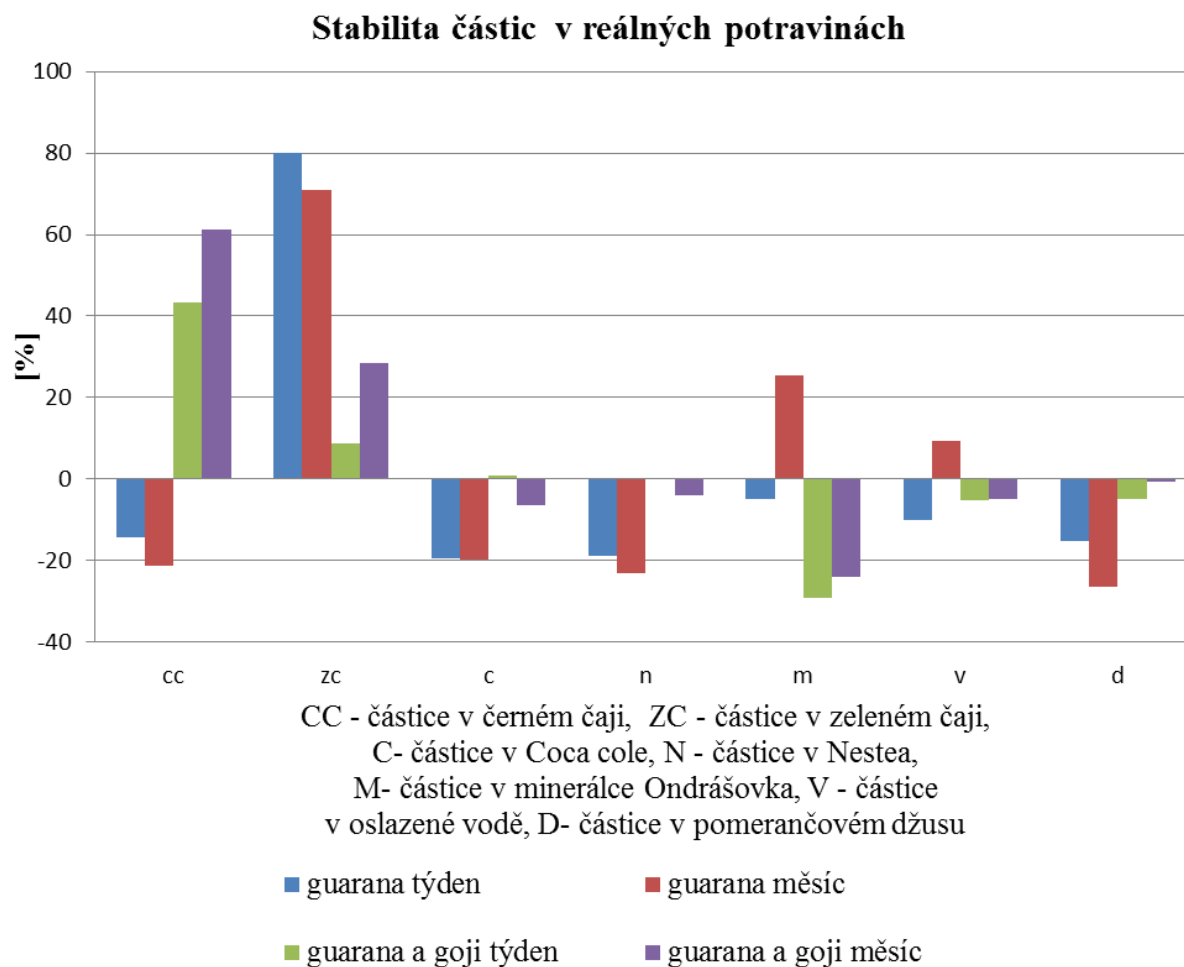
A _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-14,31	-21,14
Zelený čaj	80,17	71,01
Coca Cola	-19,48	-19,72

Nestea	-18,91	-23,18
Minerálka	-4,79	25,31
Voda (50ml+5,5 g med)	-10,19	9,44
Pomerančový džus	-15,08	-26,30
<i>A_{guarana a goji}</i>	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	43,26	61,20
Zelený čaj	8,84	28,59
Coca Cola	0,85	-6,57
Nestea	0,36	-4,14
Minerálka	-29,11	-23,92
Voda (50ml+5,5 g med)	-5,35	-4,79
Pomerančový džus	-4,82	-0,72

Měření stálosti částic po týdnu uchovávání ukázalo pokles koncentrace celkových polyfenolů do 20 % (Tab. 29). V zeleném čaji však bylo zaznamenáno zvýšení koncentrace o 80 % už po týdnu a 71 % po měsíci uchovávání. Množství celkových polyfenolů bylo sníženo o víc než 20 % u pomerančového džusu, Nestea a černého čaje, což mohlo být způsobeno sorpcí na částice, ale i částečnou degradací polyfenolických látek v daném prostředí. Voda vykazovala zvýšení koncentrace o 10 %, minerálka dokonce o 25 %. Nejmenší stabilita byla zjištěna v částicích s guaranou a goji uchovaných v černém čaji, kdy po týdenním působení došlo k 43 % uvolnění celkových polyfenolů. Pokles celkových polyfenolů v obou měření byl prokázán pouze v případě pomerančového džusu a minerálky. U černého a zeleného čaje došlo ve čtvrtém týdnu k výraznějšímu nárůstu koncentrace než po prvním týdnu. Ostatní vzorky nevykazovaly výraznější změnu koncentrace. V zeleném čaji se ve všech roztocích bylo zjištěno uvolnění celkových polyfenolů, u částic s guaranou a goji se byla naměřena vyšší koncentrace ve vzorku s černým čajem (Graf 6).

Stabilita vitamínu C byla jako u ostatních vzorků velmi slabá. V prvním týdnu byla snížena koncentrace o 60 a více %. V druhém měření byl zjištěn podobný výsledek jak v prvním. Největší pokles množství vitamínu C byl prokázán u pomerančového džusu. Vitamin C byl oxidací změněn na neaktivní dehydrogenovou formu.

Graf 6: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění celkových polyfenolů



4.3.4 2% alginátové částice z enkapsulátoru

4.3.4.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 30: Stabilita částic v reálných potravinách – změny koncentrace kofeinu

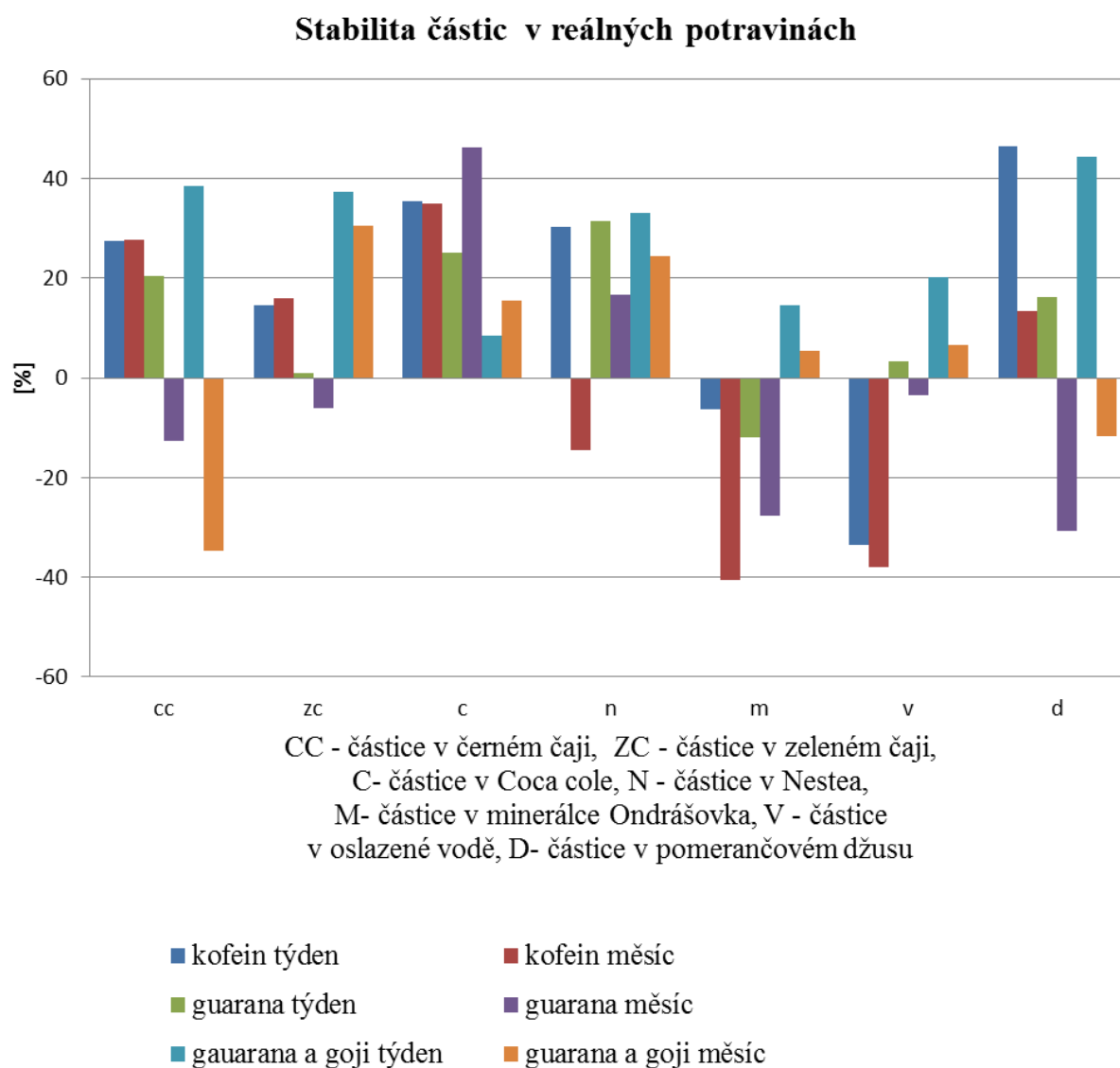
EA2% _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	27,39	27,62
Zelený čaj	14,56	16,07
Coca Cola	35,50	34,85
Nestea	30,29	-14,49
Minerálka	-6,21	-40,52
Voda (50ml+5,5 g med)	-33,49	-38,02
Pomerančový džus	46,49	13,32
EA2% _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	20,53	-12,75

Zelený čaj	0,92	-5,96
Coca Cola	25,03	46,23
Nestea	31,53	16,71
Minerálka	-11,88	-27,64
Voda (50ml+5,5 g med)	3,19	-3,59
Pomerančový džus	16,20	-30,78
EA2% guarana a goji	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	38,38	-34,78
Zelený čaj	37,27	30,44
Coca Cola	8,40	15,58
Nestea	32,98	24,52
Minerálka	14,64	5,48
Voda (50ml+5,5 g med)	20,13	6,67
Pomerančový džus	44,35	-11,80

Stabilita 2% alginátových částic připravených na enkapsulátoru (Tab. 30) se poněkud lišila od výsledků získaných analýzou manuálně připravených částic. U alginátových částic s čistým kofeinem bylo naměřeno snížení koncentrace kofeinu ve vodě a v minerálce. U ostatních nápojů nastal nárůst množství kofeinu, především u pomerančového džusu. Měření po měsíci inkubace v reálných potravinách poukázalo snížení o 40 % v minerálce a vodě a další snížení byl zjištěno v Nestea. Zvýšená koncentrace kofeinu a tedy předpokládaný rozpad částic byla naměřena hlavně u nápoje Coca Cola a černého čaje. U částic s gauranou byl po týdnu zjištěn pokles koncentrace kofeinu při uchovávání v prostředí minerálky o 11,88 %, u všech ostatních vzorcích vzrostla koncentrace, nejvíce u nápoje Nestea. V měsíčním měření byl zjištěn nárůst ve dvou vzorcích (Coca Cola a Nestea). V dalších vzorcích byla koncentrace snížena až o 31 % u pomerančového džusu.

Změna koncentrace kofeinu v roztoku s částicemi s enkapsulovanou gauranou a goji po prvním týdnu byla ve všech případech kladná, částice tedy nebyly stabilní. Nad 30 % zvýšení bylo zjištěno u pomerančového džusu, černého a zeleného čaje a Nestea. Měsíční měření se podobalo týdněmu, pouze v černém čaji a pomerančovém džusu došlo k snížení koncentrace, výraznější bylo v případě černého čaje. Částice z 2% alginátu po enkapsulaci pravděpodobně adsorbovaly kofein z roztoku a po prvním týdnu došlo k jeho uvolnění jak z obalu částic, tak i ze samotné částice. V bezkofeinových nápojích minerálka a voda došlo k adsorpci kofeinu až po týdnu inkubace a trvalo minimálně po dobu 4 týdnů (Graf 7).

Graf 7: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění kofeinu



4.3.4.2 Koncentrace celkových polyfenolů

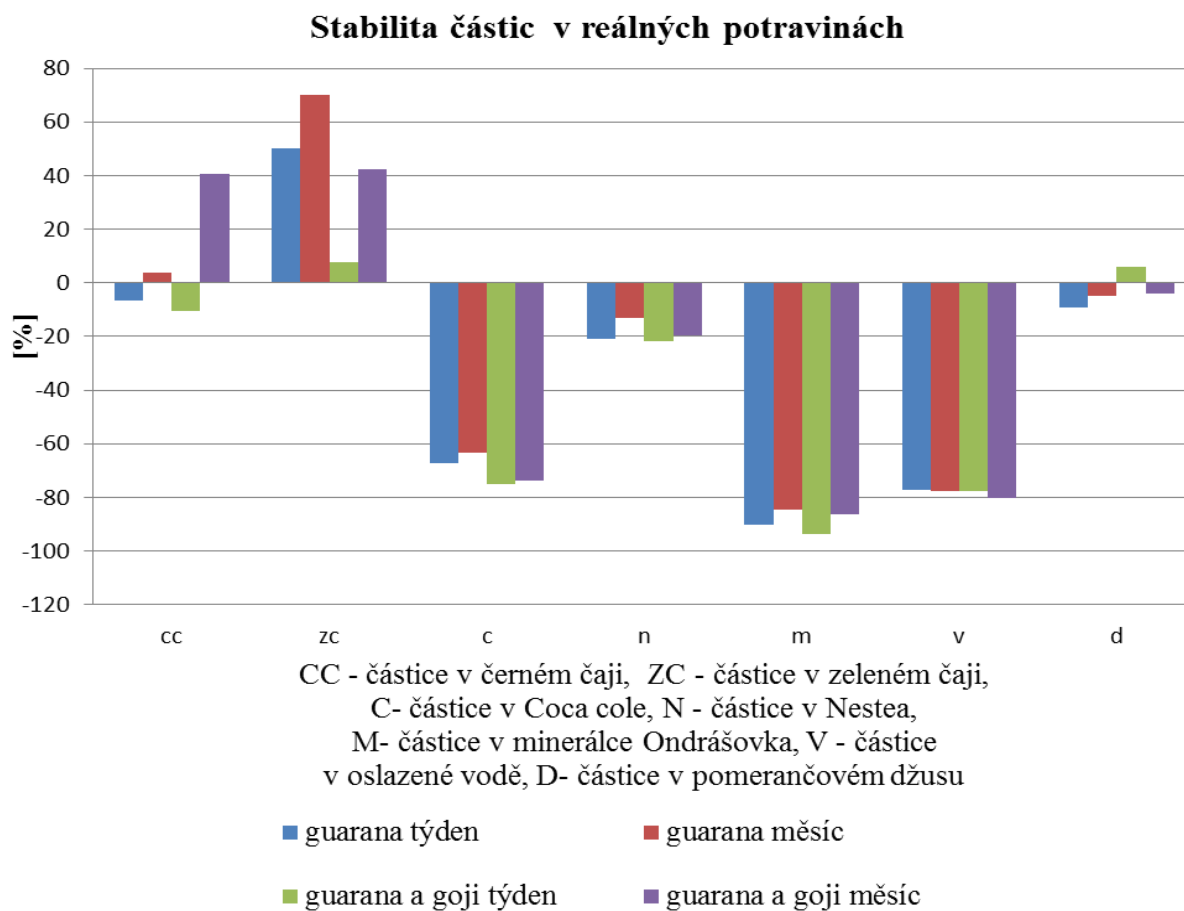
Tabulka 31: Stabilita částic v reálných potravinách – změny polyfenolů

EA2% guarana	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-6,41	3,74
Zelený čaj	50,02	70,10
Coca Cola	-67,45	-63,46
Nestea	-20,93	-13,10
Minerálka	-70,18	-64,63
Voda (50ml+5,5 g med)	-57,13	-57,87
Pomerančový džus	-9,18	-4,95
EA2% guarana a goji	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku[%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-10,32	40,71

Zelený čaj	7,82	42,30
Coca Cola	-74,89	-73,89
Nestea	-21,87	-19,53
Minerálka	-73,62	-66,12
Voda (50ml+5,5 g med)	-57,85	-60,34
Pomerančový džus	6,18	-4,01

Nejmenší koncentrace celkových polyfenolů u uchovávaných částic s guaranou byla změřena v minerálce a nápoji Coca Cola, kdy po týdenním působení došlo až k 70 % snížení koncentrace celkových polyfenolů a po měsíčním působení k 64 % snížení (Tab. 31). Pokles celkových polyfenolů byl zjištěn skoro ve všech vzorcích po týdenní i měsíční inkubaci. Výjimkou bylo měření koncentrace celkových polyfenolů v zeleném čaji, kdy v obou případech došlo k nárůstu koncentrace o 50% a v druhém případě dokonce o 70 %. Coca Cola a minerálka vykazovaly nejnižší koncentraci celkových polyfenolů po týdnu i u částic s guaranou a goji, maximální pokles byl 74,89 %. U pomerančového džusu a zeleného čaje byla prokázána vyšší koncentrace o 6,18 a 7,82 %. V měření po měsíci byla zjištěna vyšší koncentrace pouze v případě černého a zeleného čaje, u ostatních vzorků byla naměřena nižší koncentrace, především u vody a minerálky. V nápoji Coca Cola, Nestea, minerálce a vodě došlo během inkubace k výrazné ztrátě celkových polyfenolů, a to buď jejich částečnou adsorpcí na mikročástice, nebo i částečným rozkladem polyfenolů. V zeleném čaji byla naměřena vyšší koncentrace celkových polyfenolů, zřejmě došlo k uvolnění polyfenolických látek jako v případě částic s guaranou a goji v černém čaji po měsíci (Graf 8).

