

Amarantový olej jako bohatý zdroj biologicky aktivních látek

Bc. Michaela Pajdlová

Diplomová práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Michaela Pajdlová
Osobní číslo: T23246
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Amarantový olej jako bohatý zdroj biologicky aktivních látek

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část:

Vypracujte literární rešerši zaměřenou na přírodní aktivní látky získávané z pseudocereálních zdrojů a jejich významné biologické vlastnosti.

Zhodnotte jejich potenciál pro vývoj formulací využitelných v kosmetických a jiných aplikacích.

II. Praktická část:

Připravte a charakterizujte nosné systémy vhodné pro enkapsulaci aktivních látek z vybraných pseudocereálních olejů, případně jejich složek.

Studujte vliv modifikace na fyzikálně-chemické vlastnosti a antioxidační aktivitu.

Dosažené výsledky přehledně zpracujte a diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Pasko, P., Galanty, A. a kol. Pseudocereal oils, authenticated by Fourier transform infrared spectroscopy, and their chemopreventive properties. *Plant Foods for Human Nutrition* 2024, 79, 151-158.
- [2] Lacatusu, I., Arsenie, L. V. a kol. New cosmetics formulations with broad photoprotective and antioxidative activities designed by amaranth and pumpkin seed oils nanocarriers. *Industrial Crops and Products* 2018, 123, 424-433.
- [3] Castaneda-Reyes, E. D., Gonzales de Mejia, E. a kol. Liposomes loaded with unsaponifiable matter from *Amaranthus hypochondriacus* as a source of squalene and carrying soybean lunasin inhibited melanoma cells. *Nanomaterials* 2021, 11, 1960.
- [4] Sagioglu, A. A. Preparation and Characterization of Topical Niosomal Formulation Containing Retinyl Palmitate and Squalane for Enhanced Skin Delivery. *Journal of Research in Pharmacy* 2023, 27, 1821-1830.
- [5] Jan, N., Hussain, S. Z. a kol. Amaranth and quinoa as potential nutraceuticals: A review of anti-nutritional factors, health benefits and their applications in food, medicinal and cosmetic sectors. *Food Chemistry* 2023, 18, 100687.

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

Datum zadání diplomové práce: **10. února 2025**

Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení diplomové práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce se zaměřuje na charakteristiku vybraných pseudocereálních olejů, jejich složení a aplikace. Dále jsou popsány nosné systémy využitelné pro transport aktivních sloučenin, zahrnující emulze, mikrokapsle, lipozomy a niozomy. Právě niozomální částice a jejich potenciál pro inkorporaci rostlinných olejů a souvisejících významných bioaktivních složek byly předmětem dalších kapitol.

V reakci na rostoucí poptávku po biologicky bezpečných a kosmeticky účinných produktech rostlinného původu byly v rámci experimentální části připraveny a charakterizovány niozomy s obsahem mastných alkoholů jako alternativ ke klasickým formulacím stabilizovaných pomocí cholesterolu. Na základě této formulační studie byly vybrány optimální nosiče pro enkapsulaci amarantového oleje, resp. aktivních složek skvalanu a tokoferyl acetátu. U připravených nosičů byly hodnoceny fyzikálně-chemické parametry, enkapsulační účinnost a antioxidační aktivita.

Klíčová slova: amarantový olej, nosný systém, niozom, aktivní látka, skvalan, tokoferyl acetát, enkapsulační účinnost.

ABSTRACT

The theoretical part of the diploma thesis focuses on the characteristics of selected pseudocereal oils, their composition, and applications. It further describes carrier systems applicable for the transport of active compounds, including emulsions, microcapsules, liposomes, and niosomes. Particular attention is given to niosomal particles and their potential for the incorporation of plant oils and related significant bioactive components, which are discussed in the subsequent chapters.

In response to the growing demand for biologically safe and cosmetically effective plant-based products, the experimental part involved the preparation and characterization of niosomes containing fatty alcohols as alternatives to conventional formulations stabilized with cholesterol. Based on this formulation study, optimal carriers were selected for the encapsulation of amaranth oil and the active ingredients squalane and tocopheryl acetate. The prepared carriers were evaluated for their physicochemical parameters, encapsulation efficiency, and antioxidant activity.

Keywords: amaranth oil, carrier system, niosome, active compound, squalane, tocopheryl acetate, encapsulation efficiency.

Na tomto místě bych ráda vyjádřila své upřímné poděkování doc. Ing. Janě Sedlaříkové, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, za její odborné vedení, cenné připomínky, důslednost a trpělivost, kterou mi po celou dobu zpracování práce věnovala. Mé poděkování dále patří Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D. za jeho ochotu, vstřícnost a odbornou pomoc, které významně přispěly k realizaci analýzy pomocí plynové chromatografie. Velmi si také vážím pomoci doc. Mgr. Magdy Janalíkové, Ph.D., která mne provázela stanovováním antimikrobiální aktivity v rámci mikrobiologické laboratoře. Poděkování patří také všem, kteří mi jakýmkoli způsobem ochotně poskytli podporu a pomoc během studia a při zpracování této diplomové práce.

OBSAH

ÚVOD.....	13
I TEORETICKÁ ČÁST	14
1 PSEUDOCEREÁLNÍ OLEJE.....	15
1.1 OLEJ Z QUINOY	15
1.1.1 Taxonomie.....	15
1.1.2 Chemické složení a biologické vlastnosti	16
1.1.3 Praktické aplikace	17
1.2 AMARANTOVÝ OLEJ	18
1.2.1 Taxonomie.....	19
1.2.2 Chemické složení a biologické vlastnosti	19
1.2.3 Praktické aplikace	21
1.3 LUPINOVÝ OLEJ	25
1.3.1 Taxonomie.....	25
1.3.2 Chemické složení a biologické vlastnosti	25
1.3.3 Praktické aplikace	26
1.4 OLEJ Z CHIA SEMEN	26
1.4.1 Taxonomie.....	26
1.4.2 Chemické složení a biologické vlastnosti	26
1.4.3 Praktické aplikace	27
2 FORMULACE PRO DODÁVÁNÍ BIOAKTIVNÍCH LÁTEK	29
2.1 EMULZE.....	30
2.2 MIKROKAPSLE.....	31
2.3 LIPOZOMY	31
2.4 NIOZOMY	32
2.4.1 Charakterizace niozomů.....	32
2.4.2 Příprava niozomů	33
3 NIOZOMY V PRAKTICKÝCH APLIKACÍCH.....	36
3.1 FARMACIE A LÉKAŘSTVÍ.....	36
3.2 KOSMETICKÝ PRŮMYSL	37
4 SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY	41
II PRAKTICKÁ ČÁST	45
5 CÍLE PRÁCE	46
6 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A POMŮCKY	47
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	47
6.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	47
7 POSTUPY PŘÍPRAVY A MĚŘENÍ.....	49

7.1	ANALÝZA AMARANTOVÉHO OLEJE METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE.....	49
7.1.1	Transesterifikace oleje.....	49
7.2	PŘÍPRAVA NIOZOMŮ BEZ OBSAHU AKTIVNÍ LÁTKY	50
7.3	PŘÍPRAVA NIOZOMŮ S OBSAHEM AKTIVNÍ LÁTKY	51
7.4	MĚŘENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC	52
7.5	STANOVENÍ ZETA POTENCIÁLU A PH	52
7.6	SESTROJENÍ KALIBRAČNÍCH KŘIVEK	53
7.7	STANOVENÍ ENKAPSULAČNÍ ÚČINNOSTI.....	54
7.8	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	54
7.9	STANOVENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY	56
7.10	STANOVENÍ KINETIKY UVOLŇOVÁNÍ AKTIVNÍCH LÁTEK	56
8	VÝSLEDKY A DISKUZE	58
8.1	ANALÝZA AMARANTOVÉHO OLEJE METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE.....	58
8.2	VIZUÁLNÍ HODNOCENÍ.....	62
8.3	VELIKOST ČÁSTIC	67
8.4	ZETA POTENCIÁL	71
8.5	ENKAPSULAČNÍ ÚČINNOST.....	75
8.6	ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA	77
8.7	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	78
8.8	KINETIKA UVOLŇOVÁNÍ AKTIVNÍ LÁTKY	80
	ZÁVĚR.....	85
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	87
	SEZNAM OBRÁZKŮ	101
	SEZNAM TABULEK.....	103
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	104

ÚVOD

Inovativní přístupy a metody enkapsulace biologicky aktivních látek do nosných systémů nabízejí široké možnosti využití nejen ve farmacii a medicíně, ale také v genetickém inženýrství, kosmetickém průmyslu a potravinářských technologiích. Za tímto účelem jsou studovány různé polymerní nanočástice, emulze či lipozomy. Jedny z nejmodernějších vysoce perspektivních vezikulárních systémů představují niozomální nano-nosiče, které ve srovnání s lipozomy vykazují lepší fyzikální, chemickou a biologickou stabilitu.

Za účelem přípravy aktivních transportních systémů jsou aplikovány různé aktivní molekuly, v podobě léčiv, antibakteriálních činidel, vitamínů či antioxidantů. Pseudocereální oleje jsou bohatým zdrojem mnoha unikátních lipofilních sloučenin, jako je například skvalen, ve vodě nerozpustné vitamíny nebo fytosteroly. Skvalen je známý pro své antioxidační, antibakteriální a hydratační účinky, které ho činí obzvláště vhodným pro použití v kosmetických přípravcích. Ze zástupců vitamínů lze zmínit vitamín E, který je přirozeným antioxidantem obsaženým v rostlinách, kde chrání jak buněčné struktury, tak i samotné oleje před oxidativním žluknutím, podobně i v lidském těle přispívá k ochraně buněk před oxidačním stresem a přispívá k udržení přirozené fyziologické funkce kůže.

Cílem práce bylo využití amarantového oleje, resp. jeho bioaktivních složek k enkapsulaci do niozomální formulace s optimalizovaným složením bez obsahu standardně používaného cholesterolu. Potenciální alternativu představují přirozeně se vyskytující mastné alkoholy, tj. složky, které jsou běžnou součástí farmaceutických a kosmetických formulací. Tato strategie je v souladu se současnými environmentálními trendy, rostoucí poptávkou po produktech založených na rostlinné bázi a všeobecnou snahou eliminovat složky potenciálně nebezpečné pro životní prostředí a lidské zdraví.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 PSEUDOCEREÁLNÍ OLEJE

Pseudocereálie jsou dvouděložné bezlepkové obiloviny, mezi jejichž nejznámější zástupce je řazena quinoa, amarant a pohanka. Pseudocereálie jsou zdrojem nutričně kvalitních bílkovin, minerálních látek, vitamínů a škrobu. Současně jsou bohaté na tzv. fytochemikálie, mezi něž patří polyfenoly, betalainy, fytosteroly a fytosteroidy, ale také antinutrienty označované jako saponiny [1].

Je známo, že z pseudocereálních plodin lze získávat rostlinné oleje, a právě tuky v nich obsažené se využívají zejména v potravinářském průmyslu, kde významně ovlivňují strukturu a nutriční kvalitu potravin, ale také jejich chuť a skladování. Doba skladování potravin může být znatelně snížena, jedná-li se o výrobek obsahující rostlinný olej, neboť rostlinné oleje jsou výrazně náchylnější k oxidativnímu žluknutí než oleje živočišného původu [1][2].

1.1 Olej z quinoy

Zdrojem pro získání tohoto oleje je andská pseudocereálie zvaná Quinoa (*Chenopodium quinoa*) [3]. Quinoa je ve srovnání s jinými obilovinami bohatá na kvalitní bílkoviny, esenciální aminokyseliny, škrob, vlákninu a další biologicky aktivní sloučeniny s velkým přínosem nejen pro oblast potravinářskou, ale také farmakologickou a kosmetickou [4].

1.1.1 Taxonomie

Chenopodium quinoa, pseudoobilovina rodu Merlíkovité (*Chenopodiaceae*) čeledi Laskavcovité (*Amaranthaceae*) je původem z Andské oblasti Jižní Ameriky, která zahrnuje Kolumbii, Ekvádor, Peru a Bolívii [3][4][5][6].

Quinoa je dvouděložná jednoletá rostlina, přičemž v současnosti je pěstováno více než 250 různých odrůd quinoy, jejichž fenologické vlastnosti, chemický profil, zbarvení a výživová hodnota závisí na podmínkách a lokalitě pěstování včetně genotypu. Koncem 20. století byla quinoa pěstována v pouhých 7 zemích světa, ovšem aktuálně je mezi producenty quinoy řazeno na 95 zemí, a to nejen z důvodu jejího velkého potenciálu pro využití v různých odvětvích, ale také díky její vysoké flexibilitě a odolnosti vůči nepříznivým klimatickým podmínkám [4][5].

1.1.2 Chemické složení a biologické vlastnosti

Jedním z největších zdrojů bioaktivních složek v quinoe je zrno, které obsahuje zejména bílkoviny, lipidy, ale také sacharidy a minerální látky jako jsou např. zinek, železo, mangan, vápník a draslík [5][6]. Vnější část zrna, perisperm, je tvořena jednotlivými nebo agregovanými granulemi škrobu. Vnitřní výplň zrna quinoe, jinými slovy pletivo nebo také endosperm, je bohatá na makroživiny s vysokou nutriční hodnotou, jako jsou tuky a bílkoviny, a také olej. Pro získání jednotlivých složek ze zrna quinoe je potřeba oddělit endosperm od perispermu, čehož lze dosáhnout tzv. abrazivním mletím, které probíhá za sucha. Nutričně kvalitní bílkoviny mohou být ze zrn získány jeho mletím, olej je z quinoe obvykle extrahován pomocí šnekového lisu při teplotě 160 °C. Zejména pro účely potravinářské musí být u výsledného oleje z quinoe hodnoceno několik základních charakteristik, jako jsou tepelné, reologické, případně mezifázové vlastnosti. Tepelné charakteristiky mohou být analyzovány pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC), chování oleje při deformaci a další reologické parametry lze stanovit použitím reometru [4].

Udává se, že procentuální obsah oleje v quinoe se může pohybovat v rozmezí od 1,8 do 9,5 %, přičemž součástí tukové složky jsou hlavně nenasycené mastné kyseliny. Obsah lipidů se v quinoe pohybuje v rozmezí 4–7 % a je tvořen převážně nenasycenými mastnými kyselinami, jako jsou kyselina linolová, které je zde obsaženo v průměru více než 53 %, dále kyselina olejová (asi 23 %) a také kyselina linolenová (v obsahu asi 4 %). Z nasycených mastných kyselin je v quinoe obsažena ve velkém množství kyselina palmitová. Olej z quinoe tak obsahuje značné množství nenasycených mastných kyselin, které jsou v důsledku přítomnosti dvojných vazeb méně stabilní, tedy více náchylné k oxidaci. Před oxidativním žluknutím je tento olej chráněn antioxidantem zvaným tokoferol (vitamin E), který se v quinoe vyskytuje převážně jako γ -tokoferol. Množství tokoferolu přítomné v quinoe je velmi proměnlivé a může dosahovat až 7 mg/100 g, což je podstatně více než u pšenice, rýže či kukuřice, současně lze u většiny běžných obilovin detekovat spíše alfa formu tokoferolu [4][5].

Kromě lipidů jsou další významnou součástí semen quinoe fytochemikálie, tedy biologicky aktivní sloučeniny rostlinného původu. Do této skupiny jsou řazeny polyfenoly, saponiny, polysacharidy, peptidy a vláknina [7]. Mezi fytochemikálie, jejichž znatelné množství bylo přítomno hlavně v semenech quinoe, patří volné i vázané sloučeniny na bázi fenolu, které lze rozdělit na fenolické kyseliny a flavonoly, dále rostlinné steroly (fytosteroly) a skvalen. Fenolické kyseliny detekované v quinoe jsou např. kyselina

vanilová, ferulová a jejich deriváty. Hlavními flavonoidy (vitamín P) quinoy jsou kaempferol a kvercetin, včetně jejich glykosidových derivátů. V quinoe bylo stanoveno asi 23 sloučenin na bázi fenolu přítomných především v perispermu. Vázané fenolické sloučeniny se v trávicím traktu kovalentně konjugují se složkami buněčné stěny. Následně ovšem mohou být chemickou či enzymatickou hydrolýzou uvolněny, a tak pozitivně ovlivnit funkci tlustého střeva.

Další neopomenutelnou složkou přítomnou primárně v perispermu semen quinoy jsou i saponiny, směsi derivátů triterpenových glykosidů, včetně kyselin oleanolové a fytolakagenové, hederageninu a dalších sloučenin. Tyto komplexní sloučeniny na bázi saponinu mají tzv. antinutriční charakter, tzn. snižují nutriční hodnotu quinoy, dodávají jí hořkou chuť a mohou být i toxické. Saponiny je tak nutné pro spotřebitelské účely z quinoy odstranit, a to loupáním a oplachem semen [5]. Nicméně přítomnost saponinů v quinoe není pouze nežádoucí, saponiny se totiž projevují i silnými antibakteriálními vlastnostmi s potenciální aplikací v potravinářství za účelem zamezení kontaminace potravin patogenními bakteriemi. Mezi takové inhibitory růstu bakterií patří etanolový extrakt ze slupek quinoy. Další pozitivní vlastností saponinů je jejich povrchová aktivita využitelná pro bioremediaci. Konkrétní aplikace saponinů z quinoy souvisí s jejich nízkou polaritou, čímž je umožněn rozpad bakteriálních membrán způsobujících halitózu neboli zápach z úst [6][7].

Bylo prokázáno, že semena quinoy mají mnoho nejen medicínských významných vlastností, jsou považována za antioxidační především díky vysokému obsahu vitamínu E, imunomodulační, protizánětlivá a antikarcinogenní. Protizánětlivé, antikarcinogenní a hypocholesterolemické účinky jsou připisovány saponinům, antinutrientům s velkým farmaceutickým potenciálem [5]. Mezi antioxidanty přítomné v quinoe je řazen nejen vitamín E, ale také saponiny, polyfenoly a jiné fytochemikálie [6].

1.1.3 Praktické aplikace

Zejména saponiny jsou jako součást quinoy používány ke kosmetickým účelům jako multifunkční přísady do mýdel, šamponů a jiných kosmetických produktů [7]. Hydrolyzovaná quinoa je jako kondicionální přísada aplikována do vlasových produktů. Jako příklad lze uvést bezoplachový sprej kosmetické značky Milk Shake s obsahem hydrolyzované quinoy a olejů z amazonského deštného pralesa bez parabenů (Obrázek 1). Na obale produktu je uvedeno, že produkt slouží k ošetření kudrnatých vlasů, které by měl zjemňovat, současně jim dodávat určitou pružnost přispívající k dlouho trvajícím kudrlinám.

Tento produkt dále obsahuje organické oleje pracaxi a babassu, mléčné proteiny a ovocné výtažky [8].



Obrázek 1 Bezoplachový sprej pro kudrnaté vlasy s obsahem hydrolyzované quinoi

(zdroj: vlastní)

INCI složení: Aqua (Water), PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Amodimethicone, Cetrimonium Chloride, Polyester-37, Polyquaternium-22, Hydrolyzed Milk Protein, Trideceth-12, Hydrolyzed Quinoa, Helianthus Annuus (Sunflower) Seed Extract, Citrus Limon (Lemon) Fruit Extract, Vaccinium Myrtillus Fruit Extract, Pyrus Malus (Apple) Fruit Extract, Orbignya Oleifera Seed Oil, Pentaclethra Macroloba Seed Oil, Parfum (Fragrance), Phenoxyethanol, Imidazolidinyl Urea, Disodium EDTA, Caprylyl Glycol, Citric Acid, Sodium Benzoate, Potassium Sorbate, Butylene Glycol, Benzyl Alcohol, Glycine, Sodium Lactate, Sodium Citrate, Tocopherol, Amyl Cinnamal, Benzyl Benzoate, Benzyl Salicylate, Citronellol, Coumarin, Geraniol, Hexyl Cinnamal, Limonene, Linalool [8].

1.2 Amarantový olej

Amarantový olej, který pochází ze semen amarantu (*Amaranthus spp.*), je bohatý na esenciální mastné kyseliny, vitamíny a především skvalen, sloučeninu, která nepodléhá saponifikaci [2][9][10]. Předností amarantového oleje oproti jiným známějším olejům je jeho kompatibilita s kyselější pH pokožky [9].

1.2.1 Taxonomie

Amarant (*Amaranthus cruentus*), pseudocereální plodina čeledi Amaranthaceae, produkuje nejen jedlá semena, ale také listy a stonky o vysokém obsahu kvalitních nutrientů a představuje tak velký potenciál pro využití v mnoha odvětvích, ať už potravinářství, kosmetice či farmacii a medicíně. Amarant je za různými účely pěstován v Americe, Africe i jihovýchodní části Asie a ke konci 20. století se pěstování amarantu rozšířilo také do Evropy. Označení amarantu jako pseudocereální rostliny neboli pseudoobiloviny je mírně zavádějící, neboť některé zdroje poukazují na skutečnost, že amarant je součástí třídy rostlin dvouděložných na rozdíl od tzv. pravých obilovin, jež jsou jednoděložné [9], ovšem jiné studie přisuzují amarantu a jemu podobným pseudocereáliím označení „pseudo“ na základě jiné konfigurace polypeptidů a bílkovin, která se nachází mezi luštěninami a obilovinami [10].

1.2.2 Chemické složení a biologické vlastnosti

Amarantová zrna obsahují, v porovnání s běžnou obilovinou (např. rýží), přibližně o 30 % více bílkovin (uvádí se 12,5–17,6 %). Mezi další hojně zastoupené makronutriční komodity patří vláknina v obsahu cca 4,2 %, dále sacharidy a tuky. Bylo prokázáno, že pravidelnou konzumací amarantu lze snížit oxidativní zátěž, regulovat hladinu cholesterolu a snížit krevní tlak.

Amarantový olej získávaný ze semen amarantu může vykazovat pozitivní účinky při boji s hypertenzí a kardiovaskulárními chorobami. Procentuální zastoupení nasycených mastných kyselin v amarantovém oleji lze stanovit pomocí plynové chromatografie (GC) a pohybuje se zde v obsahu 80 %, obsah nasycených acylglycerolů, jež vznikají reakcí glycerolu s mastnými kyselinami přitom dosahuje až 90 %. Obsah tuků v amarantu je proměnlivý v závislosti na konkrétním druhu a genotypu, přičemž dodnes je známo více než 60 různých druhů amarantu. Z hlediska obsahu lipidických složek je uváděno rozmezí 1,9–9,7 %. Lipidy amarantu se dále skládají z nasycených mastných kyselin (SAFA), jako je hlavně kyselina palmitová, a nenasycených mastných kyselin, jako jsou monoenová mastná kyselina (MUFA) olejová a z polynenasycených mastných kyselin (PUFA), jako jsou kyseliny linolová a linolenová. Kyseliny olejová a linolová jsou mastné kyseliny, které mají zklidňující a ochranné účinky na pokožku [9][10].

Mezi biologicky aktivní mikronutrienty amarantového oleje patří zejména skvalen, tokoferoly a tokotrienoly, tj. látky olejové povahy, které ovšem nelze zmýdelnit [9][10].

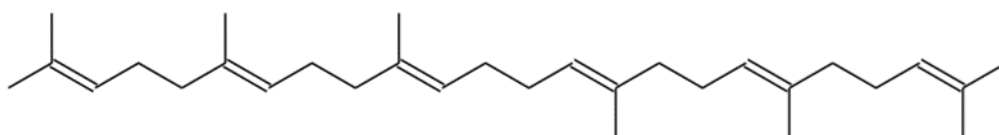
Schopnost snížení hladiny cholesterolu a hypolipidemické účinky jsou přisuzovány především bioaktivnímu skvalenu, který je v amarantovém oleji obsažen v semenech v rozmezí 6–8 %. Amarant je tak jedním z mála zdrojů rostlinného skvalenu, označovaného také jako fytoskvalen, polynenasycený triterpen obsahující 6 izolovaných dvojných vazeb a sekundární produkt metabolismu, který vzniká jako meziprodukt při biosyntéze steroidních látek (cholesterol) u lidí, zvířat, rostlin i mikroorganismů [9][10][11]. Samotný skvalen je lidským tělem produkován v množství 125–475 mg/den, ale jeho produkce, a tím i obsah v kožním mazu klesá s přibývajícím věkem, proto musí být doplňován jakožto exogenní skvalen, a to potravou. Skvalen je biosyntetizován polymerací isoprenoidů u (IPP) a dimethylallyl-difosfátu (DMAPP). Biologické účinky skvalenu na lidský organismus jsou četné, skvalen může hrát v organismu roli antioxidantu, antikarcinogenní, antibakteriální či detoxikační látky. Skvalen spadá do skupiny terpenoidů o 30 atomech uhlíku, tzv. triterpenoidů, strukturně obsahuje 6 isoprenových jednotek a je prekurzorem pro syntézu 3, 4, a 5 cyklických triterpenů. Terpenoidy se tak na základě chemické struktury dělí na monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny a polyterpeny. Právě triterpenoidy včetně jejich derivátů jsou hojně využívány v zemědělství, potravinářství, kosmetice i farmakologickém průmyslu [11].

Jedním z mnoha účinků skvalenu je jeho schopnost systematicky působit na dendritické a T-buňky imunitního systému a tím efektivně posilovat imunitu. Skvalen tedy může ovlivnit to, jakým způsobem jsou antigeny, látky, jež imunitní systém rozpoznává jako cizorodé, zpracovány dendritickými buňkami, a to modifikací reaktivních forem kyslíku (ROS). Účinky skvalenu na lidský organismus nemusí být zcela vždy jen pozitivní, vzhledem ke schopnosti skvalenu stimulovat T-buňky imunitního systému může totiž jeho podávání při autoimunitních chorobách (např. lupus) vyvolat nežádoucí účinky. Bioaktivní skvalen vykazuje také protizánětlivé účinky, jelikož v lidských epiteliálních buňkách snižuje hladinu ROS, a tak brání destruktivním změnám molekuly DNA. Oxidativní poškození DNA může být vyvoláno peroxidem vodíku jako důsledek oxidativního stresu, nicméně bylo zjištěno, že skvalen nevykazuje tento protizánětlivý účinek na rakovinné buňky v prsní tkáni. Skvalen nalezený v extra panenském olivovém oleji je schopen redukovat syntézu isoprenoidů v lidském těle. Určité endogenní isoprenoidy se účastní potranslační prenylace bílkovin, tedy připojení isoprenoidů k bílkovinám. Právě nadměrná hladina prenylace je detekována u nádorových a kardiovaskulárních onemocnění, což je jednou z možných aplikací skvalenu v oboru kardiologie a onkologie [12].

Kožní maz neboli sebum obsahuje lipidy, jako jsou triacylglyceroly, voskové estery, volné mastné kyseliny a cholesterol [13]. Složkou kožního mazu je však současně také skvalen, který se syntetizuje přímo v mazových žlázách a v procentuálním obsahu 13 % kožního mazu je vylučován na povrch kůže [12]. Skvalen je na povrchu kůže následně oxidován UV zářením typu A, ozónem nebo cigaretovým kouřem a přechází v hydroperoxid skvalenu. Hydroperoxid skvalenu (skvalen monohydroperoxid) je primárním produktem oxidace, který je schopen modifikovat bílkovinu tryptofan, a tím učinit pokožku senzitivnější ke vzniku komedonů, zánětlivých ložisek či dokonce lupenky. Monohydroperoxid skvalenu může být i jedním z faktorů vedoucích k předčasnému stárnutí pleti, formou ztráty její jemnosti a tvorbou vrásek. Výsledné produkty vzniklé ozonolýzou skvalenu mají výrazné iritační účiny na kůži a mohou vyvolat alergickou reakci [12][13][14]. Výzkumná studie publikovaná roku 2023 prokázala na základě monitoringu transepidermální ztráty vody (TEWL), množství bílkovin a kožního mazu v kůži korelaci mezi obsahem séba a množstvím peroxidového skvalenu. Aknézní pleť tak vykazuje vyšší procentuální zastoupení peroxidového skvalenu ve *stratum corneum* [13].

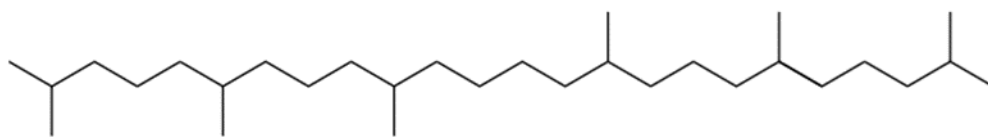
1.2.3 Praktické aplikace

Skvalen obsažený v amarantovém oleji je v kosmetice aplikován jako ingredience do produktů určených k péči o pleť. Mezi jeho hlavní úlohy patří zvláčňující a antioxidační účinky, přičemž za tímto účelem se často katalytickou hydrogenací dvojných vazeb převádí na jeho hydrogenovanou formu, tzv. skvalan, který vykazuje větší stabilitu v kosmetických přípravcích. Skvalen i skvalan (Obr. 2 a 3) představují funkční složky kosmetických i farmaceutických přípravků k léčbě nemocí kůže, jakožto látky s hydratačním účinkem a schopností chránit pokožku před nepříznivými účinky vnějších vlivů v podobě světla, znečištění a ultrafialového (UV) záření [9].



