

Interakcije prehrambenih vlakana s karotenoidima i kurkuminom iz biljnih ekstrakata: utjecaj na biodostupnost

Filić, Zrinka

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:434462>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Zrinka Filić

**Interakcije prehrambenih vlakana s
karotenoidima i kurkuminom iz biljnih
ekstrakata: utjecaj na biodostupnost**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Diplomski rad je prijavljen na kolegiju Fiziološki i biokemijski aspekti prehrane Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za kemiju prehrane pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Dubravke Vitali Čepo.

Hvala mentorici prof. dr. sc. Dubravki Vitali Čepo na pomoći i savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala dr. sc. Kristini Radić na izuzetnom trudu i pomoći tijekom izrade eksperimentalnog dijela diplomskog rada, kao i ostalim zaposlenicima Zavoda za kemiju prehrane.

Ovaj rad posvećujem svojoj sestri, hvala na bezuvjetnoj potpori i motivaciji.

*Hvala mojim roditeljima, obitelji i prijateljima, zbog vas sam ovdje danas.
Hvala Lari, Maji, Neri i Karli na neizmornoj podršci i razumijevanju, glavni ste likovi priče mog studiranja.*

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. ENTERALNA PREHRANA	1
1.2. ANTIOKSIDANSI.....	2
1.2.1. KAROTENOIDI	3
1.2.1.1. BETA KAROTEN.....	5
1.2.1.2. LIKOPEN.....	7
1.2.2. KURKUMIN.....	8
1.3. PREHRAMBENA VLAKNA.....	10
1.4. ISPITIVANJE GASTROINTESTINALNE STABILNOSTI	12
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	13
3. MATERIJALI I METODE.....	14
3.1. MATERIJALI	14
3.1.2 UZORCI.....	14
3.1.3. INSTRUMENTI I PRIBOR.....	15
3.2. PLAN RADA	16
3.3. METODE.....	17
3.3.1. ISPITIVANJE GASTROINTESTINALNE STABILNOSTI KAROTENOIDA I KURKUMINA SIMULACIJOM GASTROINTESTINALNE DIGESTIJE	17
3.3.1.1. PRIPREMA REAGENSA	17
3.3.1.2. PRIPREMA UZORAKA.....	19
3.4. ISPITIVANJE BIODOSTUPNOSTI KAROTENOIDA I KURKUMINA U SMJESI PREHRAMBENIH VLAKANA	21
3.5. SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KAROTENOIDA I KURKUMINA.....	23
3.6. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	25
4. REZULTATI I RASPRAVA	26

4.1. GASTROINTESTINALNA STABILNOST KAROTENOIDA I KURKUMINA.....	26
4.2. BIODOSTUPNOST KAROTENOIDA I KURKUMINA U FORMULACIJAMA S VLAKNIMA.....	28
4.2.1. BIODOSTUPNOST BETA KAROTENA S MJEŠAVINAMA PREHRAMBENIH VLAKANA	29
4.2.2. BIODOSTUPNOST LIKOPENA S MJEŠAVINAMA PREHRAMBENIH VLAKANA...	30
4.2.3. BIODOSTUPNOST KURKUMINA S MJEŠAVINAMA PREHRAMBENIH VLAKANA	31
4.2.4. USPOREDBA BIODOSTUPNOSTI BETA KAROTENA, LIKOPENA I KURKUMINA S ISTIM PREHRAMBENIM MJEŠAVINAMA	32
4.3. RASPRAVA	34
5. ZAKLJUČCI.....	36
6. POPIS KORIŠTENIH KRATICA	37
7. LITERATURA.....	38
8. SAŽETAK	41
9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA.....	43

1. UVOD

1.1. ENTERALNA PREHRANA

Enteralna prehrana je jedna od nutritivnih intervencija kliničke prehrane koja obuhvaća unos nutritivno i farmakološki definiranih enteralnih pripravaka u gastrointestinalni sustav. Enteralna prehrana unosi se peroralno ili preko sonde u želudac ili tanko crijevo, ovisno o stanju i mogućnostima bolesnika. (Pavić i sur., 2018)

“Ako je crijevo u funkciji, koristi ga” osnovni je postulat kliničke prehrane te se enteralnoj prehrani daje prednost pred parenteralnom zbog održavanja funkcije probavnog sustava. Takav stav prema enteralnoj prehrani kao posljedicu ima konstantan razvoj i unapređenje enteralne prehrane, ali i pratećih sustava (sonde, pumpe). (www.inpharma.hr)

Indikacije za primjenu enteralne prehrane su pothranjenost, kao i svaki nagli i značajni gubitak na težini uzrokovan osnovnom bolešću ili uslijed dijagnostičkih i terapijskih postupaka, kao i potporna terapija bržem ozdravljenju. (Pavić i sur., 2018) Enteralnu prehranu propisuje liječnik opće medicine na temelju preporuke specijalista, u količinu dostatnoj za do 30 dana. Pripravci enteralne prehrane nisu dostupni u slobodnoj prodaji i smatraju se suportivnim oblikom terapije. (www.cezih.hr)

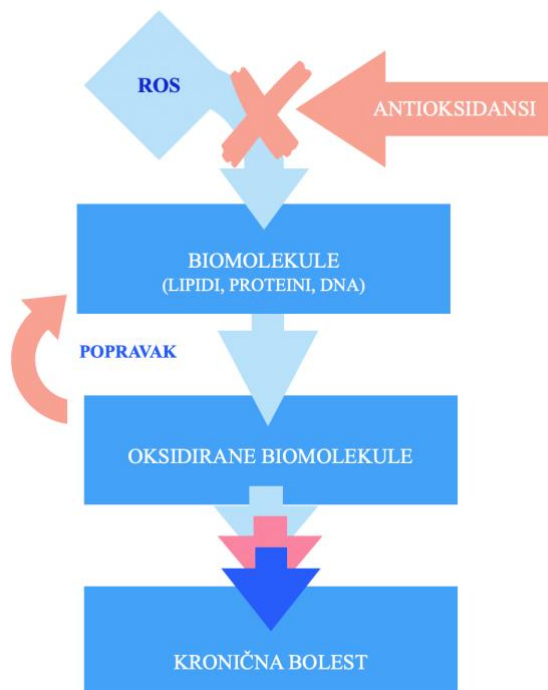
Nutritivno kompletni enteralni pripravci trebaju sadržavati sve makronutrijente i mikronutrijente u balansiranom omjeru. Udjeli makronutrijenata, ukoliko nema potrebe za posebnim modifikacijama u prehrani uzrokovanih pacijentovim stanjem, oponašaju normalnu, zdravu prehranu što znači da 40-60% energije se dobiva iz ugljikohidrata, 25-40% iz lipida, a 15-25% iz proteina. Osim makronutrijenata i mikronutrijenata novi spojevi kojima se obogaćuju pripravci su biološki aktivni spojevi. Biološki aktivni spojevi imaju ostvaruju farmakološki učinak modulacijom imunogenog i upalnog odgovora. Kao kombinacija metaboličkih supstrata koriste se aminokiseline (arginin, glutamin), nukleotidi, ω -3 masne kiseline i antioksidansi te se takva kombinacija naziva imunonutricija. Imunonutricija poboljšava ishod u određenim indikacijama enteralne prehrane, poput poboljšanja ishoda pothranjenih bolesnika podvrgnutih elektivnom kirurškom zahvatu gornjega probavnog trakta znatno smanjujući morbiditet, trajanje hospitalizacije i troškove liječenja. Također nije zanemariva ni činjenica da je crijevo najveći

imunosti organ te je održavanje njegove funkcije ujedno i održavanje funkcije imunostnog sustava. (Pavić i sur, 2018; Krznarić, 2008)

1.2. ANTIOKSIDANSI

Antioksidansi su tvari koje, u koncentraciji puno nižoj od tvari koja se oksidira, značajno smanjuju ili inhibiraju oksidaciju. Antioksidansi djeluju kao prekidači ciklusa u kojem nastaju reaktivne kisikove vrste (ROS) i gase nastajanje slobodnih radikala donirajući im svoj slobodni elektron. (Clark, 2002)