Graf 8: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění celkových polyfenolů



4.3.4.3 Koncentrace vitamínu C

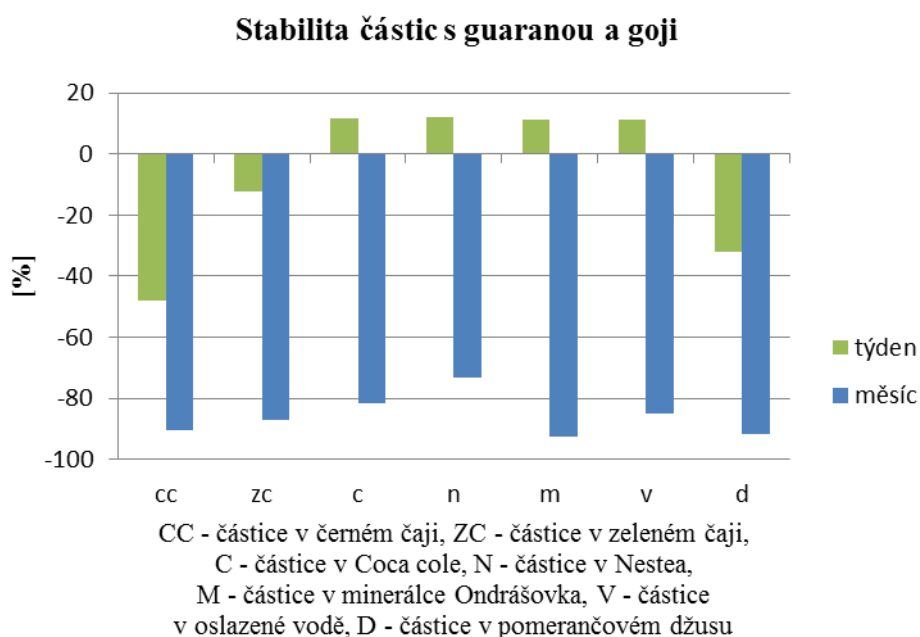
Tabulka 32: Stabilita částic v reálných potravinách

EA2% guarana a goji	Změna koncentrace vitamínu C v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-47,87	-90,59
Zelený čaj	-12,27	-87,06
Coca Cola	11,71	-81,60
Nestea	12,07	-73,08
Minerálka	11,19	-92,39
Voda (50ml+5,5 g med)	11,05	-84,95
Pomerančový džus	-32,24	-91,62

Týdenní stabilita vitamínu C v alginátových částicích připravených v enkapsulátoru byla vyšší než u jiných částic (Tab. 32). Snížení koncentrace bylo zjištěno pouze v černém a zeleném čaji a pomerančovém džusu. V dalších vzorcích byla koncentrace zvýšena o více než 10 %. Po měsíci došlo podobně jako v předchozích měřeních k degradaci vitamínu C

o minimálně 73 %. Degradace vitamínu C byla pomalejší než v případě ostatních částic, k výraznému poklesu došlo až po měsíci inkubace (Graf 9).

Graf 9: Stabilita částic v reálných potravinách – vitamin C



4.3.5 4% alginátové částice z enkapsulátoru

4.3.5.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 33: Stabilita částic v reálných potravinách

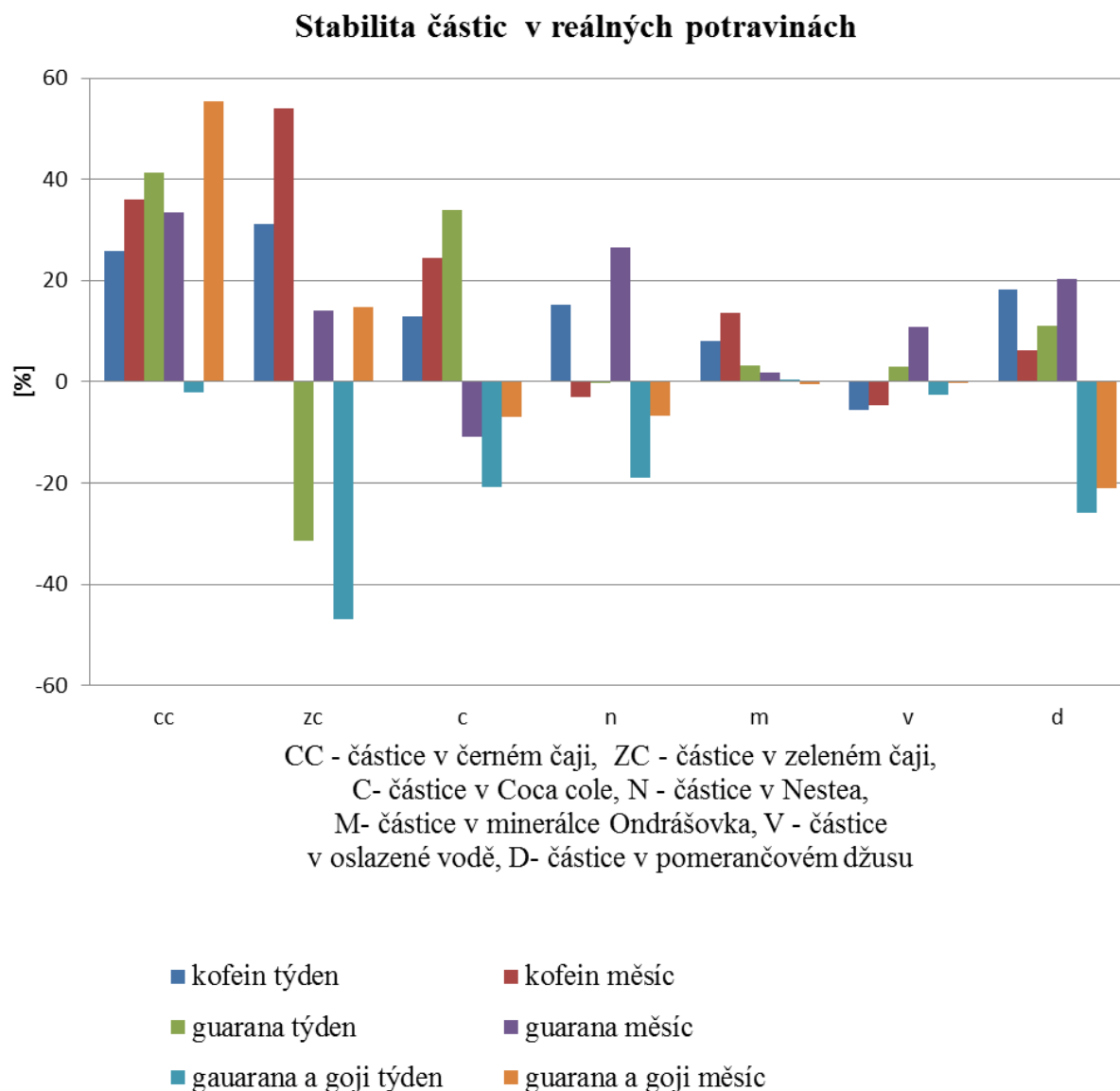
EA4% _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	25,90	35,95
Zelený čaj	31,15	54,09
Coca Cola	12,92	24,56
Nestea	15,25	-2,98
Minerálka	7,99	13,60
Voda (50ml+5,5 g med)	-5,68	-4,69
Pomerančový džus	18,23	6,25
EA4% _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	41,24	33,54
Zelený čaj	-31,48	14,16
Coca Cola	33,85	-11,00
Nestea	-0,36	26,47
Minerálka	3,14	1,80
Voda (50ml+5,5 g med)	3,03	10,71
Pomerančový džus	10,98	20,38

EA4% guarana a goji	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-2,06	55,42
Zelený čaj	-47,02	14,70
Coca Cola	-20,72	-7,00
Nestea	-18,92	-6,69
Minerálka	0,49	-0,41
Voda (50ml+5,5 g med)	-2,49	-0,06
Pomerančový džus	-26,00	-20,97

Alginátové částice připravené v enkapsulátoru s využitím 4% alginátu vykazovaly podobnou stabilitu jako v případě 2% částic s několika málo výjimkami (Tab. 33). Jediné snížení koncentrace kofeinu při uchovávání částic s čistým kofeinem bylo zjištěno pouze v případě vody v týdenním i měsíčním měření a Nestea po měsíční inkubaci. Nejmenší stálost částic byla změřena v zeleném a černém čaji, kdy po týdenním působení v prostředí zeleného čaje došlo k 31 % uvolnění kofeinu a u černého čaje k 26 %. Zvýšená koncentrace byla zjištěna u všech vzorcích kromě Nestea a vody. Podobně jako v týdenním uchovávání i v měsíčním bylo naměřeno největší uvolnění kofeinu v černém a zeleném čaji.

V průběhu uchovávání částic s guaranou po týdnu byl zjištěn pokles koncentrace kofeinu u vzorku se zeleným čajem o 31,48 % a Nestea 0,36 %. Nevětší zvýšení koncentrace bylo zaznamenáno naopak v černém čaji o 41,24 % v měření po týdnu a o 33,54 % po měsíci. V měsíčním měření bylo zjištěno, že pouze v případě nápoje Coca Cola se snížila koncentrace. Velmi dobrou stálost prokázaly částice s guaranou a goji i ve vodě a minerálce. V černém čaji se koncentrace snížila o 47,02 % v prvním týdnu a ve čtvrtém týdnu naopak vzrostla o 14,70 %. V zeleném čaji se množství kofeinu po prvním týdnu výrazně nezměnilo a v dalším měření se uvolnilo 55,42 % kofeinu. Ve většině vzorků došlo podobně jako u 2% alginátu k navázání kofeinu z roztoku a mikročástice po enkapsulaci a následnému uvolnění během inkubace z vnějšího obalu částic, tak i ze samotné částice. V částicích s guaranou a gauranou a goji se kofein v roztoku navázal na částice až po určité době (Graf 10).

Graf 10: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění kofeinu



4.3.5.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 34: Stabilita částic v reálných potravinách – změny polyfenolů

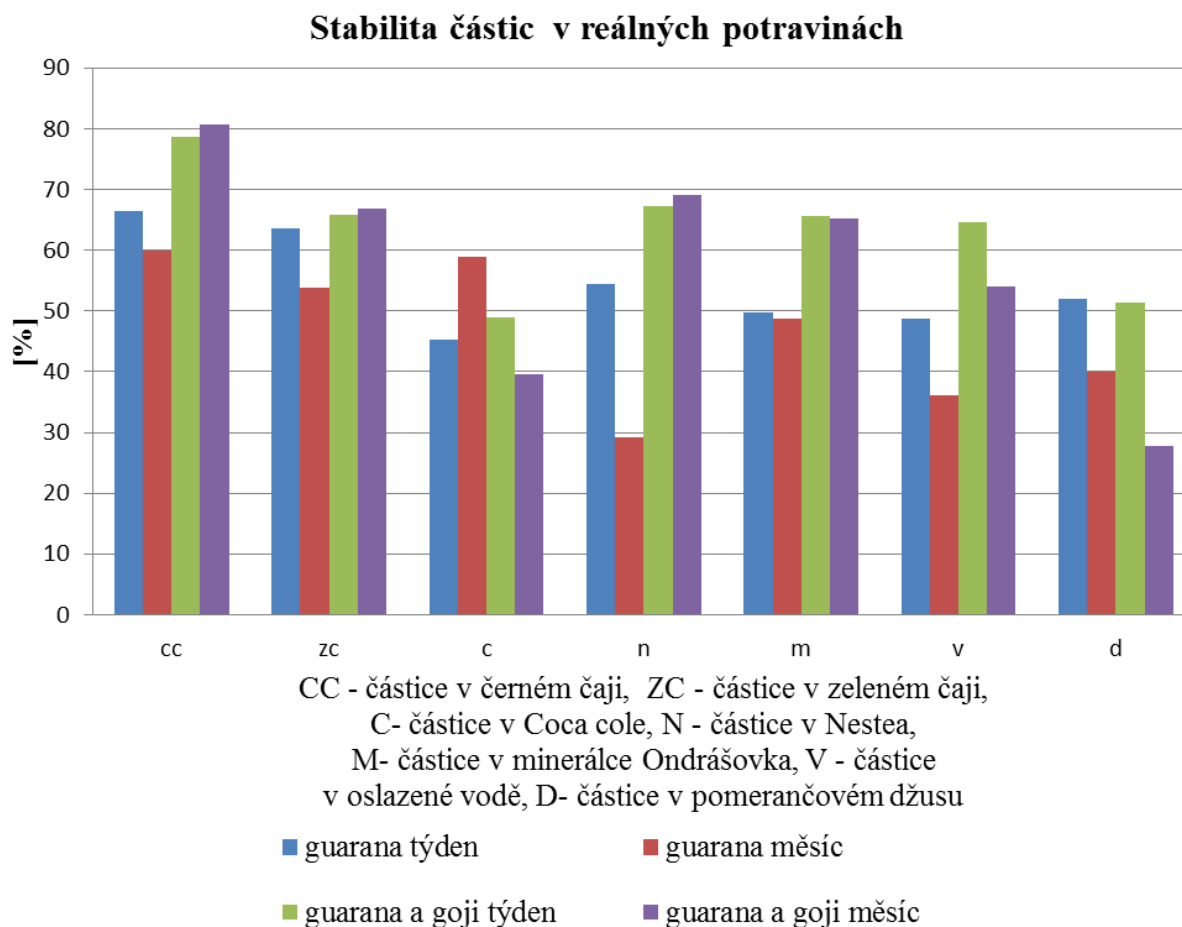
EA4% guarana	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku[%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	46,44	59,86
Zelený čaj	43,60	53,86
Coca Cola	45,19	58,84
Nestea	24,48	29,14
Minerálka	49,75	48,70
Voda (50ml+5,5 g med)	38,75	36,14
Pomerančový džus	31,89	40,05
EA4% guarana a goji	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	

	týden	měsíc
Černý čaj	48,64	60,69
Zelený čaj	45,89	66,84
Coca Cola	39,02	39,65
Nestea	47,30	69,16
Minerálka	45,60	65,14
Voda (50ml+5,5 g med)	44,71	54,12
Pomerančový džus	21,48	27,80

Koncentrace polyfenolických látek u částic s guaranou vzrostla až o 50 % během prvního týdne u minerálky, v ostatních vzorcích se množství celkových polyfenolů také zvýšilo (Tab. 34). Podobné výsledky byly změřeny i měření po měsíci. Největší uvolnění bylo zjištěno v případě černého a zeleného čaje, nejmenší v Nestea. Částice s guaranou a goji mají podobné výsledky jako částice s guaranou. K nejvyššímu uvolnění koncentrace celkových polyfenolů bylo prokázáno v černém a zeleném čaji, Nestea a minerálce. Nejmenší zvýšení množství bylo zjištěno v pomerančovém džusu (graf 11). V mikročásticích z 4% alginátu byly tedy polyfenoly zadržovány velmi málo.

Po enkapsulaci směsi guarany a goji v částicích ze 4% alginátu byla koncentrace vitamínu C snížena o 5 % v nápoji Coca Cola a o 59 % v pomerančovém džusu po týdenní inkubaci. Měsíční měření prokázalo snížení koncentrace nejméně v pomerančovém džusu a zeleném čaji, nejvíce v černém čaji, nápoji Coca Cola a vodě. V částicích během prvního týdne došlo k degradaci v menší míře než u ručně připravených částic. Podobné výsledky byly dosaženy i u částic připravených na enkapsulátoru z 2% alginátu.

Graf 11: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění celkových polyfenolů



4.3.6 Liposomové částice

4.3.6.1 Koncentrace kofeinu

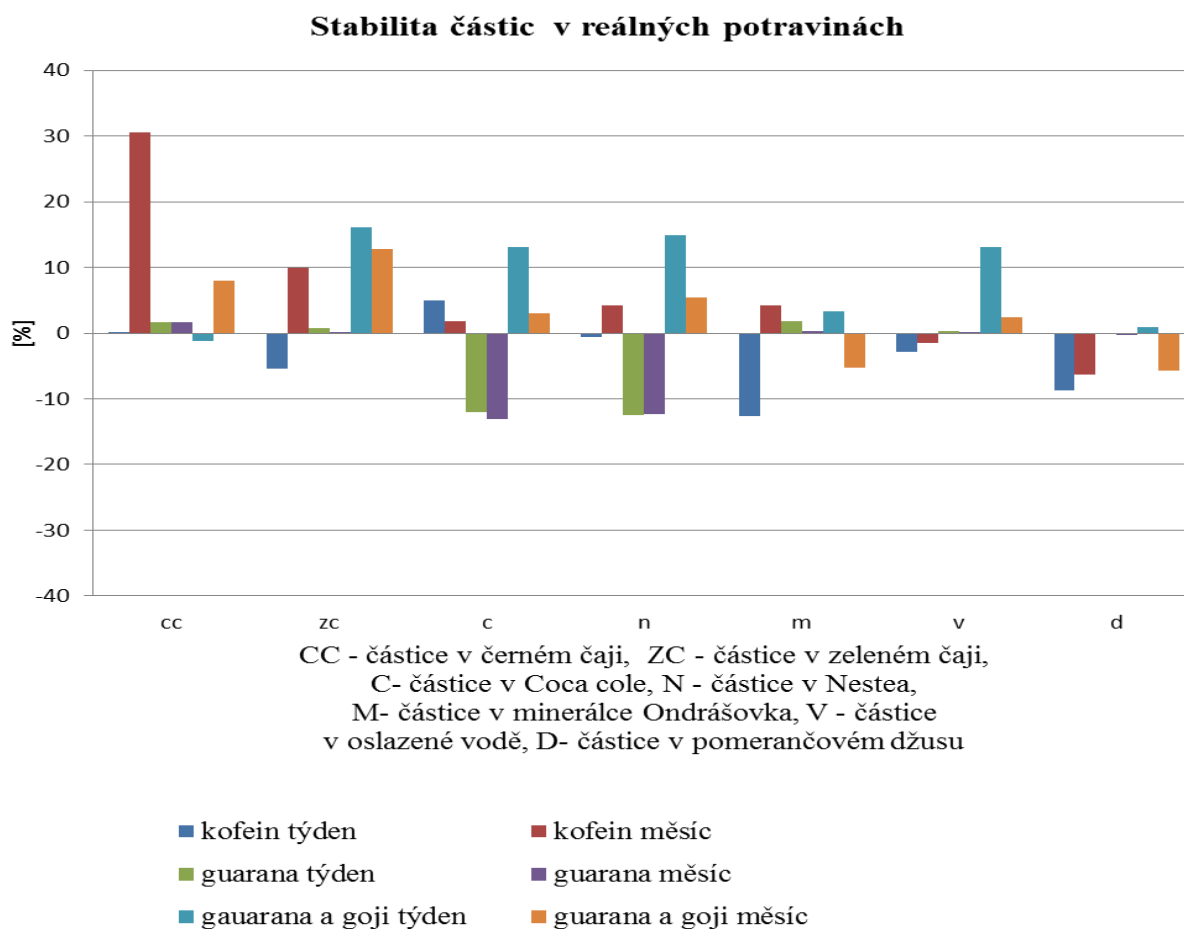
Tabulka 35: Stabilita liposomových částic v reálných potravinách

L _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	0,11	30,57
Zelený čaj	-5,43	9,99
Coca Cola	4,98	1,81
Nestea	-0,66	4,15
Minerálka	-12,59	4,28
Voda (50ml+5,5 g med)	-2,80	-1,46
Pomerančový džus	-8,78	-6,39
L _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	1,67	1,59
Zelený čaj	0,77	0,21

Coca Cola	-12,10	-13,11
Nestea	-12,51	-12,31
Minerálka	1,86	0,33
Voda (50ml+5,5 g med)	0,31	0,18
Pomerančový džus	-0,15	-0,23
L_{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-1,22	8,02
Zelený čaj	16,14	12,79
Coca Cola	13,10	3,07
Nestea	14,89	5,35
Minerálka	3,34	-5,24
Voda (50ml+5,5 g med)	13,05	2,41
Pomerančový džus	0,84	-5,69

Liposomové částice s enkapsulovaným kofeinem vykazují velmi dobrou stálost. Koncentrace kofeinu v roztocích s inkubovanými částicemi byla minimálně změněna v měření po týdně i po měsíci (Tab. 35). Pouze v případě měsíčního měření byl zjištěn nárůst koncentrace o 30 % při uchování v prostředí černého čaje. Liposomové částice s guaranou prokázaly vynikající stabilitu jak v týdenním, tak i v měsíčním měření. Koncentrace kofeinu byla po týdně inkubace snížena ve všech vzorcích o 12 % u Nestea a nápoje Coca Cola, stejné snížení bylo pozorováno i v měsíčním měření. V ostatních vzorcích nedošlo k významné změně koncentrace. Podobně jako liposomové částice s kofeinem a s guaranou, i enkapsulovaná směs guarany s goji vykazuje velmi dobrou stálost. Koncentrace kofeinu byla po týdně inkubace zvýšena ve všech vzorcích do 16 % kromě černého čaje, kde byla koncentrace snížena pouze o 1 % v týdenní stabilitě a minerálce a pomerančovém džusu o 5 % v měsíční stabilitě. Uvolnění kofeinu z částic bylo minimální ve všech vzorcích (Graf 12).