Obrázek 2 Strukturní vzorec skvalenu

[13]



Obrázek 3 Strukturní vzorec skvalanu

[13]

Skvalen se používá ve funkční kosmetice jako změkčovaadlo, a to zejména do produktů typu hydratačních krémů, přípravků osobní hygieny a vlasových přípravků. Skvalen je mimo jiné také součástí dekorativní kosmetiky, lze jej tak nalézt např. v make-upu či rtěnkách, v nichž se využívá schopnosti skvalenu zachovávat si své reologické vlastnosti v širokém teplotním intervalu (od -30 do +250 °C) a jeho odolnosti vůči oxidaci. Z aplikačního hlediska je možné skvalen také emulgovat bez nutnosti následné konzervace [9]. Využití skvalenu nejen v kosmetice je ale výrazně omezeno vysokými náklady na jeho výrobu, nízkou výtěžností a nepříznivými environmentálními dopady [11].

Přestože se použití skvalenu v kosmetice jeví jako relativně inovativní záležitost, je známo, že již v Číně byl tradičně používán po celá staletí jako prostředek zmírňující únavu a stárnutí [9]. Přírodním rostlinným zdrojem skvalenu je právě amarant a podobné pseudocereálie, dále také olivy a pšeničné klíčky. Historicky prvním objeveným živočišným zdrojem skvalenu byla játra žraloka černého, která obsahují v závislosti na stáří a podmínkách života žraloka od méně než 1 do více než 95 % hm. skvalenu. Na výrobu 1 tuny skvalenu je ovšem zapotřebí asi 3000 žraloků, proto je důležité hledat jiné alternativní udržitelné zdroje. Pozornost je v posledních letech věnována získávání skvalenu jako vedlejšího produktu při technologických procesech jako je rafinace rostlinných olejů, nebo výroba deodorantů, při které vzniká destilát, ve kterém je skvalen právě hojně zastoupen. Nejvýhodnějším způsobem získávání skvalenu je jeho syntéza geneticky modifikovanými organismy (GMOs), např. pomocí *Escherichia coli*. Zajímavým, ale méně univerzálním zdrojem skvalenu jsou mikrořasy, které jsou modifikovány zavedením skvalen syntázy a skvalen epoxidázy. Skvalen je pro technologické aplikace extrahován kontinuálně nejčastěji Soxhletovou extrakcí z pevné látky, výhodou tohoto typu extrakce je její nenáročnost a relativně nízká cena, ovšem procentuální výtěžek závisí na použitém rozpouštědle, které je obvykle organické (n-hexan, petrolether či chloroform). Extrakce skvalenu užitím rozpouštědla může být nahrazena environmentálně přívětivější metodou

zvanou superkritická fluidní extrakce (SFE), další technikou je tzv. molekulární destilace, tj. separační metoda, založená na odlišné těkavosti látek ve vysokém vakuu, která je vhodná zejména pro separaci biologicky aktivních složek o vysoké molekulové hmotnosti [11].

V kosmetickém průmyslu je skvalen aplikován jako antioxidant nebo hydratační složka a v dermatologii se používá k léčbě akné, seboroické a atopické dermatitidy a psoriázy [12]. Výzkum provedený na vzorku prasečí kůže prokázal protistárnoucí účinek skvalenu, a to díky schopností zlepšit aktivitu superoxiddismutázy (SOD) a snížit obsah hydroperoxidů a karbonylových skupin bílkovinné povahy v kůži prasat. Tento tzv. anti-aging efekt skvalenu byl dokonce vyšší v porovnání s působením vitamínu E [15]. Skvalan je jako emolienční přísada běžně používán do produktů populární kosmetické značky The Ordinary, často v kombinaci s retinolem (Obr. 4).



Obrázek 4 Pečující hydratační přípravek k ošetření pleti s obsahem skvalanu

(zdroj: vlastní)

INCI složení: Squalane, Caprylic/Capric Triglyceride, Retinol, Solanum Lycopersicum (Tomato) Fruit Extract, Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil, BHT [16].

Skvalan lze v relativně vysoké koncentraci nalézt i v pečujícím produktu s obsahem vitamínu C ve stabilní suspenzi v kombinaci s 2% kyselinou hyaluronovou ve formě částic pro maximalizaci stability účinných složek (Obr. 5).



Obrázek 5 Pečující suspenze vitamínu C a sfér kyseliny hyaluronové s obsahem skvalanu

(zdroj: vlastní)

INCI složení: Ascorbic Acid, Squalane, Isodecyl Neopentanoate, Isononyl Isononanoate, Coconut Alkanes, Ethylene/Propylene/Styrene Copolymer, Ethylhexyl Palmitate, Silica Dimethyl Silylate, Sodium Hyaluronate, Glucomannan, Coco-Caprylate/Caprates, Butylene/Ethylene/Styrene Copolymer, Acrylates/Ethylhexyl Acrylate Crosspolymer, Trihydroxystearin, BHT [17].

Olej ze semen *Amaranthus cruentus* může být v kosmetice použit nejen jako složka do produktů proti stárnutí, ale i produktů s ochranným faktorem proti slunečnímu záření (Sun protection factor, SPF). Bylo zjištěno, že amarantový olej má protektivní účinek v produktech s SPF, protože inhibuje biosyntézu kolagenu v kožních fibroblastech, které je běžně potlačováno UV zářením typu A [18]. V rámci studie autorů Lacatusu a kol. byly připraveny hydrogelové nanostrukturované lipidové nosiče na bázi amarantového oleje schopné absorbovat 99 % UV záření typu B a z 83 % inhibovat působení UV záření typu A prostřednictvím uvolňování antioxidantu hesperidinu. Bylo také prokázáno, že v ochranných kosmetických přípravcích s obsahem amarantového oleje lze použít nižší obsah UV filtrů [19]. V semenech amarantu je mimo skvalen obsažen také tzv. myoinositol, přičemž obě tyto látky snižují *in vitro* tvorbu melaminu a vykazují prokazatelnější bělicí účinky než běžně používaný arbutin [20]. Amarant byl již v minulosti aplikován k formulaci několika receptur v oblasti dekorativní kosmetiky, např. extrakt z *Amaranthus cruentus* na vodné bázi byl použit pro výrobu rtěnky [21].

1.3 Lupinový olej

Lupinový olej pochází ze semen pseudocereálií rodu *lupinus*, pro který je typický vysoký obsah bílkovin, vlákniny, oleje a sacharidů. Semena lupiny jsou obalena slupkou, která se skládá ze stavebních polysacharidů, tj. celulózy a hemicelulózy. Semena lupiny dále obsahují také oligosacharidy, které mohou zadržovat velké množství vody. Lupinový olej je v semenech lupiny obsažen v 5–20 % a je bohatý na mononenasycené a polynenasycené mastné kyseliny [22].

1.3.1 Taxonomie

Lupina je jednoletá plodina rodu *lupinus* patřící do čeledi bobovitých. V současné době je známo okolo 400 různých druhů lupin, z nichž mezi celosvětově nejrozšířenější druhy patří lupina bílá (*Lupinus albus*), žlutá (*L. luteus*) a úzkolistá (*Lupinus angustifolius*). Lupina je plodina pěstitelsky nenáročná a vysoce odolná vůči nepříznivým klimatickým podmínkám, současně je zprostředkovatelem dusíku pro jiné rostliny, protože je na základě symbiotického vztahu s bakteriemi schopna vázat atmosférický dusík v půdě. V současnosti jsou největšími producenty lupiny Austrálie, Polsko a Rusko. Semena obsažená v lusku lupiny lze konzumovat jako přílohu, zatímco bezlepková lupinová mouka může být využita pro výrobu nejen pečiva a těstovin, ale také mléčných a fermentovaných výrobků, včetně sýrů a masných výrobků na rostlinné bázi [23].

1.3.2 Chemické složení a biologické vlastnosti

Lupinový olej patří mezi další netradiční oleje získávané ze semen lupiny. Olej z lupiny vykazuje silnou antioxidační aktivitu, za kterou jsou zodpovědné zejména alkaloidy, které se v lupině nachází. Dle obsahu alkaloidů je možné rozlišit dvě základní odrůdy lupiny, a to sladkou a hořkou. Hořké odrůdy lupiny musí být vysokého obsahu alkaloidů zbaveny. Kromě alkaloidů jsou součástí lupiny také prvky zajišťující správnou funkci biologických procesů v lidském organismu, jedná se např. o železo, měď, mangan, zinek, dusík, fosfor, ale také vápník, hořčík, síra a jiné.

Značnou část lupinového oleje tvoří nenasycené mastné kyseliny, především kyselin linolová a olejová. Zároveň i bioaktivní fytochemikálie, které jsou u více konvenčních plodin považovány za minoritní složky, jsou v lupině hojně zastoupeny. Mezi takové bioaktivní sloučeniny lupinového oleje patří ve více než 90 % celkového obsahu lupinového oleje γ - tokoferoly, které jsou účinné v boji proti plísním, čehož lze využít v potravinářském

průmyslu. Další složky lupinového oleje jsou fytosteroly a karotenoidy. Z rostlinných sterolů jsou nejvíce zastoupeny β -sitosterol a kampesterol. Z karotenoidů jsou v lupině hojně obsaženy β -karoten a lutein, nicméně zastoupení jednotlivých komponentů se v lupinovém oleji může výrazně lišit v závislosti na odrůdě lupiny a úpravě semen, ze kterých je lupinový olej získáván [24]. Velký význam pro oblast potravinářství mají právě semena lupiny, a to díky vysokému obsahu kvalitních bílkovin, jako jsou především globuliny [23].

1.3.3 Praktické aplikace

Lupina je po staletí využívána jako složka krmných produktů určených pro zvěř, kde může podpořit růst a reprodukci přežvýkavců. Sladké odrůdy lupiny, tj. odrůdy s nízkým obsahem alkaloidů a vysokým zastoupením kvalitních bílkovin jsou od sladké odrůdy odlišitelné typicky velkými lusky a lze je využít jako hnojivo [25].

1.4 Olej z chia semen

Zdrojem chia oleje jsou semena byliny *Salvia hispanica*, ze které se chia olej získává metodou extrakce. Olej z chia semen je jedním z nejcennějších olejů dostupných na trhu, zejména pro jeho rozsáhlé možnosti využití v různých oblastech, ale také výborné nutriční vlastnosti a značnou antioxidační a antimikrobiální aktivitu. Chia byla obdobně jako amarant, fazole či kukuřice využívána mayskou a aztéckou civilizací jako složka stravy a přírodní léčivo. Chia se v Aztécké kultuře objevuje také jako složka pro výrobu kosmetiky [26].

1.4.1 Taxonomie

Chia (*Salvia hispanica*) je kvetoucí jednoletá bylina čeledi *Lamiaceae* a rodu *Salvia* pocházející z jižního Mexika a severní Guatemaly, která dosahuje výšky asi 1 metru a má typické řapíkaté a pilovité listy [26][27].

1.4.2 Chemické složení a biologické vlastnosti

Olej z chia semen je bohatým zdrojem polynenasycených mastných kyselin, jako jsou například ω -3 mastné kyseliny, ale také kvalitních bílkovin, vlákniny, vitamínů a minerálů. Chia semena jsou zdrojem biologicky aktivních sloučenin, jako jsou polyfenoly a antioxidanty. Mezi nejvýznamnější antioxidanty obsažené v chia semenech patří kvercetin a myricetin a různé druhy kyselin, jako jsou kyseliny rozmarýnová a kávová. Chia semena obsahují 30–33 % tuků, 18–30 % vlákniny, mohou obsahovat až 41 % sacharidů a 25 %

bílkovin. Mezi hlavní fytochemikálie chia semen patří polynenasycené mastné kyseliny, jako jsou kyseliny α -linolenová a linolová. Samotný chia olej je v semenech zastoupen v obsahu 39 % a obsahuje až 68 % α -linolenové mastné kyseliny a 19 % kyseliny linolové. Chia semena jsou také bohatým zdrojem vitamínů a minerálů. Z látek minerálních se jedná především o vápník (jehož obsah je zde vyšší ve srovnání např. s rýží), dále byl detekován fosfor, draslík a hořčík. Mezi lipofilní vitamíny obsažené v chia semenech se řadí vitamín A, E, D, K, z vitamínů rozpustných ve vodě je obsažen primárně vitamín B [26].

Mastné kyseliny obsažené v chia oleji mají významné kardioprotektivní účinky. Zejména omega-3 mastné kyseliny jsou schopny zabránit dysfunkci vápníkových a sodíkových kanálů, tím zamezit rozvoji hypertenze, zlepšují také parasympatický tonus, zajišťují variabilitu srdeční frekvence a brání rozvoji srdeční arytmie [28]. Studie autorů Se Kyoo Jeong a kol. se zabývala efektivitou topicky aplikovaného chia oleje u pacientů trpících pruritem jako jedním z projevů terminálního stádia ledvinového onemocnění a dobrovolníků trpících xerotickým pruritem [29]. Topický přípravek s obsahem 4 % chia oleje byl oběma skupinám aplikován po dobu 8 týdnů, jeho aplikace vedla k výraznému zlepšení hydratace kůže [28]. Studie americké státní univerzity provedená Fuxia Jin a kolektivem [30] z roku 2012 prokázala u žen po menopauze zvýšení hladiny kyseliny eikosapentaenové o 30 % a hladiny kyseliny α -linolenové v krvi o celých 138 %, a to při denní konzumaci 25 g chia semínek po dobu jednoho týdne. Z chia semen je také možné izolací prebiotik z matrice složené z ve vodě rozpustné vlákniny získat rozpustný extrakt, který je bohatý na vlákninu a pozitivně ovlivňuje vstřebávání vitamínů, minerálů a celkovou funkci a gastrointestinálního traktu. Extrakty z chia semen mohou zabránit množení patogenních bakterií v trávicím traktu tím, že podporují fermentační střevní procesy a produkci mastných kyselin s krátkou délkou uhlovodíkového řetězce, což vede ke snížení pH na hodnotu nepříznivou pro původce bakteriálních onemocnění [31].

1.4.3 Praktické aplikace

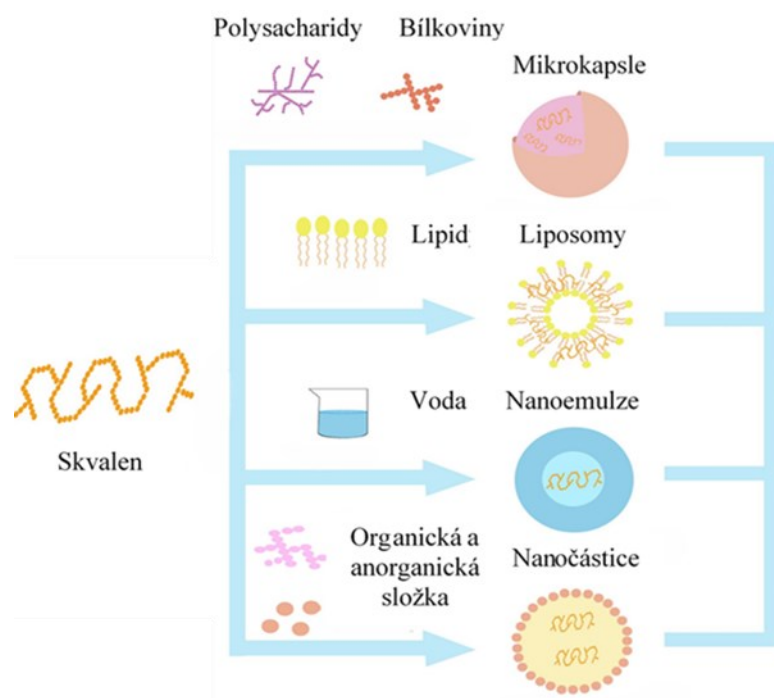
Nutriční hodnota chia semen je spojena s přítomností kvalitních cukrů, tuků a bílkovin. Výhodou využití chia semen v potravinářství je absence mykotoxinů a těžkých kovů. Chia se ve formě celých či mletých semen stala surovinou pro výrobu chia mouky, aditivem do šťáv, jogurtů, pochutin, pečiva, salátů, ale také masných výrobků. Chia olej je považován za vhodnou přísadu do sendvičů, pomazánek a salátů [31]. Sliz získávaný ze semen chia je díky svým dobrým emulgačním vlastnostem, rozpustnosti a schopnosti zadržovat olej a vodu vhodným materiálem k enkapsulaci. Samotný chia olej je vhodným médiem

k nanoenkapsulaci, která v dnešní době v souvislosti s rozšířením nanotechnologií představuje v potravinářském průmyslu jednu z nejvíce inovativních technik. Oleje s vyšším obsahem nenasycených matných kyselin, obdobně jako chia olej jsou obecně náchylnější k degradaci, zejména vlivem oxidativního poškození a jejich enkapsulací tak lze dosáhnout zvýšení stability vůči degradaci, ale současně také zachování jeho funkčních vlastností pro následnou aplikaci v potravinářství [28].

Evropská databáze kosmetických ingrediencí CosIng (Cosmetic Ingredients Database) uvádí 6 surovin ze *Salvia hispanica*, které lze použít jako účinnou složku kosmetických produktů. Abrazivní funkci plní chia semena a prášek z chia semen, jako vonnou složku pro výrobu parfémů lze využít chia bylinný olej nebo extrakt, změkčující a vyživující funkce je připisována extraktu z chia semen a samotný chia olej může být použit jako hydratační složka. Chia se v kosmetologii a dermatologii aplikuje výhradně pro biologické účinky v ní obsažených fenolických kyselin, které působí proti stárnutí. Fenolické kyseliny rovněž regulují aktivitu enzymu tyrozinázy, který zodpovídá za rovnoměrnou pigmentaci pokožky, dále mohou zmírňovat projevy atopické dermatitidy a akné. Olej z chia semen je na kosmetickém trhu dostupný jako samostatný kosmetický přípravek. Suroviny získávané z chia se používají zejména pro výrobu přírodní nebo veganské kosmetiky. Extrakt a olej z chia semen je vhodnou složkou do hygienických produktů jako jsou mýdla, sprchové gely, šampony a kondicionéry ale také pečující kosmetika v podobě krémů na obličej a ruce, masek a micelárních mlék [31].

2 FORMULACE PRO DODÁVÁNÍ BIOAKTIVNÍCH LÁTEK

Oleje a jejich bioaktivní složky mohou být dodávány prostřednictvím různých formulací, jedná se např. o emulze, nanoemulze a nanočástice, mikrokapsle, lipozomy a v neposlední řadě také niozomy (Obr. 6) [11].



Obrázek 6 Nosné systémy skvalenu

(upraveno dle [11])

Rostlinné oleje jsou enkapsulovány do vhodných nosičů zejména za účelem zvýšení jejich stability, nebo biologické dostupnosti a stability přímo v lidském těle, jedná-li se např. o léčivou látku [11][32]. Termín biologická dostupnost lze chápat jako množství aktivní látky, které se po přijetí do organismu skutečně dostane do krevního řečiště, což se následně projeví v efektivitě jeho působení v organismu [33]. Současně lze zajistit delší období použitelnosti, po kterou si výrobek zachovává svou funkčnost při současném zachování bezpečnosti pro organismus. K vývoji formulací pro dodávání bioaktivních látek jsou v dnešní době často využívány nanotechnologie. V oblasti kosmetiky lze pak hovořit o tzv. nanokosmetice, která vzniká s využitím nanotechnologií a materiálů o „nano“ velikosti za účelem dosažení lepších vlastností, distribuce a účinnosti kosmetických produktů především díky lepšímu průniku účinných látek do hlubších vrstev pokožky, kde tyto látky mohou cíleně a optimálně působit [34]. Je ovšem nutno zmínit, že rizika spojená s používáním

nanomateriálů jsou v dnešní době předmětem mnoha diskuzí. Nařízení ES č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích pojem nanokosmetika neuvádí, je zde pouze definován pojem nanomateriál, kterým se rozumí „nerozpuštěný nebo bioperzistentní a záměrně vyrobený materiál o jednom nebo více vnějších rozměrech nebo s vnitřní strukturou v řádu od 1 do 100 nm [35].

Za účelem výroby nosných formulací pro dodávání farmaceutických a jiných aktivních látek jsou často využívány různé přírodní nebo syntetické polymery. Tyto lze zpracovat například do formy polymerních částic, které by měly být biokompatibilní, biologicky odbouratelné a netoxické. Pro léčiva s nižší biologickou dostupností je vhodnou formulací pro jejich podávání hydrogel. Jedná se o pevnou trojrozměrnou síť polymerní povahy s vysokým obsahem vody, což jej činí vhodným k enkapsulaci hydrofilních terapeutik. Mezi hlavní výhody hydrogelů patří jejich schopnost bobtnání, vysoká pevnost a relativně nízká toxicita. Dalším možným vehikulem pro dodávání bioaktivních složek je polymerní micela, což je sférická nanočástice vyráběná z blokových kopolymerů amfifilního charakteru. Amfifilní blokové kopolymery se po dosažení kritické micelární koncentrace (CMC) samovolně formují do nadmolekulární struktury a obsahují tak hydrofobní jádro obalené hydrofilním obalem (nejčastěji polyethylenglykol) [33]. Některé typy nosných formulací budou klasifikovány v dalších kapitolách.

2.1 Emulze

Emulze je disperzní systém, který vzniká použitím dvou vzájemně nemísitelných nebo omezeně mísitelných kapalin. Podle druhu kapaliny tvořící disperzní prostředí emulzního přípravku rozlišujeme emulzi olej ve vodě (O/W) a voda v oleji (W/O). Emulze olej ve vodě, tj. emulze prvního druhu představuje olejovou fázi, tedy lipidové částice, jakožto disperzní podíl dispergovaný ve vodné fázi, která tvoří disperzní prostředí neboli fázi spojitou (vnější). Zatímco vnější spojitá fáze emulze druhého druhu (W/O) je tvořena olejem, ve kterém jsou dispergovány kapky fáze vodné. Druh emulze rozhoduje o povaze výsledného emulzního kosmetického přípravku. Je-li vnější fází emulze voda, dojde po aplikaci na pokožku k jejímu relativně rychlému odpaření, zatímco pokud je spojitě prostředí tvořeno olejem, dojde k vytvoření mastného filmu na povrchu pokožky a kosmetický přípravek se tak jeví jako více lepivý a obtížněji roztíratelný. Pro kosmetické či farmaceutické formulace typu W/O jsou konvenčně využívány rostlinné oleje jako například sójový, lněný, kukuřičný či světlicový olej. Podobně by mohl být využit potenciál oleje amarantového [9].

Emulzní nosiče lze také využít pro transport bioaktivních složek amarantového oleje, jako je skvalen. Tato látka vykazuje mnoho pozitivních vlastností, ale na druhou stranu jeho použití v kosmetických i jiných aplikacích může být značně limitováno. Fytoskvalen je totiž lipofilní bioaktivní látkou, kterou nelze snadno solubilizovat ve vodě, která je navíc chemicky nestabilní a snadno podléhá oxidaci. Pro potravinářské účely (pomazánky, doplňky stravy) mohou být nežádoucí vlastnosti skvalenu odstraněny inkorporací amarantového skvalenu do tzv. Pickeringovy emulze. V tomto typu emulze jsou povrchově aktivní látky, jejichž přítomnost je nezbytná k výrobě i stabilizaci daného systému, nahrazeny pevnými koloidními částicemi. Pickeringovy emulze tak vykazují větší stabilitu díky schopnosti těchto tuhých částic navázat se na mezifázové rozhraní, které vzniká mezi olejem a vodou, a tak úspěšně bránit koalescenci částic. Přípravou tohoto typu emulzí bohatých na skvalen a amarantový olej se zabývala studie publikovaná již roku 2022, jejímž cílem bylo připravit Pickeringovy emulze stabilizované jedlými nativními nanočásticemi α -laktalbuminu za účelem odstranění negativních vlastností hydrofobních sloučenin [32].

2.2 Mikro kapsle

Mikro kapsle jsou charakteristické svou strukturou jádro-stěna, přičemž materiálem pro výrobu vnější stěny mikrokapslí mohou být polysacharidy a bílkoviny, chitosan, alginát sodný či arabská guma. Stěna mikrokapsle je klíčová pro dosažení cílené enkapsulační účinnosti, stability enkapsulované látky a jejího řízené uvolňování. Bylo prokázáno, že k enkapsulaci skvalenu do mikrokapslí lze s výhodou využít chitosan, který poskytuje optimální velikost, zeta potenciál, tekutost a současně hygroskopicitu [11].

2.3 Lipozomy

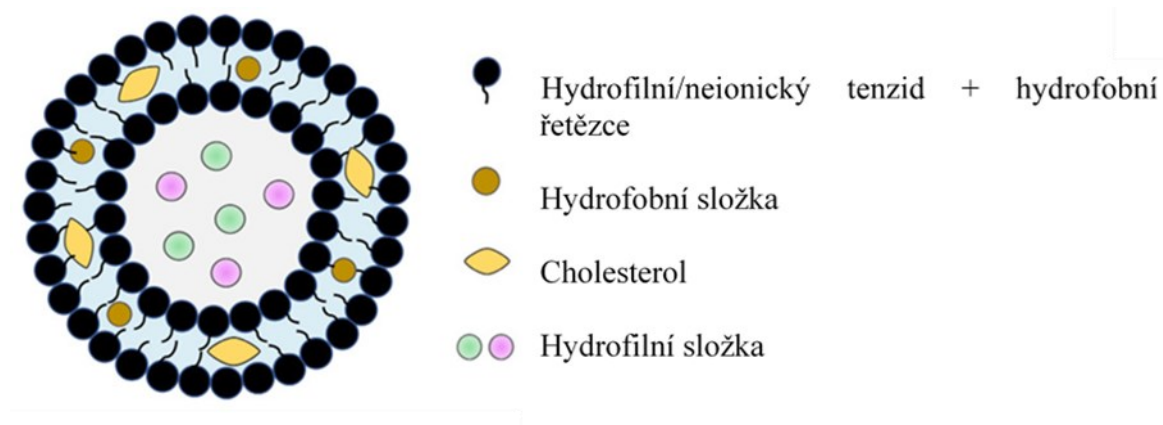
Lipozomy se řadí mezi sférické vezikuly dosahující velikosti od 10 do 1000 nm, a mohou být unilamelární či multilamelární. Lipozomy vznikají samovolnou orientací fosfolipidů ve vodných roztocích, které společně utvářejí charakteristickou dvojvrstvu. Amfifilní vlastnosti a vysoká enkapsulační účinnost lipozomů je činí vhodnými nosiči k enkapsulaci amarantového skvalenu. Fosfolipidy zabudované v lipozomálním nosném systému jsou termolabilní, nestálé vůči oxidaci a pH. Nežádoucí reakce fosfolipidů na vnější faktory, jako je sklon k hydrolýze, žluknutí či oxidaci, mohou dále nepříznivě ovlivňovat biologickou dostupnost inkorporovaných bioaktivních látek a skladování finálních produktů [36][37]. Těmto jevům lze předejít procesem polymerizace lipozomu [11].

2.4 Niozomy

Niozomy jsou agregáty připravené z neionických surfaktantů, které patří mezi tzv. vezikulární nano-nosiče, ale na rozdíl od podobně strukturovaného lipozomu, tj. nosiče na bázi pevného lipidu, představují fyzikálně i chemicky stabilnější alternativu [37][38].

2.4.1 Charakterizace niozomů

Charakteristickým znakem niozomálních agregátů je jejich amfipatický neboli amfifilní charakter, což umožňuje inkorporovat a následně doručovat látky hydrofilní i lipofilní povahy. V prostoru zaujímají niozomy sférický tvar a membrána tohoto typu vezikuly je dvojvrstvá (obdobně jako u lipozomu). V závislosti na způsobu přípravy může niozom obsahovat jednu (jednovrstvý neboli unilamelární) nebo více dvojvrstev (vícevrstvý neboli multilamelární). Aktivní látka může být, v závislosti na její hydrofilitě lokalizována přímo v jádře niozomu nebo se koncentruje uvnitř dvojvrstvy. Niozomy lze tedy popsat jako komplexní vezikuly, složené z neionických povrchově aktivních látek a také další molekuly, typicky cholesterolu či jeho derivátů, které v niozomech plní stabilizační funkci (Obr. 7) [36][37][38][39].

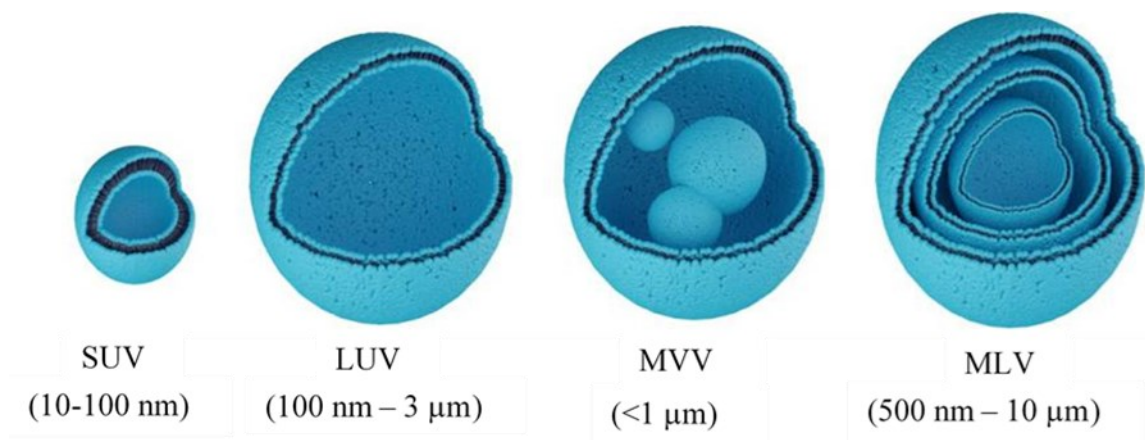


Obrázek 7 Struktura niozomálního nosiče

[38]

Dle velikosti jsou niozomy klasifikovány jako malé unilamelární (SUVs) o velikosti 10–100 nm, velké unilamelární (LUVs) o velikosti 100 nm až 3 μm , multilamelární (MLVs), kde velikost jedné vrstvy dosahuje až 500 nm a druhé až 10 μm . Posledním typem niozomů jsou tzv. multivezikulární vezikuly (MVVs), které představují jednu vnější velkou vezikulu, která

ve svých vnitřních prostorech pojmá další již menší vezikuly, velikost MVVs bývá více než 1 μm . Typy niozomů na základě velikostního rozpětí jsou uvedeny na Obrázku 8 [40].