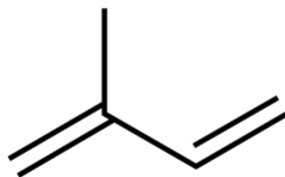
Slobodni radikali nastaju u organizmu kao nusprodukti uobičajenih biokemijskih procesa (metabolizma i staničnog disanja), ali su i posljedica utjecaja vanjskih čimbenika (dima cigareta, infekcija, stresa). Slobodni radikali su nestabilne molekule kojima nedostaju elektroni te lančanim reakcijama napadaju susjedne molekule oduzimajući im elektrone i generirajući nove slobodne radikale. Česte mete napada su lipidi, proteini i nukleinske kiseline, čije oštećenje može uzrokovati razna oboljenja. (Slika 1., www.inpharma.hr)



Slika 1. Antioksidansi i prevencija kroničnih bolesti: Hipoteza

1.2.1. KAROTENOIDI

Karotenoidi su organske molekule koje sadrže konjugirane dvostruke veze (polieni) i delokalizirane π elektrone. Osnovnu strukturu čine izoprenske jedinice (Slika 2.), koje sadrže 5 ugljikovih atoma, a na kraju lanca može se nalaziti prsten ili otvoreni lanac. Dijele se na cikličke i acikličke, ovisno o prisutnosti prstena u strukturi. Nazivaju se tetrapertenima jer sadrže 40 ugljikovih atoma, odnosno 8 izoprenskih jedinica. Prema sadržaju atoma, dijele se na karotene i ksantofile. Karoteni su građeni isključivo od ugljika i vodika, dok ksantofili u svom sastavu imaju i kisik. Vrlo su lipofilni spojevi koji su često vezani na druge molekule, poput šećera i proteina, koji povećavaju njihovu topljivost u vodi, ili masne kiseline, koje smanjuju topljivost u vodi. (Rodriguez-Concepcion i sur., 2018)



Slika 2. Strukturni prikaz izoprena

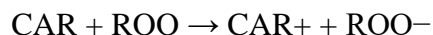
Karotenoidi se sintetiziraju u svim organizmima koji imaju sposobnost fotosinteze (biljke, alge i cijanobakterije), ali i u nekim koji nisu fotosintetički aktivne (arhee, bakterije, gljive, životinje). Imaju ulogu fotoprotekcije ili daju boju organizmima. Prisutnost dvostrukih veza im omogućuje apsorpciju plave i ljubičaste vidljive svjetlosti što dovodi do pojave žutih, narančastih i crvenih obojenja. Obojenje ovisi o koncentraciji, agregaciji i interakcijama s proteinima. (Rodriguez-Concepcion i sur., 2018) U prirodi postoji preko 600 karotenoida, dok ih je samo 40ak prisutno u ljudskoj prehrani, od kojih su najzastupljeniji beta karoten, alfa karoten, likopen, lutein i kriptoksantin. (Böhm i sur., 2021; Milani i sur., 2017)

Epidemiološke studije ukazuju na brojne benefite prehrane bogate karotenoidima, uglavnom zbog njihovog antioksidativnog djelovanja. Visoki unos karotenoida povoljno djeluje na imunosti sustav i smanjuje rizik od razvoja mnogih bolesti, poput makularne degeneracije, dijabetesa tipa 2, pretilosti i raznih oblika karcinoma. Popularni su i zbog svojeg fotoprotektivnog učinka, s naglaskom na ljetne mjesec, kao dodatci prehrani ili nutrizantici gdje se nalaze kao dodatci u

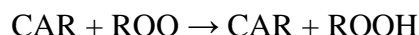
pripravcima za sunčanje. Razmatra se i njihova uloga u poboljšanju kognitivnih funkcija. (Rodriguez-Concepcion i sur., 2018)

Karotenoidi neutraliziraju radikale neenzimatski, na tri načina:

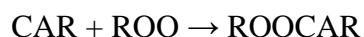
- Transferom elektrona (oksidacija, redukcija)



- Prijenosom atoma vodika



- Adicijom



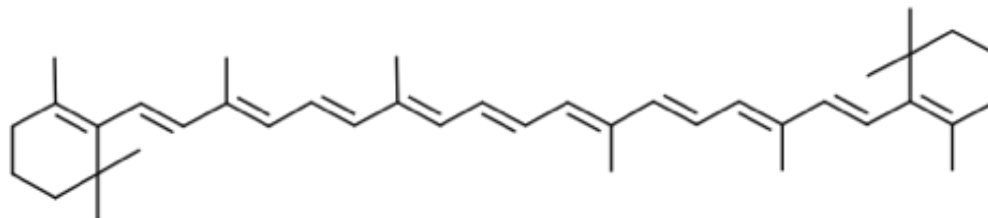
Zanimljivo je da karotenoidi mogu imati i prooksidativni učinak, ovisno o uvjetima u kojima se nalaze - visoka koncentracija karotenoida i prisutnosti drugih antioksidansa (Milani i sur., 2017). Prooksidativni učinak u određenim stanjima i bolestima može biti koristan. Povećana produkcija ROS dovodi do oksidativnog stresa i oštećivanja stanica te, u konačnici, i apoptoze koja je koristan mehanizam uklanjanja malignih stanica. (Rodriguez-Concepcion i sur., 2018)

Učinak karotenida na ljudski organizam je ovisan o biodostupnosti jer samo apsorbirana frakcija može imati učinak. Biodostupnost karotenoida ovisi o matriksu u kojem se nalazi, obliku, ali i karakteristikama organizma. Zbog svojeg lipofilnog karaktera upitna je njihova topljivost u uvjetima gastrointestinalnog trakta (GIT-a). (Rodriguez-Concepcion i sur., 2018)

Karotenoidi su nestabilni spojevi podložni oksidativnom raspadu pod utjecajem nespecifičnih mehanizama, poput fotokemijske oksidacije ili djelovanjem nespecifičnih enzima (lipooksigenaza i peroksidaza). Osjetljivi su na svjetlost, porast temperature i pH te je uzorke koje sadrže karotenoide idealno je čuvati na hladnom mjestu, podalje od svjetlosti. (Sun i sur., 2020)

1.2.1.1. BETA KAROTEN

Beta karoten je karoten, polien s jedanaest dvostrukih veza i beta prstenom na oba kraja lanca. Beta karoten je prekursor vitamina A. Nalazi se u raznolikom voću i povrću, poput mrkve, bundeve, rajčice, dinje, manga, pa čak i brokule, špinata i repe. (Stutz i sur., 2020; Sheng i sur., 2018; Boon i sur., 2010)