Graf 12: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění kofeinu



4.3.6.2 Koncentrace celkových polyfenolů

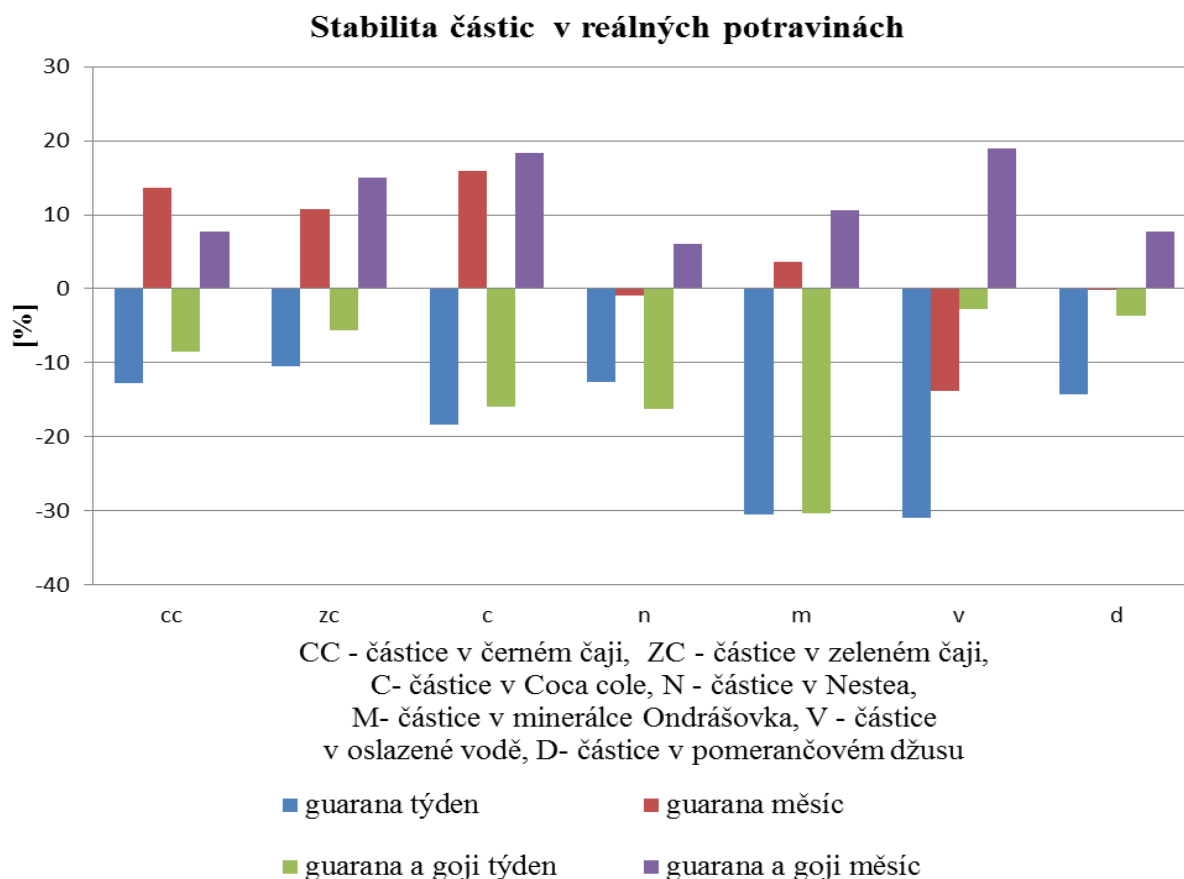
Tabulka 36: Stabilita liposomových částic v reálných potravinách – změny polyfenolů

L _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	týden	měsíc
Černý čaj	-12,73	13,65
Zelený čaj	-10,47	10,73
Coca Cola	-18,30	15,95
Nestea	-12,58	-0,94
Minerálka	-30,49	3,70
Voda (50ml+5,5 g med)	-30,94	-13,78
Pomerančový džus	-14,32	-0,20
L _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů v roztoku [%]	
	Týden	Měsíc
Černý čaj	-8,51	7,68
Zelený čaj	-5,66	15,05
Coca Cola	-15,99	18,34
Nestea	-16,19	6,11
Minerálka	-30,31	10,57

Voda (50ml+5,5 g med)	-2,68	18,98
Pomerančový džus	-3,61	7,72

Liposomové částice s guaranou prokázaly mírný pokles koncentrace celkových polyfenolů ve všech vzorcích po prvním týdnu, především v minerálce a vodě, kdy bylo množství celkových polyfenolů sníženo o 30 % (Tab. 36). Důvodem je spíše rozklad polyfenolů než adsorpce na povrch liposomů. Po 4 týdnech došlo ke snížení koncentrace pouze ve vodě, v pomerančovém džusu a v Nestea. Ostatní měření prokázaly zvýšení koncentrace maximálně do 16 %. V liposomech s guaranou a goji vykazovala minerálka nejnižší koncentraci celkových polyfenolů po týdnu, maximální pokles byl 30,31 %. V měření po měsíci uchovávání byla zjištěna vyšší koncentrace ve všech případech, nejvíc v nápoji Coca Cola a ve vodě, což znamená zřejmě uvolnění obsahu z částic (Graf 13).

Graf 13: Stabilita částic v reálných potravinách - hodnoceno jako % uvolnění celkových polyfenolů



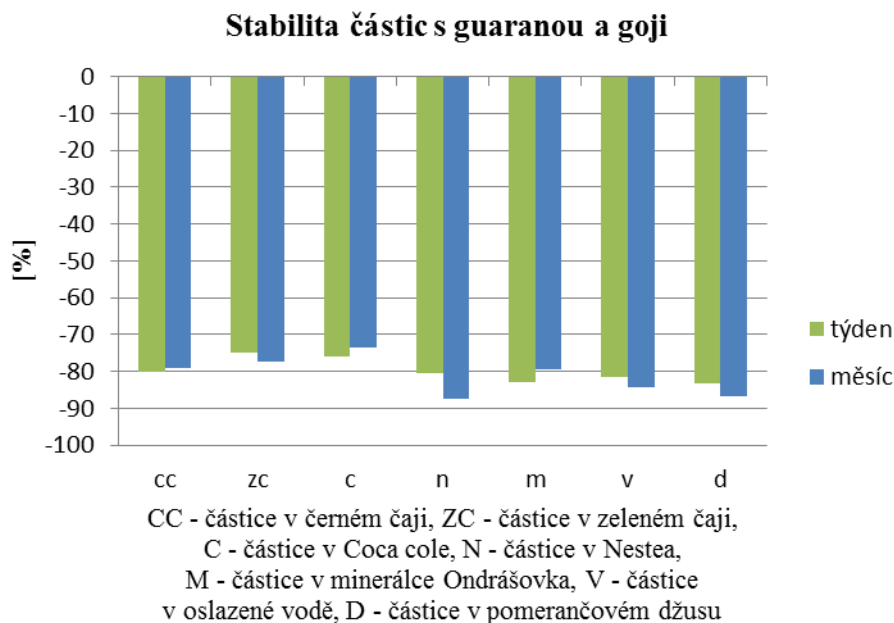
4.3.6.3 Koncentrace vitamínu C

Tabulka 37: Stabilita liposomových částic v reálných potravinách

L _{guarana a goji}	Změna koncentrace vitamínu C v roztoku [%]	
	Týden	Měsíc
Černý čaj	-80,15	-79,21
Zelený čaj	-75,02	-77,40
Coca Cola	-75,94	-73,47
Nestea	-80,36	-87,41
Minerálka	-82,82	-79,40
Voda (50ml+5,5 g med)	-81,36	-84,14
Pomerančový džus	-83,34	-86,76

U liposomových částic byla prokázána slabá stabilita vitamínu C (Tab. 37). V prvním týdnu byla snížena koncentrace o 75 až 83 %. V měření po měsíci uchování byl zjištěn podobný výsledek. Největší snížení koncentrace vitamínu C byl prokázán u pomerančového džusu (Graf 14). Vitamin C byl podobně jako u předchozích experimentů degradován v roztoku vlivem oxidačních reakcí.

Graf 14: Stabilita částic v reálných potravinách



4.4 Stabilita částic v trávicích šťávách

V následujících experimentech byla sledována stabilita všech typů vytvořených částic v modelovém fyziologickém prostředí – v umělé žaludeční, střevní a žlučové šťávě. Bylo sledováno uvolnění kofeinu, polyfenolů a askorbátu z částic uchovávaných v různém reálném prostředí po dobu 20 minut v žaludeční a pankreatické šťávě a po dobu 40 minut v žlučové šťávě.

4.4.1 Chitosan-alginátové částice

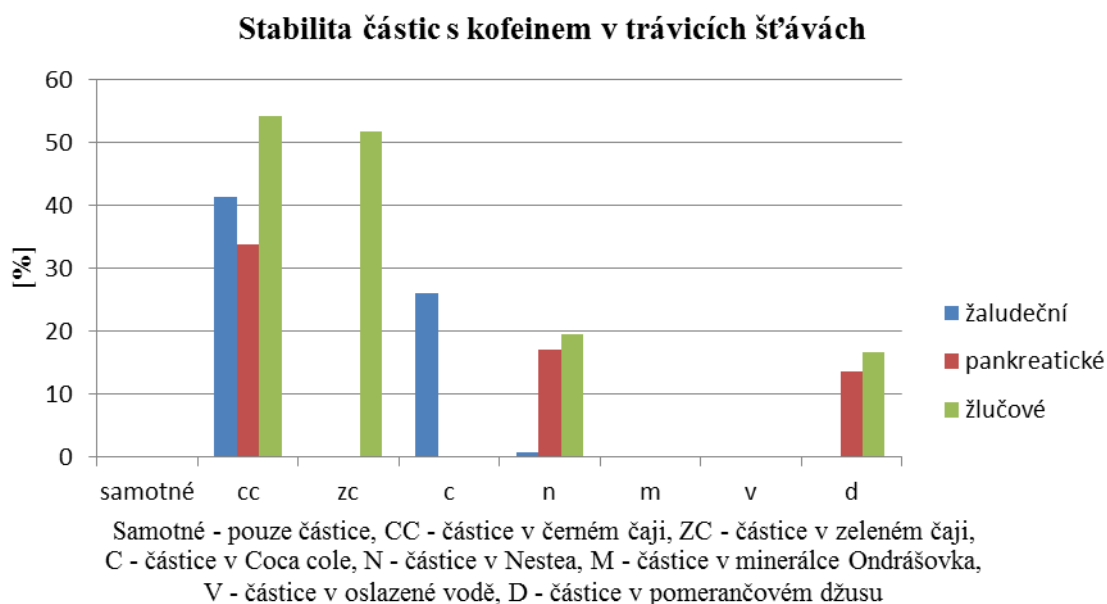
4.4.1.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 38: Stabilita chitosan-alginátových částic obsahujících kofein v trávicích šťávách

CHA _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	ND
Černý čaj	41,44	33,74	54,15
Zelený čaj	ND	ND	51,78
Coca Cola	26,11	ND	ND
Nestea	0,77	17,10	19,50
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	13,64	16,64

U chitosan-alginátových částic byl zjištěn rozpad v žaludeční šťávě po inkubaci v černém čaji, nápoji Coca Cola a nepatrně i v Nestea. V tabulce 38 je uvedena zvýšená koncentrace kofeinu v černém čaji, pomerančovém džusu a Nestea při použití pankreatické šťávy. V případě inkubace částic v žlučové šťávě dojde k nárůstu koncentrace v černém a zeleném čaji, Nestea a pomerančovém džusu. Samotné částice s kofeinem byly ve všech prostředích stabilní (Graf 15).

Graf 15: Stabilita částic v trávicích šťávách

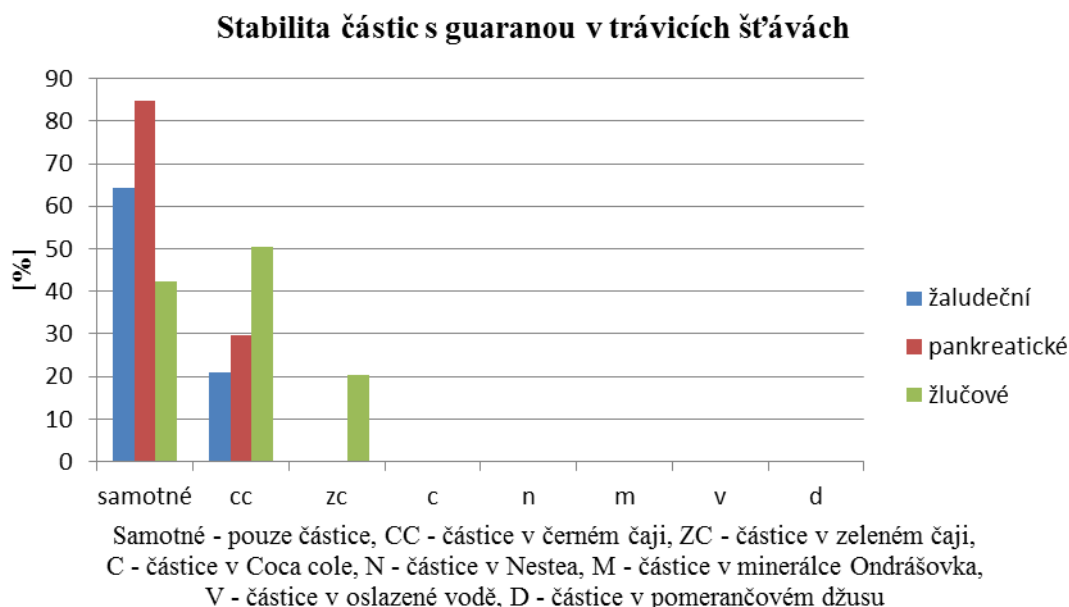


Tabulka 39: Stabilita chitosan-alginátových částic v trávicích šťávách

CHA _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	64,26	84,82	42,35
Černý čaj	21,02	29,80	50,59
Zelený čaj	ND	ND	20,25
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Působení trávicích šťáv na částice obsahující guaranu měl ve všech třech šťávách podobný průběh (Tab. 39). Samotné částice, které nebyly aplikovány do reálné potraviny, a částice inkubované v černém čaji vedly k uvolnění kofeinu jak v žaludeční, pankreatické, tak i ve žlučové šťávě (Graf 16). Ve žlučové šťávě se zvýšila koncentrace i v zeleném čaji.

Graf 16: Stabilita částic v trávicích šťávách



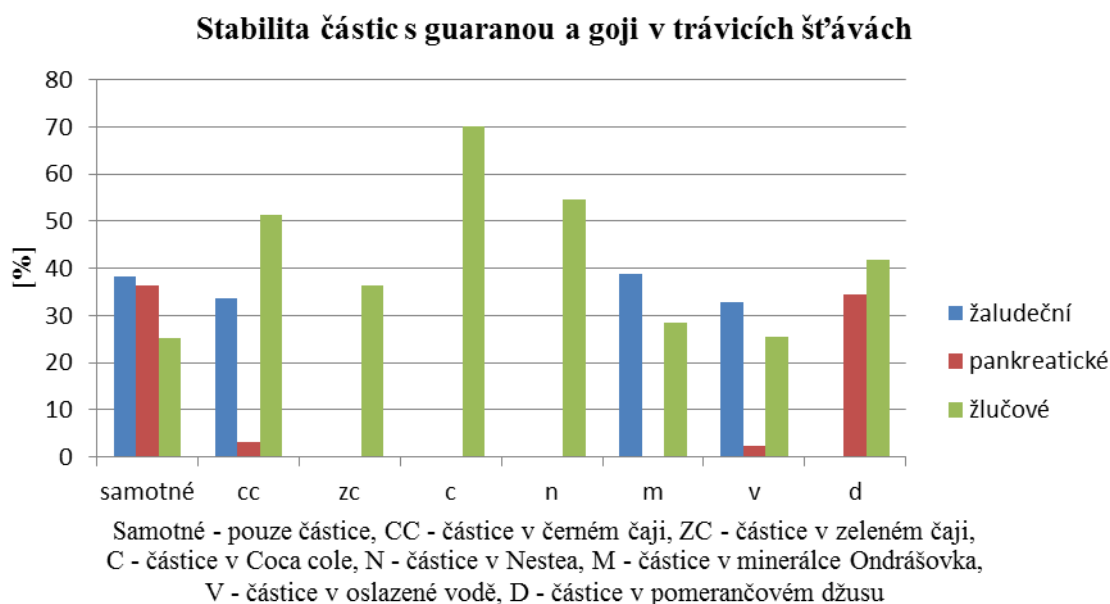
Tabulka 40: Stabilita chitosan-alginátových částic v trávicích šťávách

CHA _{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	38,29	36,25	25,15
Černý čaj	33,73	3,22	51,21
Zelený čaj	ND	ND	36,42
Coca Cola	ND	ND	70,09
Nestea	ND	ND	54,62
Minerálka	38,93	ND	28,36
Voda (50ml+5,5 g med)	32,78	2,45	25,44
Pomerančový džus	ND	34,36	41,69

U chitosan-alginátových částic s enkapsulovanou směsí guarany a goji byla zjištěna zvýšená koncentrace kofeinu v samostatných částicích, v částicích inkubovaných v černém čaji, v minerálce a i ve vodě při působení žaludeční šťávy (Tab. 40). V pankreatické šťávě bylo naměřeno vyšší množství v pomerančovém džusu, vodě, černém čaji a samostatných částicích. K uvolnění kofeinu došlo ve všech vzorcích v žlučové šťávě, především v nápoji Coca Cola o 70% (Graf 17).

Chitosan-alginátové částice jsou tedy relativně stabilní v žaludeční a pankreatické šťávě, zejména částice obsahující guaranu. Nejnižší stabilita byla zjištěna ve žlučové šťávě, zejména u částic obsahujících směs guarany a goji. Lze tedy očekávat, že tyto částice uchovávané ve vhodném prostředí mohou být využity k cílenému uvolňování obsahu ve střevním traktu, zejména pak uvolňování kofeinu z komplexních přírodních zdrojů.