Obrázek 8 Typy niozomů dle velikosti

[40]

2.4.2 Příprava niozomů

Příprava niozomů bývá, ve srovnání s výrobou lipozomů, zpravidla méně komplikovaná a vyžaduje nižší náklady. Surfactanty pro přípravu niozomů mohou být například na bázi alkyl amidů (glykosidy), alkyl esterů (Tweeny či Spany), alkyl etherů (Brij), nebo esterů mastných kyselin (glycerol monostearát) (Tab. 1) [36][37].

Tabulka 1 Neionické surfaktanty pro přípravu niozomů

Typ neionického surfaktantu dle funkční skupiny	Surfaktant
Alkylestery	Span a Tween
Alkylamidy	Galaktosidy a Glukosidy
Alkylethery	Brij
Estery mastných kyselin	Glycerol monostearát

(upraveno dle[36][37])

U niozomů na bázi Spanu 60 byl prokázán větší záchyt léčiva v cílovém orgánu, a to z důvodu významné interakce s acylovými řetězci Spanu 60 [41]. Nejčastěji se k přípravě niozomů používá neionický polysorbát (Polysorbát 80), který je tvořen řetězci

polyethylenglykolu (PEG). PEG se používá jako složka nosičů pro genovou terapii, protože je schopen zvýšení účinnosti transfekce, metody transferu genomového materiálu označovaného jako transgen do určené (cílové) buňky, a to za účelem studia a modulace buněčných funkcí [41][42].

Při výběru povrchově aktivních látek pro přípravu niozomů jsou hlavními uvažovanými parametry hydrofilně-lipofilní rovnováha (HLB) a kritický agregační parametr (CPP). Pro zformování dvojvrstvy musí hodnota CPP povrchově aktivní látky být větší než 0,5 a menší než 1, v opačném případě bude mít povrchově aktivní látka tendenci utvářet spíše micely. Na základě hodnoty CPP lze také odhadnout, jaký typ niozomu bude vznikat, tj. dle struktury jsou popisovány niozomy sférické, niozomy nepravidelného tvaru (nesférické), dvouvrstvé či niozomy tvaru obrácené vezikuly [36][40]. Vedle běžně používaných neionických tenzidů lze pro přípravu niozomů použít také surfaktanty nové generace, jako např. bola, gemini a bio-surfaktanty, vyvinuté speciálně pro přípravu niozomálních systémů. Bola-surfaktanty, známější pod ekvivalentním označením bola-amfifily, mají ve své molekule dvě totožné éterické jednotky vzájemně propojené alkylovým řetězcem o vysokém počtu atomů uhlíku. Hydrofilní hlavičky bola-surfaktantů jsou tak propojeny lipofilními alkylovými řetězci a při kontaktu s cholesterolem mohou vytvářet koloidní systémy [40].

Pro zvýšení stability dvojvrstvé membrány niozomu je k neionickým povrchově aktivním látkám přidáván cholesterol, tj. molekula, která díky své amfifilní povaze může mezi svými hydroxylovými skupinami a hydrofilní hlavičkou povrchově aktivní látky vytvářet vodíkové můstky. V důsledku této mezimolekulární interakce tak může ovlivnit strukturu vznikajícího niozomu, jeho fyzikální a funkční vlastnosti, jako např. stupeň enkapsulace, cirkulace a následné uvolňování aktivní látky. Způsob, kterým přídavek cholesterolu ovlivní strukturu niozomálního nosiče, je pouze odhadován, interakcí funkčních skupin cholesterolu s hydrofilní částí molekuly tenzidu dochází ke zvýšení nejen stability, ale také rigidity dvojvrstvy niozomu [40][41][43]. Bylo také prokázáno, že přítomnost cholesterolu může zpomalovat prostup látek dispergovaných v hydrofilním jádře niozomu a tím zvyšovat účinnost enkapsulace [44]. Z toho důvodu jsou v posledních letech hledány jiné alternativy stabilizátorů, jako jsou například mastné alkoholy. Studie autorů Ali a kol. [45] prokázala, že použití mastného alkoholu, např. tetradekanolu, v dvojvrstvě lipozomu je ve srovnání s cholesterolem výhodnější, protože jeho molekula je méně objemná, takže i její vliv na inkorporovanou aktivní látku bude nižší než v případě zmíněného cholesterolu. Vzhledem k neutrální povaze povrchu niozomu, je vhodné použít látku, indukující elektrický

náboj, který prostřednictvím elektrostatických interakcí zabrání případné agregaci částic. Za tímto účelem se používají záporně (př. dicetylfosfát (DCP)) či kladně nabitě iontové sloučeniny (př. stearylpyridiniumchlorid nebo stearylamin (SA)) [40][41]. Bylo prokázáno, že niozomy s kladným povrchovým nábojem mohou zvýšit enkapsulační účinnost a permeaci přes pokožku [41].

3 NIOZOMY V PRAKTICKÝCH APLIKACÍCH

Niozomy představují doposud jeden z nejinnovativnějších přístupů k farmaceutickému i kosmetickému dodávání aktivních látek do lidského organismu. Formulace s obsahem nanotechnologicky vyvinutých komponent mají tendenci se stále více rozšiřovat. Bylo publikováno mnoho srovnávacích studií a snaha výzkumných týmů o co možná nejlepší využití jedinečných vlastností, které niozomální nosné systémy představují je značná a mohla by postupně vést k nahrazení konvenčně užívaných postupů pro výrobu nejen farmaceutických, ale současně i kosmetických přípravků [46].

3.1 Farmacie a lékařství

Přípravky na niozomální bázi v současné době figurují na farmaceutickém trhu a v oblasti medicíny jako atraktivní nosné systémy pro enkapsulaci terapeutik s funkcí antioxidační, antimikrobiální a protizánětlivou. Niozomální systémy mohou být využity i k léčbě nádorových onemocnění či Alzheimerovy choroby. Prostřednictvím niozomů tak mohou být za léčebným účelem přenášeny proteiny i geny. Význam niozomů v lékařství je připisován mnoha možným způsobům administrace léčiv, jelikož tyto nosné systémy lze podávat transdermální, dále také perorální (*per os*), plicní, vaginální, či intravenózní (*i.v.*) cestou [36][38].

Niozomy jsou biologicky odbouratelné, relativně stabilní a netoxické nosiče používané jako alternativa k lipozomům ve farmacii, kde mohou předejít komplikacím souvisejícím s biologickou dostupností, nedostatečnou stabilitou a nerozpustností a příliš rychlou degradací léčiv v organismu [38]. Pro lokální i transdermální aplikaci jsou neionické povrchově aktivní látky pro kosmetické účely upřednostňovány před ionickými typy, protože vykazují nižší toxicitu a iritační potenciál v důsledku absence náboje. Zároveň využití neionického tenzidu jako alternativy k lipidům, které jsou použity při výrobě lipozomů, umožňuje zajistit vyšší fyzikální i chemickou stabilitu. Prostřednictvím transdermálních testů bylo prokázáno, že léčivo inkorporované do niozomu, vykazuje pozvolnější uvolňování, než v případě použití nosiče na bázi lipozomu [1][40].

Autoři Karami a kol. ve své studii, jejíž cílem bylo nalézt vhodný způsob ošetření onemocnění *Alopecia areata*, prezentují niozomy jako nosiče vhodné k dodávání enzymu superoxiddismutázy (SOD) do vlasového folikulu. Jednou z možných příčin alopecie, autoimunitního onemocnění, které se projevuje zvýšeným vypadáváním vlasů, je vysoký výskyt reaktivních volných radikálů, jež způsobují destrukci vlasových folikul. Odumírání

vlasové folikuly lze zabránit lokalizací SOD, enzymu se silnými antioxidačními účinky, a to přímo do folikul vlasů. Niozomy s enkapsulovaným SOD byly za tímto účelem připraveny metodou hydratace tenkého filmu a byly u nich hodnoceny parametry jako enkapsulační účinnost, podmínky uvolňování a transdermální propustnost. Enkapsulace enzymu do niozomu vedla k lepšímu průniku SOD do struktury vlasu, a zároveň byla zachována enzymová aktivita [39].

Jsou-li niozomy podané *per os*, vyznačují se vyšší stabilitou v trávicím traktu. Niozomy na bázi polysorbátu 20 nemají vliv na integritu monovrstvy buněk, a tím usnadňují adhezi nanočástic k epitelu střeva a současně transport léčiva skrze střevní epitel, který představuje jakousi bariéru. Mimo neodmyslitelnou biodegradabilitu a biokompatibilitu s lidským organismem se pro medicínské aplikace využívají i další funkční vlastnosti niozomů, jako je vyšší biologická dostupnost a účinnost enkapsulace, neimunogenita, stabilita a rychlejší uvolňování aktivních látek.

Konkrétní výhody, které nano-nosiče, jako jsou micely, lipozomy, polymerzomy či právě niozomy jsou v medicíně aktuálně probíraným tématem zejména vzhledem ke své schopnosti prodloužit poločas rozpadu terapeutické látky v séru, zabránit vychytávání léčiva tzv. RES (retikulo-endoteliálním systémem), případně i snížit nespecifickou adsorpci látek modifikací povrchu nebo optimalizací poměru složek použitých pro přípravu takového niozomu [38][40][41]. Mezi nevýhody použití niozomálních nosičů léčiv lze zařadit možnou hydrolyzu léčiva či agregaci niozomálních částic [38][40]. Niozomy mohou být velmi inovativně použity i jako nosné systémy pro složky proti zjizvení. Nosné systémy s tzv. „elastickými“ niozomálními částicemi s obsahem proteolytického enzymu zvaného papain vykazují ve srovnání s typickými nanomateriály lepší transdermální absorpci. Niozomy s elastickými částicemi jsou ideálními nosiči složek s účinkem proti stárnutí [47].

3.2 Kosmetický průmysl

Niozomy byly za kosmetickým účelem vyvinuty a patentovány v 70. a 80. letech 20. století pod záštitou společnosti L'Oreal. Historicky první niozomální kosmetický produkt s názvem Lancôme byl na trh společností L'Oreal uveden v roce 1987 (Obr. 9) [48][49].



Obrázek 9 Jeden z prvních kosmetických produktů s obsahem niozomů

[49]

Účinné působení niozomů na kůži je spojeno s přítomností vezikulárních složek přítomných zejména na povrchu rohové vrstvy kůže (*stratum corneum*), jejichž koncentrace se směrem do vnitřních částí rohové vrstvy snižuje. Niozomy jsou schopny se mísit a interagovat s nativními kožními lipidy rohové vrstvy, přičemž tyto interakce lze analyzovat pomocí mikroskopických metod. Využitím niozomů jako vezikul pro inkorporaci antioxidantů se zabývali autoři Lorena Tavano a kol. [50], kteří vyvinuli nové kosmetické formulace s obsahem antioxidantů resveratrolu, kurkuminu a alfa-tokoferolu. Jako surfaktant pro výrobu niozomů byl zvolen Tween 60, u něž se předpokládá tvorba vezikulárních systémů bez další přidané složky pro stabilizaci membrány. Tento surfaktant zároveň vykazuje optimální kritický agregační parametr (CPP) a vyváženou hydrofilně-hydrofobní část v molekule, což je klíčové pro výrobu sférických agregátů. Tween 60 je tvořen flexibilními uhlovodíkovými řetězci, což může vést k usnadnění pronikání látek z tohoto agregátu do pokožky. Výsledky studie prokázaly synergický efekt kombinace testovaných antioxidantů, lepší penetraci do kůže a schopnost eliminovat nestabilní a vysoce reaktivní volné radikály [46].

Zajímavou aktivní látkou s antioxidantními a antibakteriálními účinky představuje hydrolyzát kolagenu získávaný z medúzy *Rhopilema hispidum*, což bylo potvrzeno studií malajské univerzity z roku 2022, která prezentuje niozomy jako prostředky, jimiž je možné dosáhnout nejen navýšení antioxidantního působení inkorporovaných antioxidantů, ale také zvýšení chelatační aktivity kovů a DPPH aktivity [51]. Autoři Mawazi a kol. v systematické rešerši publikované roku 2022 [46] uvedli, že za účelem aplikace niozomů nejen v kosmetice je rozhodujícím faktorem volba vhodných surfaktantů pro jejich výrobu.

Kombinací neionických surfaktantů Tween 60 a Span 60 může být dosaženo lepší propustnosti kurkuminoidů, bioaktivních složek kurkumy, které vykazují výrazné antioxidační, antiinflamační a antikarcinogenní účinky. Při enkapsulaci kurkuminu nebo resveratrolu do niozomů bylo pozorováno zvýšení antioxidační aktivity a kožního tonu. Niozomální nosiče vykazují při enkapsulaci látek rostlinného původu obecně větší stabilitu a vykazují schopnost zlepšovat celkový vzhled pokožky v průběhu času, ovšem penetrace bioaktivních sloučenin kůží se může postupně snižovat. Aplikace niozomálních formulací s obsahem bioaktivních látek se sníženou schopností penetrace kůží je pro farmaceutické či léčebné účely značně omezena [46].

Absorpce účinných látek buňkami je zprostředkována primárně procesem endocytózy. Předpokládá se, že v endocytóze niozomů je rozhodující přítomnost povrchových buněčných proteinů. Niozomy tak mohou zvýšit vychytávání zapouzdřených účinných látek buňkami [46][52]. Některé oleje vykazují potenciál pro kosmetické aplikace pouze při inkorporaci do vhodných nosičů. Ve studii [53] byl do niozomů na bázi Tweenu 61 a cholesterolu enkapsulován olej z ořechu rostliny *Jatropha curcas* (Dávivec černý). Výsledné systémy prokázaly dostatečné anti-aging účinky a současně došlo ke zvýšení stability tohoto oleje vedoucí k účinnějšímu vychytávání volných radikálů. Niozomy jsou schopny zvýšit stabilitu fenylethyl resorcinolu, „bělicí“ složky kosmetických produktů pro zesvětlení pleti a současně zvýšit permeabilitu kůže pro tuto složku.

Technologie niozomů je prokazatelně účinná i pro přípravky péče o vlasy. Tato skutečnost je dána malými rozměry niozomálních částic a jejich vysokou schopností penetrace [46]. Požadavkům zákazníků na vlasové produkty může být vyhověno využitím niozomů, které po sobě nezanechávají mastný film, poškozené vlasy zacelují, dodávají jim lesk a obnovují přirozený tón vlasu. Působení niozomů na vzhled vlasů je zajištěn jejich schopností dopravit účinnou látku do místa určení, tj. do vlasového folikulu [46][54]. Ve studii z roku 2018 autoři Teaima a kol. vyvinuli niozomální gel s obsahem kofeinu. Formulace byla navržena za použití neionických tenzidů Span 60 a Tween 60 v kombinaci s cholesterolem a následně začleněna do gelové báze vhodné k topické aplikaci. Cílem autorů bylo vytvořit efektivní transportní systém kofeinu pro lokální terapii celulitidy, která je běžně spojena se zhoršenou mikrocirkulací a nadměrným ukládáním podkožního tuku. Při *in vivo* testování na potkanech byla formulace porovnávána s komerčně dostupným přípravkem Cellu Destock® pro léčbu celulitidy. Výsledky prokázaly, že niozomální gel s kofeinem vykazoval lepší schopnost průniku kůží, což vedlo k výraznému zmenšení

tloušťky tukové vrstvy v oblasti aplikace. Histologické vyšetření dále ukázalo zlepšení struktury dermis a redukci známek celulitidy. Autoři přičítají zvýšení účinnosti nosnému systému na niozomální bázi, který tak optimalizuje penetraci účinné látky a umožňují díky své struktuře delší retenci v kůži a cílené uvolňování kofeinu v místě účinku [55].

4 SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

Následující text obsahuje výsledky aktuálních studií zaměřených na pseudocereálie, resp. jejich složky využitě pro vývoj aktivních nosných systémů. Bioaktivní látky pseudocereálií mohou být využity v různých odvětvích průmyslu, například v potravinářství pro výrobu doplňků stravy založených na přírodní bázi, ale také pro vývoj farmakologických či kosmetických produktů [7][56]. Z quinoy jsou například pro různé účely extrahovány nejen zmiňované fenoly, saponiny a tokoferol, ale také flavonoidy, karotenoidy a antokyany, tedy látky, u kterých byl prokázán jejich pozitivní vliv na zdraví [6]. Vláknina izolovaná z listů quinoy vykazuje antioxidační, imunoregulační a probiotické účinky a je schopna vázat žlučové kyseliny a tuky. Zdrojem bioaktivních sloučenin jsou nejen samotné extrakty, vláknina či bílkoviny, ale mohou jím být také odpadní látky quinoy, které tak představují levný zdroj těchto biomolekul [7].

Studie potenciálu quinoy pro funkční kosmetické a farmaceutické formulace byla předmětem publikace [57]. Bylo prokázáno, že extrakt ze slupky quinoy bohatý na saponiny je při kontaktu s modelem rohové monovrstvy, která obsahuje směs lipidů tvořenou kyselinou stearovou, ceramidy a cholesterolem, schopen zvýšit povrchový tlak a modul pružnosti. Tento jev je pravděpodobně dán afinitou saponinů k cholesterolu. Na základě dosažených výsledků lze konstatovat, že tento extrakt by mohl být využit pro zlepšení penetrace dalších aktivních látek do pokožky.

Autoři Casalvara a kol. [7] se v přehledové studii publikované v roce 2024 zabývali biotechnologickými, nutričními a terapeutickými aspekty využití quinoy a jejích vedlejších produktů. Z uvedených publikací lze zmínit práci Sampaia a kol., kteří zkoumali složení hydroetanolového extraktu (etanol/voda, 80:20, v/v) ze zrn brazilské quinoy. U fenolických sloučenin, které vznikají jako sekundární metabolity rostlin potvrdili (*in vitro*) jejich antimikrobiální a antioxidační aktivitu [58]. Dle publikace [59] je možné použít hydroetanolový extrakt ze semen brazilské quinoy jako emulgátor vhodný pro formulaci kosmetických přípravků s inkorporovaným rostlinným olejem. Autoři Trigo a kol. [60] aplikovali hydroetanolový extrakt bez obsahu saponinů, získaný ze zrn quinoy pocházející z Chile, jako potravinový konzervant. Aplikace hydroetanolového extraktu formou glazury, v průběhu skladování makrelly obecné (*Scomber scombrus*) vedla ke zpomalení oxidace lipidů a zlepšení senzorických vlastností rybího masa.

Pseudocereálie lze také využít přímo jako složky matrice tvořící nosný systém. Studie autorů Ariaeenejada a kol. představuje environmentální potenciál materiálu na bázi nanocelulózy získané ze zemědělského odpadu slupek z quinoy. Nanocelulóza syntetizovaná z těchto odpadních produktů tak může být využita pro přípravu nosiče, který je schopen imobilizace enzymu lakázy zodpovědného za katalýzu oxidace organických sloučenin včetně barviv vyskytujících se v odpadních vodách [61].

Autoři Castañeda-Reyes a kol. se ve své studii [62] publikované roku 2021 snažili optimalizovat přípravu lipozomálních formulací s obsahem nezmýdelnitelného skvalenu pocházejícího z amarantu a sójového lunasinu s cílem inhibice buněk melanomu. Sójový lunasin je peptid s prokázanou protinádorovou aktivitou. Cílem využití skvalenu získaného extrakcí z *Amaranthus hypochondriacus* byla snaha o minimalizaci velikosti částic, a naopak maximalizaci enkapsulační účinnosti tak, aby mohl být sójový lunasin efektivně transportován do melanomových buněk. Koncentrace extrahovaného skvalenu v amarantovém oleji byla 36,64 g/100 g oleje. Průměrná velikost lipozomálních částic byla 140 nm a účinnost enkapsulace skvalenu dosahovala širokého rozmezí od 33,14–76,08 %. Pravděpodobným důvodem takto širokého rozmezí enkapsulační účinnosti může být dle autorů zvolený poměr použitých fosfolipidů DOPC (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-fosfocholin) a DOPA (sodná sůl 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-fosfo-rac-(1-glycerolu)), kdy DOPA může enkapsulační účinnost skvalenu zvyšovat. V optimalizované formulaci nebyl přítomen cholesterol, což je dalším faktorem, který mohl vést ke zvýšení enkapsulační účinnosti, přítomnost cholesterolu totiž může nepříznivě ovlivňovat enkapsulační účinnost v důsledku konkurence o prostor v lipidové dvojvrstvě. Široké rozmezí enkapsulační účinnosti může být dále důsledkem interakce mezi složkami DOPC:DOPA, cholesterolem a nesaponifikovatelnou frakcí, kdy vyšší koncentrace nezmýdelnitelné frakce může mít negativní vliv, a to pravděpodobně v důsledku změn ve struktuře lipozomální membrány. Autoři studie využili k optimalizaci parametrů metodu tzv. Box-Behnkenova návrhu. Skvalen byl do lipozomu inkorporován také za účelem podpory protinádorové aktivity lunasinu, jelikož byla prokázána jeho schopnost snižovat účinek karcinogenních chemických promotorů při testování na myši kůži [62].

Jak bylo zmíněno výše, pseudocereálie a z nich získané oleje obsahují mnoho zajímavých bioaktivních látek, jejichž stabilitu, účinnost a ochranu před degradací způsobenou faktory z vnějšího prostředí lze zvýšit pomocí enkapsulace do různých typů nosičů. V nedávné studii [63] byla pro enkapsulaci extraktu z quinoy úspěšně využita metoda

komplexní koacervace s použitím želatiny a arabské gumy jako obalových materiálů. Autoři zde zkoumali tři klíčové parametry, a to rychlost míchání, množství inkorporované látky a koncentrace surfaktantu. Nejvyšší účinnosti enkapsulace (EE%), konkrétně 70,9 %, bylo dosaženo při 1500 ot./min, 5 g enkapsulované látky a 0,5 % surfaktantu. Výsledné mikrokapsle měly hladký a homogenní povrch, což bylo potvrzeno technikami optické i skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) potvrdila přítomnost jak aktivní látky, tak obalových materiálů ve struktuře. Termogravimetrická analýza (TGA) navíc prokázala jejich dobrou tepelnou stabilitu. Pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) byla prokázána přítomnost fenolických sloučenin (např. kyseliny ferulové, p-kumarové, quercetinu), a to i po enkapsulaci, i když v nižších koncentracích [63].

Autoři Marques a kol. ve studii [64] z roku 2024 zkoumali využití oleje extrahovaného ze semen quinoi. Autorům se použitím metody emulgace následované odpařením organického rozpouštědla podařilo enkapsulovat olej z quinoi do lipidových nanočástic s použitím prasečí želatiny či syrovátkové bílkoviny jako enkapsulačního činidla. Průměrná velikost připravených nanočástic se pohybovala mezi 161 ± 7 a 264 ± 6 nm, index polydisperzity mezi $0,11 \pm 0,03$ a $0,13 \pm 0,04$. Autoři u takto připravených systémů hodnotili fyzikální stabilitu, enkapsulační účinnost, antioxidační aktivitu a schopnost inhibice trávicích enzymů. Olej ze semen quinoi enkapsulovaný do nanočástic vykazoval dle studie dobrou fyzikální stabilitu a samotná nanoenkapsulace vedla ke zvýšení antioxidační aktivity a značné inhibici trávicích enzymů lipázy a α -amylázy.

Ve studii [65] publikované roku 2022 autoři Bidooki a kol. zkoumali využití skvalenu v nanočásticích pro zlepšení jeho biologické dostupnosti a ochranu jaterních buněk před oxidačním stresem a stresem endoplazmatického retikula. Skvalen je ve znatelném množství přirozenou součástí celosvětově konzumovaného olivového oleje. Tento přírodní antioxidant je značně hydrofobní, což vede k jeho relativně nízké biologické dostupnosti. Zabudování skvalenu do chitosanových nanočástic vede k významnému zlepšení jeho vstřebávání do buněk, protože napomáhá nejen lepšímu transportu skvalenu do jaterních buněk, ale také zmírňuje oxidační stres. Výsledky studie ukázaly, že takto upravené nanočástice s obsahem skvalenu vykazovaly schopnost snižovat produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) v jaterních buňkách, což je klíčový faktor v prevenci buněčných poškození a zánětlivých procesů. Dále byla zjištěna ochrana proti stresu endoplazmatického retikula, což souvisí s regulací homeostázy bílkovin v buňkách. Tyto poznatky mohou vést ke

zlepšení biologické dostupnosti skvalenu spolu s jeho potenciálem pro terapeutické využití v ochraně jaterních buněk před toxickými vlivy, což by mohlo mít klinické aplikace v léčbě jaterních onemocnění [65][66].

Skvalen může být pro své pozitivní vlastnosti využit nejen v kosmetice či medicíně, ale také v oblasti potravinářství ve formě funkčního aditiva. Ve studii [67] z roku 2022 autoři Sponton a kol. zkoumali vliv enkapsulace lyofilizovaného práškového skvalenu na kvalitu bochníků chleba. Bylo prokázáno, že enkapsulace lyofilizovaného práškového skvalenu neovlivnila senzorické ani texturní vlastnosti produktu. Bylo zaznamenáno pouze mírné ztmavnutí chlebové kůrky, které je ovšem v potravinářství při použití funkčních aditiv běžně pozorovaným přijatelným jevem. Výsledky studie tak naznačují možnost začlenění skvalenu do běžných potravinových produktů za účelem zlepšení výživy, zejména z hlediska zdraví jater a celkového antioxidačního potenciálu.

II PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍLE PRÁCE

Hlavní cíle praktické části diplomové práce jsou následující:

- Formulační studie niozomálních nosičů s různými poměry povrchově aktivních látek a typů mastných alkoholů
- Enkapsulace amarantového oleje, resp. jeho bioaktivních složek, do vybraných niozomů
- Charakterizace fyzikálně-chemických vlastností připravených částic, stanovení antioxidační aktivity, enkapsulační účinnosti, a kinetiky uvolňování aktivních látek

6 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A POMŮCKY

6.1 Použité chemikálie

Span 80, Sigma Aldrich

Tween 80, Sigma Aldrich

1-Tetradekanol, Sigma Aldrich

1-Hexadekanol, Sigma Aldrich

1-Oktadekanol, Sigma Aldrich

1-Dodekanol, Sigma Aldrich

Etanol 96%,

Destilovaná voda

Chloroform, min. 99% (čistý)

Skvalan 50 ml, *Squalane raff.* (Nature Store)

Amaranthový olej, Aromaterapie Karel Hadek

DL-alfa-tokoferyl acetát, Dr. Hoffmann

Fosfátový pufr (pH 7)

Ftalátový pufr (pH 4)

0,1 mM etanolický roztok DPPH (1,1-difenyl-2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl)

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

PBS (Phosphate Buffered Saline) pufr, pH 7,3 (Chlorid sodný, Chlorid draselný, Hydrogenfosforečnan disodný, Dihydrogenfosforečnan draselný)

6.2 Použité přístroje a pomůcky

Analytické váhy PR, BDL

Míchačka magnetická Multistirrer 15

Magnetické míchadlo Heidolph

Odparka rotační vakuová Heidolph

Ultrazvuková lázeň KAITEK K-10LE

Spektrofotometr PhotoLab 6600 UV-VIS

Odstředivka EBA 20, Hettich ZENTRIFUGEN

Bariérový pH metr CPH 51 s kombinovanou pH elektrodou HC 103

Pasteurova pipeta

Automatická pipeta

Zetasizer Nano ZS Malvern

Trubicová kyveta Malvern

Skleněná kyveta (z důvodu použití chloroformu)

Parafilm M Laboratory Seal film

Laboratorní sklo (kádinky, odměrné baňky, varná baňka, dělicí nálevka, odměrné válce, nálevky, vialky, stříkačky, skleněné tyčinky, lžičky, lodičky, baňky s kulatým dnem, exsikátor)

Varné kamínky

Zkumavky s filtrem 0,45 μm CA, Midi Spin Filters

Filtr 1,2 μm

Petriho misky, sterilní

Sterilní disky (průměr 9 mm)

Plynový chromatogram Shimadzu GC-14A vybavený FID detektorem

Plyny dusík, vodík, vzduch

Polární kolona DB-wax, 30m x 0,25mm x 0,25 μm

Mikrostřikačka Hamilton 5 μl

Plynový chromatograf Shimadzu GC-2010 Pro

Kolonoa SH-FAME 30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm vybavený FID detektorem

Zkumavky Eppendorf, 2 ml

Dialyzační membrána MWCO: 12-14 kD, Spectra Por

Digitální orbitální třepačka Heathrow Scientific

7 POSTUPY PŘÍPRAVY A MĚŘENÍ

7.1 Analýza amarantového oleje metodou plynové chromatografie

Složení transesterifikovaného amarantového oleje bylo charakterizováno pomocí plynové chromatografie, která byla provedena opakovaně. K první analýze byl použit přístroj GC 14 A Shimadzu s polární kolonou DB-WAX ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$) a detekcí plamenoionizačním detektorem (FID). Vzorek, připravený smícháním s hexanem byl aplikován v objemu 2 μl . Jako nosný plyn sloužil dusík o tlaku $2,5\text{ kg/cm}^2$, který určoval jeho průtok kolonou. Další použité plyny byly dusík pro oplach o tlaku $0,5\text{ kg/cm}^2$, vzduch o tlaku $0,3\text{--}0,5\text{ kg/cm}^2$ a vodík ($0,5\text{ kg/cm}^2$). Nástřik byl prováděn mikrostříkačkou Hamilton o objemu 5 μl , teplota nástřiku činila $225\text{ }^\circ\text{C}$ a teplota detektoru $230\text{ }^\circ\text{C}$. Chromatografie byla provedena gradientově. Teplotní profil kolony byl následující: počáteční teplota kolony $110\text{ }^\circ\text{C}$, čas na počáteční teplotě 3,0 min, rychlost ohřevu $15\text{ }^\circ\text{C/min}$, konečná teplota $220\text{ }^\circ\text{C}$, čas na konečné teplotě 10,0 min.