Slika 2. Strukturni prikaz beta karotena

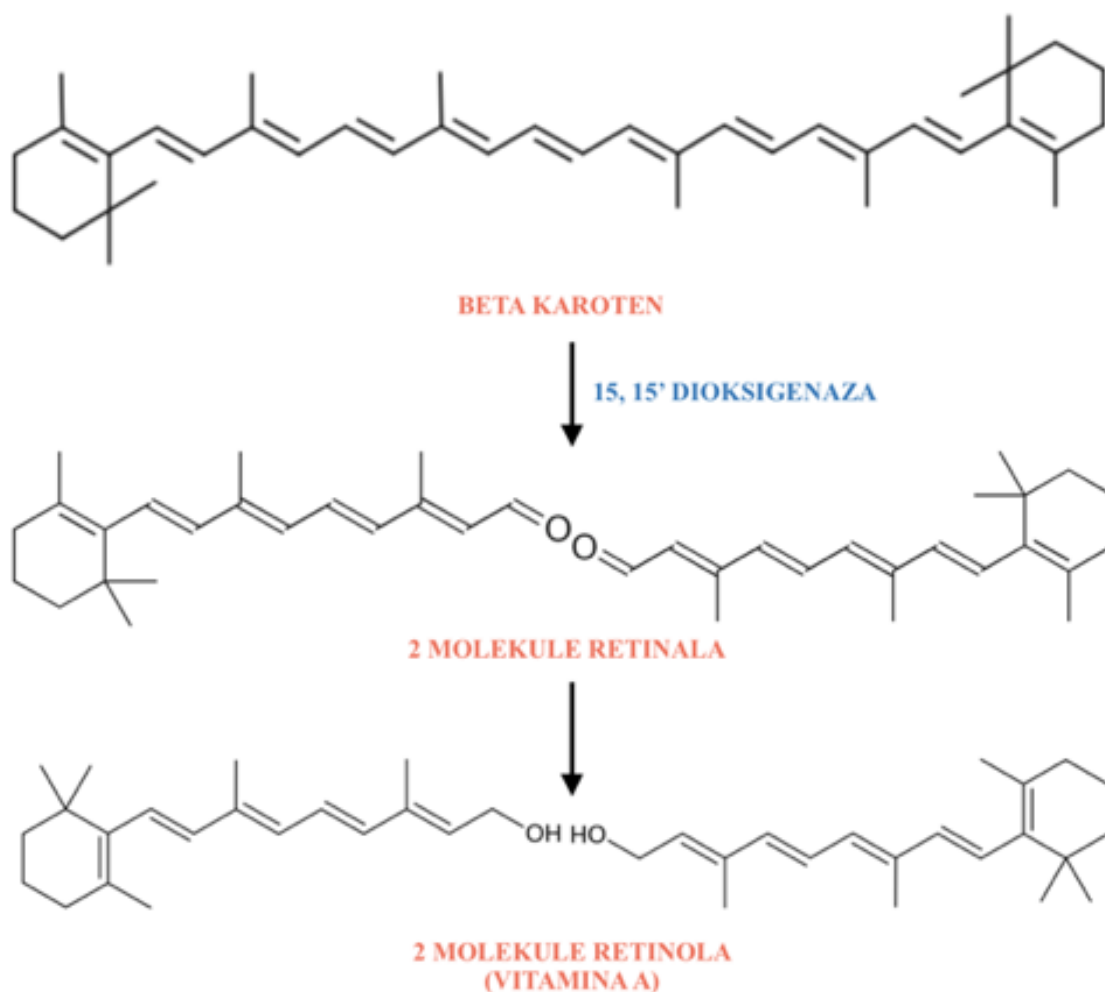
U ljudskom organizmu beta karoten se pomoću enzima beta karoten 15,15'-monooksigenaze prevodi u dvije molekule vitamina A te se naziva i pro-vitamin A (Slika 3.). Beta karoten ima mnoge pozitivne učinke na organizam koji nisu vezani uz prevođenje u vitamin A, poput antioksidativnog djelovanja neutralizacijom slobodnih radikala, stimulacije imunskog sustava djelovanjem na aktivaciju neutrofila u krvi. Pokazuje antimutageno i antitumorsko djelovanje indukcijom stanične smrti i apoptoze. Dodatna prednost beta karotena je njegova niska toksičnost, kao i niska toksičnost njegovih raspadnih produkata. (Stutz i sur., 2020; Knockaert i sur., 2012; Scita i sur, 1992)

Zbog svoje lipofilnosti beta karoten je vrlo teško topljiv u vodenom mediju (0.00039 μ g/mL). Relativno je stabilan 48 sati pri uvjetima inkubacije (37 °C, 5% CO₂, zaštićen od svjetla), no jako je osjetljiv na svjetlost UV i vidljivog spektra. Veću stabilnost je moguće postići uz korištenje antioksidansa, poput alfa tokoferola i butilhidroksitoulena. (Palafox-Carlos i sur., 2011; Scita i sur, 1992)

Idealni uvjeti za čuvanje uzoraka beta karotena su na vrlo niskoj temperaturi (-20°C do - 80°C), u inertnom plinu (argon ili dušik) te zaštićeno od svjetlosti ukoliko se želi spriječiti degradacija i

izomerizacija. (Stutz i sur., 2015) Stabilnost beta karotena ovisi i o pH vrijednosti te je beta karoten posebno osjetljiv na nizak pH. (Sheng i sur., 2018)

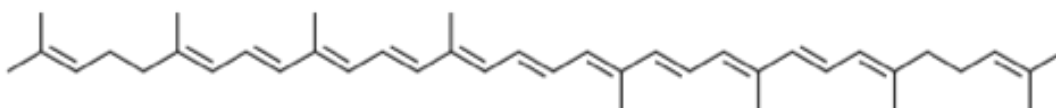
Prisutnost lipida ima povoljan učinak na topljivost beta karotena zbog njegove izrazito lipofilne strukture, ali postoji mogućnost negativnog utjecaja na stabilnost i raspad zbog čega je potrebno pažljivo formulirati medij u kojem se beta karoten nalazi za optimalnu topljivost i stabilnost. Zbog lipofilnosti beta karotena upitna je njegova apsorpcija iz GIT-a te se istražuju formulacije u kojima je uklopljen u jestiva ulja u kojima je vrlo dobro topljiv. (Knockaert i sur., 2012)



Slika 3. Prikaz transformacije beta karotena u vitamin A pomoću enzima u ljudskom organizmu

1.2.1.2. LIKOPEN

Likopen je aciklički karoten, koji ima jedanaest konjugiranih i dvije nekonjugirane dvostruke veze (Slika 4.), molekulske mase 536.85 daltona. Likopen je crveni pigment koji u petroleteru ima apsorpcijski maksimum na 472 nm. Zbog nedostatka beta prstena nema ulogu provitamina A, koju ima beta karoten. Biološka aktivnost likopena je posljedica njegovog vrlo jakog antioksidativnog djelovanja. Jedanaest dvostrukih veza u acikličkoj molekuli likopena osiguravaju mogućnost delokalizacije elektrona na području cijele molekule što likopenu daje veliki kapacitet za neutralizaciju ROS. (Rao i sur, 2010; Grabowska i sur, 2019)



Slika 4. Strukturni prikaz likopena

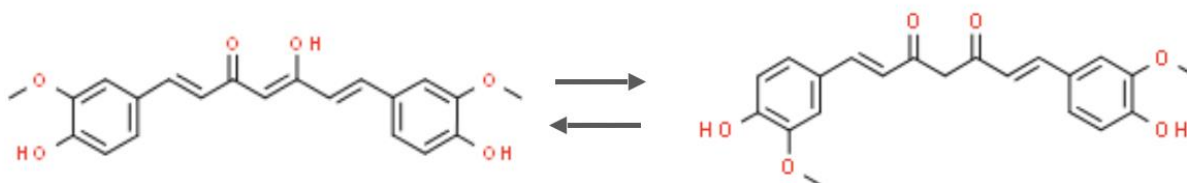
Observacijske studije pokazuju da je sigurno konzumirati do 75 mg likopena dnevno, a prehrana bogata likopenom smanjuje rizik od nastajanja kardiovaskularnih bolesti i raznih oblika karcinoma te smanjuje smrtnost uslijed karcinoma. (Grabowska i sur, 2019)

Izvori likopena su rajčice, lubenica, crveni grejp, papaja, ali i mrkva, batat i marelica. Udio likopena u namirnicama varira ovisno o uvjetima rasta, s optimalnom temperaturom između 16°C i 26 °C. Temperature iznad 35°C dovode do konverzije likopena u beta karoten te je zamijećen pad sadržaja likopena od 31% tijekom ljetnih mjeseci. (Grabowska i sur, 2019)

Likopen je relativno stabilna molekula (u usporedbi s beta karotenom) no svejedno je podložan oksidativnoj, termalnoj i foto-razgradnji. Istraživanja pokazuju njegovu stabilnost pri uvjetima industrijske proizvodnje. Vrlo je lipofilna molekula, netopljiva u vodi, s apsorpcijom od 10% do 30% u ljudi koja je uvjetovana biološkim i čimbenicima životnog stila. (Rao i sur, 2010)

1.2.2. KURKUMIN

Kurkumin (Slika 5.) je lipofilni polifenol koji se u kiselom i neutralnom mediju nalazi dominantno u keto obliku, dok u lužnatom mediju poprima enolni oblik. (Milani i sur, 2017; Kotha i sur, 2016; Anand i sur, 2007)



Slika 5. Keto-enolna tautomerija kurkumina

Kurkumin je spoj koji nalazimo u začinu kurkumi (Slika 6.), koji se dobiva iz korijena istoimene biljke (*Curcuma longa*, *Zingiberaceae*; Slika 7.). Komercijalni pripravci kurkume sadrže oko 77% kurkume. (Anand i sur, 2007)