Graf 17: Stabilita částic v trávících šťávách



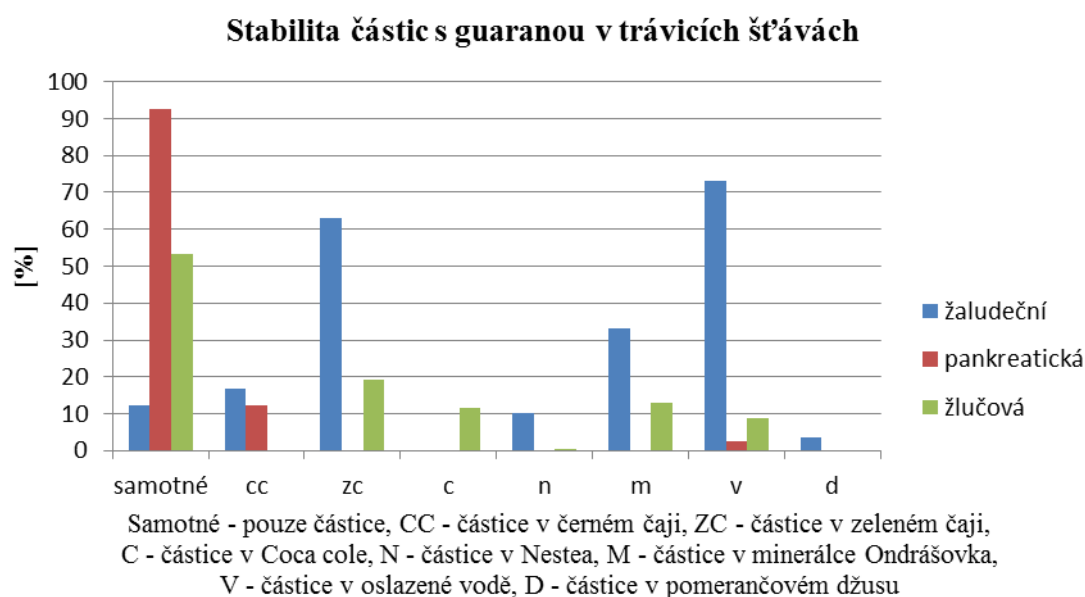
4.4.1.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 41: Stabilita chitosan-alginátových částic obsahujících guaranu v trávících šťávách

CHA _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	12,23	92,73	53,20
Černý čaj	16,87	12,32	ND
Zelený čaj	63,05	ND	19,17
Coca Cola	ND	ND	11,54
Nestea	10,19	ND	0,61
Minerálka	33,20	ND	13,02
Voda (50ml+5,5 g med)	73,18	2,52	8,87
Pomerančový džus	3,60	ND	ND

Žaludeční šťáva způsobila uvolnění polyfenolů z částic s enkapsulovanou guaranou ve všech vzorcích kromě částic uchovávaných v prostředí nápoje Coca Cola. Ve většině případu se jednalo o menší uvolnění celkových polyfenolů, pouze v případě zeleného čaje a vody se koncentrace zvýšila víc než o 50 %. Pankreatické šťávy měly menší účinky na částice. Rozpad nastal u samostatných částic, u částic inkubovaných v černém čaji a ve vodě. Ve žlučové šťávě se rozpadaly kromě částic v pomerančovém džusu a černém čaji všechny ostatní vzorky (Tab. 41).

Graf 18: Stabilita částic v trávicích šťávách

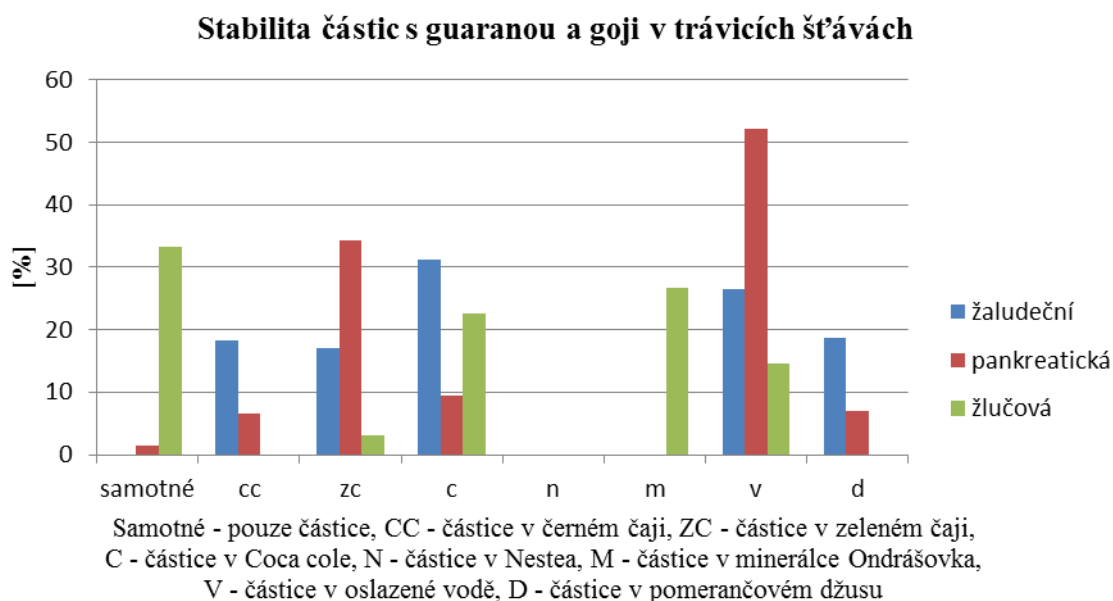


Tabulka 42: Stabilita chitosan-alginátových částic obsahujících goji a guaranu v trávicích šťávách

CHA _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	1,42	33,21
Černý čaj	18,35	6,47	ND
Zelený čaj	17,05	34,26	3,02
Coca Cola	31,13	9,37	22,68
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	26,67
Voda (50ml+5,5 g med)	26,41	52,15	14,50
Pomerančový džus	18,72	6,88	ND

Celkově došlo k menšímu uvolnění polyfenolů z některých částic s enkapsulovanou směsí guarany a goji (Tab. 42). V žaludeční šťávě se polyfenoly uvolnily z částic uchovávaných v černém a zeleném čaji, nápoji Coca Cola, vodě a v džusu. V pankreatické šťávě navíc přibýly i samotné částice. Významnější zvýšení koncentrace polyfenolů bylo zjištěno u částic uchovávaných ve vodě a zeleném čaji. Byl naměřen nárůst celkových polyfenolů u samostatných částic a částic v zeleném čaji, nápoji Coca Cola, minerálce a vodě při působení žlučové šťávy (Graf 19).

Graf 19: Stabilita částic v trávících šťávách



4.4.1.3 Koncentrace vitamínu C

Uvolnění vitamínu C nebylo detekováno u žádného testovaného vzorku.

4.4.2 Chitosanové částice

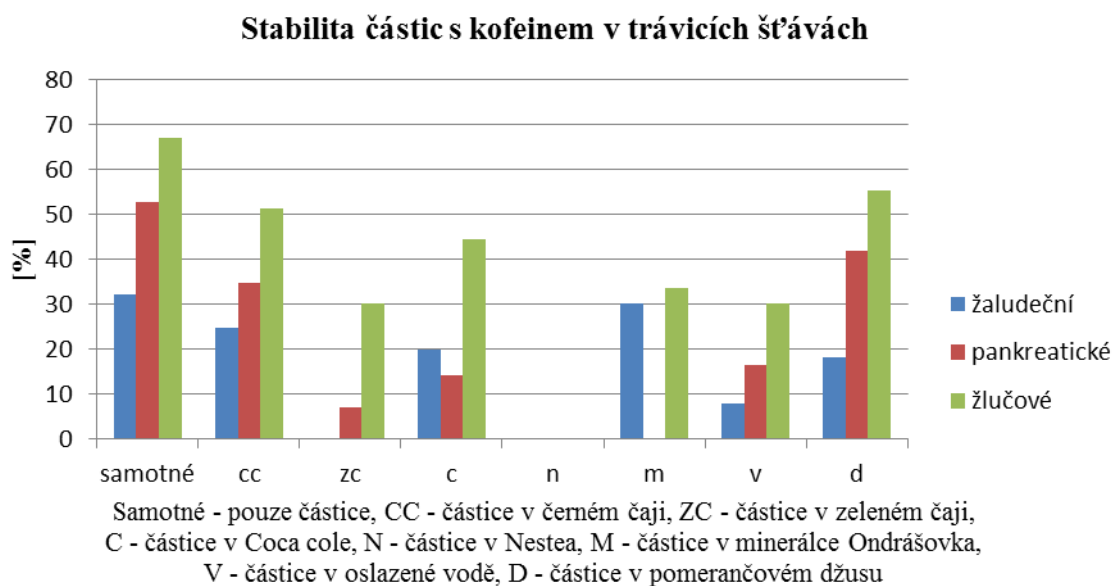
4.4.2.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 43: Stabilita chitosanových částic obsahujících čistý kofein v trávících šťávách

CH _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	32,30	52,61	67,13
Černý čaj	24,83	34,82	51,41
Zelený čaj	0,13	6,95	30,18
Coca Cola	19,94	14,09	44,44
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	30,26	ND	33,65
Voda (50ml+5,5 g med)	7,80	16,42	30,08
Pomerančový džus	18,27	41,75	55,43

K uvolnění kofeinu z chitosanových částic došlo po uchování v minerálce a samostatných částicích po inkubaci žaludečních šťávě (Tab. 43). Částice v Nestea se nerozpadly ani v jedné ze šťáv a kofein z částic v minerálce se neuvolnil ani po inkubaci v pankreatické šťávě. Největší množství kofeinu se uvolnilo ve žlučové šťávě (Graf 20).

Graf 20: Stabilita částic v trávicích šťávách

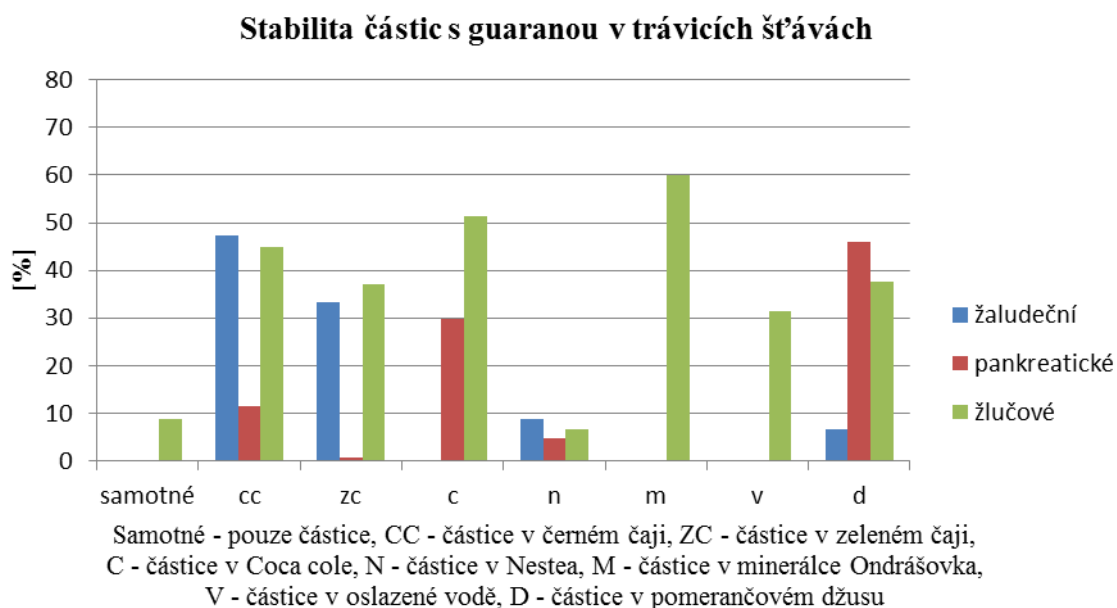


Tabulka 44: Stabilita chitosanových částic obsahujících guaranu v trávicích šťávách

CH _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	8,70
Černý čaj	47,26	11,41	44,89
Zelený čaj	33,29	0,69	37,14
Coca Cola	ND	29,75	51,41
Nestea	8,80	4,71	6,63
Minerálka	ND	ND	59,98
Voda	ND	ND	
(50ml+5,5 g med)			31,32
Pomerančový džus	6,57	46,01	37,53

Změna koncentrace kofeinu působením žaludeční šťávy byla zaznamenána u chitosanových částic uchovávaných v černém a zeleném čaji, podstatně méně byla zvýšena koncentrace uvolněného kofeinu u částic v Nestea a v pomerančovém džusu (Tab. 44). Pankreatické šťávy způsobily větší rozpad částic. Bylo zjištěno zvýšení množství o 46 % v pomerančovém džusu, 30 % v nápoji Coca Cola, 11 % černý čaj, 5 % v Nestea a 1 % v zeleném čaji. Byla detekována vyšší koncentrace kofeinu ve všech vzorcích po působení žlučové šťávy (Graf 21).

Graf 21: Stabilita částic v trávicích šťávách



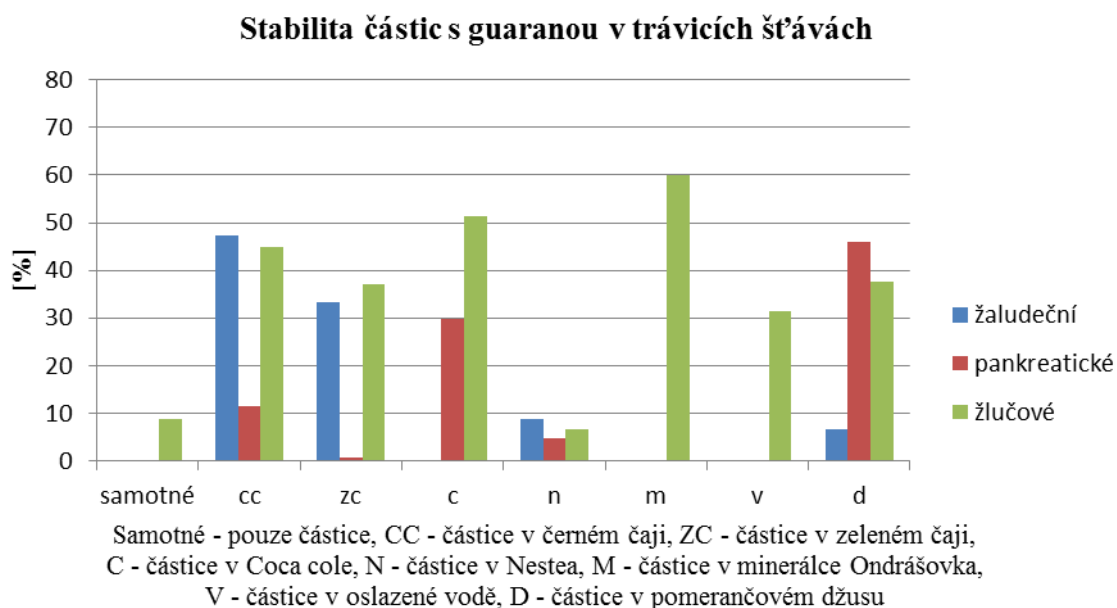
Tabulka 45 : Stabilita chitosanových částic obsahujících guaranu a goji v trávicích šťávách

CH _{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	36,63	ND	ND
Černý čaj	30,48	39,09	73,07
Zelený čaj	20,55	38,94	41,95
Coca Cola	ND	ND	2,25
Nestea	17,89	ND	30,37
Minerálka	ND	ND	11,60
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	22,22
Pomerančový džus	ND	ND	20,32

Největší uvolnění kofeinu z chitosanových částic s guaranou a goji v trávicích šťávách bylo naměřeno v žlučové šťávě (Tab. 45). Nejvíce kofeinu se uvolnilo z částic uchovávaných v černém čaji, nejméně v nápoji Coca Cola a u samostatných částic dokonce nic. V pankreatické šťávě se zvýšila koncentrace kofeinu pouze v zeleném a černém čaji, a to zhruba o 40 %. Žaludeční šťáva působila na samotné částice, na částice v prostředí černý a zelený čaj a Nestea, především pak na samotné částice (Graf 22).

Chitosanové částice jsou tedy relativně stabilní v pankreatické šťávě, zejména částice obsahující guaranu a goji. Nejnižší stabilita byla podobně jako u chitosan-alginátových částic zjištěna ve žlučové šťávě. Lze tedy očekávat, že tyto částice uchovávané ve vhodném prostředí mohou být rovněž využity k cílenému uvolňování obsahu ve střevním traktu, zejména pak uvolňování kofeinu z komplexních přírodních zdrojů, avšak jsou poněkud citlivější na kyselé prostředí žaludku, a to v závislosti na prostředí, v němž jsou částice uchovávány.

Graf 22: Stabilita částic v trávicích šťávách



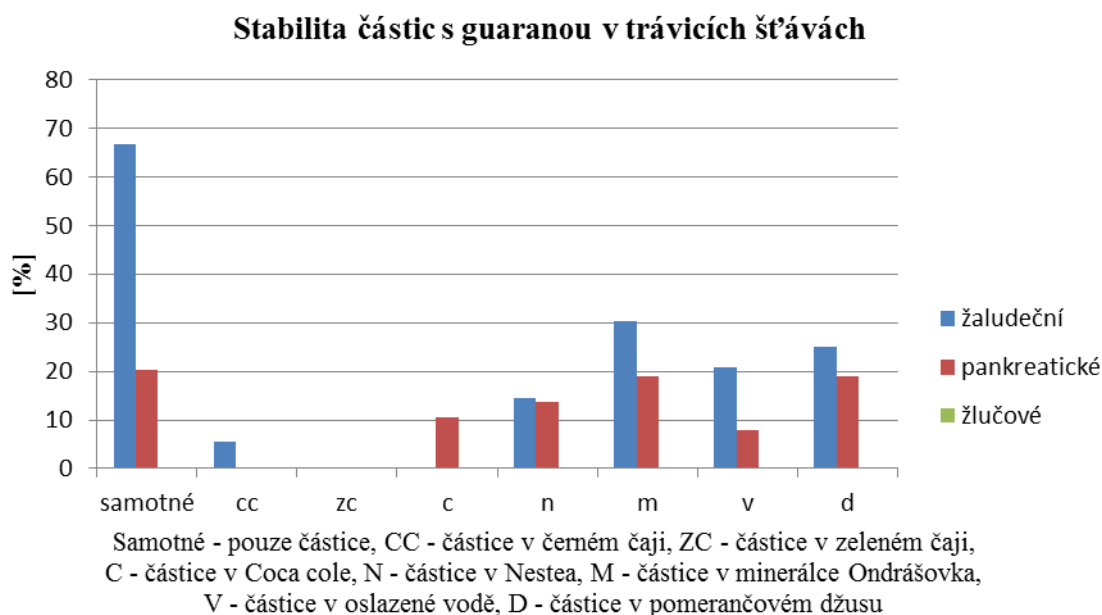
4.4.2.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 46: Stabilita chitosanových částic v trávicích šťávách- změny polyfenolů

CH _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	66,59	20,30	ND
Černý čaj	5,44	ND	ND
Zelený čaj	ND	ND	ND
Coca Cola	ND	10,51	ND
Nestea	14,60	13,82	ND
Minerálka	30,31	19,08	ND
Voda			ND
(50ml+5,5 g med)	20,92	7,88	
Pomerančový džus	25,17	18,92	ND

Tabulka 46 ukazuje, že koncentrace celkových polyfenolů se po působení žlučové šťávy na částice s enkapsulovanou guaranou nezvýšila. V žaludečních šťávách bylo zjištěno zvýšená koncentrace ve většině vzorků kromě zeleného čaje a nápoji Coca Cola. Největší nárůst množství celkových polyfenolů byl detekován v samostatných částicích o 66,59 % v žaludeční šťávě a také v pankreatické šťávě o 20,30 %. V pankreatické šťávě došlo k rozpadu částic i v nápoji Coca Cola, Nestea, minerálce, vodě a pomerančovém džusu (Graf 23).