Pro potvrzení a doplnění výsledků byla provedena další analýza na chromatografu Shimadzu GC-2010 Pro s kolonou SH-FAME ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$) a FID detekcí. Vzorky byly ředěny v poměru 1:4 (v/ v, hexan) a injektovány v objemu 2 μl . Jako nosný plyn sloužil dusík s průtokem 1,5 ml/min. Další použité plyny zahrnovaly dusík (25 ml/min), vodík (40 ml/min), vzduch (280 ml/min). Nástřik probíhal při teplotě $250\text{ }^\circ\text{C}$, detektor byl udržován na teplotě $260\text{ }^\circ\text{C}$. Teplotní program začínal na $165\text{ }^\circ\text{C}$ a každou minutu se teplota zvyšovala o $5\text{ }^\circ\text{C}$ až na konečnou teplotu $240\text{ }^\circ\text{C}$ (10 min), celkový čas analýzy činil 25 minut.

7.1.1 Transesterifikace oleje

Samotné triacylglyceroly a mastné kyseliny jsou málo těkavé, proto musí být metodou esterifikace, popř. transesterifikace převedeny do jejich těkavější formy na nejčastěji tzv. methyl-estery mastných kyselin. Vzorek amarantového oleje byl s přesností na 0,0001 g navážen do 100 ml varné baňky. K navážce amarantového oleje bylo následně přidáno 20 ml etanolu, 0,5 ml 1M metanolického hydroxidu draselného a varné kamínky. Takto připravená směs byla vařena 30 minut na topném hnízdě pod zpětným chladičem. Vychladnutý reakční roztok byl převeden do dělicí nálevky spolu s 15 ml hexanu a 15 ml 20% roztoku NaCl. Po protřepání byla vodná fáze převedena do druhé dělicí nálevky spolu s 5 ml hexanu a po opětovném protřepání opakovaně došlo k oddělení vodné fáze od fáze hexanové. Hexanové podíly byly spojeny a protřepány spolu s 15 ml 20% roztoku NaCl.

Naposledy oddělená hexanová fáze byla vysušena v Erlenmayerově baňce pomocí síranu sodného a přefiltrována přes papírový filtr.

Podobně byla provedena transesterifikace oleje pro měření na chromatografu Shimadzu GC-2010, pouze s tím rozdílem, že vzorek byl smíchán s 20 ml metanolu, 0,5 ml 1M KOH v metanolu a 0,5 ml toluenu. Po ochlazení byl reakční roztok protřepán spolu s 15 ml 20% NaCl a vodná fáze byla extrahována hexanem v objemu 5 ml.

7.2 Příprava niozomů bez obsahu aktivní látky

Niozomální formulace byly připraveny v různých poměrech neionických surfaktantů Span 80 a Tween 80 v kombinaci s vybranými typy mastných alkoholů o různé délce řetězce. Složení jednotlivých formulací bez přítomnosti aktivní látky je patrné z Tabulky 2.

Tabulka 2 Složení jednotlivých formulací

Označení vzorku	Span 80 [mg]	Tween 80 [mg]	Mastný alkohol 80 mg
D 9:1	360	40	Dodekanol
D 1:9	40	360	
D 1:1	200	200	
T 9:1	360	40	Tetradekanol
T 1:9	40	360	
T 1:1	200	200	
H 9:1	360	40	Hexadekanol
H 1:9	40	360	
H 1:1	200	200	
O 9:1	360	40	Oktadekanol
O 1:9	40	360	
O 1:1	200	200	

(zdroj: vlastní)

Jednotlivé formulace bez obsahu aktivní látky byly připraveny navážením příslušného množství neionických surfaktantů Span 80 a Tween 80 v různých poměrech a vybraného mastného alkoholu (C_{12} - C_{18}) s přesností na 0,0001 g. Navážky byly rozpouštěny ve 20 ml etanolu po dobu 15–20 minut na magnetickém míchadle při otáčkách dosahujících 160 ot./min při laboratorní teplotě. Po rozpouštění byly roztoky převedeny do 100ml baněk s kulatým dnem a zábrusovým hrdlem a umístěny na vakuovou rotační odparku za těchto podmínek: 100 ot./min, teplota vodní lázně 60 °C po dobu 8 minut.

Po odpaření etanolu na vakuové rotační odparce byly vzorky umístěny do exsikátoru a poté rehydratovány. Rehydratace probíhala tak, že se ke směsi přidalo 10 ml destilované

vody, takto připravená směs byla umístěna na rotační odparku (120 ot./min, teplota vodní lázně 60 °C po dobu 20 minut, bez použití vakua) a následně do ultrazvukové lázně na dobu 30 minut při teplotě 35 °C a účinnosti 1. Po rehydrataci byly vzorky převedeny do skleněných vialek a skladovány v lednici při teplotě 4 °C.

7.3 Příprava niozomů s obsahem aktivní látky

Na základě předchozí formulační studie byly pro přípravu systémů s obsahem aktivních látek vybrány poměry surfaktantů Span 80 a Tween 80 1:9. Surfaktanty byly naváženy spolu s vybraným mastným alkoholem s přesností na 0,0001 g, k této navážce bylo přidáno 100 mg aktivní látky, resp. kombinace aktivních látek. K takto připravené směsi byl pro přípravu systémů s obsahem skvalanu přidán čistý chloroform v objemu 20 ml a pro ostatní systémy byl jako rozpouštědlo použit 96% etanol ve stejném objemu. Formulace na bázi surfaktantů Span 80 a Tween 80 v poměru 1:9 v přítomnosti všech dostupných mastných alkoholů byly připraveny také s 200 mg amarantového oleje, ovšem měřením velikosti částic a PDI byla prokázána horší stabilita, z toho důvodu do dalších experimentů nebyly zařazeny.

V případě amarantového oleje byla směs rozpuštěna v 96%ním etanolu a byla homogenizována po dobu 15–20 minut na magnetickém míchadle za laboratorní teploty (případně mírného zahřívání v případě oktadekanolu, z důvodu jeho horší rozpustnosti). Odpaření a rehydratace byly provedeny stejným způsobem jako v případě systémů bez obsahu aktivních látek.

Systémy s enkapsulovaným skvalanem byly připraveny podobně s tím rozdílem, že v důsledku nízké rozpustnosti skvalanu v etanolu byl jako rozpouštědlo zvolen chloroform. Homogenizace probíhala při laboratorní teplotě na magnetickém míchadle. Odpaření na vakuové rotační odparce probíhalo při teplotě 40 °C po dobu 4–6 minut. Další postup, tj. rehydratace a dispergace v UTZ lázni probíhala podobně jako u vzorků s amarantovým olejem. Analogicky byly připraveny niozomy s obsahem kombinace aktivních látek. Složení jednotlivých formulací s obsahem použitých aktivních látek včetně reálných navážek neionických surfaktantů je uvedeno v Tabulce 3.

Tabulka 3 Složení jednotlivých formulací s obsahem aktivních látek

Označení vzorku	Span 80	Tween 80	Mastný alkohol 80 mg	Amarantový olej (mg)	Skvalan (mg)	Tokoferyl acetát (mg)
D 1:9 A	40	360	Dodekanol	100	-	-
T 1:9 A	40	360	Tetradekanol	100	-	-
H 1:9 A	40	360	Hexadekanol	100	-	-
O 1:9 A	40	360	Oktadekanol	100	-	-
D 1:9 S	40	360	Dodekanol	-	100	-
T 1:9 S	40	360	Tetradekanol	-	100	-
H 1:9 S	40	360	Hexadekanol	-	100	-
O 1:9 S	40	360	Oktadekanol	-	100	-
D 1:9 A/TOC	40	360	Dodekanol	50	-	50
T 1:9 A/TOC	40	360	Tetradekanol	50	-	50
D 1:9 S/TOC	40	360	Dodekanol	-	50	50
T 1:9 A/TOC	40	360	Tetradekanol	-	50	50

(zdroj: vlastní)

7.4 Měření velikosti částic

Do kádinky bylo mikropipetou odpipetováno 0,5 ml vzorku a naředěno 1 ml destilované vody dvakrát přefiltrované přes filtr o velikosti pórů 1,2 μm . Takto připravený roztok byl důkladně promíchán a převeden do spektrofotometrické kyvety o šířce 10 mm. Velikost částic byla poté měřena metodou dynamického rozptylu světla na přístroji ZetaSizer Nano ZS Marvel. Výsledky byly průměrem minimálně ze tří stanovení.

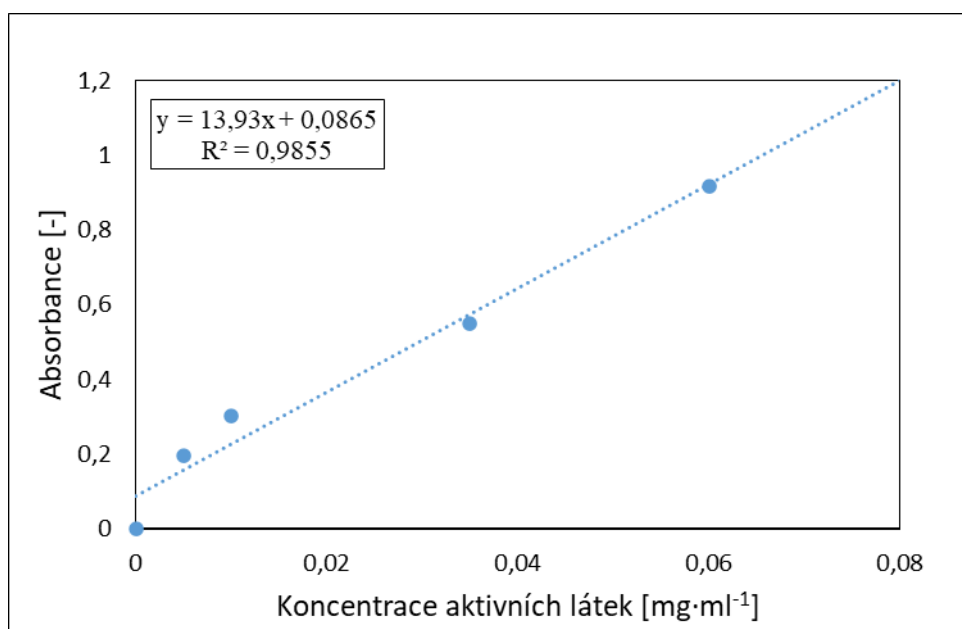
7.5 Stanovení zeta potenciálu a pH

Pro ověření stability niozomálních systémů byl na přístroji Zetasizer ZS Malvern měřen zeta potenciál. Mikropipetou bylo odebráno vždy 6 μl vzorku a následně ředěno 3 ml dvakrát filtrovanou destilovanou vodou a převedeno do speciální kyvety DTS1070. Měření zeta potenciálu bylo při laboratorní teplotě provedeno u vzorků bez obsahu i s obsahem aktivní látky. Výsledky byly průměrem minimálně ze tří stanovení. Zeta potenciál je úzce spjat

s hodnotou pH, které bylo měřeno pomocí bariérového pH metru CPH 51 s kombinovanou pH elektrodou HC 103 při laboratorní teplotě a po předchozí kalibraci s využitím fosfátových pufrů o pH 4 a pH 7.

7.6 Sestrojení kalibračních křivek

Za účelem stanovení enkapsulační účinnosti a kinetiky uvolňování aktivních látek bylo nejprve nutné pro jednotlivé aktivní látky a jejich kombinace s tokoferyl acetátem sestavit kalibrační přímky. Pro každou aktivní látku, resp. kombinaci bylo na spektrofotometru proměřeno spektrum a stanovena maximální vlnová délka, při níž byly proměřeny jednotlivé kalibrační roztoky (amarantový olej 285 nm, tokoferyl acetát v kombinaci s amarantovým olejem, resp. skvalanem 289 nm). Na základě získaných hodnot absorbancí byly pro jednotlivé aktivní látky sestaveny kalibrační přímky jako závislost absorbance na koncentraci a provedením lineární regresní analýzy byly získány odpovídající kalibrační rovnice. Pro amarantový olej byla získána kalibrační rovnice $y = 4,3361x + 0,0593$, $R^2 = 0,9225$, pro kombinaci amarantový olej a tokoferyl acetát $y = 12,589x + 0,405$, $R^2 = 0,9981$. Kalibrační přímka pro kombinaci aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát $y = 13,93x + 0,0865$, $R^2 = 0,9551$ je znázorněna na Obr 10. U samotného skvalanu se nepodařilo v daném rozmezí koncentrací kalibrační přímku sestavit.



Obrázek 10 Kalibrační přímka kombinace aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát

(zdroj: vlastní)

7.7 Stanovení enkapsulační účinnosti

Pro stanovení enkapsulační účinnosti vzorků byly pipetovány 2 ml vzorku a 2 ml 96%ního etanolu (vodného etanolickeho roztoku) v poměru 1:1 a převedeny do speciálních zkumavek s filtrem o velikosti pórů 0,45 µm. Tyto zkumavky byly následně umístěny do odstředivky, kde probíhal proces centrifugace při 5000 ot./min po dobu 10 minut. Ze zkumavek byl odebírán supernatant, u kterého byla spektrofotometricky měřena absorbance při zvolené vlnové délce, tj. 285 nm pro formulace s obsahem amarantu jako aktivní látky a 289 nm pro všechny ostatní formulace. Následně byla stanovena procentuální enkapsulační účinnost dle Rovnice 1.

(1)

$$\%EE = \left(1 - \frac{AL_{volná}}{AL_{původní}}\right) \cdot 100$$

Kde:

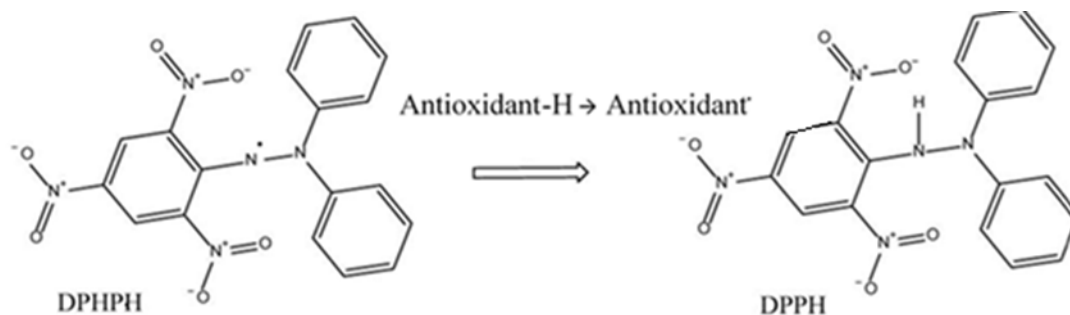
%EE procentuální množství enkapsulované aktivní látky

$AL_{volná}$ koncentrace aktivní látky volné [mg/ml]

$AL_{původní}$ původní koncentrace aktivní látky [mg/ml]

7.8 Stanovení antioxidační aktivity

Stanovení antioxidační aktivity připravených systémů bylo provedeno metodou DPPH s následným vyhodnocením pomocí UV-VIS spektrofotometrie. Princip je založen na vychytávání stabilních volných radikálů α , α -difenyl- β -pikrylhydrazylu (DPPH) po smísení jeho roztoku se sloučeninou, která potenciálně vykazuje antioxidační aktivitu a může tak fungovat jako donor atomu vodíku, který bude přijat lichým elektronem atomu dusíku v DPPH, který se tak redukuje na DPPH-H (difenylpikrylhydrazin), což je doprovázeno odbarvením roztoku DPPH (Obr. 11). Stabilita volného radikálu DPPH je přisuzována delokalizaci volného elektronu v celé jeho molekule, která je rovněž důvodem fialového zbarvení DPPH o jeho absorpci při vlnové délce 517 nm v etanolickeém roztoku [68][69].



Obrázek 11 Teoretický mechanismus redukce DPPH na DPPH-H

[69]

Vzorek o objemu 20 μl byl pipetován do vialek a smíchán s 2 ml 0,1 mM roztokem DPPH v 96% etanolu. Vzorky byly následně inkubovány ve tmě při 25 °C po dobu 30, resp. 60 minut (Obr. 12). Samotné vyhodnocení antioxidační aktivity bylo provedeno stanovením absorbance vzorků pomocí UV-VIS spektrofotometrie při definované vlnové délce 517 nm oproti referenčnímu 96% roztoku etanolu dle Rovnice 2.

(2)

$$\%A = \frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{sample}}} \cdot 100$$

Kde:

$\%A$ procentuální úbytek absorbance

A_{blank} absorbance 0,1 mM etanolickeho roztoku DPPH oproti referenčnímu roztoku etanolu při vlnové délce 517 nm [-]

A_{sample} absorbance vzorku oproti referenčnímu roztoku etanolu při vlnové délce 517 nm [-]



Obrázek 12 Stanovení antioxidační aktivity – inkubace vzorků

(zdroj: vlastní)

7.9 Stanovení antimikrobiální aktivity

Aktivní látky amarantový olej a skvalan byly podrobeny mikrobiologickému testování prostřednictvím diskové difúzní metody. Inokula patogenních mikroorganismů *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* ve fyziologickém roztoku o zákalu 0,5 McF byly naočkovány do Petriho misek na živnou půdu (Mueller Hilton agar). Na bakteriemi zaočkovanou půdu byly následně umístěny sterilní papírové disky o průměru 6 mm a na takto připravené disky byla aplikována daná aktivní látka vždy v množství 10 μ l. Následně probíhala kultivace po dobu 24 hodin při teplotě optimální pro růst zvolených mikroorganismů, tj. 37 °C. Po dané době byla hodnocena případná inhibiční zóna kolem disků, která indikuje antibakteriální účinky.

7.10 Stanovení kinetiky uvolňování aktivních látek

Kinetika uvolňování byla stanovena u čtyř vybraných formulací na bázi Span 80:Tween 80 1:9 s obsahem dvou různých mastných alkoholů (dodekanol, nebo tetradekanol), a to s enkapsulovaným amarantovým olejem, nebo kombinací aktivních látek skvalan/tokoferyl acetát. Byly odebrány vždy 4 ml odpovídajícího vzorku, které byly převedeny do dialyzačních membrán MWCO (12–14 kD) a vloženy do uzavíratelných lahví s obsahem 20 ml PBS pufru.

Připravené systémy byly uloženy ve tmě a inkubovány při teplotě 32 °C za kontinuálního třepání při 150 ot./min po dobu 216 hodin. V definovaných časových intervalech (0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 až 216 hod) byly odebrány vždy 2 ml vzorku do mikrozku mávek Eppendorf s následným doplněním stejného množství čerstvého PBS pufru. U odebraných vzorků bylo provedeno spektrofotometrické stanovení absorbance s použitím UV-VIS spektrofotometru, a to při vlnové délce 285 nm pro vzorky s obsahem amarantového oleje a 289 nm pro zbylé vzorky, proti PBS pufru jako referenci. Pomocí rovnic získaných sestrojením kalibračních přímek pro jednotlivé aktivní látky bylo možné stanovit koncentraci aktivní látky, jež se do prostředí PBS pufru v daných intervalech uvolnila.

Koncentrace uvolněných aktivních látek byly přepočteny na kumulativní množství v % a graficky zpracovány jako závislost procentuálního kumulativního množství aktivní látky na čase. Kinetika uvolňování aktivních látek byla vyhodnocena pomocí rovnice prvního řádu (Rovnice 3) také s využitím modelu Korsmeyer-Peppas (Rovnice 4). Regresní model byl

získán metodou nejmenších čtverců a jeho optimální parametry byly nalezeny použitím doplňkové funkce Solver programu Microsoft Excel.

(3)

$$c_{REL} = c_{max} \cdot (1 - e^{-kt})$$

(4)

$$c_{REL} = k \cdot t^n$$

Kde:

c_{REL} – koncentrace aktivní látky, která byla uvolněna v čase t [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]

c_{MAX} – maximální teoretická koncentrace aktivní látky [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]

k – rychlostní konstanta [hod^{-1}]

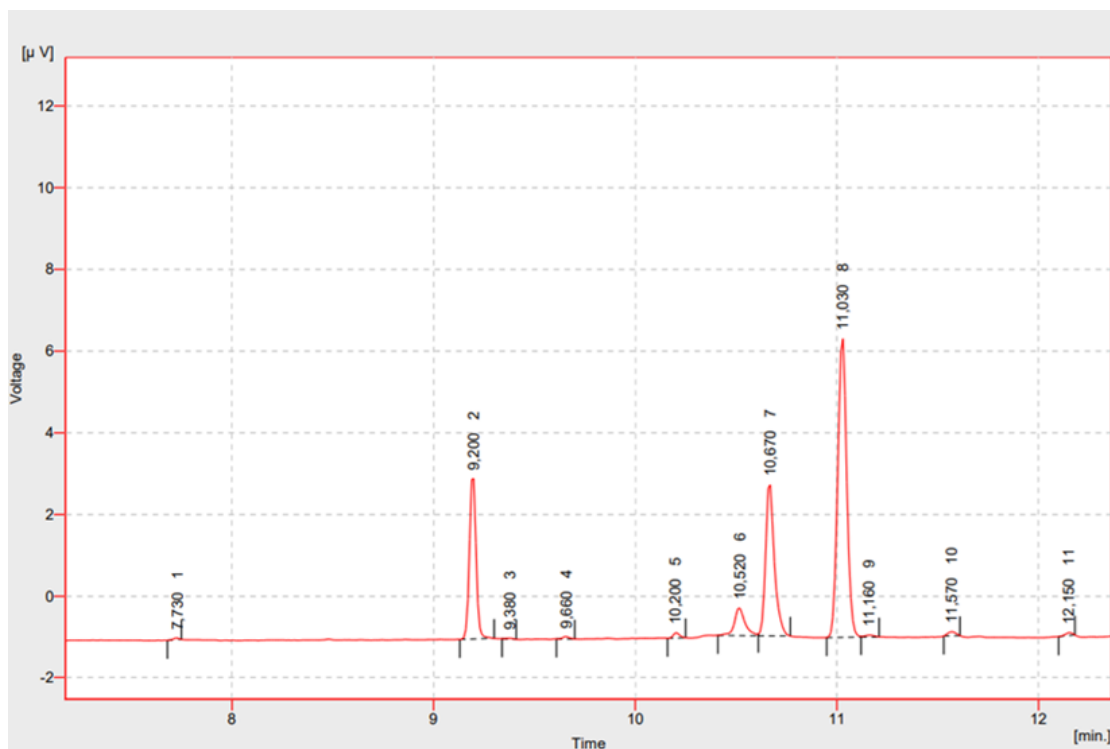
n – exponent uvolňování

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Analýza amarantového oleje metodou plynové chromatografie

Jednotlivé mastné kyseliny zastoupené v amarantovém oleji byly stanoveny pomocí plynové chromatografie (GC). Jedná se o separační metodu, kde je stacionární fázi kapalina nanesená na povrch inertního pevného nosiče uvnitř kolony. Mobilní fázi tvoří inertní plyn (např. helium nebo dusík) proudící kolonou pod tlakem. Analyzovaný vzorek se odpaří, smísí s mobilní fází a jednotlivé složky se separují na základě rozdílných interakcí se stacionární fází. Plynová chromatografie je účinná metoda používaná k separaci těkavých látek nebo látek, které se po derivatizaci stávají těkavými [70].

Na základě získaného chromatogramu (Obr. 13) lze srovnáním retenčních časů jednotlivých píků amarantového oleje se standardem určit složení amarantového oleje. Amarantový olej je bohatý na mastné kyseliny s delším řetězcem, proto byla jako standardní vzorek zvolena směs mastných kyselin palmitové, stearové, linolové, linolenové a arachové.



Obrázek 13 Chromatogram analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu Shimadzu GC-14A

(zdroj: vlastní)

Porovnáním retenčních časů chromatogramu amarantového oleje a standardu včetně jednotlivých mastných kyselin bylo možné identifikovat následující mastné kyseliny (Tab. 4).

Tabulka 4 Vyhodnocení GC analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu Shimadzu GC-14A

Retenční čas [min]	Relativní plocha [%]	Původní mastná kyselina	Odpovídající methylester
9,200	19,6	Kyselina palmitová (C16:0)	Methyl-palmitát (C16:0-ME)
10,520	5,2	Kyselina stearová (C18:0)	Methyl-stearát (C18:0-ME)
10,670	23,9	Kyselina olejová (C18:1, n-9)	Methyl-oleát (C18:1-ME)
11,030	49,0	Kyselina linolová (C18:2, n-6)	Methyl-linolát (C18:2-ME)
11,160	0,3	-	-
11,570	0,6	Kyselina linolenová (C18:3, n-3)	Methyl-linolenoát (C18:3-ME)

(zdroj: vlastní)

Kvantitativní údaje vyplývají z relativní plochy jednotlivých píků uvedených v Tabulce 4. Nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou v analyzovaném amarantovém oleji byla kyselina linolová (49,0 %), následovaná kyselinou olejovou (23,9 %), kyselinou palmitovou (19,6 %) a kyselinou stearovou (5,2 %). V menší míře je přítomna polynenasycená mastná kyselina

linolenové (0,6 %). Jeden z píků se nepodařilo jednoznačně identifikovat – pravděpodobně odpovídá minoritní mastné kyselině s nízkým zastoupením nebo kratším uhlíkovým řetězcem.

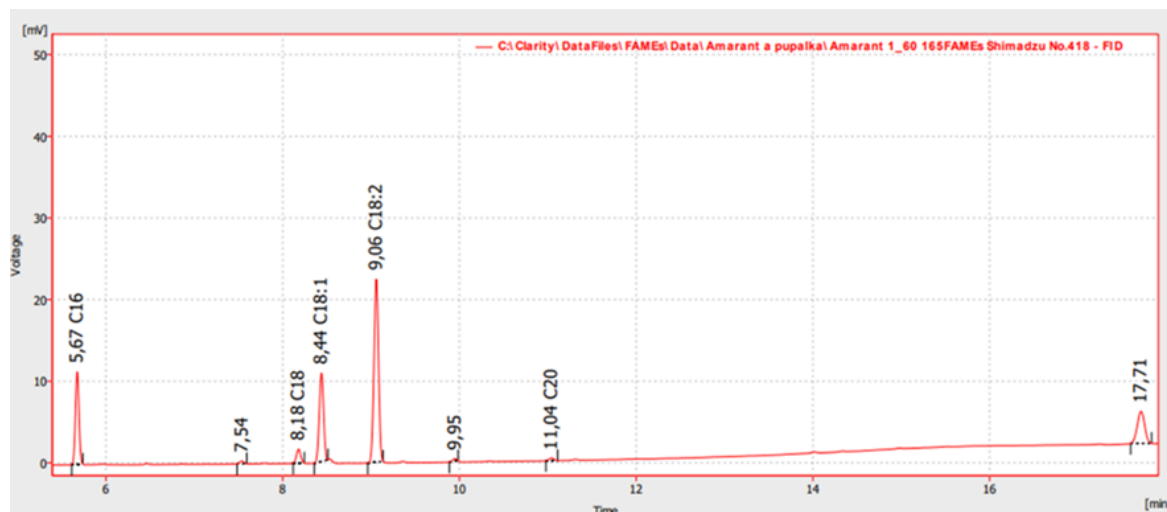
Vzhledem k provedené transesterifikaci amarantového oleje jsou v Tabulce 4 uvedeny nejen původní mastné kyseliny, ale také jejich odpovídající methylestery. Pro potvrzení přítomnosti methylesterů mastných kyselin (FAME) by bylo vhodné využít infračervenou spektroskopii s Fourierovou transformací (FTIR) nebo analýzu pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS).