Slika 6. Kurkumin prah, presjek korijena kurkume
(preuzeto s <https://www.canva.com>)



Slika 7. Ilustracija biljke *Curcuma longa*

(*Franz Eugen Köhler, Köhler's Medizinal-Pflanzen, preuzeto s <https://commons.wikimedia.org>*)

Zbog konjugiranih dvostrukih veza apsorbira svjetlost u vidljivom spektru (408-500nm) što dovodi do pojave žutog obojenja i odgovorno je za prepoznatljivu boju kurkumina, ali i antioksidativno djelovanje. (Milani i sur, 2017)

Kurkumin pokazuje antikancerogeno, antibiotsko i protuupalno djelovanje te se smatra moderatorom imunskog sustava. U Ayurvedskoj medicini kurkuma se koristi za zacjeljivanje rana, respiratorne probleme, poremećaje jetre i dermatološke probleme. (Kotha i sur, 2016)

Često se koristi u prehrani kao začin, ali i bojilo. Bojilo E100 je kurkumin, koji se većinom dobiva sintezom. (<https://e-brojevi.udd.hr>)

Iako kurkumin pokazuje razne benefite i se smatra sigurnim i potentnim imunomodulatorom, zbog vrlo slabe topljivosti i nestabilnosti nije pogodna terapijska opcija. Kurkumin je gotovo netopljiv u vodi pri sobnoj temperaturi i neutralnom pH (1-10 $\mu\text{g/mL}$), topljiv je pri lužnatom pH, no vrlo je nestabilan i dolazi do brze razgradnje. Vrijeme poluraspada pri pH=7,5 i sobnoj temperaturi je

svega 20 minuta. Kurkumin pokazuje lošu apsorpciju i distribuciju u ljudskom organizmu te kratko vrijeme poluraspada u GIT-u. (Milani i sur, 2017; Kotha i sur, 2016)

1.3. PREHRAMBENA VLAKNA

Prehrambena vlakna su po svome sastavu polimeri ugljikohidrati koji se ne mogu metabolizirati niti apsorbirati u ljudskom organizmu, točnije tankom crijevu. Zbog svoje kompleksnosti prehrambena vlakna se različito definiraju i klasificiraju te predstavljaju kemijski i funkcionalno heterogenu skupinu spojeva. Najčešća podjela vlakana je prema topivosti. Dije se na topiva i netopiva. (Capuano, 2017; Holscher, 2017; Ljubičić i sur., 2019)

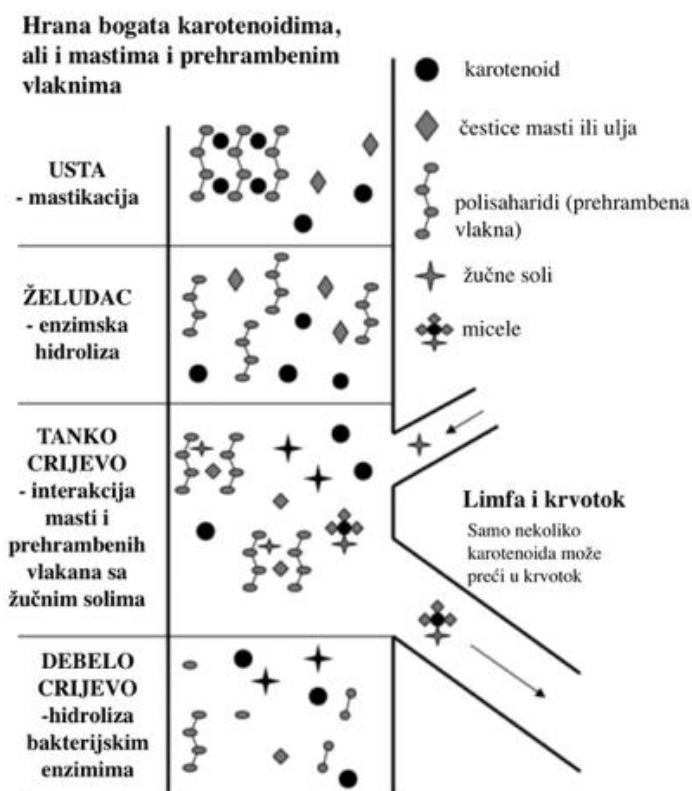
Topiva vlakna nisu probavljiva, ali se njihova svojstva mijenjaju tijekom bakterijske fermentacije u crijevima. U topiva vlakna ubrajamo pektine, beta glukane, gume i sluzi. Topiva vlakna imaju važnu ulogu u regulaciji koncentracije kolesterola, triglicerida i glukoze u krvi. Zbog svoje viskoznosti usporavaju i smanjuju apsorpciju glukoze i masti iz tankog crijeva. Smatra se da smanjuju incidenciju kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa zbog utjecaja na razine kolesterola i glukoze u krvi. Izvori topivih vlakana su žitarice (zob, ječam, psyillum), voće (jabuka, borovnice, jagode), povrće (krastavci, celer, mrkva), orašasti plodovi (badem, lješnjak, orah), sjemenke (lan) i mahunarke (grah, leća). (Ljubičić i sur., 2019)

Netopiva vlakna su gotovo rezistentna na bakterijsku fermentaciju, ali imaju sposobnost vezanja velike količine vode. Vezanjem vode povećavaju volumen fecesa i potiču probavu. Netopiva vlakna poticanjem peristaltike crijeva, omekšavanjem stolice i smanjenjem pritiska na stijenku crijeva smanjuju rizik od pojave hemoroida, divertikuloze i drugih bolesti crijeva. U netopiva vlakna ubrajamo celulozu, hemicelulozu i lignin. Izvori netopivih vlakana su cjelovite žitarice, pšenične, kukuruzne i zobene mekinje i sjemenke, povrće (mahune, brokula, kupus, tikvice, celer, luk, rajčica, zeleno lisnato i korjenasto povrće), grožđice, grožđe. (Ljubičić i sur., 2019)

Najvažnija fizikalno-kemijska svojstva vlakana koja se određuju su fermentabilnost, topljivost i viskoznost. Ova svojstva utječu na farmakološko djelovanje vlakana u organizmu. (<https://www.hsph.harvard.edu>, Capuano,2017; Holscher, 2017)

Prehrambena vlakna imaju i ulogu prebiotika. Sva prehrambena vlakna nisu prebiotici, ali svi prebiotici pripadaju prehrambenim vlaknima. Prebiotici povoljno djeluju na mikrofloru u crijevima stimulirajući njezin rast i aktivnost, jačaju epitel crijevne sluznice, potiču apsorpciju Ca i Mg, smanjuju apetit te imaju imunomodulatorno djelovanje. (Bošnjak, 2019)

Prehrambena vlakna mogu utjecati na apsorpciju i biodostupnost antioksidansa poput karotenoida i polifenola. (Slika 9.) Ovisno o svojstvima vlakana stvarajući kemijske komplekse ili koloidne strukture s bioaktivnim spojevima mogu smanjiti ili, rjeđe, povećati njihovu apsorpciju. (Palafox-Carlos i sur., 2011)



Slika 8. Prikaz apsorpcije karotenoida iz hrane bogate prehrambenim vlaknima. Karotenoidi se u krvotok i limfu apsorbiraju u obliku micela koje nastaju pomoću žučnih soli i čestica masti. Opseg apsorpcije je puno manji nego kod hrane siromašne prehrambenim vlaknima.