Graf 23: Stabilita částic v trávících šťávách



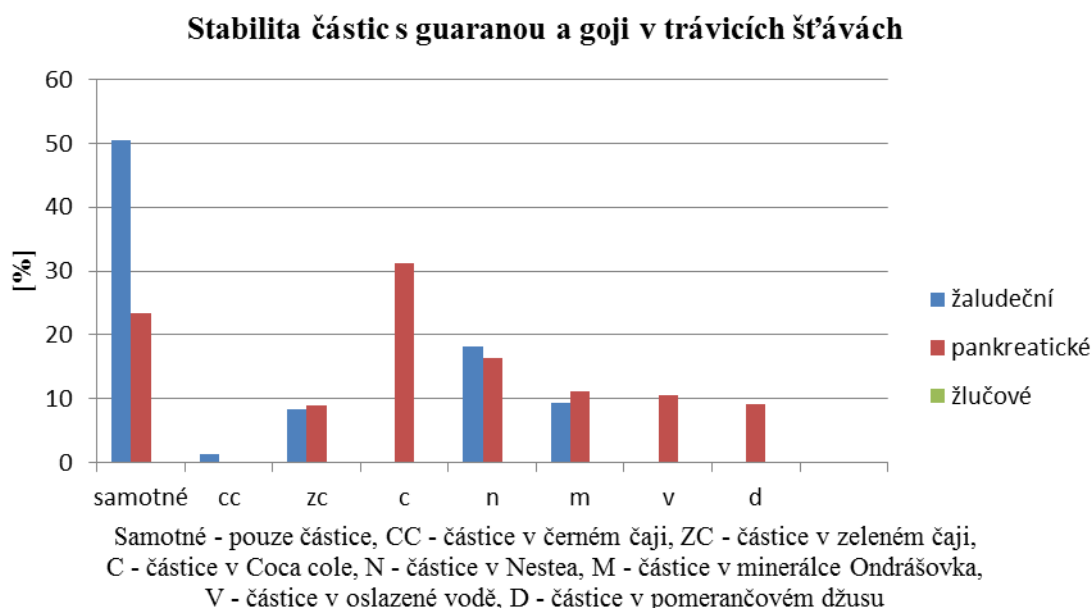
Tabulka 47: Stabilita chitosanových částic v trávících šťávách – změny polyfenolů

CH _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	50,54	23,39	ND
Černý čaj	1,42	ND	ND
Zelený čaj	8,44	8,87	ND
Coca Cola	ND	31,25	ND
Nestea	18,21	16,48	ND
Minerálka	9,34	11,18	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	10,61	ND
Pomerančový džus	ND	9,26	ND

Tabulka 47 ukazuje uvolnění celkových polyfenolů z chitosanových částic s guaranou a goji. Nebyl detekován rozpad v žlučové šťávě. Žaludeční šťáva působila především na samotné částice, došlo k zvýšení koncentrace o 50,54 %. Vyšší množství bylo naměřeno rovněž v Nestea, minerálce a v černém a zeleném čaji. Pankreatická šťáva měla podobný účinek na částice jako žaludeční. Koncentrace byla zvýšena maximálně o 31,25 % v nápoji Coca Cola, v samostatných částicích o 23,39 %, v ostatních částicích do 20 %. V černém čaji nedošlo k uvolnění celkových polyfenolů z částic vystavených působení trávících šťáv.

Pokud jde o uvolnění polyfenolických látek, chitosanové částice jsou vysoce stabilní zejména ve žlučové šťávě, a u obou typů částic obsahujících guaranu a goji. Méně odolné jsou tyto částice v žaludeční a střevní šťávě, kdy stabilita je významně ovlivněna prostředím, ve které byly částice uchovávány.

Graf 24: Stabilita částic v trávících šťávách



4.4.2.3 Koncentrace vitamínu C

Uvolnění vitamínu C nebylo detekováno v žádném prostředí a u žádného typu částic.

4.4.3 Alginátové částice

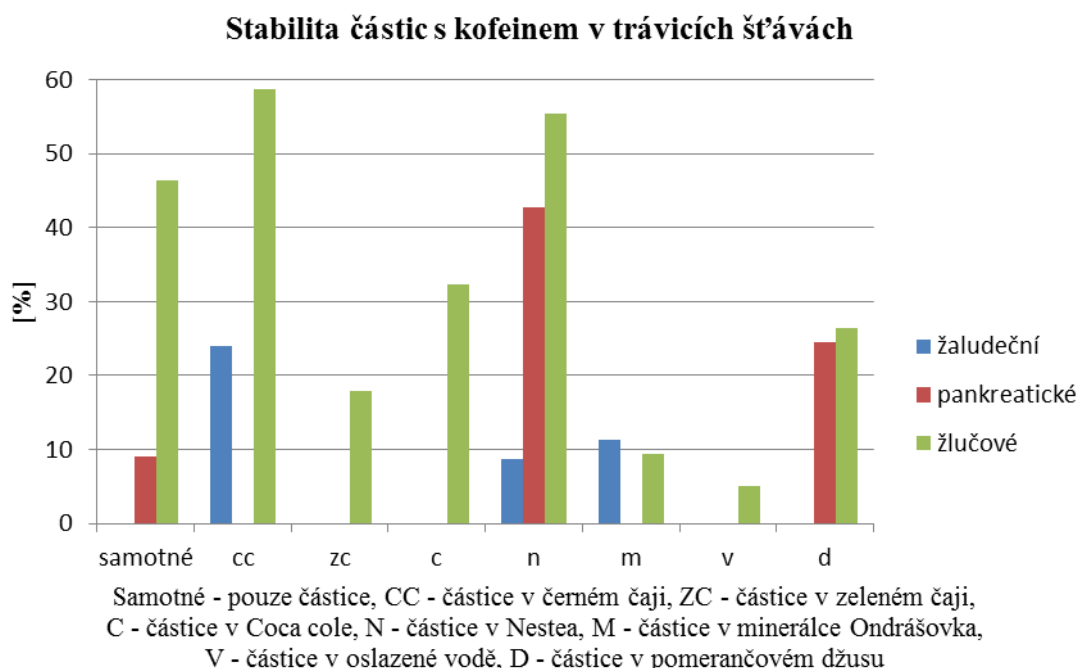
4.4.3.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 48: Stabilita aliginátových částic v trávících šťávách – změny kofeinu

A_{kofein}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	8,98	46,33
Černý čaj	23,93	ND	58,64
Zelený čaj	ND	ND	17,92
Coca Cola	ND	ND	32,36
Nestea	8,76	42,67	55,47
Minerálka	11,25	ND	9,33
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	5,07
Pomerančový džus	ND	24,49	26,34

Působení žaludeční šťávy na samotné částice nezaznamenalo žádný účinek, u částic uchovávaných v černém čaji, v minerálce a v Nestea byl zjištěn nárůst kofeinu v sestupném pořadí. Po působení pankreatické šťávy byla detekována zvýšená koncentrace kofeinu u samotných částic, v pomerančovém džusu a nejvíce v Nestea. Žlučová šťáva způsobila uvolnění kofeinu ze všech částic (Tab. 48).

Graf 25: Stabilita částic v trávicích šťávách – změny kofeinu



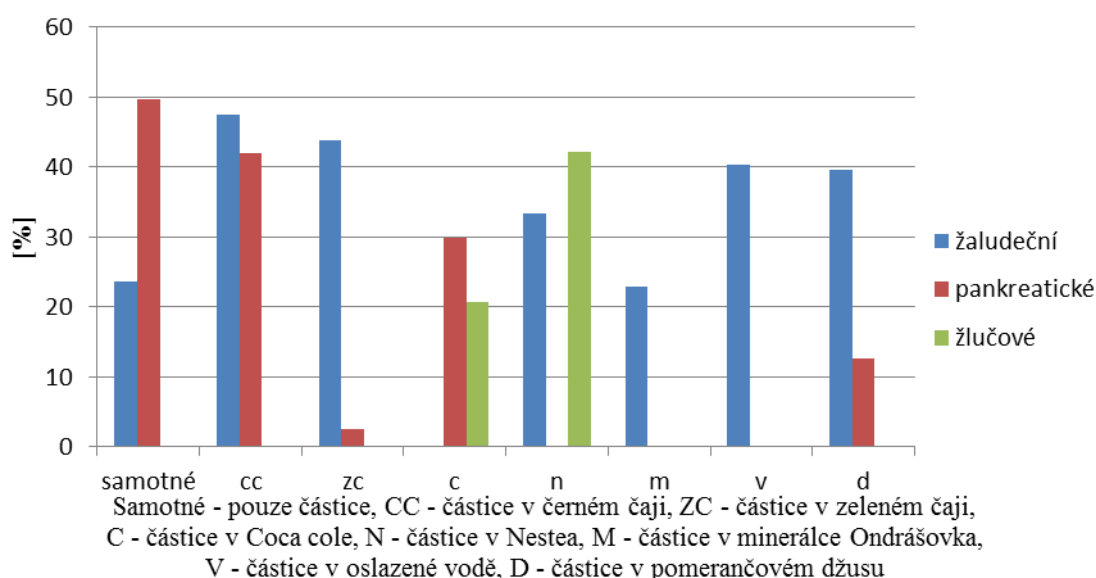
Tabulka 49: Stabilita alginátových částic v trávicích šťávách

A _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	23,72	49,76	ND
Černý čaj	47,59	42,05	ND
Zelený čaj	43,81	2,53	ND
Coca Cola	ND	29,82	20,71
Nestea	33,38	ND	42,22
Minerálka	22,96	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	40,27	ND	ND
Pomerančový džus	39,70	12,72	ND

Stabilita alginátových částic v žlučové šťávě byla vyšší než v ostatních šťávách (Tab. 49). Bylo detekováno vyšší množství v Nestea a v nápoji Coca Cola. Pankreatické šťávy ovlivnily rozpad samotných částic a částic uchovávaných v černém čaji o více než 40 %. Vyšší koncentrace kofeinu byla změřena po uchování v nápoji Coca Cola, v pomerančovém džusu a v zeleném čaji. Pouze částice v nápoji Coca Cola nebyly ovlivněny působením žaludeční šťávy (Graf 26).

Graf 26: Stabilita částic v trávicích šťávách – změny kofeinu

Stabilita částic s guaranou v trávicích šťávách



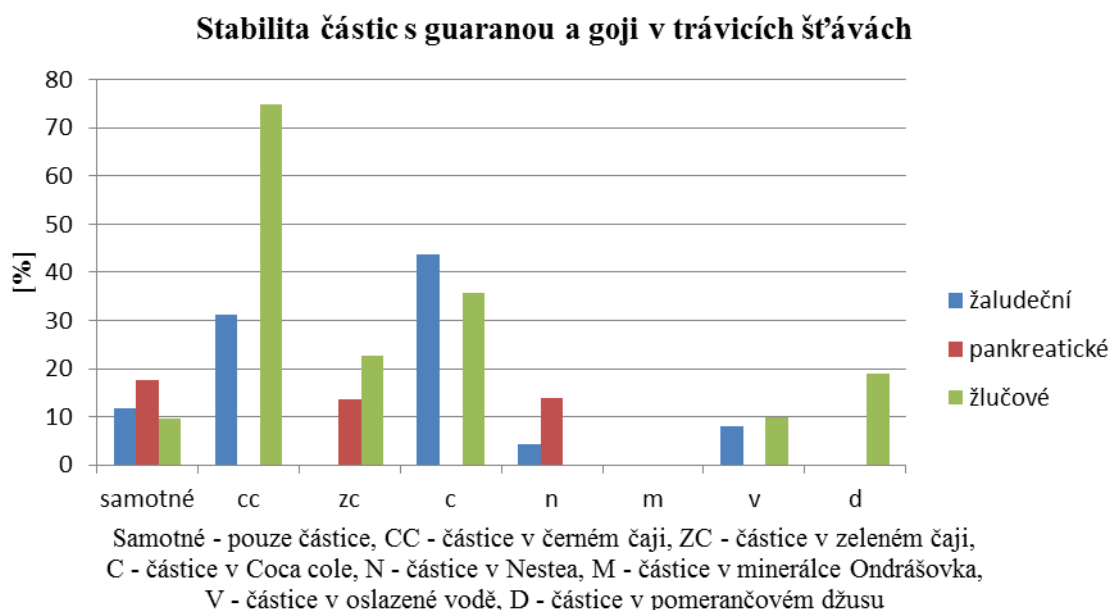
Tabulka 50: Stabilita alginátových částic v trávicích šťávách

A _{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	11,70	17,74	9,77
Černý čaj	31,10	ND	74,86
Zelený čaj	ND	13,76	22,64
Coca Cola	43,72	ND	35,83
Nestea	4,29	13,89	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	8,10	ND	9,87
Pomerančový džus	ND	ND	18,88

Působením žaludeční šťávy došlo k zvýšení koncentrace kofeinu uvolněného z alginátových částic uchovávaných v nápoji Coca Cola o 43,72 %, černém čaji o 31,10 %, v samotných částicích o 11,70 % a v Nestea a vodě pod 10 %. Pankreatická šťáva měla menší vliv na uvolnění kofeinu z částic. Byla detekována vyšší koncentrace kofeinu v samotných částicích, v zeleném čaji a v Nestea. U minerálky a Nestea byla zjištěna zvýšená přítomnost kofeinu po aplikaci žlučových šťav (Tab. 50, Graf 27).

Alginátové částice jsou relativně stabilní v žaludeční a zejména v pankreatické šťávě, zejména částice obsahující guaranu a goji. Částice s čistým kofeinem byly nejvíce stabilní ve žlučové šťávě. Naopak nejnižší stabilita byla zjištěna ve žlučové šťávě u částic obsahujících směs guarany a goji. Lze tedy očekávat, že i alginátové částice uchovávané ve vhodném prostředí mohou být využity k cílenému uvolňování obsahu ve střevním traktu, zejména pak uvolňování kofeinu z komplexních přírodních zdrojů.

Graf 27: Stabilita částic v trávících šťávách – změny kofeinu



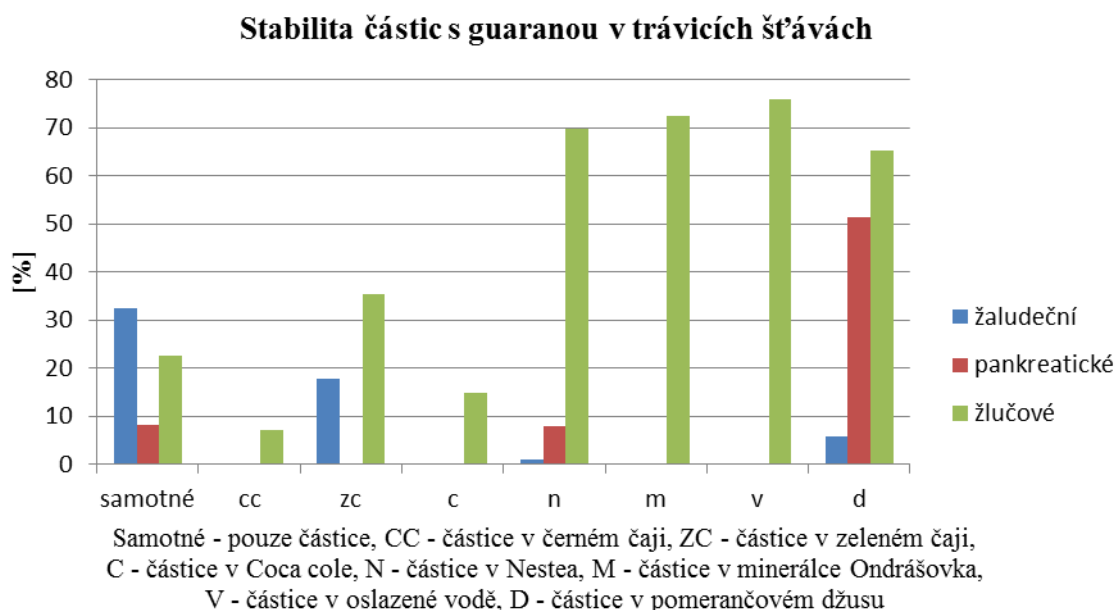
4.4.3.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 51: Stabilita alginátových částic v trávících šťávách – změny polyfenolů

A _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	32,51	8,33	22,58
Černý čaj	ND	ND	7,21
Zelený čaj	17,81	ND	35,33
Coca Cola	ND	ND	14,75
Nestea	0,92	7,95	69,68
Minerálka	ND	ND	72,50
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	75,82
Pomerančový džus	5,80	51,29	65,24

V tabulce 51 je uvedeno uvolnění celkových polyfenolů z alginátových částic s guaranou. Žaludeční šťáva působila především na samotné částice, došlo k zvýšení koncentrace o 32,51 %. Vyšší množství polyfenolů bylo naměřeno rovněž v Nestea, pomerančovém džusu a zeleném čaji. Pankreatické šťávy měly podobný účinek na částice jako žaludeční. Koncentrace byla zvýšena maximálně o 51,29 % v pomerančovém džusu, samostatných částicích o 8,33 % a v Nestea o 7,95 %. Žlučová šťáva působila negativně na všechny částice, především částice uchovávané ve vodě, minerálce, Nestea a pomerančovém džusu (Graf 28).

Graf 28: Stabilita částic v trávicích šťávách



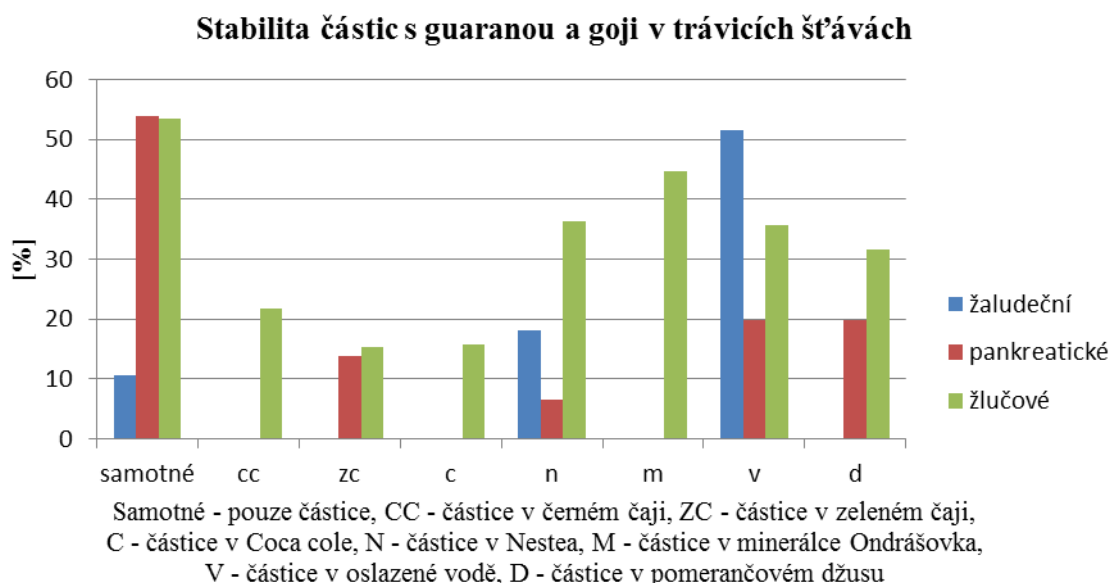
Tabulka 52: Stabilita alginátových částic v trávicích šťávách

A _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	10,58	54,01	53,44
Černý čaj	ND	ND	21,70
Zelený čaj	ND	13,93	15,22
Coca Cola	ND	ND	15,83
Nestea	18,05	6,55	36,23
Minerálka	ND	ND	44,76
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	19,94	35,68
Pomerančový džus	ND	19,79	31,60

Nejlepší uvolnění celkových polyfenolů z alginátových částic s guaranou a goji v trávicích šťávách bylo naměřeno v žaludeční šťávě (Tab. 52). Nejvíce kofeinu se uvolnilo z částic Nestea 18,05 % a ze samotných částic 10,58 %. V pankreatické šťávě se zvýšila koncentrace kofeinu v samotných částicích, pomerančovém džusu, vodě, Nestea a zeleném čaji. Žlučová šťáva působila negativně na všechny částice, nejvíce na samotné částice a minerálku.