Studie Hlinkové a kol. (2013), zaměřená na analýzu složení mastných kyselin v zrnech *Amaranthus cruentus* a *Amaranthus hypochondriacus* metodou plynové chromatografie s použitím FID detektoru, uvádí jako nejvíce zastoupené mastné kyseliny linolovou (31,7–47,5 %), olejovou (více než 25 %) a palmitovou (cca 20 %), zatímco kyselina stearová byla detekována ve stopovém množství (cca 2–3 %) [71]. Podobně ve studii autorů Yuenyong a kol., kteří provedli komplexní analýzu profilu mastných kyselin a funkčních fytochemikálií v padesáti za studena lisovaných rostlinných olejích pomocí GC-MS, tvořily dominantní část mastné kyseliny linolová (49, 47 %), olejová (25,57 %), palmitová (21,23 %), stearová (2,68 %). Další minoritní mastná kyselina identifikovaná autory Yuenyong a kol. byla kyselina arachidová v obsahu 0,61 % [72].

Výsledky této práce se liší zejména v zastoupení kyseliny stearové, jejíž obsah byl vyšší (5,2 %) než ve studiích [71] a [72], kde byla uváděna pouze ve stopovém množství (cca 2–3 %). Naopak zastoupení kyseliny linolové (49,0 %) odpovídá hodnotám ve studii [72]. Zastoupení kyseliny palmitové v této práci (19,6 %) přibližně odpovídá hodnotám publikovaným ve studiích Hlinkové a Yuenyonga, které uvádějí 20 % a 21,23 %. Na základě získaných výsledků a dostupné literatury lze konstatovat, že složení mastných kyselin amarantového oleje se může výrazně lišit v závislosti na druhu amarantu, pěstitelských podmínkách a metodě extrakce oleje.

Pro srovnání byla provedena analýza i na chromatografu Shimadzu GC-2010 Pro (Obr. 14). Detekované mastné kyseliny byly vyhodnoceny pomocí referenční tabulky retenčních časů metylesterů mastných kyselin odpovídající metodě 165FAMEs (Shimadzu No.418) ve srovnání se standardem SUPELCOTM 37 Component FAME Mix, který představuje certifikovaný referenční materiál podle ISO 17034 a ISO/IEC 17025 (Tab. 5). Je patrné, že výsledky jsou srovnatelné s předchozí analýzou, nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou je dle výsledků kyselina linolová, následovaná mastnou kyselinou olejovou a palmitovou.

V čase 17,71 minut se objevuje další poměrně významný pík, který se nepodařilo jednoznačně přiřadit, ovšem dle studie [72]. by se mohlo jednat o zmiňovanou kyselinu arachidovou, která byla autory Yuenyong a kol. identifikována v retenčním čase 15,31 minut.



Obrázek 14 Chromatogram analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu Shimadzu GC-2010 Pro

(zdroj: vlastní)

Tabulka 5 Vyhodnocení GC analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu GC-2010
Pro

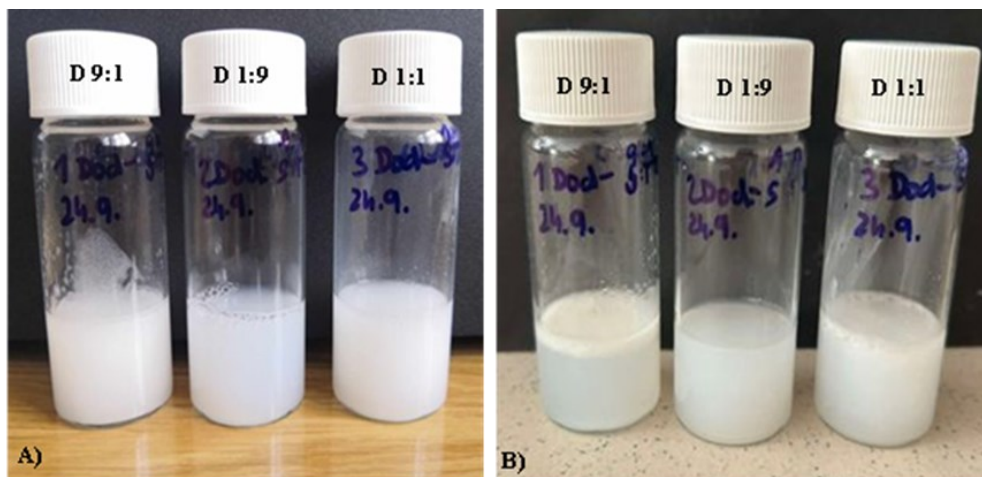
Retenční čas [min]	Relativní plocha [%]	Původní mastná kyselina	Odpovídající methylester
5,675	17,7	Palmitová (C16:0)	Methyl-palmitát (C16:0-ME)
7,54	0,6	-	-
8,18	3,2	Stearová (C18:0)	Methyl-stearát (C18:0-ME)
8,438	20,4	Olejová (C 18:1)	Methyl-oleát (C18:1-ME)
9,058	44,4	Linolová (C18:2)	Methyl-linolát (C18:2-ME)
9,95	0,5	Alfa-Linolenová (C18:3 n-3)	Methyl-alfa- linolenoát (C18:3 n-3-ME)
11,043	0,7	Arachová (C20:0)	Methyl-arachidát (C20:0-ME)
17,713	12,6	-	-

(zdroj: vlastní)

8.2 Vizuální hodnocení

Formulace bez přítomnosti aktivních látek i niozomy s obsahem vybrané aktivní látky či jejich kombinací byly hodnoceny vizuálně ihned po přípravě a po 60 dnech skladování v lednici při teplotě 4 °C. Lze konstatovat, že kontrolní vzorky bez aktivní látky s obsahem mastných alkoholů o různé délce uhlovodíkového řetězce byly mléčně zakalené a zcela neprůhledné. Mírný zákal bylo možné pozorovat u formulací s poměrem surfaktantů

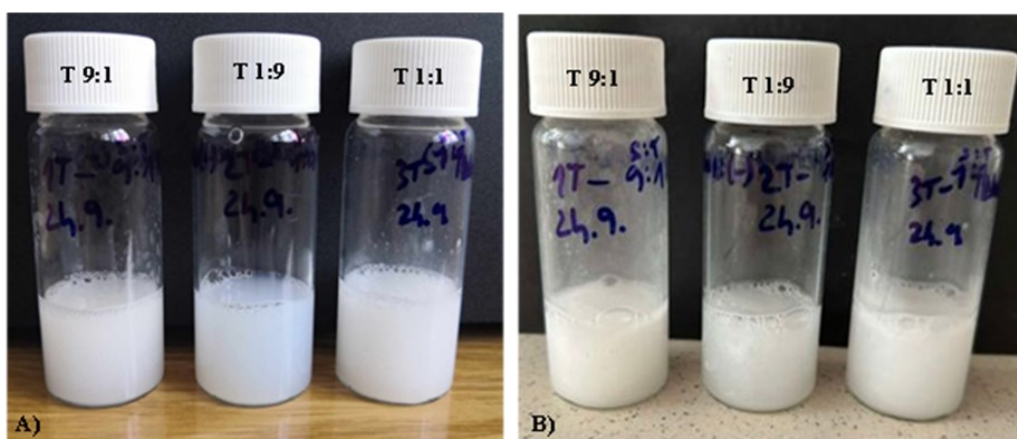
Span 80 a Tween 80 1:9, a to bez ohledu na použitý mastný alkohol. Po uplynutí dvou měsíců došlo ke změně barvy z bílé na slonovinovou až nažloutlou, byla pozorována agregace částic, doprovázená i gravitační nestabilitou v podobě sedimentace, případně vytvoření krémové vrstvy viditelné například na povrchu vzorku D 9:1 a D 1:1 (Obr. 15 b).



Obrázek 15 Vzorky s dodekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

(zdroj: vlastní)

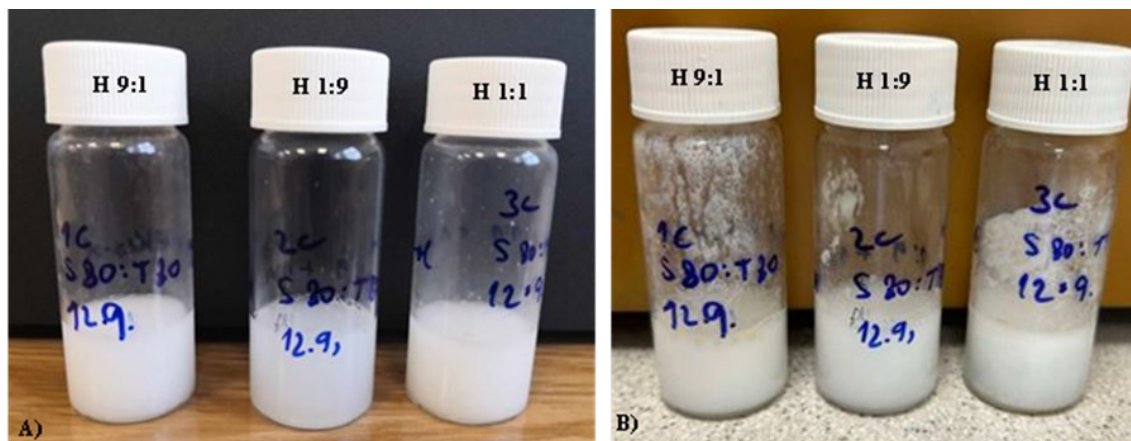
Obdobná situace, navíc s viditelnou opalescencí, byla v čase pozorována u vzorků bez aktivní látky s obsahem mastného alkoholu tetradekanolu (Obr. 16).



Obrázek 16 Vzorky s tetradekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

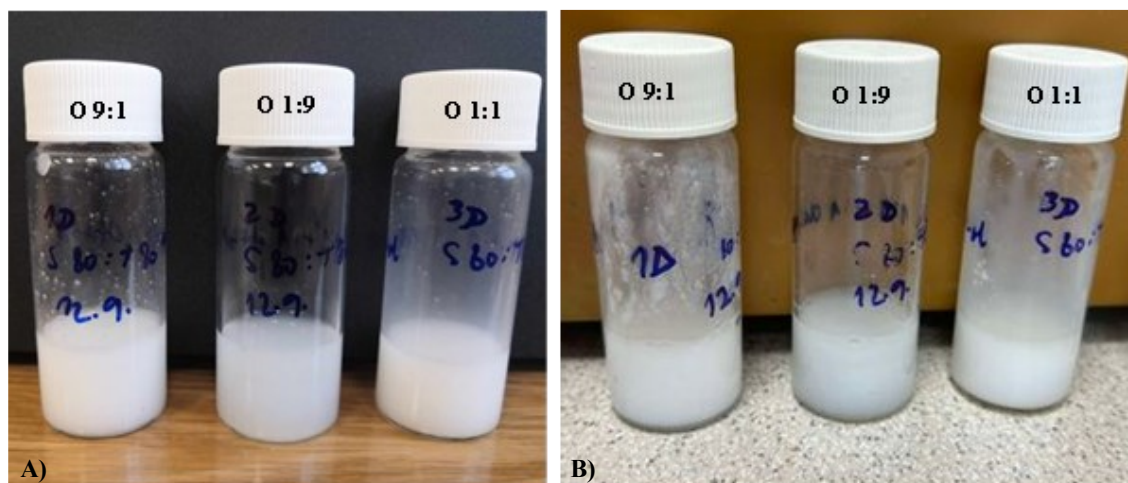
(zdroj: vlastní)

Niozomální formulace s obsahem delších mastných alkoholů (hexadekanolu a oktadekanolu) se jeví ve sledovaném čase stabilnější, kdy po 2 měsících jejich skladování při teplotě 4 °C nebyly pozorovány projevy nestability v podobě fázové separace, ani opalescence (Obr. 17 a 18).



Obrázek 17 Vzorky s hexadekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

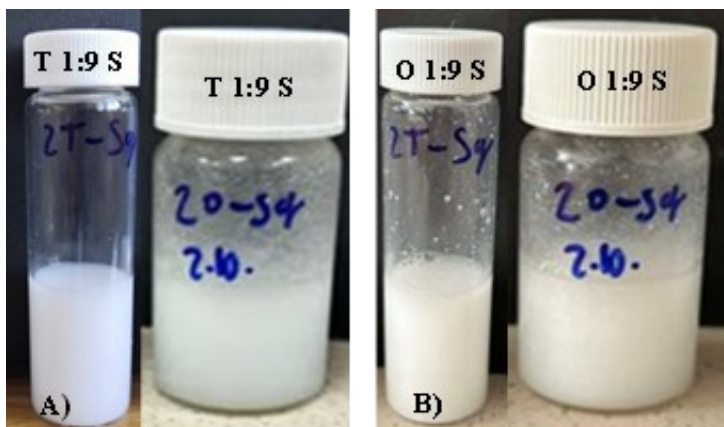
(zdroj: vlastní)



Obrázek 18 Vzorky s oktadekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

(zdroj: vlastní)

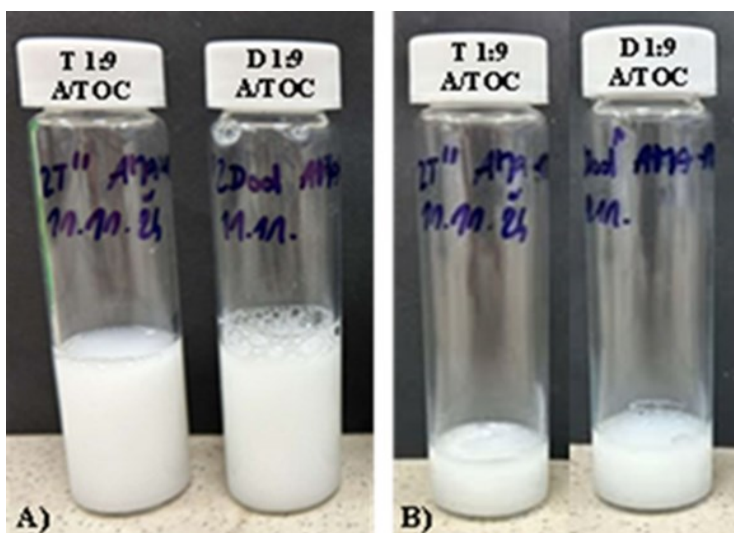
Vizuální hodnocení bylo provedeno také u vzorků s obsahem aktivních látek. Vzorky s obsahem amarantu a různými poměry surfaktantů byly ihned po přípravě neprůhledné a



Obrázek 20 Různé vzorky s obsahem skvalanu A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

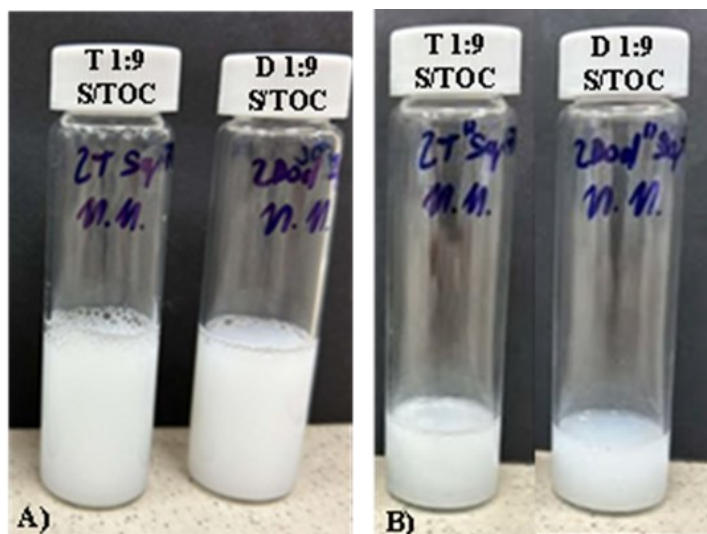
(zdroj: vlastní)

Nejnižší tendence k rozpadu niozomálního systému vykazovaly vzorky s kombinacemi aktivních látek (amarant/TOC, nebo skvalan/TOC), které zůstaly i po dvou měsících skladování při laboratorní teplotě relativně stabilní a vizuálně byly srovnatelné s vzorky čerstvě připravenými (Obr. 21 a 22).



Obrázek 21 Vzorky s kombinací amarantového oleje s tokoferyl acetátem A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

(zdroj: vlastní)

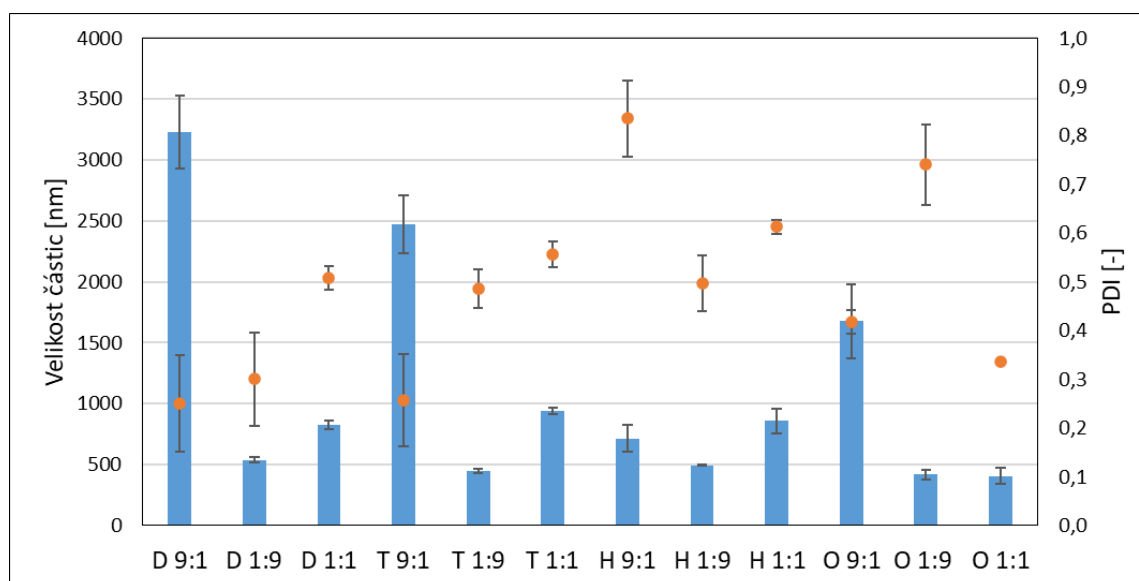


Obrázek 22 Vzorčky s kombinací skvalanu s tokoferyl acetátem A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C

(zdroj: vlastní)

8.3 Velikost částic

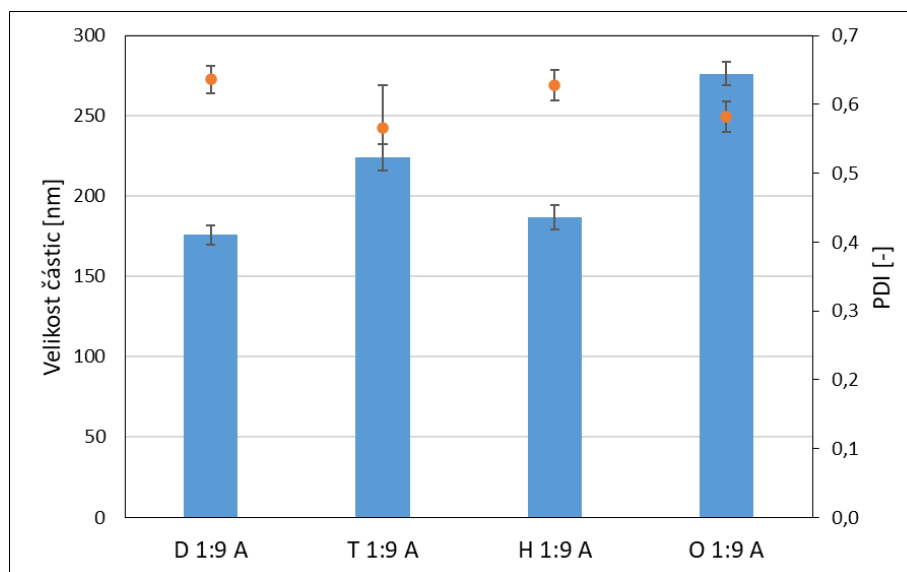
U připravených formulací byla měřena velikost částic a index polydisperzity (PDI). Velikosti částic formulací bez a s obsahem aktivních látek jsou včetně odpovídající hodnoty PDI uvedeny na následujících grafech (Obr. 23, 24, 25 a 26). Co se týká prázdných niozomů, nejmenší částice (407,2 nm) obsahovala formulace O 1:1. Největší naměřená velikost (a to více jak 3 μm) napříč všemi připravenými formulacemi byla prokázána u vzorku D 9:1. U formulací s obsahem mastného alkoholu dodekanolu byla nejmenší velikost částic zaznamenána u formulace D 1:9 (537 nm) a největší u formulace D 9:1, kde částice dosahovaly velikosti 3228 nm. Niozomy s tetradekanolem vykazovaly nejmenší velikost 448 nm v poměru T 1:9 a největší ve formulaci T 9:1 (2471 nm). Analogicky v systémech s hexadekanolem byly nejmenší částice zaznamenány u formulace H 1:9 (494 nm), zatímco maximální hodnota byla naměřena u formulace H 1:1 (857 nm). Co se týká indexu polydisperzity, nejnižší hodnota byla naměřena u formulace D 9:1 (0,250), zatímco nejvyšší PDI odpovídalo vzorku H 9:1 a dosahovalo hodnoty 0,835.



Obrázek 23 Velikost částic a index polydisperzity formulací bez aktivní látky

(zdroj: vlastní)

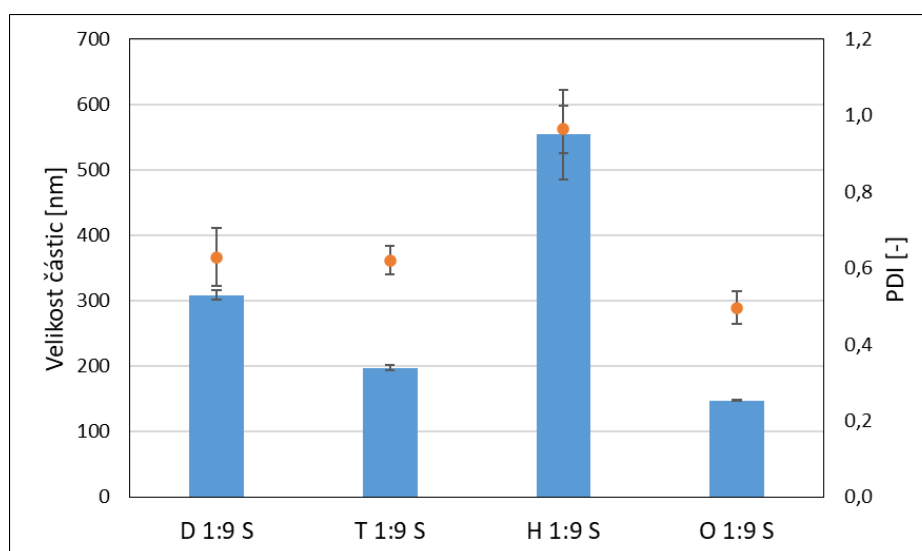
Na základě rozptylového měření byly pro další experimenty zaměřené na niozomy s enkapsulovanými aktivními látkami zvoleny vybrané formulace připravené ze surfaktantů Spanu a Tweenu v poměru 1:9 (Obr. 24, 25 a 26). Je patrné, že částice ve formulacích s obsahem amarantového oleje o vybraném poměru povrchově aktivních látek (Obr. 24) dosahovaly největší velikosti, byl-li použit mastný alkohol oktadekanol (O 1:9 A, 276 nm), nejmenší velikosti byly zaznamenány v případě použití dodekanolu (D 1:9 A, 176 nm). U formulace D 1:9 A bylo rovněž dosaženo nejvyšší hodnoty indexu polydisperzity (0,636). Nejmenší PDI vykazovala formulace T 1:9 A (0,565).



Obrázek 24 Velikost částic a index polydisperzity formulací s obsahem amarantového oleje

(zdroj: vlastní)

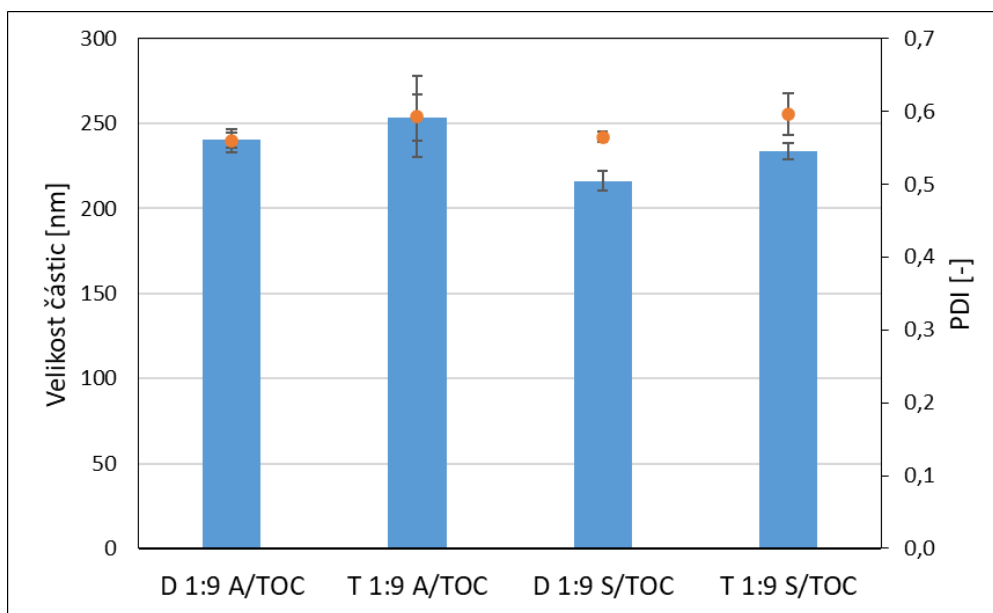
Analogicky byla velikost částic stanovena také u formulací s obsahem skvalanu a vybraném poměru tenzidů (Obr. 25), kde největší velikosti částic i nejvyšší PDI byly zaznamenány u formulace s obsahem mastného alkoholu hexadekanolu (554 nm, PDI 0,964), nejmenší pak u formulace s oktadekanolem (148 nm, PDI 0,496).



Obrázek 25 Velikost částic a index polydisperzity formulací s obsahem skvalanu

(zdroj: vlastní)

Pro přípravu vzorků s obsahem kombinace aktivních látek byly vybrány pouze dva mastné alkoholy, a to dodekanol a tetradekanol. Jak lze pozorovat na Obr. 26, velikost těchto niozomálních částic se pohybuje v poměrně úzkém rozmezí od 216 do 253 nm, bez ohledu na konkrétní kombinaci a mastný alkohol. Index polydisperzity se pohybuje v rozmezí od 0,560 do 0,596.



Obrázek 26 Velikost částic a index polydisperzity formulací s kombinací aktivních látek

(zdroj: vlastní)

Lze tak konstatovat, že studované niozomální systémy v případě poměru surfaktantů Tween a Span 1:9 vykazují jako nosiče aktivních látek velikost částic typickou pro tzv. velké unilamelární niozomy (100 nm až 3 μ m) s výjimkou částic systému D 9:1 (cca 3228 nm) [40]. Vhodnou alternativou k cholesterolu se jako stabilizátory jeví zejména dva mastné alkoholy dodekanol a tetradekanol, jež byly z toho důvodu zvoleny k přípravě komplexního nosiče (s obsahem aktivních látek).

Je zřejmé, že na velikost niozomálních částic má vliv řada faktorů, zejména pak právě konkrétní složení formulace, typ stabilizátoru a samozřejmě také vlastnosti prostředí, jako je použité rozpouštědlo, pH apod. Autoři Obeid a kol. ve své studii publikované roku 2023 zkoumali vliv rozpouštědel na fyzikálně-chemické vlastnosti nanočástic v niozomálních nosičích připravených pomocí neionických povrchově aktivních látek a cholesterolu. Byl prokázán značný vliv organického rozpouštědla na velikost a distribuci částic, konkrétně bylo zjištěno, že velikost niozomů rostla s polaritou organického rozpouštědla, ale stabilita

niozomu zůstala neovlivněna. Rovněž i rozpouštědlo, které bylo použito při rehydrataci tenké vrstvy, ovlivnilo velikost částic, distribuci velikosti částic a distribuci povrchového náboje [73].

Stejní autoři Obeid a kol. se v rámci dřívější studie (2022) věnovali charakterizaci niozomálních nanočástic určených pro dodávání léčiv a konstatovali, že velikost částic v prázdných niozomech závisí na typu použité neionické povrchově aktivní látky a procentuálním zastoupení cholesterolu. Niozomy s obsahem různých lipidů a neionických povrchově aktivních látek byly připraveny mikrofluidním mícháním lipidové a vodné fáze. Mikrofluidizace je metoda, která umožňuje naložení léčiva do částic a jejich samouspořádání v jednom kroku, aniž by bylo nutné následně upravovat velikost částic. K přípravě niozomů byly použity neionické surfaktanty Span 20, Span 80, Span 85 a Tween 85 o různých poměrech a s obsahem cholesterolu, následně byla provedena enkapsulace aktivní látky (konkrétně atenololu) a takto připravené systémy byly charakterizovány z hlediska velikosti částic a PDI. Autoři potvrzují, že metoda mikrofluidizace vede k tvorbě monodisperzních systémů o relativně malých částicích do velikosti 90 nm [74].