(Preuzeto i prilagođeno iz Palafox-Carlos i sur. (2011, uz dopuštenje)

1.4. ISPITIVANJE GASTROINTESTINALNE STABILNOSTI

Gastrointestinalna stabilnost pokazuje koliki dio smanjenja analita je posljedica djelovanja uvjeta u GIT-u. Poznavanje količine raspada analita bitan nam je čimbenik u određivanju biodostupnosti analita u smjesama vlakana. Smanjenje koncentracije analita u smjesi vlakana je posljedica raspada analita i vezanja za vlakna. Samo slobodna frakcija analita predstavlja dostupnu koncentraciju za apsorpciju (biodostupna frakcija analita). Razlika između koncentracije analita u čistoj otopini nakon GIT digestije i koncentraciji analita u otopini smjese vlakana predstavlja frakciju vezanu za vlakna. Frakcija vezana za vlakna je dio koji se ne može apsorbirati, te vezanje za vlakna smanjuje biodostupnost. (Rodriguez-Concepcion i sur., 2018; Palafox-Carlos i sur., 2011)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Karotenoidi, kurkumin i prehrambena vlakna kao nutraceutici pokazuju mnoge pozitivne učinke koji doprinose ljudskom zdravlju i kvaliteti života. Nema točnih smjernica za dnevni unos karotenoida, unos ovisi o vrsti kao i pozitivni učinci na ljudski organizam. Poznato je da je apsorpcija karotenoida i kurkumina ovisna o ostalim sastavnicama pripravka u kojima se nalaze.

Kod bolesnika na enteralnoj prehrani unos karotenoida i vlakana je posebno ugrožen zbog smanjenog unosa namirnica bogatih vlaknima i mikronutrijentima. Kompleksni biljni ekstrakti bogati karotenoidima i prehrambena vlakna često se koriste kao bioaktivne sastavnice nove/funkcionalne hrane. U uvjetima probavnog trakta vrlo često stupaju u međusobne interakcije čiji intenzitet ovisi o fizikalno kemijskim karakteristikama, a koje mogu rezultirati smanjeno oralnom biodostupnošću pojedinih sastavnica te tako utjecati na kvalitetu konačnog proizvoda.

Cilj ovog eksperimentalnog rada je istražiti stabilnost pojedinih karotenoida (beta karoten, likopen) i kurkumina u gastrointestinalnom traku te intenzitet vezanja ispitivanih spojeva na različite formulacije vlakana. Preciznije, odrediti njihovu biodostupnost ukoliko se nalaze zajedno u formulaciji te usporediti dobivene rezultate kako bi procijenili utjecaj prehrambenih vlakana na stabilnost i biodostupnost beta karotena, likopena i kurkumina.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI

- Kalijev klorid (Grammol, Zagreb, Hrvatska)
- Kalijev hidrogenfosfat (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Natrijev hidrogenkarbonat (Lach-ner, Neratovice, Češka)
- Magnezijev klorid heksahidrat (Merok, Darmstadt, Njemačka)
- Amonijev karbonat (Sigma-Aladrich, St.Louis, SAD)
- Klorovodična kiselina (Lach-ner, Neratovice, Češka)
- Natrijev hidroksid (Sigma-Aladrich, St.Louis, SAD)
- Destilirana voda

3.1.2 UZORCI

- Beta karoten (CaroCare® Nat. β -Carotene 10% CWS/S-BK)
- Likopen (Redvivo® 10% CWS/S-TG-L)
- Kurkumin (Uc3 Clear (Curcuma Longa Extract)-K)
- Mješavine vlakana

STAND-1 mješavina vlakana

STAND-2 mješavina vlakana

STAND-3 mješavina vlakana

INOV-1A mješavina vlakana

INOV-1B mješavina vlakana

INOV-2A mješavina vlakana

INOV-2B mješavina vlakana

INOV-3A mješavina vlakana

INOV-3B mješavina vlakana

INOV-4 mješavina vlakana

3.1.3. INSTRUMENTI I PRIBOR

- Analitička vaga, AB265-S (Meter, Toledo, Indija)
- Ph-metar s kombiniranom staklenom elektrodom (Methrom, Švicarska)
- Vortex mješalica, tip VTX-3000L (Mixer UZUSIO, Japan)
- Multi Bio RS-24 rotator (BioSan, Riga, Latvija)
- Spektrofotometar Cecil Ce7200 (Cecil Instruments, Cambridge, UK)
- Lisa MultiLab centrifuga (AFI group, Château-Gontier, Francuska)
- Orbital Shaker-Incubator ES-20/60 (BioSan, Riga, Latvija)
- Multikanalne pipete
- Mikropipete
- Falcon kivete
- Eppendorf epruvete
- Staklene epruvete
- Kivete
- Odmjerne tikvice
- Kapaljke
- Čaše

3.2. PLAN RADA

- Priprema reagensa i uzoraka
- Simulacija GIT uvjeta
- Spektrofotometrijsko mjerenje
- Priprema smjesa karotenoida i vlakana
- Simulacija GIT uvjeta
- Spektrofotometrijsko mjerenje
- Određivanje stabilnosti i biodostupnosti

3.3. METODE

3.3.1. ISPITIVANJE GASTROINTESTINALNE STABILNOSTI KAROTENOIDA I KURKUMINA SIMULACIJOM GASTROINTESTINALNE DIGESTIJE

Simulacija gastrointestinalnih uvjeta napravljena je prema INFOGEST protokolu za statičnu in vitro simulaciju gastrointestinalne probave hrane uz manje preinake (Brodkorb i sur., 2019). Statički model digestije oponaša uvjete kojima su izložene oralno unesene tvari, a sastoji se od dva uzastopna koraka u kojemu prvi oponaša uvjete koji se nalaze u želucu, dok drugi korak oponaša uvjete koji se nalaze u crijevima, preciznije tankom crijevu.

Prema protokolu pripravljene su simulacijske otopine za probavu. Simulirana gastrična tekućina (SGF) predstavlja uvjete u želucu kojima je izložena oralno konzumirana tvar. Simulirana intestinalna tekućina (SIF) oponaša uvjete u tankom crijevu. Uvjeti probave oponašaju se pripremom točno određenih koncentracija soli koje se razlikuju ovisno o mjestu probave, te podešavanjem pH na fiziološke vrijednosti. Gastrični pH je 3, dok je intestinalni pH 7. Za podešavanje pH korištene su 1M otopina NaOH i 1M otopina HCl. Za uspješniju simulaciju potrebno je uzorke inkubirati ukupno 4 sata na 37 °C, 2 sata nakon dodatka SGF-a i 2 sata nakon dodatka SIF-a. Uzorci su za vrijeme inkubacije rotirani na rotatoru.

3.3.1.1. PRIPREMA REAGENSA

Za pripremu SIF-a i SGF-a (500 mL, 1x razrjeđenja) potrebno je pripremiti stock otopine soli. Stock otopine pripremaju se otapanjem soli u ultračistoj vodi, osim 6M otopine HCl koja se priprema razrjeđivanjem.

- KCl (0,5M) - otapanje 746 mg u ultračistoj vodi u odmjerne tikvici od 20 mL
- KH_2PO_4 (0,5M) - otapanje 340 mg u ultračistoj vodi u odmjerne tikvici od 5 mL
- NaHCO_3 (1M) - otapanje 8400 mg u ultračistoj vodi u odmjerne tikvici od 100 mL
- NaCl (2M) - otapanje 2925 mg u ultračistoj vodi u odmjerne tikvici od 25 mL
- $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ (0,15M) - otapanje 152,5 mg u ultračistoj vodi u odmjerne tikvici od 5 mL

- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (0,5 M) - otapanje 96 mg u ultračistoj vodi u odmjernej tikvici od 2 mL
- HCl (6M) - razrjeđivanje 9,9368 mL 37% HCl-a ultračistom vodom 20 mL odmjernej tikvici od 20 mL
- NaOH (1M). - otapanje 4000 mg u ultračistoj vodi u tikvici od 100 mL

Tablica 1. Volumeni stock otopina potrebni za pripremu SGF-a i SIF-a

SOL	Stock koncentracije (M)	SGF		SIF	
		Dodana količina stock otopine (mL)	Konačna koncentracija u SGF (mM)	Dodana količina stock otopine (mL)	Konačna koncentracija u SIF
KCl	0,5	6,9	6,9	6,8	6,8
KH_2PO_4	0,5	0,9	0,9	0,8	0,8
NaHCO_3	1	12,5	25	42,5	85
NaCl	2	11,8	47,2	9,6	38,4
$\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})$	0,15	0,4	0,12	1,1	0,33
$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	0,5	0,5	0,5	-	-
HCl	6	1,3	15,6	0,7	8,4

SIF i SGF otopine se pripremaju u staklenoj čaši od 600 mL pomoću stock otopina. Izračunati volumen stock otopina (Tablica 1.) pipetom se prenese u čašu i doda se manje od ukupne količine vode (do otprilike 400mL). Otopine se promiješaju i mjeri se pH. Ukoliko je potrebno, korištenjem 1M otopine HCl i 1M otopine NaOH podesi se pH na ciljne vrijednosti (pH= 7 za SIF, pH=3 za SGF). Otopine se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 500 mL te nadopune ultračistom vodom do oznake. Višak pripremljenog reagensa se prenese u Falcon kivete od 50mL te se čuva u zamrzivaču na -20°C do sljedeće faze pokusa. Zamrzavanje otopina osigurava njihovu stabilnost do godinu dana.