Celkově lze shrnout, že polyfenoly se z alginátových částic nejlépe uvolňují v prostředí žlučové šťávy, nejstabilnější jsou v prostředí žaludeční šťávy.

Graf 29: Stabilita částic v trávicích šťávách



4.4.3.3 Koncentrace vitamínu C

Uvolnění vitamínu C z alginátových částic nebylo detekováno..

4.4.4 2% alginátové částice z enkapsulátoru

4.4.4.1 Koncentrace kofeinu

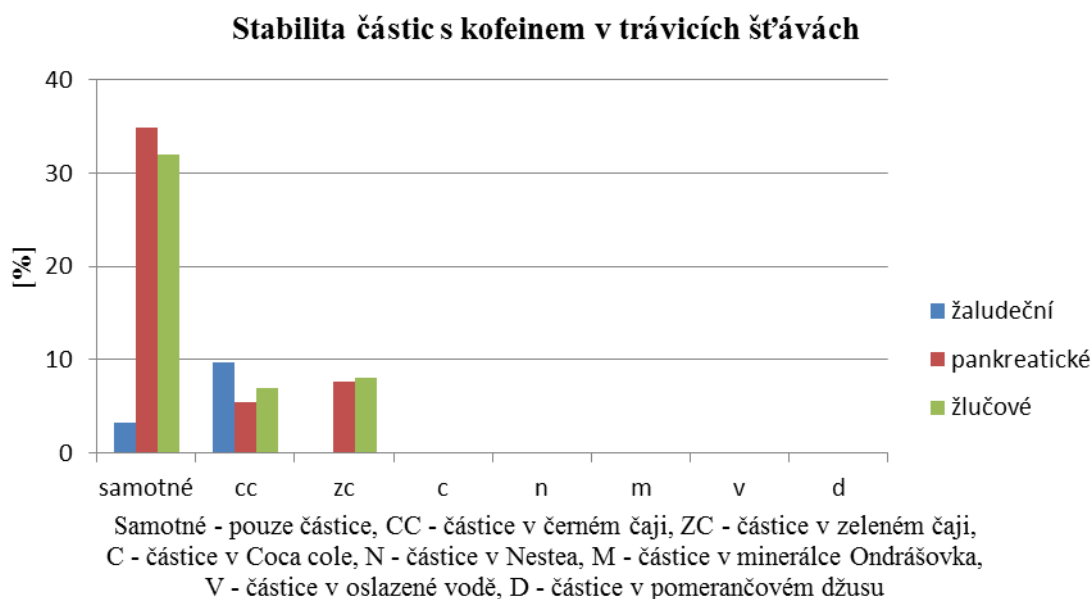
Tabulka 53: Stabilita částic v trávicích šťávách – změny kofeinu

EA2% _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	3,19	34,81	32,04
Černý čaj	9,68	5,47	6,92
Zelený čaj	ND	7,65	8,01
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

V tabulce 53 je zaznamenána stabilita částic po působení trávicích šťáv. Byla identifikována vyšší koncentrace kofeinu uvolněného ze samotných částic o 3,19 % a z částic uchovávaných v černém čaji o 9,68 % v žaludeční šťávě. V pankreatické šťávě byl zjištěn nárůst kofeinu u samotných částic o 34,81 %, u částic uchovávaných v zeleném čaji o 7,65 % a v černém čaji o 5,47 %. Uvedené částice uvolnily kofein i po působení žlučové šťávy (Graf 30).

Celkově lze konstatovat, že částice z 2% alginátu připravené v enkapsulátoru jsou ve všech typech modelového fyziologického prostředí stabilnější než částice připravené manuálně. Důvodem může být mimo jiné i odlišná velikost částic.

Graf 30: Stabilita částic v trávících šťávách

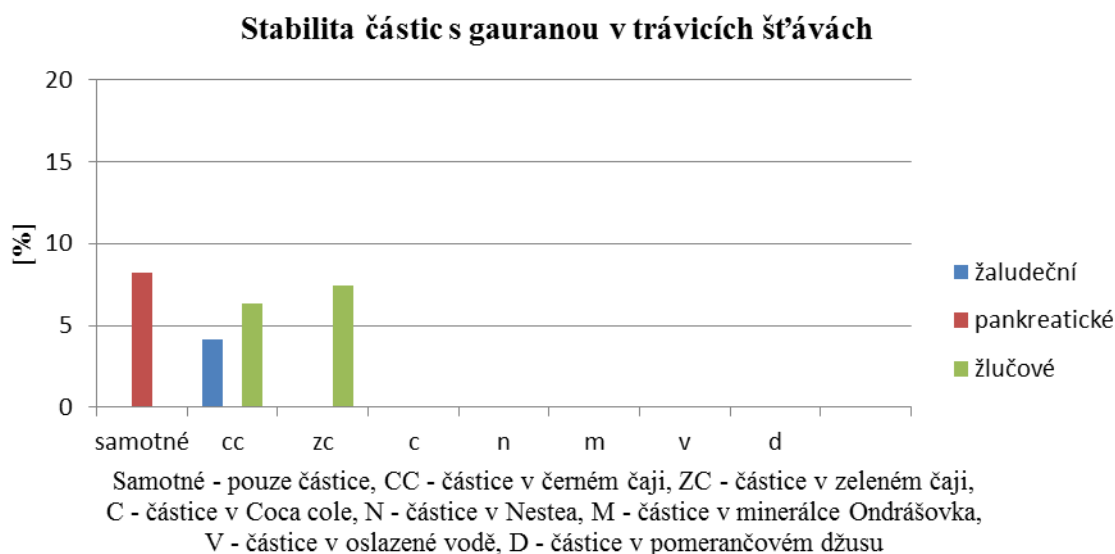


Tabulka 54: Stabilita částic v trávících šťávách – změny kofeinu

EA2% guarana	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	8,22	6,32
Černý čaj	4,11	ND	7,42
Zelený čaj	ND	ND	ND
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Žlučové šťávy vedly k mírné destabilizaci do 10 % zvýšení koncentrace kofeinu v samotných částicích a v černém čaji (Tab. 54). Byl identifikován nárůst kofeinu uvolněného ze samotných částic po působení pankreatické šťávy. Vyšší koncentrace kofeinu o 4 % byla naměřena v černém čaji v žaludeční šťávě. Celkově lze konstatovat výjimečně vysokou stabilitu alginátových částic ve všech typech modelového prostředí.

Graf 31: Stabilita částic v trávicích šťávách



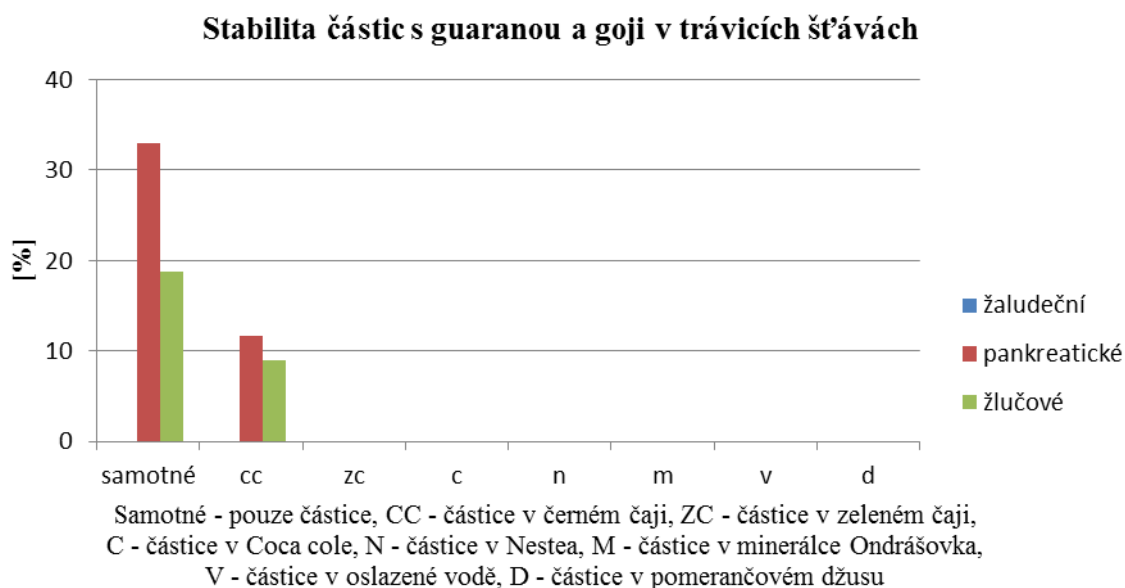
Tabulka 55: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA2% guarana a goji	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	33,01	18,76
Černý čaj	ND	11,64	8,90
Zelený čaj	ND	ND	ND
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Působení trávicích šťáv na alginátové částice s guaranou a goji vyvolalo pouze malé změny koncentrace (Tab. 55). Částice v černém čaji zaznamenaly zvýšenou koncentraci o 11,64 % v pankreatické šťávě a 8,90 % v žlučové. V pankreatické a žlučové šťávě byl také zjištěn nárůst kofeinu u samotných částic o 33,01 % a o 18,76 %.

Alginátové částice připravené v enkapsulátoru z 2% alginátu jsou vysoce stabilní v žaludeční i pankreatické šťávě, a to částice obsahující zejména komplexní přírodní extrakty. Vysoká stabilita byla zjištěna též ve žlučové šťávě. Lze tedy očekávat, že tyto částice budou mít tendenci procházet všemi částmi trávicího traktu spíše bez porušení, jejich obsah tedy nebude uvolněn a využit pro potřeby organismu.

Graf 32: Stabilita částic v trávicích šťávách



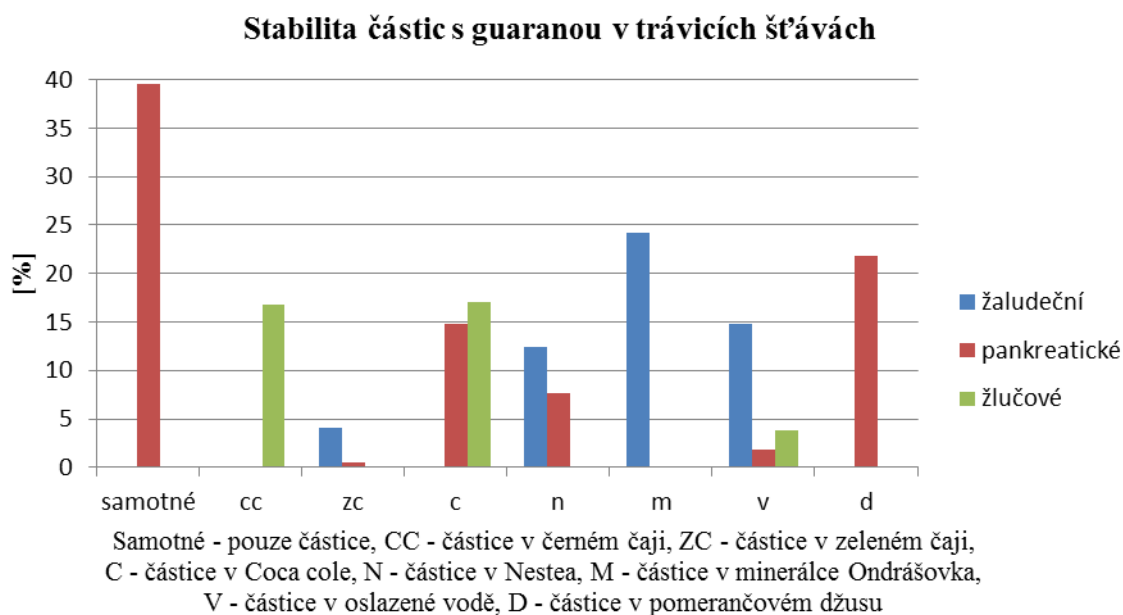
4.4.4.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 56: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA2% guarana	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	39,60	8,97
Černý čaj	ND	ND	ND
Zelený čaj	4,12	0,53	16,79
Coca Cola	ND	14,76	ND
Nestea	12,38	7,59	17,09
Minerálka	24,14	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	14,85	1,81	ND
Pomerančový džus	ND	21,80	3,86

Uvolnění celkových polyfenolů z 2% alginátových částic s guaranou v zeleném čaji, vodě, minerálce a Nestea bylo naměřeno po působení žaludeční šťávy (Tab. 56). Nejvíce kofeinu se uvolnilo z částic v minerálce, nejméně v zeleném čaji. V pankreatické šťávě se zvýšila koncentrace kofeinu v zeleném čaji, vodě, Nestea, nápoji Coca Cola, pomerančovém džusu a v samotných částicích ve vzestupném pořadí. Žlučová šťáva působila na samotné částice, částice uchovávané v prostředích zelený čaj, pomerančový džus a Nestea (Graf 33).

Graf 33: Stabilita částic v trávicích šťávách

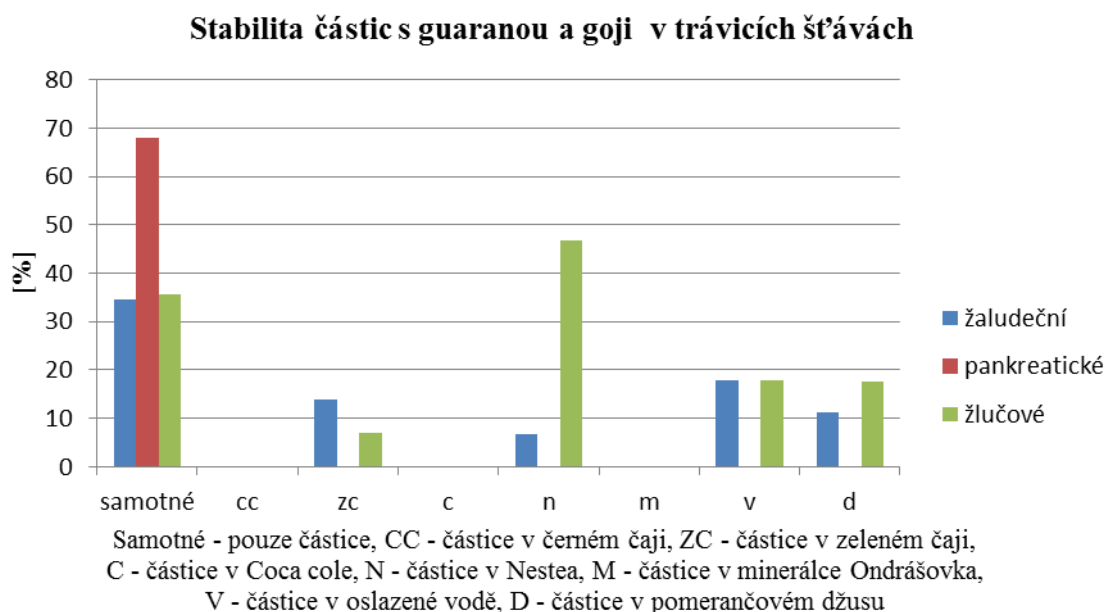


Tabulka 57: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA2% guarana a goji	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	34,55	67,96	35,62
Černý čaj	ND	ND	ND
Zelený čaj	13,76	ND	6,94
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	6,70	ND	46,78
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	17,94	ND	17,96
Pomerančový džus	11,29	ND	17,48

Koncentrace celkových polyfenolů byla zvýšena působením žaludeční šťávy v samotných částicích o 34,55 %, v zeleném čaji, Nestea, vodě a pomerančovém džusu (Tab. 57). Pankreatická šťáva měla nejmenší vliv na částice. Vyšší koncentrace byla zaznamenána pouze v samotných částicích o 67,69 %. V částicích v pomerančovém džusu, vodě, Nestea, zeleném čaji a samotných částicích byla zjištěna vyšší koncentrace polyfenolických látek po působení žlučové šťávy.

Graf 34: Stabilita částic v trávicích šťávách



4.4.4.3 Koncentrace vitamínu C

Uvolnění vitamínu C nebylo detekováno.

4.4.5 4% alginátové částice z enkapsulátoru

4.4.5.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 58: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA4% _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	0,86	13,85
Černý čaj	ND	ND	ND
Zelený čaj	24,29	18,91	ND
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Částice vytvořené z 4% alginátu na enkapsulátoru vykazovaly rovněž velmi dobrou stabilitu v trávicích šťávách. Bylo zjištěno pouze zvýšení koncentrace kofeinu u částic uchovávaných v zeleném čaji o 24,29 % v žaludeční šťávě a o 18,91 % v pankreatické šťávě. Samotné částice podlely působení pankreatických a žlučových šťáv (Tab. 58).

Tabulka 59: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA4% guarana	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	34,05	22,54	17,45
Černý čaj	ND	ND	68,77
Zelený čaj	ND	39,22	25,55
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Koncentrace kofeinu po působení žaludeční šťávy byla změněna pouze v případě samotných částic o 34,05 %, v ostatních částicích nebyla detekována. Zvýšená koncentrace byla zjištěna v samotných částicích a v zeleném čaji po působení v pankreatické šťávě. Žlučová šťáva navíc způsobila i na částice v černém čaji. Částice obsahující guaranu byly vysoce stabilní ve všech typech modelového fyziologického prostředí (Tab. 59).

Tabulka 60: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA4% guarana a goji	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	51,67
Černý čaj	15,83	52,28	50,34
Zelený čaj	ND	18,95	11,75
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	25,23	25,53	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Pouze v případě částic s enkapsulovanou směsí guarany a goji uchovávaných v černém čaji byla identifikována zvýšená koncentrace kofeinu ve všech trávicích šťávách, v žaludeční šťávě o 16 %, v pankreatické a žlučové o 50 % (Tab. 60). V žaludeční a v pankreatické šťávě se zvýšila koncentrace kofeinu o 25 % u vzorku inkubovaného v Nestea. Ve žlučové a pankreatické šťávě bylo zjištěn nárůst o více než 10 %. Samotné částice byly ovlivněny pouze žlučovou šťávou. Obecně je stabilita částic s enkapsulovanou směsí komplexních extraktů nižší než v případně samotné guarany nebo čistého kofeinu.