Autoři Nowroozi a kol. studovali vliv surfaktantů, obsahu cholesterolu a metod přípravy na velikost částic niozomů připravených metodou tenkovrstvé hydratace bez nebo s použitím sonikace a dospěli k závěru, že tento krok neovlivnil velikost nosných systémů, ale u všech niozomů vedl ke značnému snížení PDI. Snížení indexu polydisperzity značí vysokou homogenitu připravených systémů. V dané studii byla také sledována stabilita nosičů s různým složením surfaktantů Tweenu 40 a Spanu 40, s přídatkem cholesterolu o obsahu 40 %. U niozomů skladovaných při teplotě 25 °C byla od 21. dne pozorována agregátní nestabilita doprovázená značným zvýšením měřené velikosti částic [75].

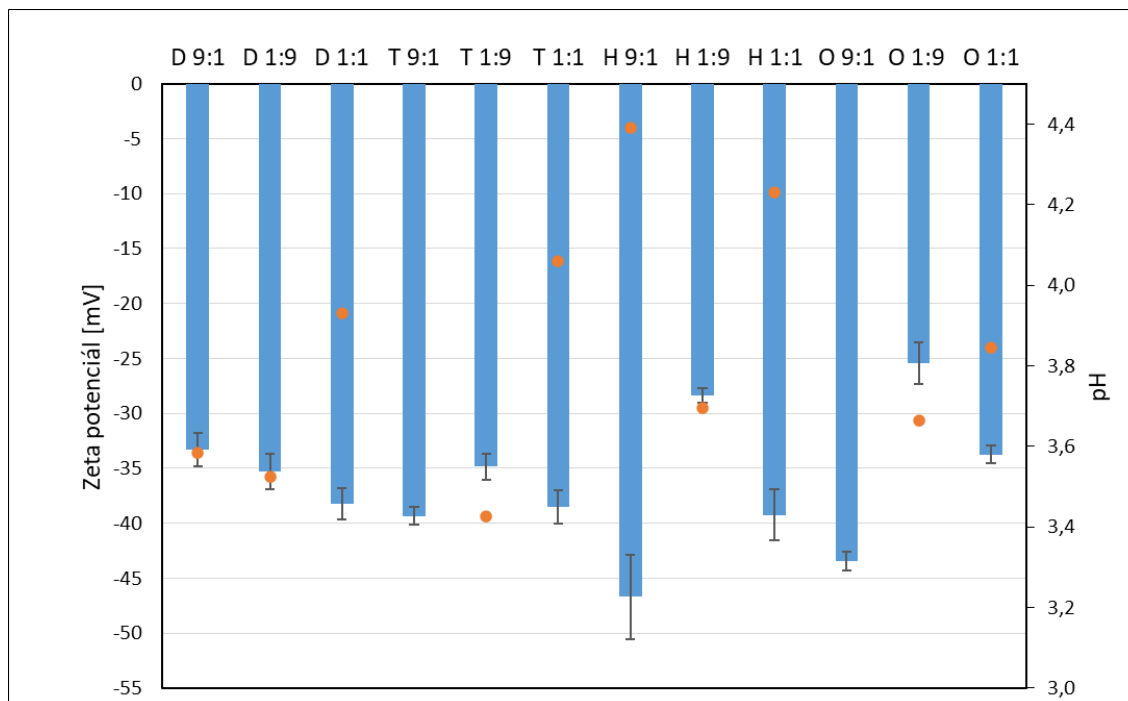
8.4 Zeta potenciál

Pro lepší pochopení fyzikálního charakteru částic jsou důležité jejich povrchové vlastnosti a náboj, jelikož tyto parametry významně ovlivňují stabilitu částic v různém prostředí, tendenci k aglomeraci a v důsledku toho také jejich interakce s živými systémy. Umístěním částice do roztoku vzniká tzv. Sternova vrstva, která má na svém povrchu elektrostatickými silami silně vázanou vrstvu iontů opačného náboje. Vnější, tzv. difúzní vrstva, je složena z volně vázaných iontů a spolu s vrstvou Sternovou utváří elektrickou dvojvrstvu. Při pohybu částice v důsledku gravitace, kinetické energie nebo přítomnosti dalšího externího náboje se pouze část volně vázaných iontů difúzní vrstvy pohybuje spolu s částicí, zatímco

zbylé ionty se s touto částicí nepohybují, tak vzniká tzv. „smyková rovina“, která představuje hranici, jejíž elektrostatický potenciál se nazývá právě zeta potenciál (ζ -potenciál) [76].

Zeta potenciál je tak ukazatelem elektrických projevů nabitého rozhraní za určitých definovaných podmínek, jako je pH a iontová síla. Zeta potenciál závisí nejen na povaze částic, ale i disperzního prostředí, do kterého jsou částice umístěny [77]. Složení a náboj na povrchu nanočástic může ovlivnit také absorpci a tzv. buněčný příjem látek nebo částic z okolí, proto je možné zeta potenciál využít také k hodnocení toxikologického potenciálu [78][79]. Je uváděno, že roztoky částic lze považovat za stabilní v rozmezí zeta potenciálů menších než -30 mV nebo větších než 30 mV a blíží-li se zeta potenciál nulové hodnotě, částice agregují [80].

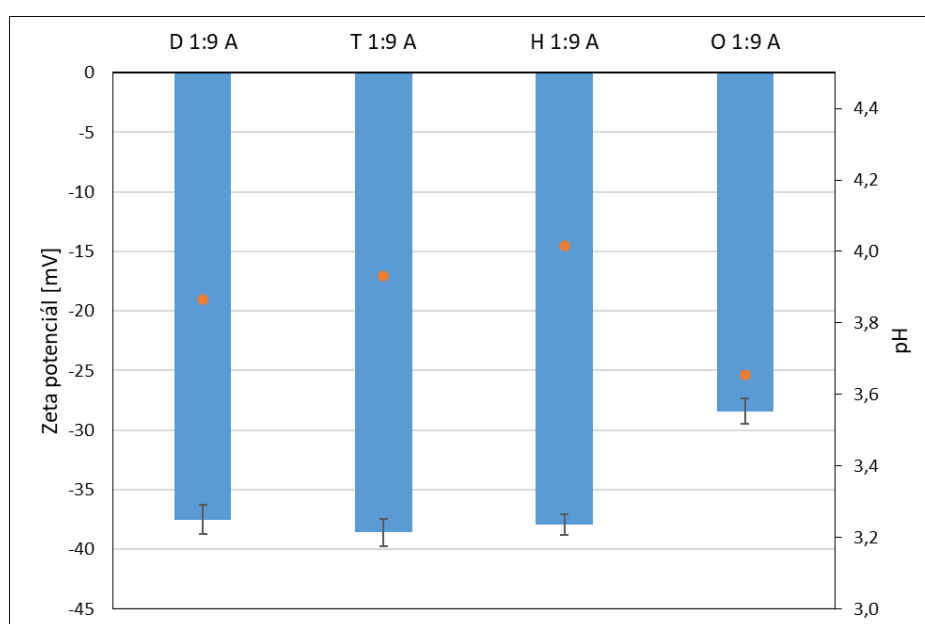
Jak lze vidět z Obr. 27, 28, 29 a 30, průměrné hodnoty zeta potenciálu byly u všech připravených formulací záporné a pohybovaly se v rozmezí od -46,7 do -25,4. Za nejméně elektrostaticky stabilní lze považovat na základě tohoto měření formulace v poměru 1:9 s delšími mastnými alkoholy (hexadekanol, oktadekanol). Ostatní vzorky vykazovaly výraznější záporný náboj dosahující uvedené hranice -30 mV. Nejvíce záporné hodnoty (méně jak -40 mV) byly naměřeny u niozomů H 9:1 a O 9:1.



Obrázek 27 Zeta potenciál a pH formulací bez aktivní látky

(zdroj: vlastní)

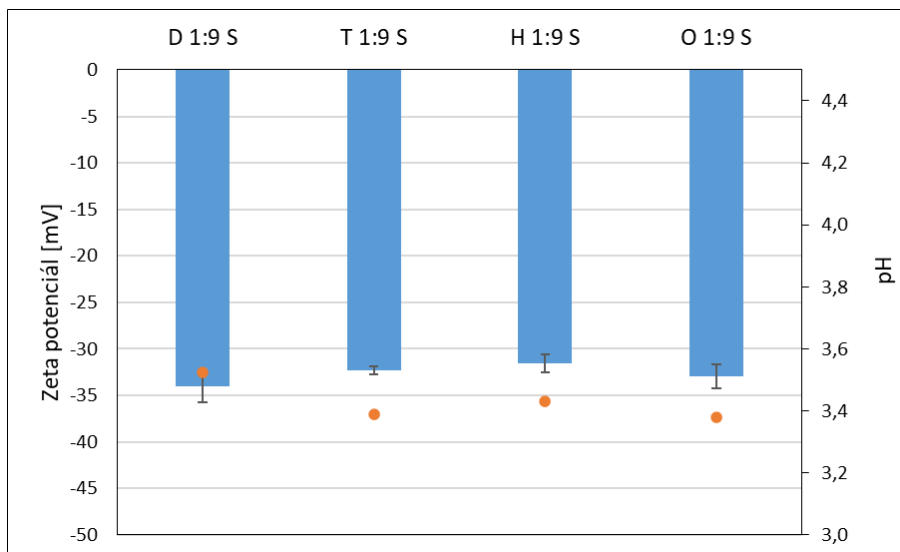
Záporný náboj byl naměřen i u niozomálních formulací s enkapsulovanými aktivními látkami. Hodnoty zeta potenciálu formulací s obsahem amarantového oleje dosahují hodnot -37,5 mV (D 1:9 A) a méně s výjimkou formulace O 1:9 A, u které zeta potenciál nabývá hodnoty -28,4 mV, což může naznačovat o něco horší elektrostatickou stabilitu tohoto systému (Obr. 28). Výsledný zeta potenciál závisí na specifických interakcích mezi jednotlivými složkami formulace. Elektrostatické vlastnosti částic jsou přímo ovlivňovány pH. Studované formulace bez aktivních látek vykazovaly spíše kyselý charakter v rozmezí pH od 3,04 do 5,18 a formulace s aktivními látkami 3,38 až 4,02.



Obrázek 28 Zeta potenciál a pH formulací s obsahem amarantového oleje

(zdroj: vlastní)

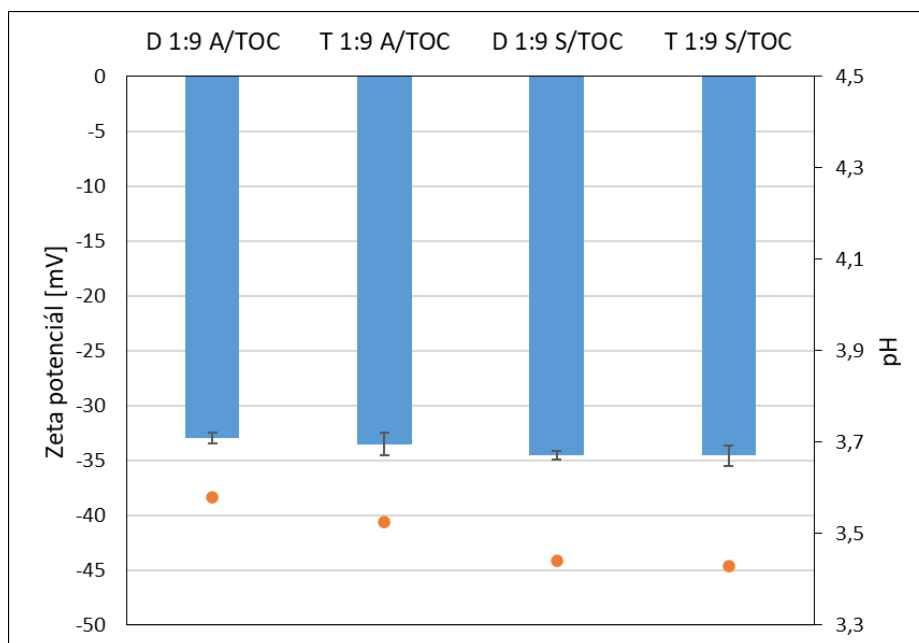
Zeta potenciál formulací s obsahem aktivní látky skvalan se pohybuje v rozmezí -34,0 mV až -31,6 mV (Obr. 29).



Obrázek 29 Zeta potenciál a pH formulací s obsahem skvalanu

(zdroj: vlastní)

Zeta potenciál formulací s kombinací aktivních látek se pohybuje v rozmezí -34,57 až -32,93 mV, přičemž hodnoty zeta potenciálu jsou v obou případech nepatrně vyšší v přítomnosti mastného alkoholu dodekanolu. Obecně zde v závislosti na použitém mastném alkoholu nebyly sledovány výraznější změny náboje částic (Obr. 30).

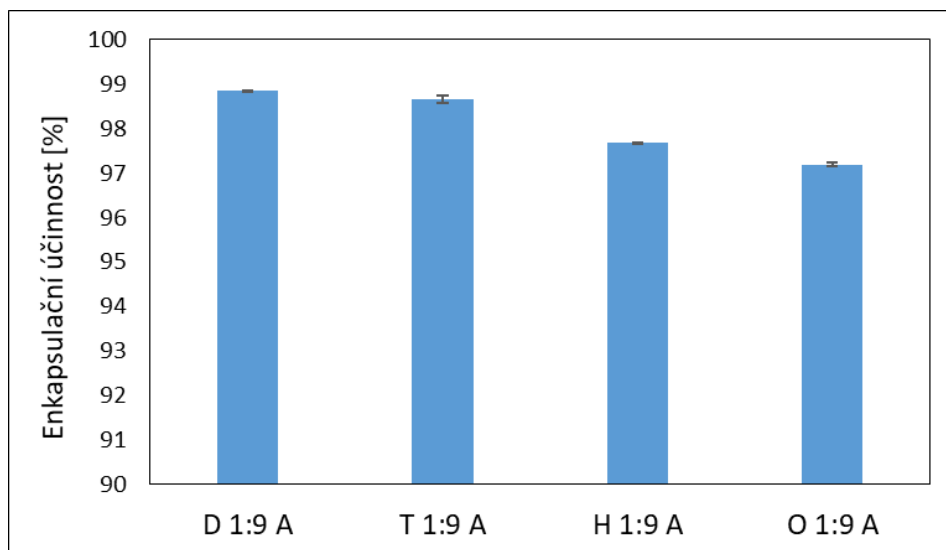


Obrázek 30 Zeta potenciál a pH formulací s kombinací aktivních látek

(zdroj: vlastní)

8.5 Enkapsulační účinnost

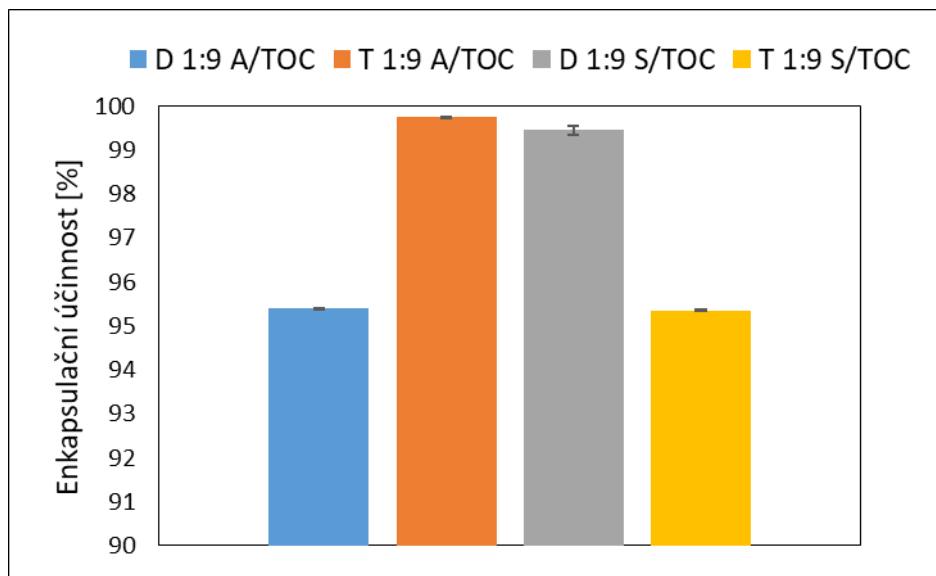
Enkapsulační účinnost byla vyhodnocena na základě spektrofotometrického měření. Z Obr. 31 je patrné, že v případě všech formulací bylo dosaženo vysoké enkapsulační účinnosti amarantového oleje (přesahující 95 %), přičemž lze pozorovat mírně klesající trend účinnosti s rostoucí délkou řetězce mastného alkoholu.



Obrázek 31 Enkapsulační účinnost formulací s obsahem amarantu

(zdroj: vlastní)

V případě kombinace amarantového oleje s tokoferyl acetátem bylo dosaženo vyšší enkapsulační účinnosti, byl-li do formulace použit mastný alkohol tetradekanol (99,74 %) než v případě použití mastného alkoholu dodekanolu (95,39 %) (Obr. 32). Na druhou stranu, u formulací s obsahem skvalanu a tokoferyl acetátu byl sledován opačný trend, tj. účinnost klesala s delším řetězcem mastného alkoholu. Enkapsulační účinnost formulací s obsahem samotného skvalanu nebylo možné stanovit z důvodu irelevantních hodnot absorbance nezbytných k sestavení kalibrační přímky.



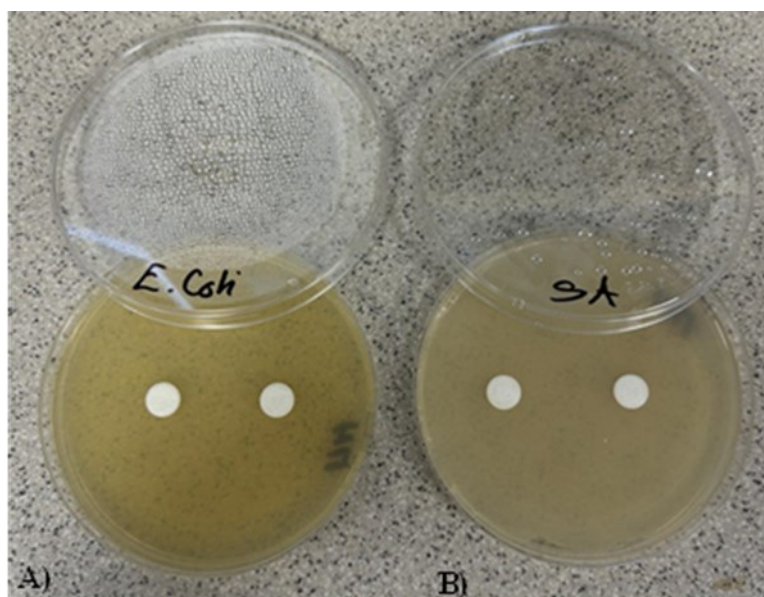
Obrázek 32 Enkapsulační účinnost formulací s kombinací aktivních látek

(zdroj: vlastní)

Autoři Gao a kol. testovali ve své studii z roku 2024 niozomy obsahující povrchově aktivní látky a cholesterol z hlediska jejich aplikace v oblasti medicíny a porovnávali vliv metody zvolené pro přípravu niozomálních formulací na účinnost enkapsulace. Bylo prokázáno, že velké unilamelární vezikuly připravené metodou reverzní fázové evaporace i metodou využívající superkritický oxid uhličitý vykazují vysoké hodnoty enkapsulační účinnosti. Studie také uvádí, že niozomy s 50 % cholesterolu vykazují vyšší účinnost enkapsulace ve srovnání s niozomy s obsahem cholesterolu do 20 %. Enkapsulační účinnost závisí také na hydrofilně-lipofilní rovnováze, uvádí se, že při použití povrchově aktivních látek s vysokým HLB dochází ke snížení enkapsulační účinnosti. Zvýšení podílu Span 60, je-li použit k výrobě niozomů v kombinaci se surfaktantem Span 40, vedlo ke zvýšení enkapsulační účinnosti [81]. Autoři Varshosaz a kol. připravili niozomální formulace na bázi Spanu 60, Tweenu 60 a cholesterolu v poměru S60/T60/Chol 35:35:30, u kterých následně studovali fyzikálně-chemické vlastnosti *in vitro*. Bylo dosaženo relativně vysoké enkapsulační účinnosti α -tokoferolu ($91,5 \pm 3,54$ %), což je autory studie přisuzováno hydrofobní povaze vitamínu a jeho interakcím ve středu lipofilní dvojvrstvy povrchově aktivních látek [82].

8.6 Antimikrobiální aktivita

Antimikrobiální aktivita aktivních látek amarantového oleje a skvalanu byla hodnocena po 24 hodinách kultivace bakterií *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* o koncentraci 0,5 McF, a to odečtením inhibiční zóny vzniklé v okolí disků. Výsledky ovšem neprokázaly žádné výrazné antimikrobiální vlastnosti testovaných vzorků, což dokládá absence inhibičních zón (Obr. 33).



Obrázek 33 Výsledek diskové difúzní metody vzorků amarantového oleje A) *E. coli*, B) *S. aureus*

(zdroj: vlastní)

Ve studii autorů M. A. Al-Mamuna a kol. byla zkoumána antimikrobiální aktivita extraktů z *Amaranthus lividus* a *Amaranthus hybridus* proti několika patogenním bakteriím, včetně *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* pomocí diskové difúzní metody. Autoři M. A. Al-Mamuna a kol. použili sterilní papírové disky o průměru 6 mm napuštěné rostlinnými extrakty v množství 50 µg na disk. Jako pozitivní kontrola byl využit kanamycin v množství 15 µg na disk. Výsledky ukázaly, že žádný z testovaných bakteriálních kmenů nebyl citlivý na použité extrakty v míře srovnatelné s pozitivní kontrolou. Inhibice bakteriálního růstu byla zanedbatelná, přičemž *E. coli* vykazovala relativně vyšší citlivost ve srovnání s ostatními bakteriemi – zóna inhibice dosahovala $8,6 \pm 0,79$ mm pro extrakt *Amaranthus lividus* a $9,4 \pm 0,61$ mm pro extrakt *Amaranthus hybridus* [83]. Přesto lze konstatovat, že výsledky dané studie byly příznivější ve srovnání s naším měřením.

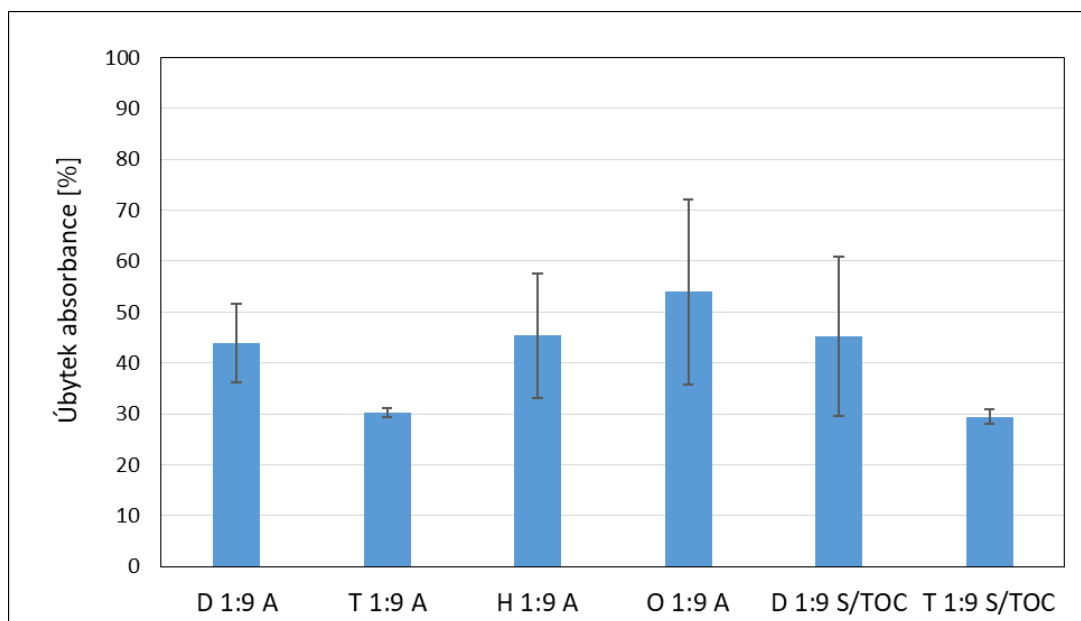
Důvodem může být i jiné dávkování testované látky na disk, které bylo v našem experimentu nižší (10 μ l). Je ovšem také zřejmé, že výsledky mohou být ovlivněny nejen rozdílným způsobem testování antimikrobiální aktivity, ale také konkrétním druhem oleje a typem extraktu včetně aplikované extrakční metody. Je známo, že některé extrakty z rodu *Amaranthus* nemusí vykazovat významné antimikrobiální účinky proti *E. coli* a *S. aureus*.

8.7 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita vybraných aktivních látek v systémech s různými mastnými alkoholy byla stanovena metodou DPPH, která je založena na zhášení stabilních radikálů DPPH. Antioxidační aktivita byla vyhodnocena jako procentuální úbytek absorbance získané jejím spektrofotometrickým stanovením.

Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval vzorek s amarantový olejem v systému s mastným alkoholem oktadekanolem (53,99 %), dále následovaný formulací s hexadekanolem (45,37 %) a dodekanolem (43,85 %). Nejnižší antioxidační aktivity v případě formulací s amarantovým olejem bylo dosaženo při použití mastného alkoholu tetradekanolu (30 %) (Obr. 34). Antioxidační aktivitu kombinace aktivní látky tokoferyl acetátu s amarantovým olejem se nepodařilo stanovit, jelikož naměřené hodnoty absorbancí byly vysoké. Důvodem mohly být ne zcela jednoznačně definované interakce mezi aktivními složkami a DPPH, následně změna charakteru roztoku, zvýšení zákalu vedoucí k pozitivní chybě a zvýšené absorbanci.

Studie [84] autorů Mambro a kol. z roku 2003 se zaměřila na srovnání antioxidačních účinků různých forem vitamínu E a také topických formulací s obsahem těchto aktivních sloučenin. Bylo prokázáno, že acetátová forma vitamínu E, na rozdíl od jeho jiných forem, nevykazuje antioxidační aktivitu využitím DPPH metody. Tato skutečnost je dána neschopností acetátové formy vitamínu fungovat jako donor vodíku pro neutralizaci DPPH radikálu. Z Obr. 34 je patrné, že nejnižší antioxidační aktivitu vykazovala formulace s kombinací aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát v přítomnosti tetradekanolu (29,46 %), zatímco v přítomnosti dodekanolu odpovídal úbytek absorbance hodnotě 45,18 %.



Obrázek 34 Antioxidační aktivita aktivních látek v různých systémech

(zdroj: vlastní)

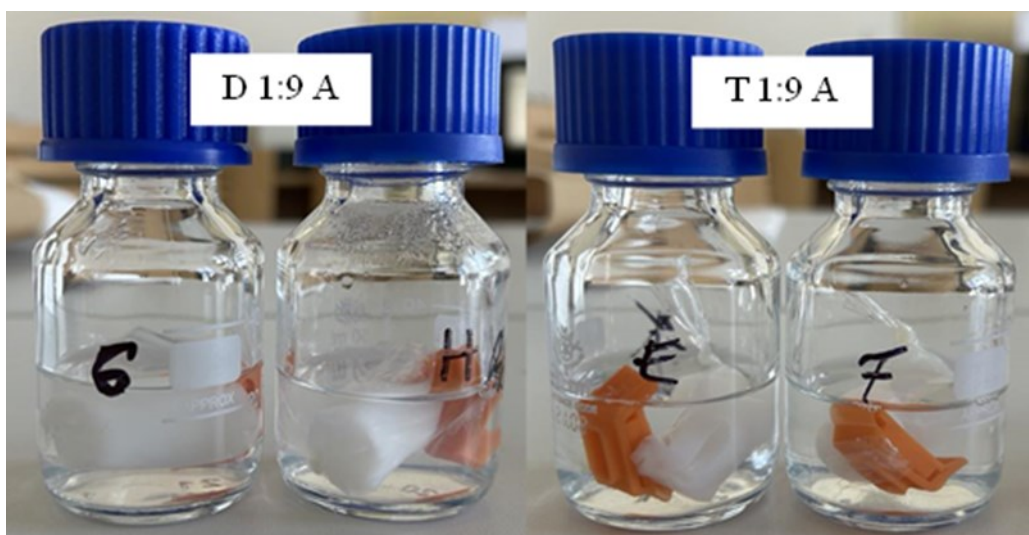
Byla publikována řada studií zaměřených na antioxidační aktivitu různých částí rostliny amarantu, zejména listů, semen a stonků, avšak publikace zaměřené přímo na antioxidační účinky amarantového oleje jsou omezené. Schopnost amarantového oleje zhaset stabilní volné radikály DPPH výrazně závisí na obsahu fytochemických sloučenin s antioxidační aktivitou. Vzhledem k rozdílnému procentuálnímu zastoupení těchto látek mezi jednotlivými druhy amarantu lze napříč těmito druhy očekávat i odlišnou úroveň antioxidační aktivity [85].