3.3.1.2. PRIPREMA UZORAKA

Svaki uzorak pripremljen je u dva seta duplikata (Tablica 2.). Uzorci oba seta duplikata otopljeni su u SGF-u. Apsorbancija se mjeri na početku i nakon 2 sata inkubacije. Uzorcima u drugom setu duplikata (XI, XI') je nakon 2 sata inkubacije dodan SIF i stavljeni su na još 2 sata inkubacije. Apsorbancija je mjerena prije inkubacije, 2 sata nakon inkubacije (prva inkubacija) te nakon 4 sata inkubacije (druga inkubacija).

Tablica 2. Oznake uzorka (ovisno o fazi digestije)

Uzorak	Otapalo	Faza digestije	Oznaka uzorka
Beta karoten (CaroCare® Nat. β -Carotene 10% CWS/S-BK)	SGF	Gastrična	5G
			5G'
	SGF+SIF	Intestinalna	5I
			5I'
Likopen (Redvivo® 10% CWS/S-TG-L)	SGF	Gastrična	6G
			6G'
	SGF+SIF	Intestinalna	6I
			6I'
Kurkumin (Uc3 Clear (Curcuma Longa Extract)-K)	SGF	Gastrična	7G
			7G'
	SGF+SIF	Intestinalna	7I
			7I'

PRIPREMA UZORKA BETA KAROTENA

U 4 Falcon kivete od 10 mL vagnuto je 1,0 mg beta karotena. U sve četiri epruvete (5G, 5G', 5I, 5I') dodano je po 5 mL SGF-a. Uzorci su vorteksirani kako bi se beta karoten u potpunosti otopio. Nakon pripreme homogene otopine iz svakog uzorka je pipetom uzeto 500 μ L otopine i prebačeno je u Eppendorf epruvete. Falcon kivete s otopinama su stavljene na rotator (Orbital Shaker-Incubator, recipročno miješanje na 85°) i u inkubator na 37°C na 2 sata. Uzorcima uzetim u Eppendorf epruvetama izmjerena je apsorbancija na 490nm.

Nakon 2 sata iz uzoraka u Falcon kivetama opet je uzeto 500 μ L otopine i prebačeno je u Eppendorf epruvete. Zatim je u uzorke 5I i 5I' dodano dodano 4 mL SIF-a (omjer SIF:SGF = 1:1). Uzorci su vorteksirani, vraćeni na rotator i u inkubator na 37 °C 2 sata. Uzorcima u Eppendorf epruvetama izmjerena je apsorbancija na 490nm.

Nakon još dva sata inkubacije uzorcima je izmjerena apsorbancija na 490nm. Pri spektrofotometrijskom mjerenju za nuliranje instrumenta (uklanjanje smetnji spojeva koji apsorbiraju iz otapala) se koristila ultračista voda.

PRIPREMA UZORKA LIKOPENA

U 4 Falcon kivete od 10 mL vagnuto je 3,0 mg likopena. U sve četiri epruvete (6G, 6G', 6I, 6I') dodano je 5 mL SGF-a. Uzorci su vorteksirani kako bi se likopen u potpunosti otopio. Nakon pripreme homogene otopine iz svakog uzorka je pipetom uzeto 500 μ L otopine i prebačeno je u Eppendorf epruvete. Falcon kivete s otopinama su stavljene na rotator (Orbital Shaker-Incubator, recipročno miješanje na 85°) i u inkubator na 37°C na 2 sata. Uzorcima uzetim u Eppendorf epruvetama izmjerena je apsorbancija na 502nm.

Nakon 2 sata iz uzoraka u Falcon kivetama opet je uzeto 500 μ L otopine i prebačeno je u Eppendorf epruvete. Zatim je u uzorke 6I, 6I' dodano 4 mL SIF-a (omjer SIF:SGF = 1:1). Uzorci su vorteksirani, vraćeni na rotator i u inkubator na 37 °C 2 sata. Uzorcima u Eppendorf epruvetama izmjerena je apsorbancija na 502nm.

Nakon još dva sata inkubacije uzorcima (6I,6I') je izmjerena apsorbancija na 502nm.

Pri spektrofotometrijskom mjerenju za nuliranje instrumenta (uklanjanje smetnji spojeva koji apsorbiraju iz otapala) se koristila ultračista voda.

PRIPREMA UZORKA KURKUMINA

U 4 Falcon kivete od 10 mL vagnuto je 2,0 mg kurkumina. U sve četiri epruvete (7G, 7G', 7I, 7I') dodano je 5 mL SGF-a. Uzorci su vorteksirani kako bi se kurkumin u potpunosti otopio. Nakon pripreme homogene otopine iz svakog uzorka je pipetom uzeto 500 μ L otopine i prebačeno je u Eppendorf epruvete. Falcon kivete s otopinama su stavljene na rotator (Orbital Shaker-Incubator, recipročno miješanje na 85°) i u inkubator na 37°C na 2 sata. Uzorcima uzetim u Eppendorf epruvetama izmjerena je apsorbancija na 425nm.

Nakon 2 sata iz uzoraka u Falcon kivetama opet je uzeto 500 μ L otopine i prebačeno je u Eppendorf epruvete. Zatim je u uzorke 7I, 7I' dodano 4 mL SIF-a (omjer SIF:SGF = 1:1). Uzorci su vraćeni na rotator i u inkubator na 37 °C 2 sata. Uzorcima u Eppendorf epruvetama izmjerena je apsorbancija na 425nm.

Nakon još dva sata inkubacije uzorcima (7I,7I') je izmjerena apsorbancija na 425nm.

Pri spektrofotometrijskom mjerenju za nuliranje instrumenta (uklanjanje smetnji spojeva koji apsorbiraju iz otapala) se koristila ultračista voda.

3.4. ISPITIVANJE BIODOSTUPNOSTI KAROTENOIDA I KURKUMINA U SMJESI PREHRAMBENIH VLAKANA

Za ispitivanje biodostupnosti karotenoida i kurkumina kada se nalaze s mješavinama vlakana pripremljeno je po 12 uzoraka za svaki od 3 ispitivana analita. Napravljen je duplikat čiste otopine karotenoida koji služi kao poredbena otopina. U staklenu epruvetu od 10 mL vagne se 600 mg mješavine vlakana. U ovom dijelu ispitivanja umjesto Falcon kiveta se koriste staklene epruvete jer je uočeno da se karotenoidi apsorbiraju za plastiku te dolazi do lažno smanjenih rezultata. Karotenoidi se ne vagnu direktno u epruvete (kao što je bilo kod ispitivanja stabilnosti) nego se pripremi stock otopina u SGF-u koja se onda u potrebnom volumenu (5mL) dodaje u mješavinu vlakna.

Željene koncentracija stock otopine beta karotena je 200 mg/L, likopena 300 mg/L, a kurkumina 400 mg/L.