4.4.5.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 61: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA4% guarana	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	42,70
Černý čaj	ND	ND	ND
Zelený čaj	ND	ND	ND
Coca Cola	ND	ND	3,45
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Zvýšená koncentrace celkových polyfenolů nebyla detekována v žádných vzorcích po působení žaludečních i pankreatických šťáv (Tab. 61). V nápoji Coca Cola byla zjištěna vyšší koncentrace o 3,45 % a v samostatných částicích o 42,70 % po inkubaci se žlučovými šťávami. Alginátové částice s enkapsulovanou guaranou vykazovaly mimořádnou stabilitu v trávicích šťávách, pradápodobně díky velikosti. Podobně jako u částic z 2% alginátu by mohl být problém s uvolněním obsahu částic v trávicím traktu.

Tabulka 62: Stabilita částic v trávicích šťávách

EA4% guarana a goji	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	2,94	ND
Černý čaj	ND	ND	ND
Zelený čaj	ND	ND	ND
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	20,79	ND

Alginátové částice ze 4% alginátu s enkapsulovanou směsí guarany a goji mají vysokou stabilitu ve všech trávicích šťávách (Tab. 62). V žaludečních šťávách nedošlo k rozpadu částic. V pankreatických šťávách bylo detekováno zvýšení koncentrace v samostatných částicích o 2,94 % a v pomerančovém džusu o 20,79 %. Také nebylo zjištěno zvýšení celkových polyfenolů v žlučové šťávě.

4.4.5.3 Koncentrace vitamínu C

Uvolnění vitamínu C nebylo detekováno.

4.4.6 Liposomové částice

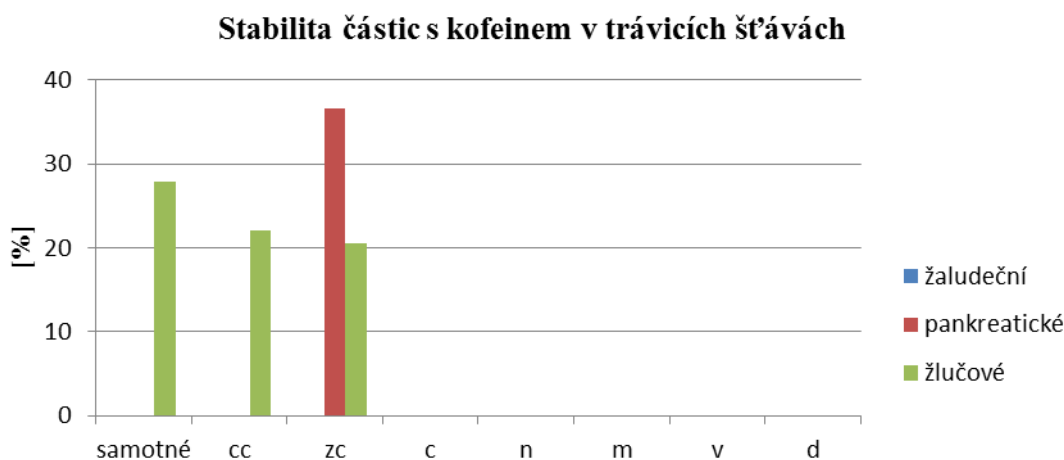
4.4.6.1 Koncentrace kofeinu

Tabulka 63: Stabilita liposomových částic v trávicích šťávách

L _{kofein}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	27,83
Černý čaj	ND	ND	22,08
Zelený čaj	ND	36,61	20,55
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

V žaludeční šťávě nebyla detekována změna koncentrace kofeinu v roztoku. Pankreatické šťávy ovlivnily pouze částice v zeleném čaji. Vyšší množství kofeinu mezi 20-30 % bylo zjištěno v samotných částicích, v černém a zeleném čaji po působení žlučových šťávách (Tab. 63).

Graf 35: Stabilita částic v trávicích šťávách



Samotné - pouze částice, CC - částice v černém čaji, ZC - částice v zeleném čaji,
C - částice v Coca cole, N - částice v Nestea, M - částice v minerálce Ondrášovka,
V - částice v oslazené vodě, D - částice v pomerančovém džusu

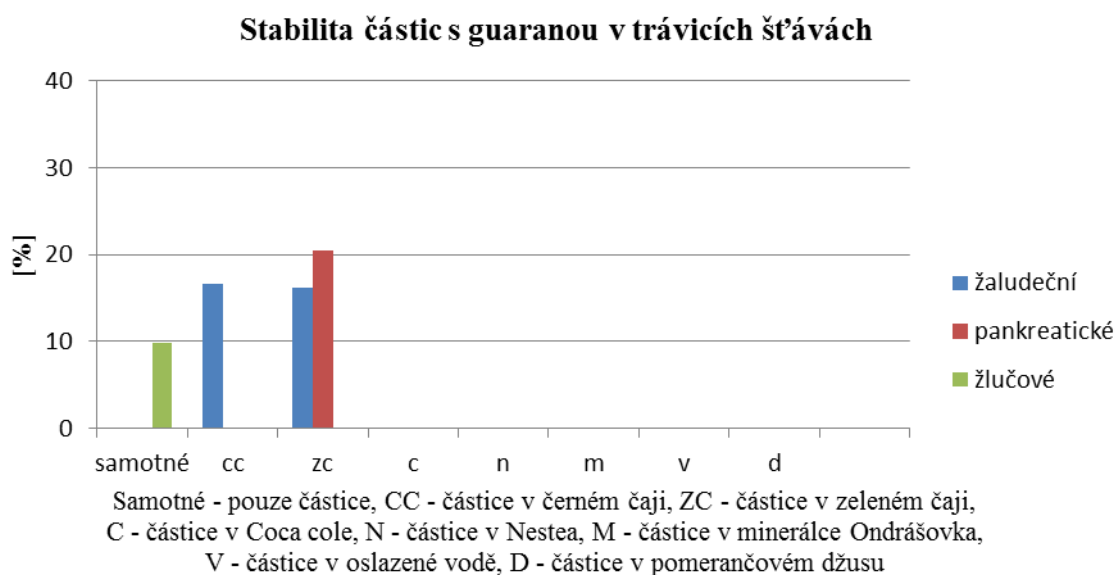
Tabulka 64: Stabilita liposomových částic v trávicích šťávách

L _{guarana}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	9,76
Černý čaj	16,57	ND	ND
Zelený čaj	16,11	20,40	ND
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND

Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Liposomové částice nemají tendenci rozpadat se v trávicích šťávách (Tab. 64). Ve žlučové šťávě byla naměřena vyšší koncentrace u samostatných částic o 9,76 %. Kofein z částic v zeleném čaji se uvolnil o 20,40 % v pankreatické šťávě a 16,11 % v žaludeční. V žaludeční šťávě došlo k vyšší koncentraci uvolněného kofeinu z částic uchovávaných v černém čaji (Graf 36).

Graf 36: Stabilita částic v trávicích šťávách

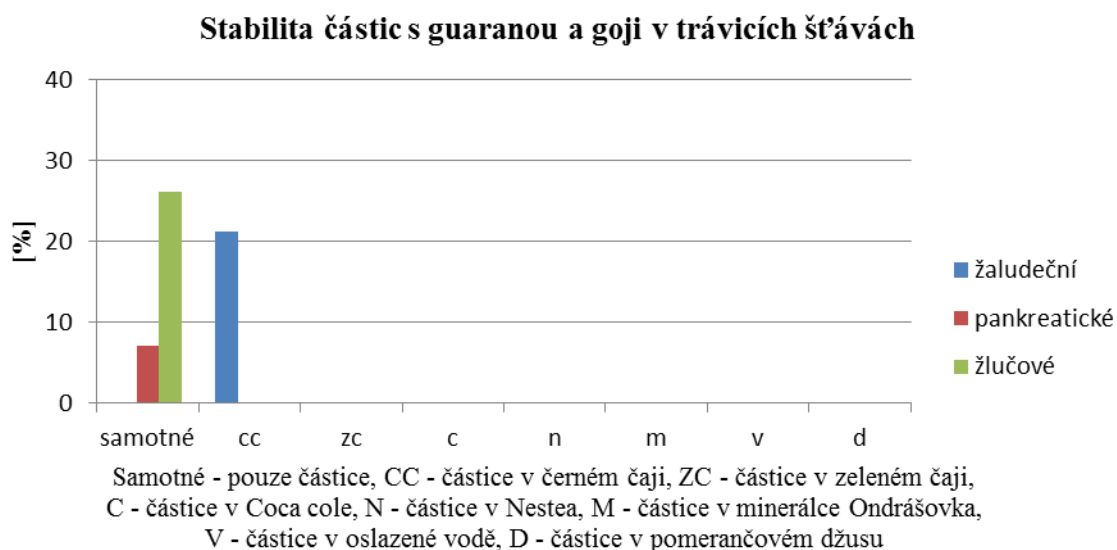


Tabulka 65: Stabilita liposomových částic v trávicích šťávách

L _{guarana a goji}	Změna koncentrace kofeinu [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	7,14	26,17
Černý čaj	21,29	ND	ND
Zelený čaj	ND	ND	ND
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	ND
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	ND

Zvýšená koncentrace kofeinu byla zjištěna pouze u částic uchovávaných v černém čaji za působení žaludečních šťáv, a to o 21,29 %. Uvolnění kofeinu bylo detekováno i ze samostatných částic inkubovaných v pankreatické šťávě o 7,14 % a v žlučové šťávě 26,17 %. Obecně je stabilita liposomů velmi vysoká a uvolnění kofeinu ve většině prostředí je minimální (Graf 37, Tab. 65).

Graf 37: Stabilita částic v trávicích šťávách



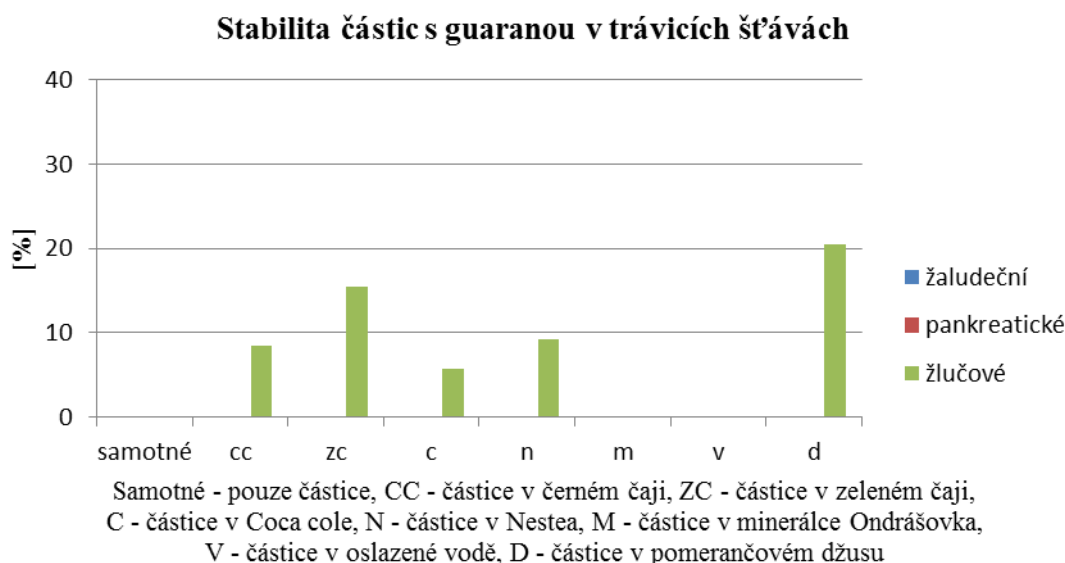
4.4.6.2 Koncentrace celkových polyfenolů

Tabulka 66: Stabilita liposomových částic v trávicích šťávách

L _{guarana}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	ND
Černý čaj	ND	ND	8,42
Zelený čaj	ND	ND	15,42
Coca Cola	ND	ND	5,69
Nestea	ND	ND	9,20
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	ND	ND	20,47

Stabilita liposomových částic v žaludeční a pankreatické šťávě je velmi dobrá, nebylo zjištěno uvolnění kofeinu (Tab. 66). V žlučových šťávách bylo naměřeno mírné zvýšení koncentrace do 20 % v pomerančovém džusu, zeleném a černém čaji, Nestea a nápoji Coca Cola. Lze tedy očekávat, že obsah liposmů se uvolní spíše v prostředí střevního traktu.

Graf 38: Stabilita částic v trávicích šťávách



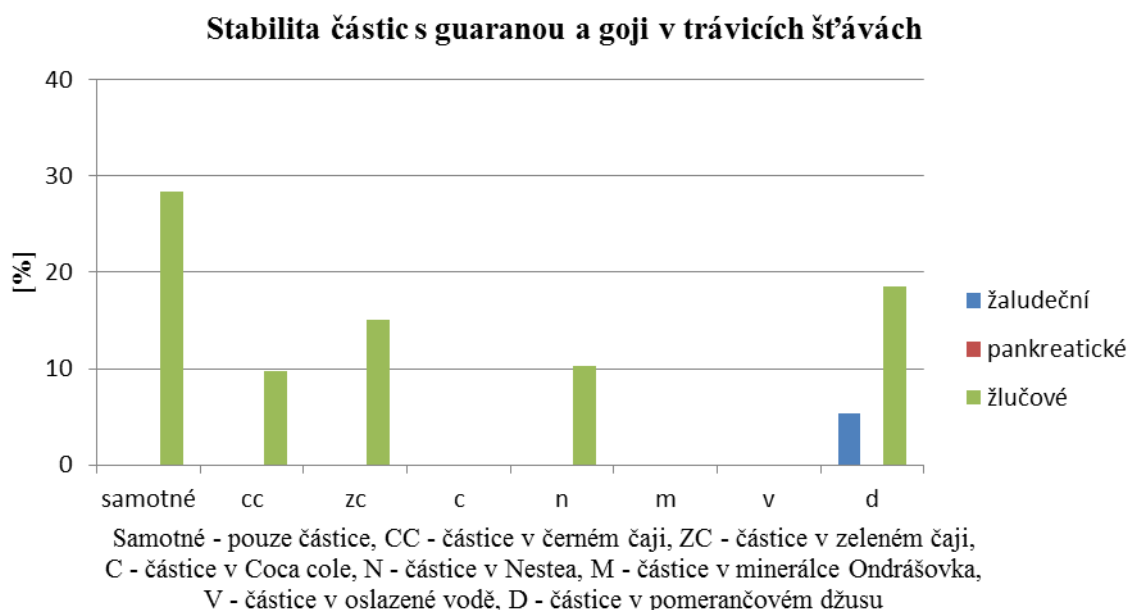
Tabulka 67: Stabilita částic v trávicích šťávách

L _{guarana a goji}	Změna koncentrace celkových polyfenolů [%]		
	Žaludeční šťáva	Pankreatická šťáva	Žlučová šťáva
Samotné částice	ND	ND	28,37
Černý čaj	ND	ND	9,81
Zelený čaj	ND	ND	15,06
Coca Cola	ND	ND	ND
Nestea	ND	ND	10,32
Minerálka	ND	ND	ND
Voda (50ml+5,5 g med)	ND	ND	ND
Pomerančový džus	5,35	ND	18,59

V liposomových částicích se zvýšila koncentrace pouze v pomerančovém džusu o 5,35 %. V pankreatických šťávách v žádném ze vzorku (Tab. 67). Ve žlučových šťávách byla detekována zvýšená koncentrace celkových polyfenolů v samostatných částicích 28,37 %, pomerančovém džusu, zeleném čaji, Nestea a nejméně v černém čaji 9,81 %. Nebylo zjištěno uvolnění v nápoji Coca Cola, v minerálce a vodě (Graf 39).

Celkově lze konstatovat, že liposomy jsou poměrně stabilní ve většině segmentů trávicího traktu a jsou tedy odolné působení žaludeční i střevní šťávy. S rostoucí komplexností enkapsulovaného materiálu (guarana, směs guarana a goji) roste náchylnost liposomů ke štěpení ve žlučové šťávě, lze tedy předpokládat uvolnění obsahu v prostředí tenkého střeva.

Graf 39: Stabilita částic v trávících šťávách



4.6.6.3 Koncentrace vitamínu C

Uvolnění vitamínu C nebylo detekováno.

4.7 Stanovení velikosti částic metodou dynamického rozptylu světla

Tabulka 68: Velikosti částic

	<i>d</i> [nm]			
	Prázdné částice	Kofein	Guarana	Guarana a goji
CHA	995,9	672,6	403,8	358,4
CH	182,5	374,9	377,5	543,9
A	3 148,5	623,35	260,1	1 169,9
L	111,1	94,86	157,5	118,9

Nejnižší velikost částic byla naměřena u liposomových částic (Tab. 68). Průměr prázdných částic byl 111,1 nm, průměr částic s enkapsulovaným kofeinem dosáhl rozměru nanočástic, tedy 94,86 nm, liposomy s guaranou a goji měly průměr 118,9 nm a samotnou guaranou 157 nm. U ostatních částic se průměr lišil, záleželo na použité špičce pipety při vzniku kapslí, rychlosti míchání a odebraném vzorku. Největší velikosti byly zaznamenány u alginátových částic.

4.8 Změření stability částic pomocí zeta potenciálu

Tabulka 69: Zeta potenciál částic

	ZP [mV]			
	Prázdné částice	Kofein	Guarana	Guarana a goji
CHA	12,6	25,1	21,7	20,9
CH	19,6	41,8	-5,3	-0,8
A	-12,6	-17	-12,9	-7,5
L	-40,6	-47,9	-51,7	-41,8

Byl zjištěn zeta potenciál částic, největší stabilita byla změřena u liposomových částic - přes 40 mV (Tab. 69). Naopak nejmenší hodnoty zeta potenciálu v rozmezí -7 až -17 mV byly zjištěny u alginátových částic. Kladnou hodnotu zeta potenciálu měly jako jediné chitosan-alginátové částice. U chitosanových částice samotných a částic s kofeinem byl zjištěn kladný zeta potenciál, částice s guaranou a goji a samotnou guaranou a goji měly malou stabilitu, hodnoty zeta potenciálu se pohybovaly kolem nuly.

Pokud by měla být posuzována stabilita částic podle hodnoty zeta potenciálu, nejstabilnější by byly veškeré liposomové částice a potom chitosanové částice s enkapsulovaným kofeinem. Enkapsulace kofeinu i komplexních extraktů do ostatních typů manuálně připravených částic vedla ke koloidní nestabilitě systému.

5 ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na problematiku energetických nápojů, jejich složením a účinky na lidský organismus. Cílem bylo posoudit možnost modifikace složení a přípravy energetických nápojů s obsahem přírodních zdrojů povzbudivých látek s postupným uvolňováním. K tomuto účelu byly testovány metody enkapsulace jako možnosti přípravy modifikovaných produktů.

V experimentální části byly nejprve analyzovány vybrané typy energetických a povzbudivých nápojů, v nichž byl stanoven obsah sacharidů, celkových polyfenolů, kofeinu a vitamínu C. Reálné druhy celkem 11 nápojů (3 druhy čaje, 1 druh kávy, 3 druhy energetických nápojů, 3 druhy nealkoholických nápojů a voda) sloužily jako základ pro přípravu modifikovaných energetických nápojů a také jako prostředí pro enkapsulované částice. Polyfenolické látky byly detekovány především v čajích, pomerančovém džusu a v malém množství v nápoji Coca Cola a nápoji Monster. Vitamin C byl nalezen pouze v pomerančovém džusu a Nestea zelený čaj citrus. Ve všech komerčně zakoupených nápojích s výjimkou Pepsi byly prokázány jednoduché cukry (glukosa a sacharosa), pouze v případě Pepsi nebyla přítomna sacharosa. Kofein nebyl detekován pouze v pomerančovém džusu a citronové minerálce, ve všech ostatních nápojích byla jeho přítomnost potvrzena.