Akin-Idowu P. E. a kol. zkoumali fytochemický obsah a antioxidační aktivitu pěti druhů amarantu, prostřednictvím DPPH metody. Směs byla důkladně protřepána a ponechána ve tmě po dobu 50 minut, dokud nebylo dosaženo stabilní hodnoty absorbance. Redukce DPPH radikálu byla stanovena na základě poklesu absorbance měřené při 517 nm oproti metanolu jako slepému vzorku. Autorům se podařilo stanovit antioxidační aktivitu *A. hybridus*, *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* a *A. caudatus*, a to v rozmezí 89,53–93,35 % [86]. Pokud jde o specifickou kombinaci aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát, nebyly nalezeny studie zaměřené na testování jejich antioxidační aktivity, lze však předpokládat jejich synergický účinek.

8.8 Kinetika uvolňování aktivní látky

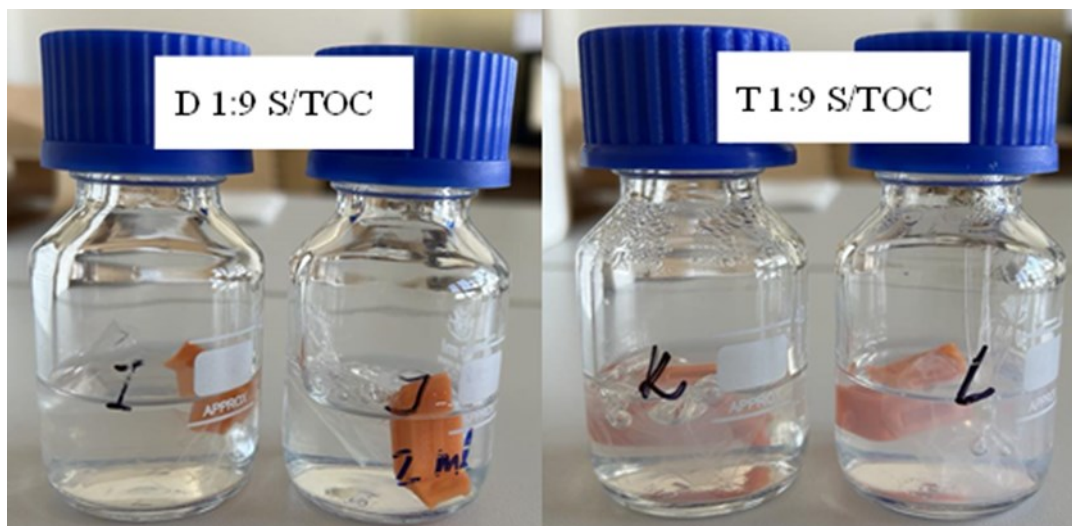
Stanovení kinetiky uvolňování aktivních látek z niozomálních nosičů, tzv. release test, byl proveden metodou dialyzační (*in vitro*) v prostředí PBS pufru (Obr. 35 a 36).

Na Obr. 37 a 38 jsou graficky znázorněna procentuální kumulativní množství aktivních látek uvolněných ze systému v odpovídajících časech. Srovnáním kinetiky uvolňování amarantového oleje ze systému s obsahem dodekanolu a tetradekanolu lze pozorovat podobný průběh během prvních 100 hodin testu, zatímco v dalších hodinách byly zaznamenány větší rozdíly. Rychlejší uvolňování bylo prokázáno u formulace s kratším mastným alkoholem D 1:9 A, kdy během zhruba 100 hodin testu bylo uvolněno 96 %. Na druhou stranu, z nosiče s delším mastným alkoholem tetradekanolem probíhalo uvolňování amarantového oleje pozvolněji a maximální uvolněné množství dosáhlo po 216 hodinách experimentu hodnoty 79 % (Obr. 37).



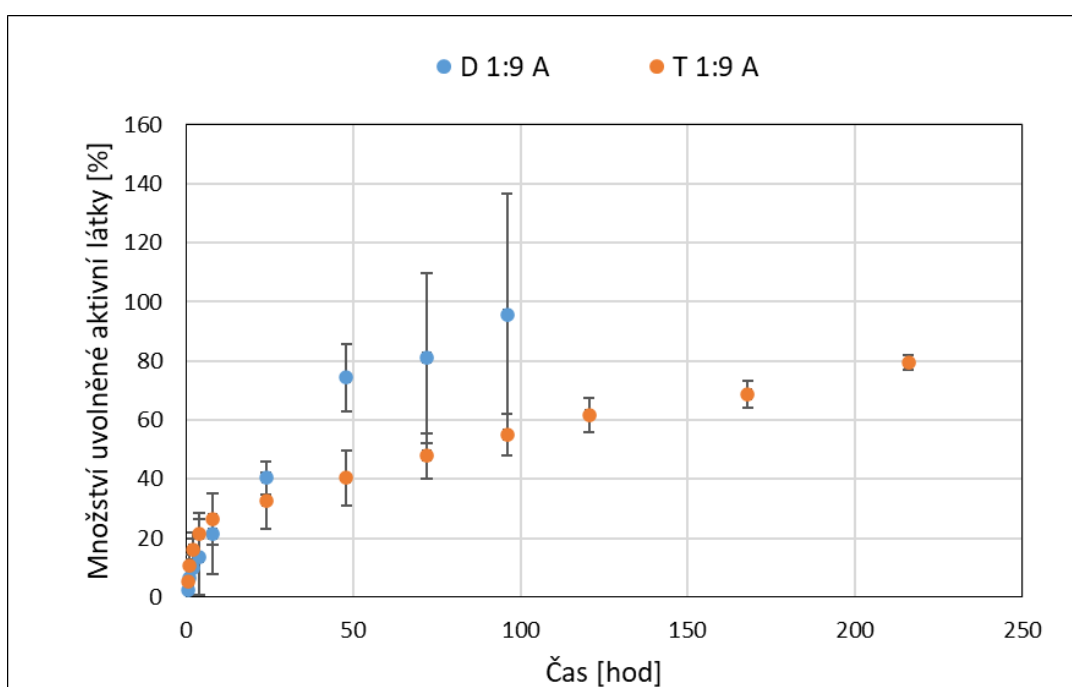
Obrázek 35 Vzorky D 1:9 A a T 1:9 A po 216 hodinách testu uvolňování

(zdroj: vlastní)



Obrázek 36 Vzorky D 1:9 S/TOC a T 1:9 S/TOC po 216 hodinách testu uvolňování

(zdroj: vlastní)

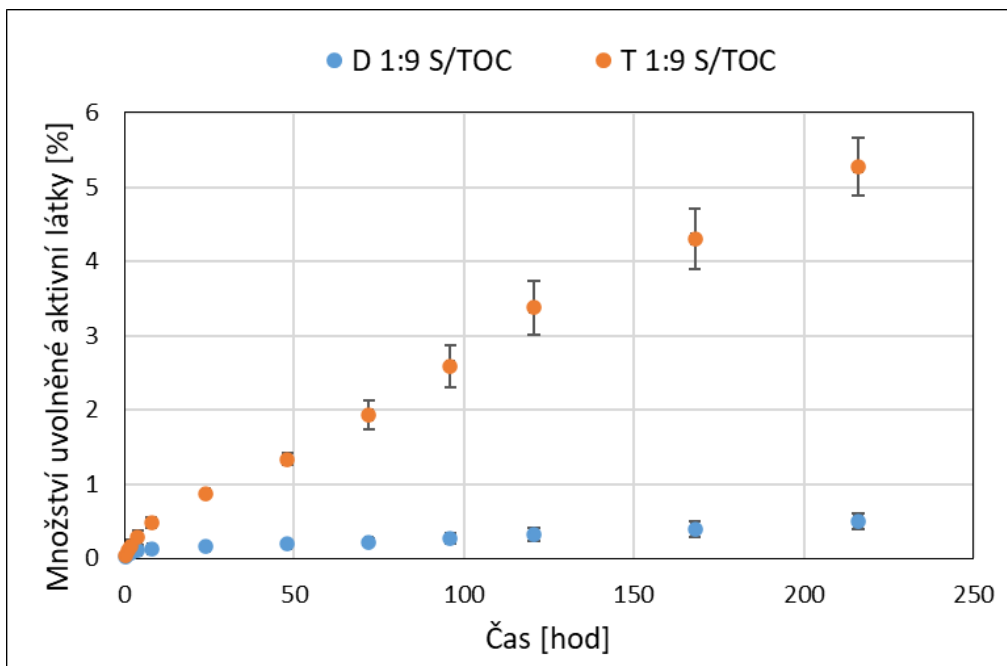


Obrázek 37 Množství amarantového oleje uvolněného v závislosti na čase

(zdroj: vlastní)

Uvolňování kombinace aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát (Obr. 38) vykazovalo zcela rozdílný průběh a uvolněná množství byla v obou systémech ve srovnání s kinetikou uvolňování amarantového oleje prokazatelně nižší. Kombinace aktivních látek se ze systému

s obsahem tetradekanolu uvolňovala až do ukončení experimentu v čase 216 hodin téměř konstantní rychlostí, ovšem maximální uvolnění činilo pouhých 5,27 %. Ještě nižší hodnoty uvolněného množství byly zaznamenány u nosiče s dodekanolem, kdy během celého testu uvolněné naměřené množství z formulace D 1:9 S/TOC nepřesáhlo 0,50 %.



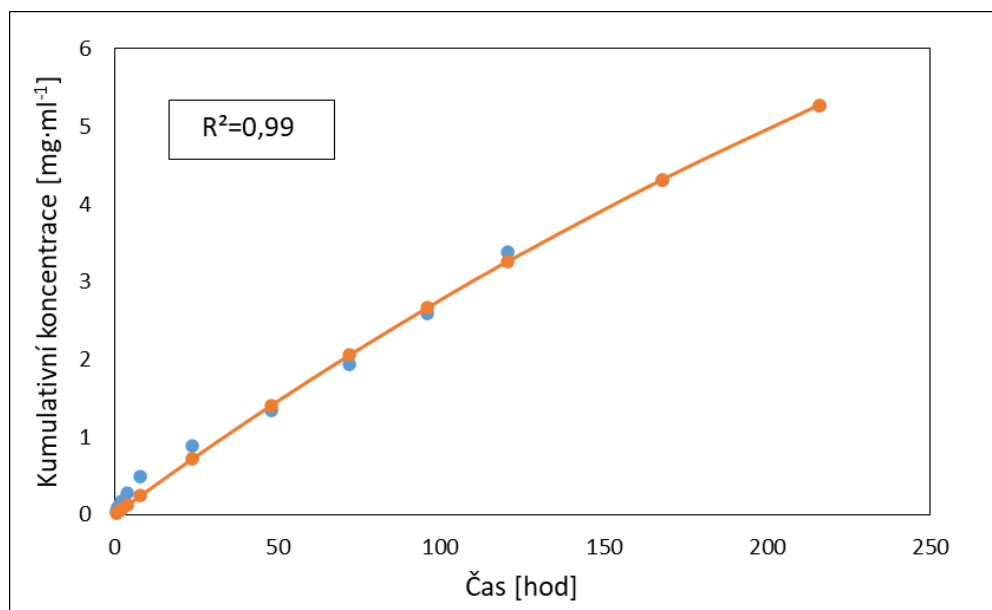
Obrázek 38 Množství kombinace aktivních látek skvalanu a tokoferyl acetátu uvolněné v závislosti na čase

(zdroj: vlastní)

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že výběr mastného alkoholu má ve všech případech vliv na dynamiku uvolňování, v důsledku pravděpodobných odlišných interakcí mezi nosičem a aktivní látkou. Aktivní látky se mohou v nosičích zadržovat a ze systémů difundovat do okolí prostřednictvím různých mechanismů, proto lze u některých systémů pozorovat zpomalené uvolňování, zatímco jiné dosahují téměř úplného uvolnění účinné látky během prvních hodin experimentu.

Průběh uvolňování aktivních látek z připravených formulací byl analyzován prostřednictvím rovnice popisující kinetiku prvního řádu (viz Rovnice 3) a také pomocí Korsmeyer-Peppas modelu (viz Rovnice 4). Obr. 39 reprezentuje závislost detekovaného množství kombinace aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát u formulace s obsahem tetradekanolu v závislosti na čase. Získaná data pro odpovídající formulaci T 1:9 S/TOC

jsou proložena fitovaným modelem. Stanovené koeficienty determinace a rychlostní konstanty, které vycházejí z kinetických modelů, jsou uvedeny v Tabulce 6.



Obrázek 39 Závislost kumulativní koncentrace kombinace skavalanu a tokoferyl acetátu uvolněné z formulace T 1:9 S/TOC na čase proložená fitovaným modelem dle rovnice kinetiky 1. řádu

(zdroj: vlastní)

Tabulka 6 Konstanty získané pomocí matematických modelů popisujících uvolňování aktivních látek z jednotlivých formulací

Kinetický model	Kinetika 1. řádu		Korsmeyer-Peppas		Exponent uvolňování
Formulace	r^2	$-k \cdot 10^{-3} [\text{h}^{-1}]$	r^2	$-k \cdot 10^{-3} [\text{h}^{-1}]$	n
D 1:9 A	0,995	0,006	0,996	0,3573	0,62
T 1:9 A	0,967	0,021	0,994	0,5360	0,36
D 1:9 S/TOC	0,971	0,008	0,977	0,0361	0,47
T 1:9 S/TOC	0,999	0,002	0,999	0,0543	0,85

(zdroj: vlastní)

Na základě odpovídajících koeficientů determinace lze konstatovat, že model Korsmeyer-Peppas vypovídá o průběhu uvolňování aktivních látek z testovaných nosičů o něco lépe,

s výjimkou formulace T 1:9 S/TOC, kde bylo dosaženo srovnatelných výsledků u obou kinetických modelů. Exponent uvolňování n (0,36–0,85) u Krosmeier-Peppas modelu poukazuje na různé mechanismy uvolňování.

ZÁVĚR

Cílem teoretické části diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši zaměřenou na přírodní aktivní látky získávané z pseudocereálních zdrojů a zhodnotit jejich potenciál pro vývoj formulací využitelných nejen v kosmetických aplikacích. Důraz byl kladen na charakteristiku amarantového oleje jako zdroje biologicky aktivních složek, zejména skvalenu, tokoferolů a dalších lipofilních antioxidantů.

Hlavní cíle praktické části diplomové práce zahrnovaly formulaci niozomálních nosičů s různými poměry neionických povrchově aktivních látek a různých mastných alkoholů, jako alternativy běžně využívaného cholesterolu. Vybrané formulace byly dále využity pro enkapsulaci amarantového oleje, skvalanu a jejich kombinací s aktivní látkou tokoferyl acetát. Niozomy byly připraveny metodou hydratace lipidového filmu a následně charakterizovány z hlediska fyzikálně-chemických a biologických parametrů, včetně enkapsulační účinnosti, antimikrobiální aktivity a kinetiky uvolňování aktivních látek.

Průměrná velikost částic se v připravených formulacích bez aktivní látky pohybovala v širokém rozmezí od 407 nm (O 1:1) až po 3228 nm (D 9:1). Velikost niozomálních částic v systémech s obsahem aktivní látky se pohybovala v užším intervalu, a to od 148 nm (O 1:9 S) do 554 nm (H 1:9 S). Optimální výsledky velikostí částic s relativně úzkou distribucí vykazovaly formulace o poměru surfaktantů Tween a Span 1:9. Na základě rozptylových měření lze připravené nosiče klasifikovat do skupiny větších unilamelárních niozomů, přičemž jako optimální alternativa cholesterolu se jeví spíše kratší mastné alkoholy dodekanol a tetradekanol. Zeta potenciál většiny vzorků dosahoval hodnot nižších než - 30 mV, což svědčí o elektrostatické stabilitě systémů. Naměřené hodnoty pH se pohybovaly ve spíše kyselé oblasti, v rozmezí 3,4–5,2.

Enkapsulační účinnost dosahovala až 99, 74 % u formulace s kombinací amarantového oleje s tokoferyl acetátem v přítomnosti tetradekanolu. Nejnížší, ovšem stále prokazatelně vysokou enkapsulační účinnost, vykazovala formulace T 1:9 S/TOC (95,35 %).

Bylo potvrzeno, že antioxidační účinky vybraných aktivních látek závisí na typu použitého mastného alkoholu i samotné účinné látce. Nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena u systému s amarantovým olejem a oktadekanolem (A 1:9 O), konkrétně 53,99 %. Naopak nejnížší antioxidační aktivitu (necelých 30 %) vykazoval systém s kombinací skvalanu a tokoferyl acetátu s obsahem tetradekanolu.

Antimikrobiální aktivita testovaných vzorků byla celkově nízká a neprokázala signifikantní inhibici testovaných mikroorganismů, což je v rozporu s tvrzením, že bioaktivní látky amarantového oleje, jako jsou skvalen, fenolické sloučeniny a nenasycené mastné kyseliny vykazují antimikrobiální vlastnosti. Nicméně, jak bylo prokázáno některými studiemi, hraje zde významnou roli konkrétní druh oleje i použitá metoda testování.

Kinetika uvolňování aktivních látek byla sledována po dobu 216 hodin a probíhala různě v závislosti na složení formulací. Nejvyšší procento amarantového oleje (96 %) se v prvních 100 hodinách uvolnilo ze systému D 1:9 A (s obsahem dodekanolu). Množství amarantového oleje uvolněného ze systému s obsahem tetradekanolu bylo zřejmě nižší (79 %). Nejnižší uvolněné množství, a to do 6 %, bylo zjištěno u systémů s kombinací aktivních látek skvalen a tokoferyl acetát. Průběh uvolňování odpovídal o něco lépe kinetice dle modelu Korsmeyer-Peppas. Dle exponentů n (0,36–0,85) ovšem nelze usuzovat na jednotný mechanismus uvolňování z testovaných niozomů. Na základě výsledků je možno potvrdit vliv typu použitého mastného alkoholu a konkrétního poměru surfaktantů v nosné matrici na podmínky uvolňování účinné látky.

Závěrem lze konstatovat, že mastné alkoholy mohou v niozomálních formulacích účinně nahradit cholesterol, aniž by došlo ke ztrátě funkčních vlastností připravených systémů. Zvolením vhodných poměrů neionických tenzidů a typu mastného alkoholu pro formulaci takových systémů bylo možné připravit rozměrově a elektrostaticky stabilní nosné systémy s obsahem přírodních aktivních látek, a docílit tak vysoké enkapsulační účinnosti. Připravené nosiče by mohly nalézt uplatnění ve funkční kosmetice s kontrolovaným uvolňování přírodních antioxidačních a hydratačních složek.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MARTÍNEZ-VILLALUENGA, Cristina; PEÑAS, Elena a HERNÁNDEZ-LEDESMA, Blanca. Pseudocereal grains: Nutritional value, health benefits and current applications for the development of gluten-free foods. Online. Food and Chemical Toxicology. 2020, roč. 137. ISSN 02786915. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111178>. [cit. 2023-03-20].
- [2] KAMALI, Elahe; SAHARI, Mohammad Ali; BARZEGAR, Mohsen a AHMADI GAVLIGHI, Hassan. Novel oleogel formulation based on amaranth oil: Physicochemical characterization. Online. Food Science & Nutrition. 2019, roč. 7, č. 6, s. 1986-1996. ISSN 2048-7177. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1018>. [cit. 2024-08-19].
- [3] JANCUROVÁ, Michala; MINAROVÍČOVÁ, Lucia a DANDÁR, Alexander. Quinoa - a review. Online. Czech Journal of Food Sciences. 2009, roč. 27, č. 2, s. 71-79. ISSN 12121800. Dostupné z: <https://doi.org/10.17221/32/2008-CJFS>. [cit. 2024-11-29].
- [4] CASTAÑO-ÁNGEL, Cristhian Camilo; TARAPUES-CUASAPUD, Jesús Alexander; BRAVO-GÓMEZ, Jesús Eduardo; SOLANILLA-DUQUE, Jose Fernando a ROA-ACOSTA, Diego Fernando. Preliminary study of physicochemical, thermal, rheological, and interfacial properties of quinoa oil. Online. F1000Research. 2023, roč. 12. ISSN 2046-1402. Dostupné z: <https://doi.org/10.12688/f1000research.134134.1>. [cit. 2024-08-27].
- [5] MU, Hongyan; XUE, Sophia; SUN, Qingrui; SHI, John; ZHANG, Danyang et al. Research Progress of Quinoa Seeds (*Chenopodium quinoa* Wild.): Nutritional Components, Technological Treatment, and Application. Online. Foods. 2023, roč. 12, č. 10. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12102087>. [cit. 2024-08-27].
- [6] FLÓREZ-MARTÍNEZ, Diego Hernando; RODRÍGUEZ-CORTINA, Jader; CHAVEZ-OLIVEROS, Luis Fernando; AGUILERA-ARANGO, Germán Andrés a MORALES-CASTAÑEDA, Alexis. Current trends and prospects in quinoa research: An approach for strategic knowledge areas. Online. Food Science & Nutrition. 2024, roč. 12, č. 3, s. 1479-1501. ISSN 2048-7177. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/fsn3.3891>. [cit. 2024-08-27].

- [7] CASALVARA, Rhaira Fernanda Ayoub; FERREIRA, Bruna Mayara Roldão; GONÇALVES, José Eduardo; YAMAGUCHI, Natália Ueda; BRACHT, Adelar et al. Biotechnological, Nutritional, and Therapeutic Applications of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and Its By-Products: A Review of the Past Five-Year Findings. Online. *Nutrients*. 2024, roč. 16, č. 6. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu16060840>. [cit. 2024-08-27].
- [8] EWG Skin Deep® | Milk Shake Curl Passion Leave In. Environmental Working Group – Know your choices | Environmental Working Group [online]. Copyright © 2025. Environmental Working Group. All Rights Reserved. [cit. 30.03.2025]. Dostupné z: https://www.ewg.org/skindeep/products/1041685-Milk_Shake_Curl_Passion_Leave_In/.
- [9] SAYED-AHMAD, Bouchra; URRUTIGOITY, Martine; HIJAZI, Akram; SAAD, Zeinab; CERNY, Muriel et al. Amaranth Oilseed Composition and Cosmetic Applications. Online. *Separations*. 2022, roč. 9, č. 7. ISSN 2297-8739. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/separations9070181>. [cit. 2024-08-19].
- [10] SATTAR, Moazma; SAEED, Farhan; AFZAAL, Muhammad; RASHEED, Amara; ASIF, Aliha et al. An overview of the nutritional and therapeutic properties of amaranth. Online. *International Journal of Food Properties*. 2024, roč. 27, č. 1, s. 263-272. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10942912.2024.2304266>. [cit. 2024-11-29].
- [11] CHENG, Le; JI, Tengting; ZHANG, Ming a FANG, Bing. Recent advances in squalene: Biological activities, sources, extraction, and delivery systems. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2024, roč. 146. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104392>. [cit. 2024-11-29].
- [12] LOU-BONAFONTE, José M.; MARTÍNEZ-BEAMONTE, Roberto; SANCLEMENTE, Teresa; SURRA, Joaquín C.; HERRERA-MARCOS, Luis V. et al. Current Insights into the Biological Action of Squalene. Online. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018, roč. 62, č. 15. ISSN 1613-4125. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800136>. [cit. 2024-08-22].
- [13] CONDRÒ, Giorgia; SCIORTINO, Roberta a PERUGINI, Paola. Squalene Peroxidation and Biophysical Parameters in Acne-Prone Skin: A Pilot “In Vivo” Study. Online.

- Pharmaceuticals. 2023, roč. 16, č. 12. ISSN 1424-8247. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ph16121704>. [cit. 2024-08-22].
- [14] HUANG, Zih-Rou; LIN, Yin-Ku a FANG, Jia-You. Biological and Pharmacological Activities of Squalene and Related Compounds: Potential Uses in Cosmetic Dermatology. Online. Molecules. 2009, roč. 14, č. 1, s. 540-554. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules14010540>. [cit. 2024-08-22].
- [15] Comparative study on anti-aging effect of squalene and vitamin E to skin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, (13): 91-93. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2013.13.003.
- [16] EWG Skin Deep® | The Ordinary Retinol in Squalane 2019 formulation. Environmental Working Group – Know your choices | Environmental Working Group [online]. Copyright © 2024. Environmental Working Group. All Rights Reserved. [cit. 28.12.2024]. Dostupné z: https://www.ewg.org/skindeep/products/879435-The_Ordinary_Retinol_02_in_Squalane_2019_formulation/.
- [17] EWG Skin Deep® | The Ordinary Vitamin C Suspension 23 HA Spheres 2 2019 formulation. Environmental Working Group – Know your choices | Environmental Working Group [online]. Copyright © 2024. Environmental Working Group. All Rights Reserved.[cit. 28.12.2024]. Dostupné z: <https://www.ewg.org/skindeep/products/879443-the-ordinary-vitamin-c-suspension-23-ha-spheres-2-2019-formulation/>.
- [18] WOŁOSIK, Katarzyna; ZAREBA, Ilona; SURAZYNSKI, Arkadiusz a MARKOWSKA, Agnieszka. The possible pre -and post -UVA radiation protective effect of amaranth oil on human skin fibroblast cells. Online. Pharmacognosy Magazine. 2017, roč. 13, č. 50. ISSN 0973-1296. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/pm.pm_522_15. [cit. 2023-03-21].
- [19] LACATUSU, Ioana; ARSENIE, Laura Vasilica; BADEA, Gabriela; POPA, Ovidiu; OPREA, Ovidiu et al. New cosmetic formulations with broad photoprotective and antioxidative activities designed by amaranth and pumpkin seed oils nanocarriers. Online. Industrial Crops and Products. 2018, roč. 123, s. 424-433. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.083>. [cit. 2024-10-30].
- [20] GANDHI, Puneet; SAMARTH, Ravindra M. a PETER, Kavita. Bioactive Compounds of Amaranth (Genus Amaranthus). Online. In: MURTHY, Hosakatte Niranjana a

PAEK, Kee Yoeup (ed.). Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes. Reference Series in Phytochemistry. Cham: Springer International Publishing, 2021, s. 39-74. ISBN 978-3-030-57414-7. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-030-57415-4_3. [cit. 2024-10-30].

- [21] Pallavi S. Karanje, Rajendra C. Doijad, Rohit R. Bhosale, "FORMULATION AND EVALUATION OF HERBAL LIPSTICK CONTAINING AMARANTHUS CRUENTUS LINN", IJRAR - International Journal of Research and Analytical Reviews (IJRAR), E-ISSN 2348-1269, P- ISSN 2349-5138, Volume.7, Issue 1, Page No pp.246-255, March 2020 Available at : <http://www.ijrar.org/IJRAR2001886.pdf>.
- [22] CARAMONA, Aline; MARTINS, Ana M.; SEIXAS, João a MARTO, Joana. The use, reuse and valorization of lupin and its industry by-products for dermocosmetics applications. Online. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2024, roč. 38. ISSN 23525541. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101477>. [cit. 2024-09-15].
- [23] ESTIVI, Lorenzo; BRANDOLINI, Andrea; GASPARINI, Andrea a HIDALGO, Alyssa. Lupin as a Source of Bioactive Antioxidant Compounds for Food Products. Online. Molecules. 2023, roč. 28, č. 22. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules28227529>. [cit. 2024-08-30].
- [24] AL-AMROUSI, Eman; BADR, Ahmed; ABDEL-RAZEK, Adel; GROMADZKA, Karolina; DRZEWIECKA, Kinga et al. A Comprehensive Study of Lupin Seed Oils and the Roasting Effect on Their Chemical and Biological Activity. Online. Plants. 2022, roč. 11, č. 17. ISSN 2223-7747. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants11172301>. [cit. 2024-08-30].
- [25] MORSY, Tarek A.; KHOLIF, Ahmed E.; ADEGBEYE, Moyòsore J.; OLAFADEHAN, Olurotimi A.; GOUDA, Gouda A. et al. Lupin Seed Supplementation as a Functional Feed Additive: In Vitro Ruminant Gas, Methane and Carbon Dioxide Production, Fermentation Kinetics, and Nutrient Degradability. Online. Animals. 2024, roč. 14, č. 14. ISSN 2076-2615. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ani14142119>. [cit. 2024-09-15].
- [26] KNEZ HRNČIČ, Maša; IVANOVSKI, Maja; CÖR, Darija a KNEZ, Željko. Chia Seeds (*Salvia Hispanica* L.): An Overview—Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. Online. Molecules. 2020, roč. 25, č. 1. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules25010011>. [cit. 2024-12-01].