PRIPREMA STOCK OTOPINA UZORAKA

- 12 mg beta karotena se otopilo u 60 mL SGF-a
- 24 mg likopena se otopilo u 60 mL SGF-a
- 36 mg kurkumina se otopilo u 60 mL SGF-a

U svaku od 12 staklenih epruveta pripremljenih za jedan karotenoid doda se 5 mL stock otopine. Epruvete s vlaknima je potrebno dobro vorteksirati kako bi se vlakna resuspendirala u otopini karotenoida. 10 epruvete sadrži 600 mg mješavine vlakana i 5 mL stock otopine ispitivanog karotenoida, dok dvije sadrže samo 5 mL stock otopine i služe kao slijepa proba. Epruvete se zatvaraju staklenim čepom i dodatno omotaju parafilmom. Nad uzorcima se provede simulacija GIT digestije – stavljaju se na rotator (Orbital Shaker-Incubator ES-20/60) te u inkubator na 37 °C 2 sata, zatim se dodaje 5 mL SGFa i vrate se u inkubator na 37 °C 2 sata uz rotiranje. Nakon provedene digestije uzorci se centrifugiraju 15 minuta na 5100G. Nakon centrifuge dio supernatanta se prebaci u eppendorf epruvetu pomoću automatske pipete pazeći da se ne unese talog, supernatantu se mjeri apsorbancija. Pri spektrofotometrijskom mjerenju za nuliranje instrumenta (uklanjanje smetnji spojeva koji apsorbiraju iz otapala) se koristila ultračista voda.

Apsorbancija beta karotena se mjeri na 490 nm, za likopen na 502nm, a kurkumin na 425nm.

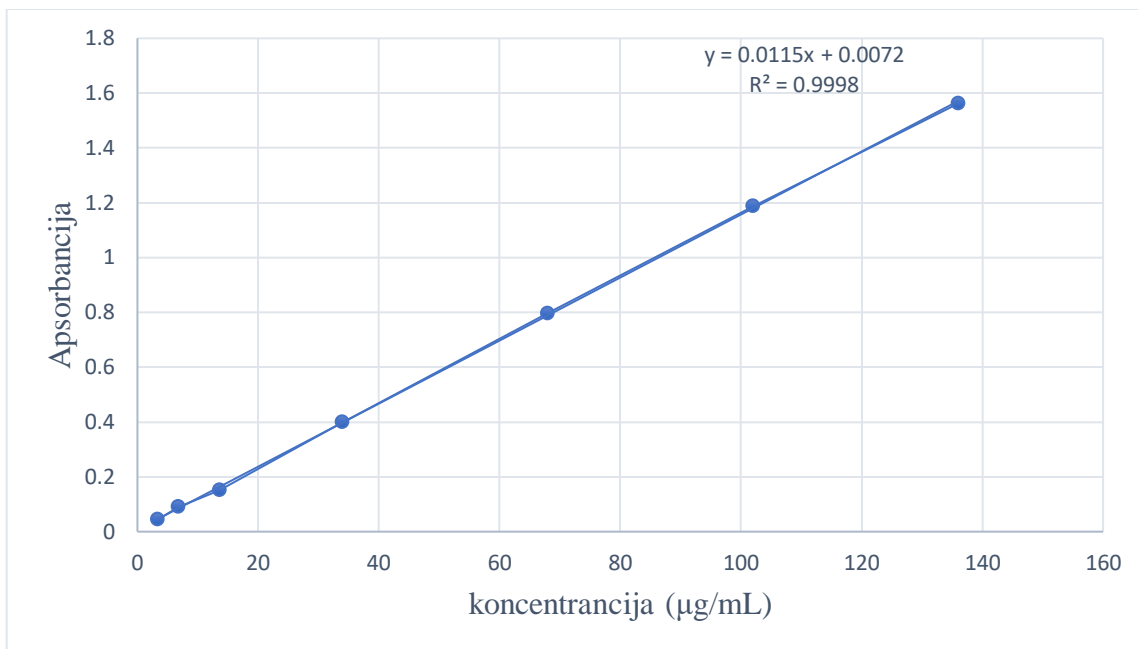
3.5. SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KAROTENOIDA I KURKUMINA

Spektrofotometrijsko mjerenje (mjerenje apsorbancije) koristi se za određivanje koncentracije karotenoida i kurkumina u uzorku. Koncentracija analita u uzorku izračunava se iz količine apsorbirane svjetlosti koja je jednaka razlici inteziteta svjetlosti prije i nakon prolaska kroz uzorak, pomoću baždarnih pravaca ovisnosti apsorbancije karotenoida o koncentraciji u uzorku. Baždarni pravci su izrađeni pomoću mjerenja apsorbancije uzoraka s poznatom koncentracijom analita.

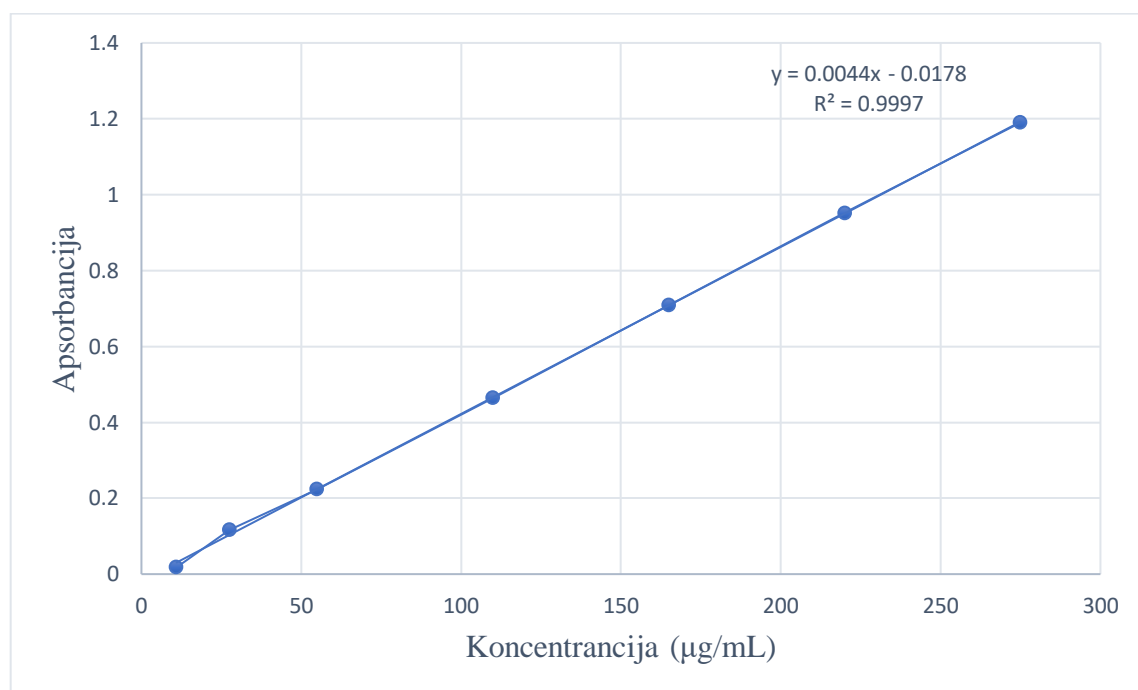
Pri određivanju stabilnosti apsorbancija je mjerena prije početka inkubacije uzoraka, nakon 2 sata inkubacije i nakon 4 sata inkubacije. Za uzorke u vodi mjerena je u sve tri vremenske točke kako bi se stekla predodžba koliko karotenoida se raspada pod utjecajem tjelesne temperature u vodi. Uzorci koji su samo predstavljali gastričnu fazu su mjereni u dvije vremenske točke, na početku nakon dodatka SGF-a i nakon dva sata inkubacije. Zadnjem duplikatu uzoraka, koji predstavljaju potpunu simulaciju GIT uvjeta, apsorbancija je mjerena u 3 vremenske točke. Uzorci otopina beta karotena i likopena imali su previsoke vrijednosti apsorbancije (bili su prekoncentrirani) te su razrijeđeni 4 puta ultračistom vodom i to na način da je iz eppendorf epruvete uzeto i prebačeno 125 μ L uzorka u eppendorf kivetu i dodano 375 μ L destilirane vode, promiješano i mjerena je apsorbancija. Primjenom razrjeđivanja postiglo se da svi uzorci imaju apsorbanciju između 0,1 i 1 što osigurava veću preciznost pri izračunu koncentracije otopine pomoću baždarnog pravca.

Pri određivanju biodostupnosti apsorbancija je mjerena jednom, na kraju simulacije digestije i centrifugiranja uzoraka.