K enkapsulaci byly jako materiál použity polysacharidy alginát a chitosan v různé koncentraci a poměru a též byly připraveny liposomy. Do těchto částic byl enkapsulován jak čistý kofein o známé koncentraci, tak i komplexní zdroje kofeinu – guarana a směs guarany a goji. Částice byly připraveny manuálně a některé i pomocí enkapsulátoru. Účinnost enkapsulace a stabilita částic byla sledována pomocí stanovení koncentrace uvolněných aktivních látek - koncentrace kofeinu, celkových polyfenolů a vitamínu C.

Vliv na účinnost enkapsulace měl charakter aktivní látky, koncentrace aktivní látky, druh a koncentrace obalové látky. Přes 97 % kofeinu bylo účinně enkapsulováno v případě částic s čistým kofeinem připravených pomocí 2% alginátu z enkapsulátoru. Částice s guaranou a směsí guarany a goji vykazovaly účinnost enkapsulace přes 80 %. Liposomové částice dosáhly 94% účinnost enkapsulace čistého kofeinu, pouze přes 50 % kofeinu bylo enkapsulováno při použití guarany nebo guarany s goji. Částice ze 4% alginátu připravené pomocí enkapsulátoru měly účinnost zapouzdření kofeinu přes 90 % v případě částic s čistým kofeinem, 69 % s guaranou a goji a 53 % s guaranou. Nejnižší účinnost enkapsulace kofeinu vykazaly chitosan-alginátové částice s enkapsulovaným čistým kofeinem i komplexním zdrojem (34 – 61%). Obecně lze říci, že při enkapsulaci komplexních extraktů guarany a guarany s goji byla účinnost o třetinu nižší než v případě čistého kofeinu.

Při posuzování účinnosti enkapsulace podle jiné aktivní látky než je kofein byly zjištěny poněkud odlišné výsledky. Podle změny koncentrace celkových polyfenolů lze konstatovat, že zřejmě docházelo k určitému typu adsorpce na povrch vytvořených částic. Nejvíce byl tento jev pozorován u chitosan-alginátových částicích, následně v klesajícím pořadí v chitosanových a alginátových částicích a též u mikročástic z 2% alginátu a 4% alginátu vytvořených na enkapsulátoru.

Účinnost enkapsulace z pohledu koncentrace vitamínu C byla měřena pouze u částic, které obsahovaly goji. V roztoku, v němž byly částice uchovávány, docházelo k poměrně rychlému rozkladu askorbátu.

Stabilita částic byla sledována v několika prostředích reálných nápojů, z nichž některé obsahovaly kofein (čaje, Coca Cola) a některé nikoliv (voda, minerálka, džus). Tímto byl modelován základ potenciálního povzbudivého nápoje a jako aktivní složka byly přidány

částice obsahující enkapsulovaný kofein, guaranu nebo směs guarany a goji. Částice byly inkubovány v daném prostředí po dobu 1 měsíce a v pravidelných intervalech byla sledována dlouhodobá stabilita. Nejvyšší dlouhodobá stabilita byla prokázána u liposomových částic, kde došlo k uvolnění kofeinu nanejvýš do 20 % a celkových polyfenolů do 30 %. U 4% alginátových částic připravených na enkapsulátoru byla zaznamenána vyšší stabilita vitamínu C a vyšší labilita v případě enkapsulace polyfenolů; podobné výsledky byly dosaženy i u částic připravených z 2% alginátu. U alginátových částic připravených manuálně byla stabilita nižší než u částic připravených na enkapsulátoru. Stabilita chitosanových částic byla v případě celkových polyfenolů poměrně vysoká (uvolnění do 39 %), u kofeinu nižší (do 66 %). V chitosan-alginátových částicích byla změna koncentrace celkových polyfenolů do 62 % a kofeinu do 65 %. Ve většině případů závisí stabilita částic na vhodné kombinaci materiálu, obsahu a podmínek, ve kterých jsou částice uchovávány. Manuálně připravené částice, zejména liposomy, představují s ohledem na předpokládanou velikost větší naději pro použití do čirých nápojů.

Stabilita systémů základ/částice byla studována též v prostředí umělých trávicích šťáv. Rovněž v těchto podmínkách byly ve všech typech prostředí nejstabilnější liposomové částice. Uvolnění kofeinu bylo detekováno do 36 % a celkových polyfenolů do 28 %. Velmi dobrou stabilitu vykazovaly též částice 2% alginátu získané z enkapsulátoru, bylo zjištěno uvolnění celkových polyfenolů do 67 % a kofeinu do 34 %. Při použití 4% alginátů byl stanoven nárůst kofeinu do 68 % a celkových polyfenolů do 42 %. Oba typy částic z enkapsulátoru mají pro použití v nápojích jednu značnou nevýhodu, kterou je jejich velikost v oblasti mikrorozměrů. Ostatní typy částic byly méně stabilní.

Velikost manuálních částic byla ověřena metodou dynamického rozptylu světla. Nejmenší průměrná velikost byla zjištěna u liposomových částic v rozmezí 94 – 157 nm, což dosahuje rozměry nanočástic. Velikost chitosanových částic se pohybovala v rozmezí 182 – 543 nm, chitosan-alginátových částic v rozmezí 358 – 995 nm a u alginátových částic 260 – 3 148 nm. Velikost částic se liší díky přípravě a materiálu částic a jejich obsahu.

Koloidní stabilita byla sledována též pomocí zeta-potenciálu. Největší zeta potenciál byl naměřen u liposomových částic, jeho hodnota se pohybovala v rozmezí -40 až -50 mV, což představuje výbornou stabilitu částic. Kladná hodnota zeta potenciálu byl zjištěna v případě chitosan-alginátových částic (12- 25 mV). Chitosanové částice s kofeinem vykazovaly rovněž dobrou stabilitu, ostatní částice, zejména ty s obsahem guarany a směsi guarany a goji vykazovaly naopak malou stabilitu.

S ohledem na zjištěné hodnoty účinnosti enkapsulace, stability enkapsulovaných složek, stability v modelovém fyziologickém prostředí, velikosti i koloidní stability jsou zřejmě nejvhodnějšími částicemi pro aplikaci do nápojů liposomy. Vhodným základem lze účinně ovlivnit postupný rozklad částic ve střevním prostředí za uchování stability v žaludku, což může být využito při cíleném a pozvolném uvolňování obsahu liposomů s kofeinem z trávicího traktu do krevního oběhu.

6 LITERATURA

- [1] REISSIG, CH. J., E. C. STRAIN a R. R. GRIFFITHS. Caffeinated energy drinks-A growing problem. *Drug and Alcohol Dependence* [online]. 2009, vol. 99, pp. 1-10, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [2] *Energy drinks* [online]. Mohr results. [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.mohrresults.com/mohr-results-weight-loss-2/the-worst-energy-drinks>.
- [3] GRAY, B., J. K. DAS a CH. SEMSARIAN. Consumption of energy drinks: A new provocation test for primary arrhythmogenic diseases?. *International Journal of Cardiology* [online]. 2012, [cit. 2014-04-26], vol. 159, pp. 77-78. [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [4] GILES, G. E., C. R. MAHONEY, T. T. BRUNYÉ, A. L. GARDONY, H. A. TYALOR a R. B. KANAREK. Differential cognitive effects of energy drink ingredients: Caffeine, taurine, and glukose. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* [online]. 2012, vol. 102, pp. 569-577, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [5] VEIGA, L. L. A., H. AMORIM, M. C. SILVA, R. S. L. RAICES a S. L. QUITERIO. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted guarana (*Paullinia cupana*) by high-performance liquid chromatography with a fluorescence detector. *Food Chemistry* [online]. 2013, vol. 152, pp. 612-618, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [6] SCHIMPL, F. C., J. R. SILVA a J. F. CARVALHO GONCALVES. Guarana: Revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2013, vol. 150, pp. 14-31, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [7] FUKUMASU, H., J. L. AVANZO, R. HEIDOR, T. C. SILVA, A. ATROCH, F. S. MORENO a M. L. Z. DAGLI. Protective effects of guarana (*Paullinia cupuna* Mart. var. *Sorbilis*) against DEN-induced dNA damage on mouse liver. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2006, vol. 44, pp. 862-867, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [8] MAJHENIČ, L., M. ŠKERGET a Ž. KNEZ. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry* [online]. 2007, vol. 104, pp. 1258-1268, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [9] BRUIN, E. A., M. J. ROWSON, L. VAN BUREN, J. A. RYCROFT a G. N. OWEN. Black tea improves attention and self-reported alertness. *Appetite* [online]. 2010, vol. 56, pp. 235-240, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [10] BAHORUN, T., A. LUXIMON-RAMMA, V. S. NEERGHEEN-BHUJUN, T. K. GUNNESS, K. GOOGOOLYE, C. AUGER, A. GROZIER a O. I. ARUOMA. The effect of black tea on risk factors of cardiovascular disease in a normal population. *Preventive Medicine* [online]. 2012, vol. 54, pp. 98-102, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [11] *Tea* [online]. Science how stuff works. [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.science.howstuffworks.com/innovation/edible-innovations/tea1.html>.
- [12] *Tea* [online]. Henriettes herb. [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.henriettes-herb.com/eclectic/tea/pics/tea-01.html>.
- [13] ASADI, S. Y., P. PARSAEI, M. KARIMI, S. EZZATI, A. ZAMIRI, F. MOHAMMADIZADEH a M. RAFIETIAN-KOPAEI. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on healing process of surgical wound in rat. *Internatiol Journal of*

- Surgery* [online]. 2013, vol. 11, pp. 332-337, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [14] HSU, Y., CH. TSAI, H. TING, W. CHEN a CH. YEN. Green tea supplementation in mice mitigates senescence-induced changes in brain antioxidant abilities. *Nutrition Research* [online]. 2013, vol. 33, pp. 180-187, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [15] KREJČÍ, I.: *O kávě a čaji: Aneb víme proč je pijeme?*. Praha: Grada Publishing a.s., 2000, 100 s. ISBN 80-7169-636-1.
- [16] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin II*. Vyd. 3. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [17] *Bezpečnostní list* [online]. Penta chemicals. [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/c/bezplist_662.pdf>.
- [18] AUCAMP, J. P., Y. HARA a Z. APOSTOLIDES. Simultaneous analysis of tea catechins, caffeine, gallic acid, theanine and ascorbic acid by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, vol. 876, pp. 235-242, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [19] FOŘT, P. *Zdraví a potravní doplňky*. Ikar, 2005, 398 s. ISBN 80-249-0612-0.
- [20] LIOTTA, E., R. GOTTARDO, C. SERI, C. RIMONDO, I. MIKSIK, G. SERPELLONI a F. TAGLIARO. Rapid analysis of caffeine in “smart drugs“ and “energy drinks“ by microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC). *Forensic Science International* [online]. 2012, vol. 220, pp. 279-283, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [21] *Biologicky aktivní přírodní látky* [online]. [cit. 2014-04-26]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/lam/new/bapl2003-01.pdf>>.
- [22] SAWYNOK, J. Caffeine and pain. *Pain* [online]. 2011, vol. 152, pp. 726-729, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [23] GLADE, M. J. Caffeine-not just a stimulant. *Nutrition* [online]. 2010, vol. 26, pp. 932-938, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [24] LÜLLMANN, H., K. MOHR a M. WEHLING. *Farmakologie a toxikologie* [online]. Praha: Grada Publishing a.s., 2004, 725 s, [cit. 2014-04-26]. ISBN 80-247-0836-1. Dostupné z WWW:< <http://books.google.cz> >.
- [25] FISONE, G., A. BORGKVIST a A. USIELLO. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *Cellular and molecular life sciences* [online]. 2004, vol. 61, pp. 857-872, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.springerlink.com>.
- [26] AMAGASE, G. A N. R. FRANSWORTH. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of Lycium barbarum fruit (Goji). *Food Research International* [online]. 2011, vol. 44, pp. 1702-1717, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [27] SHEN, L. a G. DU. Lycium barbarum polysaccharide stimulates proliferation of MCF-7 cells by the ERK pathway. *Life Sciences* [online]. 2012, vol. 91, p. 353-357, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [28] LI, X. M., X. L. LI a A. G. ZHOU. Evaluation of antioxidant activity of the polysaccharides extracted from Lycium barbarum fruits in vitro. *European Polymer Journal* [online]. 2007, vol. 43, pp. 488-497, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.

- [29] WANG, C. C., S. C. CHANG, B. S. INBARAJ a B. H. CHEN. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry* [online]. 2010, vol. 120, pp. 184-192, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [30] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin I*. Vyd. 3. Tábor: OSSIS, 2009, 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [31] ZAMMIT, P. Vitamin C Deficiency in an Elderly Adult. *Journal of the American geriatrics Society* [online]. 2013, vol. 61, pp. 657-658, [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <www.onlinelibrary.wiley.com>.
- [32] RODRÍGUEZ, F. S., K. A. SALAZAR, N. A. JARA, M. A. GARCÍA-ROBLES, F. PÉREZ, L. E. FERRADA, F. MARTÍNEZ a F. J. NUALART. Superoxide-dependent uptake of vitamin C in human glioma cells. *Journal of Neurochemistry* [online]. 2013, vol. 127, pp. 793-804, [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <www.onlinelibrary.wiley.com>.
- [33] FAAS, M. M., P. de VOS, M. SPASOJEVIC a J. SIKKEMA. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal* [online]. 2010, vol. 20, pp. 292-302, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [34] NEDOVIC, V., A. KALUSEVIC, V. MANOJLOVIC, S. LEVIC a B. BUGARSKI. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science* [online]. 2011, vol. 1, pp. 1806-1815, [2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [35] FANG, Z. a B. BHANDARI. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food science and Technology* [online]. 2010, vol. 21, pp. 510-523, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [36] DOMARATZKI, R. E. a A. GHANEM. Encapsulation and release of cladribine from chitosan nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2013, vol. 128, pp. 2173-2179, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.onlinelibrary.wiley.com>.
- [37] SCHROOYEN, P. M. M., R. van der MEER a C. G. De KRUIF. Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society* [online]. 2001, vol. 60, pp. 475-479, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.media.proquest.com.ezproxy.lib.vutbr.cz>.
- [38] ZUIDAM, N. J. a V. A. NEDOVIĆ. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing* [online]. Springer Science, 2010, 400 s. ISBN 978-1-4419-1007-3, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.springerlink.com>.
- [39] ALLEN, T. M., C. B. HANSEN, D. E. LOPES DE MENEZES. Pharmacokinetics of long-circulating liposomes. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 1995, vol. 16, pp. 267-284, [2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [40] DÜZGÜNES, N. Liposomes. *Methods in Enzymology*. Copyright, 2009, vol. 464, 369 s. ISBN 978-0-12-374969-7.
- [41] SOWASOD, N., K. NAKAGAWA, W. TANTHAPANICHAKOON a T. CHARINPANITKUL. Development of encapsulation technique for curcumin loaded O/W emulsion using chitosan based cryotropic gelation. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2012, vol. 32, pp. 790-798, [2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.

- [42] WEBSTER, T. J. *Safety of Nanoparticles From Manufacturing to Medical Applications* [online]. Springer Science, 2009, 239 s, [cit. 2014-04-26]. ISBN 978-0-387-78607-0. Dostupný z WWW: <www.springerlink.com>.
- [43] SINHA, V. R. a R. KUMRIA. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2001, vol. 224, pp. 19-38, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [44] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. Praha: Academia, 1999, 506 s. ISBN 80-200-0438-6.
- [45] *Chitosan* [online]. Wikipedia. [cit. 2014-04-26] Dostupný z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Chitosan2.jpg>>.
- [46] MACHADO, Alexandra H. E., Dan LUNDBERG, António J. RIBEIRO, Francisco J. VEIGA, Maria G. MIGUEL, Björn LINDMAN a Ulf OLSSON. Encapsulation of DNA in Macroscopic and Nanosized Calcium Alginate Gel Particles. *Langmuir* [online]. 2013, vol. 29, pp. 15926-15935, [cit. 2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.pubs.acs.org>.
- [47] *Alginate* [online]. Lsbu.ac. [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.lsbu.ac.uk/water/hyalg.html>>.
- [48] BASU, S. C., BASU, M. *Liposome Methods and Protocols*. New Jersey: Humana Press, 2002, 249 s. ISBN 0-89603-845-9.
- [49] ZAHAVY, E., A. ORDENTLICH, S. YITZHAKI a A. SHAFFERMAN. *Nano-Biotechnology for Biomedical and Diagnostic Reserch* [online]. London: Spriger Science, 2012, 182 s, [cit. 2014-04-26]. ISBN 987-94-007-2555-3.
- [50] GREGORIADIS, G. *Liposome technology: Liposome Preparation and Related Techniques*. New York: Informa Healthcare, 2007, 324 s. ISBN 978-0-8493-8821-7.
- [51] *Cholesterol* [online]. Frontierlifeline.wordpress. [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <<http://frontierlifeline.wordpress.com/2011/02/21/demystifying-cholesterol-and-lipoproteins/>>.
- [52] ULUDAG, H., P. D. VOS, P. A. TRESKO. Technology of mammalian cell encapsulation. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2000, vol. 42, pp. 29-64, [2014-04-26]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [53] *Lecithin* [online]. Chemistry.compendiarious. [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <<http://chemistry.compendiarious.net/LipidsWorksheet%205.htm>>.
- [54] *HPLC* [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/tmt/studium/LOTP/LOTP_09_emulse.pdf>.
- [55] *Zeta potential* [online]. TAPPI. [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.tappi.org/content/events/11BIMSPR/papers/Yu.pdf>>.
- [56] BÜCHI LABORTECHNIK AG. *Návod k použití: enkapsulátor B-395 Pro*. 2011.
- [57] *Encapsulator* [online]. Dostupný z WWW: <<http://www.donaulab.eu/inpage/enkapsulace>>.
- [58] PING, L., Y. DAI, J. Z. PING, A. WANG a G. WEI. Chitosan-Alginate Nanoparticles as a Novel Drug Delivery System for Nifedipine. *International Journal of Biomedical Science* [online]. 2008, vol. 4, pp. 221-228, [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <www.ijbs.org>.
- [59] DUSTGANI, A., E. V. FARAHANI a M. IMANI. Preparation od Chitosan Nanoparticles Loaded by Dexamethasone Sodium Phosphate. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2004, pp. 111-114, [cit. 2014-04-26]. Dostupné z WWW: <www.sid.ir>.

[60] *Československý lékopis: Pharmacopoea Bohemoslovaca*. 4. vyd. Praha: Avicenum, 1987.

7 SEZNAM ZKRATEK

A alginátové částice

L liposomové částice

EA2% 2 % alginátové částice z enkapsulátoru

EA4% 4% alginátové částice z enkapsulátoru

CHA chitosan-alginátové částice

CH chitosanové částice

CC černý čaj

ZC zelený čaj

C Coca Cola

N Nestea zelený čaj

M citronová minerálka

V voda s medem

D pomerančový džus

HPLC high-performance liquid chromatography

UV ultrafialová oblast

VIS viditelná oblast

RI index lomu