- [27] ULLAH, Rahman; NADEEM, M.; KHALIQUE, A.; IMRAN, M.; MEHMOOD, S. et al. Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. Online. Journal of Food Science and Technology. 2016, roč. 53, č. 4, s. 1750-1758. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1967-0>. [cit. 2024-12-27].
- [28] FERNANDES, Sibeles Santos; EGEA, Mariana Buranelo; SALAS-MELLADO, Myriam de las Mercedes a SEGURA-CAMPOS, Maira Rubi. Chia Oil and Mucilage Nanoemulsion: Potential Strategy to Protect a Functional Ingredient. Online. International Journal of Molecular Sciences. 2023, roč. 24, č. 8. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24087384>. [cit. 2024-12-27].
- [29] JEONG, Se Kyoo; PARK, Hyun Jung; PARK, Byeong Deog a KIM, Il-Hwan. Effectiveness of Topical Chia Seed Oil on Pruritus of End-stage Renal Disease (ESRD) Patients and Healthy Volunteers. Online. Annals of Dermatology. 2010, roč. 22, č. 2. ISSN 1013-9087. Dostupné z: <https://doi.org/10.5021/ad.2010.22.2.143>. [cit. 2024-12-27].
- [30] JIN, Fuxia; NIEMAN, David C.; SHA, Wei; XIE, Guoxiang; QIU, Yunping et al. Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA in Postmenopausal Women. Online. Plant Foods for Human Nutrition. 2012, roč. 67, č. 2, s. 105-110. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0286-0>. [cit. 2024-12-27].
- [31] MOTYKA, Sara; KOC, Katarzyna; EKIERT, Halina; BLICHARSKA, Eliza; CZARNEK, Katarzyna et al. The Current State of Knowledge on *Salvia hispanica* and *Salviae hispanicae* semen (Chia Seeds). Online. Molecules. 2022, roč. 27, č. 4. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules27041207>. [cit. 2024-12-27].
- [32] CUEVAS-GÓMEZ, Andrea P.; GONZÁLEZ-MAGALLANES, Berenice; ARROYO-MAYA, Izlia J.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, Gustavo F.; CORNEJO-MAZÓN, Maribel et al. Squalene-Rich Amaranth Oil Pickering Emulsions Stabilized by Native α -Lactalbumin Nanoparticles. Online. Foods. 2022, roč. 11, č. 14. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods11141998>. [cit. 2024-11-30].
- [33] JOY, Reshma; GEORGE, Jinu a JOHN, Franklin. Brief Outlook on Polymeric Nanoparticles, Micelles, Niosomes, Hydrogels and Liposomes: Preparative Methods

- and Action. Online. ChemistrySelect. 2022, roč. 7, č. 6. ISSN 2365-6549. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/slct.202104045>. [cit. 2024-08-23].
- [34] PANDEY, Anjali S; BAWISKAR, Dushyant a WAGH, Vasant. Nanocosmetics and Skin Health: A Comprehensive Review of Nanomaterials in Cosmetic Formulations. Online. Cureus. ISSN 2168-8184. Dostupné z: <https://doi.org/10.7759/cureus.52754>. [cit. 2024-08-22].
- [35] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích (přepracované znění) (Text s významem pro EHP). EUR-Lex [online]. © Evropská unie. [cit. 2025-04-11]. Dostupné z: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/oj>.
- [36] SGUIZZATO, Maddalena; ESPOSITO, Elisabetta a CORTESI, Rita. Lipid-Based Nanosystems as a Tool to Overcome Skin Barrier. Online. International Journal of Molecular Sciences. 2021, roč. 22, č. 15. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms22158319>. [cit. 2024-08-14].
- [37] MOAMMERI, Ali; CHEGENI, Masoumeh Mirzaei; SAHRAYI, Hamidreza; GHAFELEHBASHI, Robabehbeygom; MEMARZADEH, Farkhondeh et al. Current advances in niosomes applications for drug delivery and cancer treatment. Online. Materials Today Bio. 2023, roč. 23. ISSN 25900064. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100837>. [cit. 2024-08-12].
- [38] LIGA, Sergio; PAUL, Cristina; MOACĂ, Elena-Alina a PÉTER, Francisc. Niosomes: Composition, Formulation Techniques, and Recent Progress as Delivery Systems in Cancer Therapy. Online. Pharmaceutics. 2024, roč. 16, č. 2. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16020223>. [cit. 2024-08-12].
- [39] Karami, Masoud Ali; Jalili Rad, Marzie; Zadeh, Behzad Sharif Makhmal A Salimi, Anayatollah. Superoxide Dismutase Loaded Niosomes Delivery To Hair Follicles: Permeation Through Synthetic Membrane And Guinea Pig Skin. Online. International Journal of Applied Pharmaceutics. 2019, s. 305-312. ISSN 0975-7058. Dostupné z: <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i5.34289>. [cit. 2024-08-15].
- [40] Fadaei MS, Fadaei MR, Kheirieh AE, Rahmanian-Devin P, Dabbaghi MM, Nazari Tavallaei K, Shafaghi A, Hatami H, Baradaran Rahimi V, Nokhodchi A, Askari VR. Niosome as a promising tool for increasing the effectiveness of anti-inflammatory

- compounds. EXCLI J. 2024 Feb 7;23:212-263. doi: 10.17179/excli2023-6868. PMID: 38487088; PMCID: PMC10938253.
- [41] GE, Xuemei; WEI, Minyan; HE, Suna a YUAN, Wei-En. Advances of Non-Ionic Surfactant Vesicles (Niosomes) and Their Application in Drug Delivery. Online. Pharmaceutics. 2019, roč. 11, č. 2. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11020055>. [cit. 2024-08-19].
- [42] ALKHARABI, Hanaa. Exploring Various Transfection Approaches and Their Applications in Studying the Regenerative Potential of Dental Pulp Stem Cells. Online. Current Issues in Molecular Biology. 2023, roč. 45, č. 12, s. 10026-10040. ISSN 1467-3045. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cimb45120626>. [cit. 2024-08-19].
- [43] GHARBAVI, Mahmoud; AMANI, Jafar; KHEIRI-MANJILI, Hamidreza; DANAFAR, Hossein a SHARAFI, Ali. Niosome: A Promising Nanocarrier for Natural Drug Delivery through Blood-Brain Barrier. Online. Advances in Pharmacological Sciences. 2018, roč. 2018, s. 1-15. ISSN 1687-6334. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2018/6847971>. [cit. 2024-08-15].
- [44] DEVARAJ, Gopi N.; PARAKH, S.R.; DEVRAJ, Ravi; APTE, S.S.; RAO, B.Ramesh et al. Release Studies on Niosomes Containing Fatty Alcohols as Bilayer Stabilizers Instead of Cholesterol. Online. Journal of Colloid and Interface Science. 2002, roč. 251, č. 2, s. 360-365. ISSN 00219797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8399>. [cit. 2024-08-23].
- [45] ALI, M Habib; KIRBY, Daniel J; MOHAMMED, Afzal R a PERRIE, Yvonne. Solubilisation of drugs within liposomal bilayers: alternatives to cholesterol as a membrane stabilising agent. Online. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2010, roč. 62, č. 11, s. 1646-1655. ISSN 0022-3573. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01090.x>. [cit. 2024-11-30].
- [46] MAWAZI, Saeid Mezail; ANN, Tong Jo a WIDODO, Riyanto Teguh. Application of Niosomes in Cosmetics: A Systematic Review. Online. Cosmetics. 2022, roč. 9, č. 6. ISSN 2079-9284. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cosmetics9060127>. [cit. 2024-12-27].
- [47] CHEN, Shuo; HANNING, Sara; FALCONER, James; LOCKE, Michelle a WEN, Jingyuan. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): Fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. Online. European Journal

of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2019, roč. 144, s. 18-39. ISSN 09396411. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.08.015>. [cit. 2024-12-28].

[48] SINGH, Thakur Gurjeet a SHARMA, Neha. Nanobiomaterials in cosmetics: current status and future prospects. Online. In: Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics. Elsevier, 2016, s. 149-174. ISBN 9780323428682. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42868-2.00007-3>. [cit. 2025-04-11].

[49] Charles Helleu | Lancôme (2021). Charles Helleu – Cosmetics [online]. Copyright © 2021. Charles Helleu. All Rights Reserved. [cit. 2025-04-11]. Dostupné z: <https://www.charleshelleu.com/cosmetics/lancome-21/>.

[50] TAVANO, Lorena; MUZZALUPO, Rita; PICCI, Nevio a DE CINDIO, Bruno. Co-encapsulation of lipophilic antioxidants into niosomal carriers: Percutaneous permeation studies for cosmeceutical applications. Online. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014, roč. 114, s. 144-149. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.055>. [cit. 2024-12-28].

[51] Ab Aziz, Noor Atikah; Salim, Norazlinaliza; Saari, Nazamid; Md. Yusoff, Fatimah A Zarei, Mohammad. Jellyfish Collagen Hydrolysate-Loaded Niosome For Topical application: Formulation Development, Antioxidant And Antibacterial Activities. Online. Journal Of Sustainability Science And Management. 2022, roč. 17, č. 2, s. 1-17. ISSN 18238556. Dostupné z: <https://doi.org/10.46754/jssm.2022.02.001>. [cit. 2024-12-28].

[52] LI, Danhui; MARTINI, Nataly; WU, Zimei; CHEN, Shuo; FALCONER, James Robert et al. Niosomal Nanocarriers for Enhanced Dermal Delivery of Epigallocatechin Gallate for Protection against Oxidative Stress of the Skin. Online. Pharmaceutics. 2022, roč. 14, č. 4. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040726>. [cit. 2024-12-28].

[53] MANOSROI, Aranya; BOONPISUTTINANT, Korawinwich; WINITCHAI, Supanida; MANOSROI, Worapaka a MANOSROI, Jiradej. Free Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibition Activity of Physic Nut (*Jatropha curcas* Linn.) Seed Oil Entrapped in Niosomes. Online. Current Nanoscience. 2011, roč. 7, č. 5, s. 825-829. ISSN 15734137. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/157341311797483709>. [cit. 2024-12-28].

- [54] ABU HAJLEH, Maha N.; ABU-HUWAIJ, Rana; AL-SAMYDAI, Ali; AL-HALASEH, Lidia Kamal a AL-DUJAILI, Emad A. The revolution of cosmeceuticals delivery by using nanotechnology: A narrative review of advantages and side effects. Online. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2021, roč. 20, č. 12, s. 3818-3828. ISSN 1473-2130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jocd.14441>. [cit. 2024-12-28].
- [55] TEAIMA, Mahmoud H.; ABDELHALIM, Sally A.; EL-NABARAWI, Mohamed A.; ATTIA, Dalia A. a HELAL, Doaa A. Non-ionic surfactant based vesicular drug delivery system for topical delivery of caffeine for treatment of cellulite: design, formulation, characterization, histological anti-cellulite activity, and pharmacokinetic evaluation. Online. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2018, roč. 44, č. 1, s. 158-171. ISSN 0363-9045. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1386206>. [cit. 2025-04-14].
- [56] JAN, Nusrat; HUSSAIN, Syed Zameer; NASEER, Bazila a BHAT, Tashooq A. Amaranth and quinoa as potential nutraceuticals: A review of anti-nutritional factors, health benefits and their applications in food, medicinal and cosmetic sectors. Online. *Food Chemistry: X*. 2023, roč. 18. ISSN 25901575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100687>. [cit. 2024-09-16].
- [57] JUREK, Ilona; GÓRAL, Ilona; GĘSIŃSKI, Krzysztof a WOJCIECHOWSKI, Kamil. Effect of saponins from quinoa on a skin-mimetic lipid monolayer containing cholesterol. Online. *Steroids*. 2019, roč. 147, s. 52-57. ISSN 0039128X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.11.008>. [cit. 2025-04-15].
- [58] SAMPAIO, Shirley L.; FERNANDES, Ângela; PEREIRA, Carla; CALHELHA, Ricardo C.; SOKOVIC, Marina et al. Nutritional value, physicochemical characterization and bioactive properties of the Brazilian quinoa BRS Piabiru. Online. *Food & Function*. 2020, roč. 11, č. 4, s. 2969-2977. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D0FO00055H>. [cit. 2025-04-18].
- [59] BEZERRA, Gercyane Oliveira K., DURVAL, Batista I.J., DA SILVA, Amaro I., DE ALMEIDA, Gomes F.C., DE MELO, Farias Y.T., RUFINO, Diniz R., SARUBBO, Asfora L., 2020, Emulsifying Capacity of Biosurfactants from *Chenopodium Quinoa* and *Pseudomonas Aeruginosa* Ucp 0992 with Focus of Application in the Cosmetic Industry, *Chemical Engineering Transactions*, 79, 211-216 DOI:10.3303/CET2079036.

- [60] TRIGO, Marcos; RODRÍGUEZ, Alicia; DOVALE, Gretel; PASTÉN, Alexis; VEGA-GÁLVEZ, Antonio et al. The effect of glazing based on saponin-free quinoa (*Chenopodium quinoa*) extract on the lipid quality of frozen fatty fish. Online. *LWT*. 2018, roč. 98, s. 231-236. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.031>. [cit. 2025-04-18].
- [61] ARIAEENEJAD, Shohreh; MOTAMEDI, Elaheh a SALEKDEH, Ghasem Hosseini. Highly efficient removal of dyes from wastewater using nanocellulose from quinoa husk as a carrier for immobilization of laccase. Online. *Bioresource Technology*. 2022, roč. 349. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126833>. [cit. 2025-04-14].
- [62] CASTAÑEDA-REYES, Erick Damian; GONZALEZ DE MEJIA, Elvira; ELLER, Fred Joseph; BERHOW, Mark A.; PEREA-FLORES, María de Jesús et al. Liposomes Loaded with Unsaponifiable Matter from *Amaranthus hypochondriacus* as a Source of Squalene and Carrying Soybean Lunasin Inhibited Melanoma Cells. Online. *Nanomaterials*. 2021, roč. 11, č. 8. ISSN 2079-4991. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nano11081960>. [cit. 2025-02-26].
- [63] KOKSAL, Elif; BAYRAM, Okan; MORAL, Emel a GODE, Fethiye. Microencapsulation of quinoa extract (*Chenopodium quinoa* Willd.) in response surface methodology conditions: preparation and characterization. Online. *Particulate Science and Technology*. 2023, roč. 41, č. 2, s. 231-240. ISSN 0272-6351. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/02726351.2022.2072429>. [cit. 2025-04-11].
- [64] MARQUES, Bruna Lorena Meneses; PASSOS, Thaís Souza; DANTAS, Alyne Ingryd; DE LIMA, Malu Andrade Alves; MOREIRA, Susana Margarida Gomes et al. Nanoencapsulation of quinoa oil enhanced the antioxidant potential and inhibited digestive enzymes. Online. *Food Research International*. 2024, roč. 196. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115066>. [cit. 2025-04-14].
- [65] BIDOOKI, Seyed Hesamoddin; ALEJO, Teresa; SÁNCHEZ-MARCO, Javier; MARTÍNEZ-BEAMONTE, Roberto; ABUOBEID, Roubi et al. Squalene Loaded Nanoparticles Effectively Protect Hepatic AML12 Cell Lines against Oxidative and Endoplasmic Reticulum Stress in a TXNDC5-Dependent Way. Online. *Antioxidants*.

- 2022, roč. 11, č. 3. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11030581>. [cit. 2025-02-26].
- [66] BIDOOKI, Seyed Hesamoddin; SPITZER, Lea; PETITPAS, Arnaud; SÁNCHEZ-MARCO, Javier; MARTÍNEZ-BEAMONTE, Roberto et al. Chitosan Nanoparticles, a Novel Drug Delivery System to Transfer Squalene for Hepatocyte Stress Protection. Online. ACS Omega. 2024, roč. 9, č. 52, s. 51379-51393. ISSN 2470-1343. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c08258>. [cit. 2025-02-27].
- [67] SPONTON, Osvaldo E.; PEREZ, Adrián A.; OSELLA, Carlos; CUFFIA, Facundo; FENOGLIO, Cecilia et al. Squalene encapsulation by emulsification and freeze-drying process: Effects on bread fortification. Online. Journal of Food Science. 2023, roč. 88, č. 6, s. 2523-2535. ISSN 0022-1147. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16576>. [cit. 2025-02-26].
- [68] KEDARE, Sagar B. a SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Online. Journal of Food Science and Technology. 2011, roč. 48, č. 4, s. 412-422. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>. [cit. 2024-11-30].
- [69] CHRISTODOULOU, Marios C.; ORELLANA PALACIOS, Jose C.; HESAMI, Golnaz; JAFARZADEH, Shima; LORENZO, José M. et al. Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. Online. Antioxidants. 2022, roč. 11, č. 11. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11112213>. [cit. 2024-11-10].
- [70] COSKUN, Ozlem. Separation Techniques: CHROMATOGRAPHY. Online. Northern Clinics of Istanbul. 2016. ISSN 21484902. Dostupné z: <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>. [cit. 2024-12-27].
- [71] HLINKOVÁ, Andrea; BEDNÁROVÁ, Adriána; HAVRLETOVÁ, Michaela; ŠUPOVÁ, Jana a ČIČOVÁ, Iveta. Evaluation of fatty acid composition among selected amaranth grains grown in two consecutive years. Online. Biologia. 2013, roč. 68, č. 4, s. 641-650. ISSN 0006-3088. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/s11756-013-0190-6>. [cit. 2025-03-26].
- [72] YUENYONG, Jitkunya; POKKANTA, Piramon; PHUANGSAIJAI, Nutthatida; KITTIWACHANA, Sila; MAHATHEERANONT, Sugunya et al. GC-MS and HPLC-DAD analysis of fatty acid profile and functional phytochemicals in fifty cold-pressed

plant oils in Thailand. Online. Heliyon. 2021, roč. 7, č. 2. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06304>. [cit. 2025-04-01].

- [73] OBEID, Mohammad A.; HAIFAWI, Saja a KHADRA, Ibrahim. The impact of solvent selection on the characteristics of niosome nanoparticles prepared by microfluidic mixing. Online. International Journal of Pharmaceutics: X. 2023, roč. 5. ISSN 25901567. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2023.100168>. [cit. 2025-04-01].
- [74] OBEID, Mohammad A.; KHADRA, Ibrahim; ALJABALI, Alaa A.A.; AMAWI, Haneen a FERRO, Valerie A. Characterisation of niosome nanoparticles prepared by microfluidic mixing for drug delivery. Online. International Journal of Pharmaceutics: X. 2022, roč. 4. ISSN 25901567. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2022.100137>. [cit. 2025-04-01].
- [75] Nowroozi F, Almasi A, Javidi J, Haeri A, Dadashzadeh S. Effect of Surfactant Type, Cholesterol Content and Various Downsizing Methods on the Particle Size of Niosomes. Iran J Pharm Res. 2018;17(Suppl2):1-11. PMID: 31011337; PMCID: PMC6447874.
- [76] Clogston JD, Vermilya A. Measuring Zeta Potential of Nanoparticles: Version 1.2. 2020 Apr. In: National Cancer Institute's Nanotechnology Characterization Laboratory Assay Cascade Protocols [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2005 May 1-. NCL Method PCC-2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK604914/> doi: 10.17917/ZB8P-FB4.
- [77] POCHAPSKI, Daniel José; CARVALHO DOS SANTOS, Caio; LEITE, Gabriel Wosiak; PULCINELLI, Sandra Helena a SANTILLI, Celso Valentim. Zeta Potential and Colloidal Stability Predictions for Inorganic Nanoparticle Dispersions: Effects of Experimental Conditions and Electrokinetic Models on the Interpretation of Results. Online. Langmuir. 2021, roč. 37, č. 45, s. 13379-13389. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c02056>. [cit. 2024-12-27].
- [78] PŘEDOTA, Milan; MACHESKY, Michael L. a WESOŁOWSKI, David J. Molecular Origins of the Zeta Potential. Online. Langmuir. 2016, roč. 32, č. 40, s. 10189-10198. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02493>. [cit. 2025-04-04].
- [79] SAW, Rohit Kumar; SINOJIYA, Deep; PILLAI, Prathibha; PRAKASH, Shubham a MANDAL, Ajay. Experimental Investigation of the Synergistic Effect of Two Nonionic

- Surfactants on Interfacial Properties and Their Application in Enhanced Oil Recovery. Online. ACS Omega. 2023, roč. 8, č. 13, s. 12445-12455. ISSN 2470-1343. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00401>. [cit. 2025-04-04].
- [80] DÁVILA-ORTIZ, Gloria; CASTAÑEDA-REYES, Erick Damian; JUÁREZ-PALOMO, Carlos Ignacio; PEREA-FLORES, María de Jesús; PÉREZ-PASTÉN-BORJA, Ricardo et al. Liposomes Containing Amaranth Unsaponifiable Matter and Soybean Lunasin Suppress ROS Production in Fibroblasts and Reduced Interleukin Production in Macrophages. Online. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022, roč. 19, č. 18. ISSN 1660-4601. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijerph191811678>. [cit. 2025-04-04].
- [81] GAO, Shuqi; SUI, Zhe; JIANG, Qian a JIANG, Yueyao. Functional Evaluation of Niosomes Utilizing Surfactants in Nanomedicine Applications. Online. International Journal of Nanomedicine. 2024, roč. 19, s. 10283-10305. ISSN 1178-2013. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/IJN.S480639>. [cit. 2024-12-28].
- [82] VARSHOSAZ, Jaleh; TAYMOURI, Somayeh; PARDAKHTY, Abbas; ASADI-SHEKAARI, Majid a BABAEI, Abodolreza. Niosomes of Ascorbic Acid and α -Tocopherol in the Cerebral Ischemia-Reperfusion Model in Male Rats. Online. BioMed Research International. 2014, roč. 2014, s. 1-9. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2014/816103>. [cit. 2025-04-01].
- [83] AL-MAMUN, M. Abdulla; HUSNA, Jamiatul; KHATUN, Masuda; HASAN, Rubait; KAMRUZZAMAN, M. et al. Assessment of antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of two vegetable species of Amaranthus in Bangladesh. Online. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2016, roč. 16, č. 1. ISSN 1472-6882. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1130-0>. [cit. 2025-03-26].
- [84] MAMBRO, Valéria M.Di; AZZOLINI, Ana E.C.S; VALIM, Yara M.L a FONSECA, Maria J.V. Comparison of antioxidant activities of tocopherols alone and in pharmaceutical formulations. Online. International Journal of Pharmaceutics. 2003, roč. 262, č. 1-2, s. 93-99. ISSN 03785173. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00333-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00333-8). [cit. 2025-04-03].

- [85] SARKER, Umakanta a OBA, Shinya. Nutraceuticals, phytochemicals, and radical quenching ability of selected drought-tolerant advance lines of vegetable amaranth. Online. BMC Plant Biology. 2020, roč. 20, č. 1. ISSN 1471-2229. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02780-y>. [cit. 2025-04-03].
- [86] Pamela E. Akin-Idowu, Olufemi T. Ademoyegun, Yemisi O. Olagunju, Ayodeji O. Aduloju, and Usifo G. Adebo, "Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Five Grain Amaranth Species." American Journal of Food Science and Technology, vol. 5, no. 6 (2017): 249-255. doi: 10.12691/ajfst-5-6-5.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Bezoplachový sprej pro kudrnaté vlasy s obsahem hydrolyzované quinoi	18
Obrázek 2 Strukturní vzorec skvalenu	21
Obrázek 3 Strukturní vzorec skvalanu	22
Obrázek 4 Pečující hydratační přípravek k ošetření pleti s obsahem skvalanu	23
Obrázek 5 Pečující suspenze vitamínu C a sfér kyseliny hyaluronové s obsahem skvalanu	24
Obrázek 6 Nosné systémy skvalenu	29
Obrázek 7 Struktura niozomálního nosiče	32
Obrázek 8 Typy niozomů dle velikosti	33
Obrázek 9 Jeden z prvních kosmetických produktů s obsahem niozomů	38
Obrázek 10 Kalibrační přímka kombinace aktivních látek skvalan a tokoferyl acetát	53
Obrázek 11 Teoretický mechanismus redukce DPPH na DPPH-H	55
Obrázek 12 Stanovení antioxidační aktivity – inkubace vzorků	55
Obrázek 13 Chromatogram analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu Shimadzu GC-14A	58
Obrázek 14 Chromatogram analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu Shimadzu GC-2010 Pro	61
Obrázek 15 Vzorky s dodekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	63
Obrázek 16 Vzorky s tetradekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	63
Obrázek 17 Vzorky s hexadekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	64
Obrázek 18 Vzorky s oktadekanolem bez obsahu aktivní látky A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	64
Obrázek 19 Vzorky s obsahem amarantového oleje A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	65
Obrázek 20 Různé vzorky s obsahem skvalanu A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	66
Obrázek 21 Vzorky s kombinací amarantového oleje s tokoferyl acetátem A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	66
Obrázek 22 Vzorky s kombinací skvalanu s tokoferyl acetátem A) ihned po přípravě, B) po 2 měsících skladování při teplotě 4 °C	67
Obrázek 23 Velikost částic a index polydisperzity formulací bez aktivní látky	68
Obrázek 24 Velikost částic a index polydisperzity formulací s obsahem amarantového oleje	69
Obrázek 25 Velikost částic a index polydisperzity formulací s obsahem skvalanu	69

Obrázek 26 Velikost částic a index polydisperzity formulací s kombinací aktivních látek	70
Obrázek 27 Zeta potenciál a pH formulací bez aktivní látky	72
Obrázek 28 Zeta potenciál a pH formulací s obsahem amarantového oleje	73
Obrázek 29 Zeta potenciál a pH formulací s obsahem skvalanu	74
Obrázek 30 Zeta potenciál a pH formulací s kombinací aktivních látek	74
Obrázek 31 Enkapsulační účinnost formulací s obsahem amarantu	75
Obrázek 32 Enkapsulační účinnost formulací s kombinací aktivních látek	76
Obrázek 33 Výsledek diskové difúzní metody vzorků amarantového oleje A) <i>E. coli</i> , B) <i>S. aureus</i>	77
Obrázek 34 Antioxidační aktivita aktivních látek v různých systémech	79
Obrázek 35 Vzorky D 1:9 A a T 1:9 A po 216 hodinách testu uvolňování	80
Obrázek 36 Vzorky D 1:9 S/TOC a T 1:9 S/TOC po 216 hodinách testu uvolňování	81
Obrázek 37 Množství amarantového oleje uvolněného v závislosti na čase	81
Obrázek 38 Množství kombinace aktivních látek skvalanu a tokoferyl acetátu uvolněné v závislosti na čase	82
Obrázek 39 Závislost kumulativní koncentrace kombinace skvalanu a tokoferyl acetátu uvolněné z formulace T 1:9 S/TOC na čase proložená fitovaným modelem dle rovnice kinetiky 1. řádu	83

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Neionické surfaktanty pro přípravu niozomů	33
Tabulka 2 Složení jednotlivých formulací.....	50
Tabulka 3 Složení jednotlivých formulací s obsahem aktivních látek	52
Tabulka 4 Vyhodnocení GC analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu Shimadzu GC-14A.....	59
Tabulka 5 Vyhodnocení GC analýzy amarantového oleje pomocí chromatografu GC-2010 Pro.....	62
Tabulka 6 Konstanty získané pomocí matematických modelů popisujících uvolňování aktivních látek z jednotlivých formulací	83

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CMC	Kritická micelární koncentrace (angl. Critical micelle concentration)
CPP	Kritický agregační parametr (angl. Critical packing parameter)
DCP	Dicetylfosfát (angl. Dicetyl phosphate)
DMAPP	Dimethylallyl-difosfát (angl. Dimethylallyl diphosphate)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina (angl. Deoxyribonucleic acid)
DOPA	Sodná sůl 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-fosfo-rac-(1-glycerolu) (angl. 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-rac-(1-glycerol) sodium salt)
DOPC	1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-fosfocholin (angl. 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)
DPPH	(1,1-difenyl-2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
DSC	Diferenční skenovací kalorimetrie (Differential scanning calorimetry)
EE	Enkapsulační účinnost (angl. Encapsulation efficiency)
FAME	Methylestery mastných kyselin (angl. Fatty acid methyl esters)
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (angl. Fourier transform infrared spectroscopy)
GC	Plynová chromatografie (angl. Gas chromatography)
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (angl. Gas chromatography-mass spectrometry)
GMOs	Geneticky modifikovaný organismus (angl. Genetically modified organism)
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha (angl. Hydrophilic-lipofilic balance)
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (angl. High performance liquid chromatography)
IPP	Isopentenyl-pyrofosfát
LUVs	Velké unilamelární vezikuly (angl. Large unilamellar vesicles)
MLVs	Multivezikulární vezikuly (angl. Multi-vesicular vesicles)
MUFA	Mononenasycené mastné kyseliny (angl. Monounsaturated fatty acids)

MVVs	Multilamelární vezikuly (angl. Multi-lamellar vesicles)
O/W	Olej ve vodě (angl. Oil-in-Water)
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDI	Index polydisperzity (angl. Polydispersity index)
PEG	Polyethylenglykol
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny (angl. Polyunsaturated fatty acids)
RES	Retikulo-endoteliální systém
RSM	Metodika odezvových ploch (angl. Response surface methodology)
ROS	Reaktivní formy kyslíku (angl. Reactive oxygen species)
SA	Stearylamin
SAFA	Nasycené mastné kyseliny (angl. Saturated fatty acids)
SFE	Superkritická fluidní extrakce (angl. Supercritical fluid extraction)
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie (angl. Scanning electron microscopy)
SOD	Superoxiddismutáza (angl. Superoxide dismutase)
SPF	Ochranný faktor proti slunečnímu záření (angl. Sun protection factor)
SUVs	Malé unilamelární vezikuly (angl. Small unilamellar vesicles)
TEWL	Transepidermální ztráta vody (angl. Transepidermal water loss)
TGA	Termogravimetrická analýza (angl. Thermogravimetric analysis)
TOC	Tokoferyl acetát (angl. Tocopheryl Acetate)
UTZ	Ultrazvuková (lázeň)
UV	Ultrafialové záření (angl. Ultraviolet radiation)
UV-VIS	Ultrafialová a viditelná (angl. Ultraviolet-Visible)
W/O	Voda v oleji (angl. Water-in-Oil)