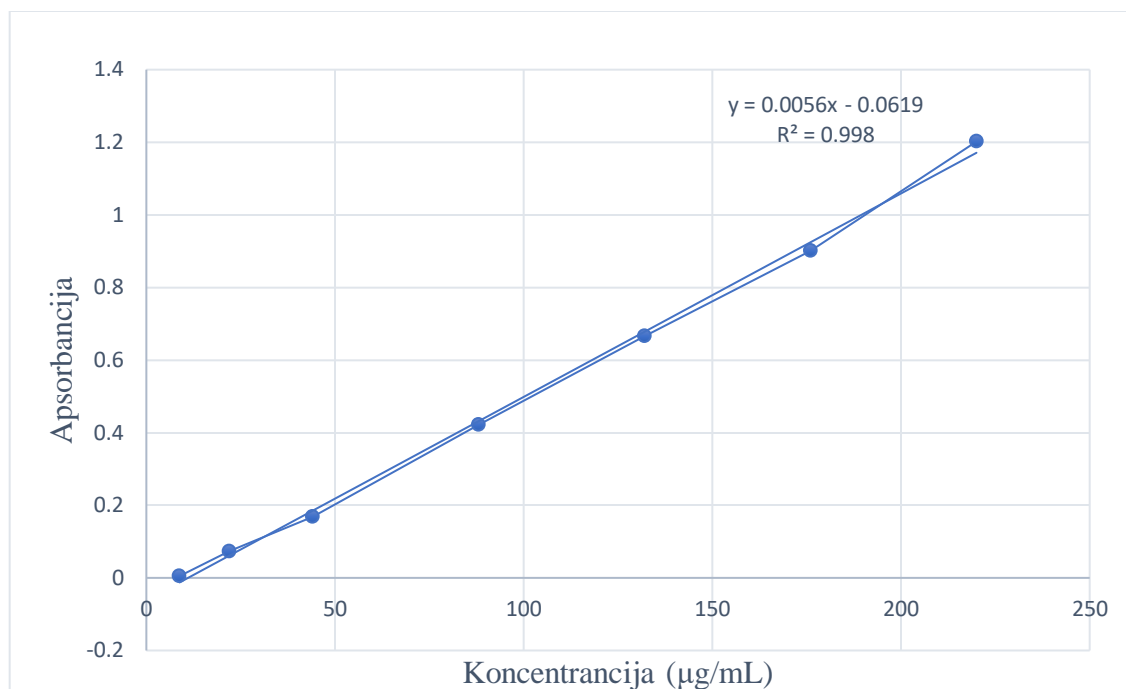
Iz izmjerene apsorbancije se, preko jednadžbe pravca, izračuna koncentracija analita u uzorku. Svaki karotenoid ima svoj baždarni pravac (Slika 9.,10. i 11.) i svoju jednadžbu pravca.



Slika 9. Baždarni pravac za beta karoten s pripadajućom jednađbom pravca, mjereno na 490 nm



Slika 10. Baždarni pravac za likopen s pripadajućom jednađbom pravca, mjereno na 502 nm



Slika 11. Baždarni pravac za kurkumin s pripadajućom jednačbom pravca, mjereno na 425 nm

3.6. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Za statističku obradu podataka korišten je programski paket Microsoft Office Excel (proizvođača Microsoft) kao i za izradu grafova i grafikona. Stabilnost i biodostupnost su mjereni za svaki uzorak u duplikatu, te su izraženi u postocima. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost uz pripadajuće standardne devijacije. Za usporedbu uzoraka korišteni su Studentov t-test ili jednosmjerna analiza varijance sa post hoc Tukey-ovim testom.

4. REZULTATI I RASPRAVA

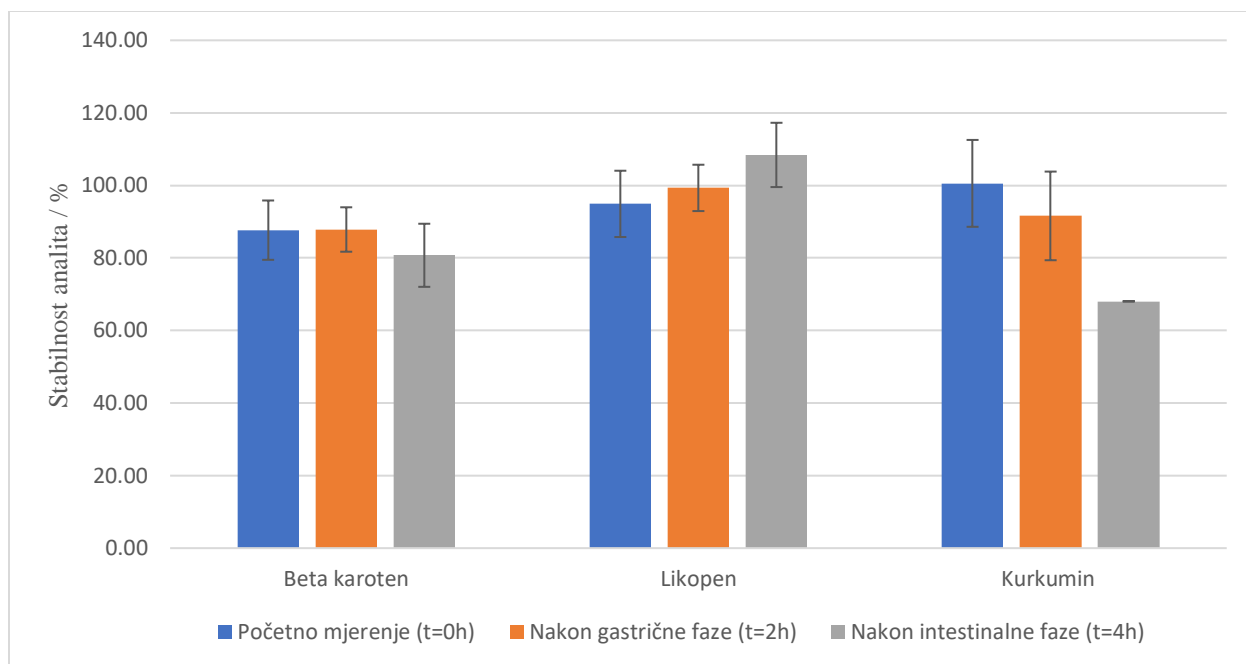
4.1. GASTROINTESTINALNA STABILNOST KAROTENOIDA I KURKUMINA

U ovom radu istražena je gastrointestinalna stabilnost karotenoida (beta karotena, likopena) i kurkumina.

Mjerenjem apsorbancija na karakterističnim valnim duljinama pomoću baždarnih pravaca (Slika 9.,10.,11.) izračunata je koncentracija istraživanih spojeva u analiziranim uzorcima. Dobivena masa uspoređena je s početnom masom u uzorku koju se izračunava iz koncentracije pripremljene otopine analita. Količina mase uzorka nakon gastrointestinalne digestije je izražena kao postotak početne mase (Tablica 3.).

Tablica 3. Prosječna stabilnost ispitivanih analita na početku mjerenja, nakon simulacije gastrične digestije i nakon simulacije intestinalne digestije uz pripadajuće standardne devijacije i RSD

	Beta karoten	Likopen	Kurkumin
Količina analita na početku mjerenja (t=0h) / %	87,67	94,91	100,56
stdev	8,18	9,14	11,98
RSD	9,33	11,98	11,91
Količina analita nakon gastrične faze (t=2h) / %	88	99	92
stdev	6,1	6,4	12,2
RSD	7,0	6,4	13,3
Količina analita nakon intestinalne faze (t=2h) / %	80,74	108,40	68,04
stdev	8,70	8,86	0
RSD	10,78	8,18	0



Slika 12. Prikaz stabilnosti ispitivanih analita (%) na početku mjerenja, nakon gastrične i nakon intestinalne faze

Beta karoten i likopen ostaju relativno stabilni tijekom simulacije probave (Slika 12.). Stabilnost beta karotena ipak je manja od likopena te se beta karotenu koncentracija smanjuje za oko 10%. Koncentracija likopena se ne smanjuje tijekom simulacije probave, čak se prividno povećava. Kurkumin je najnestabilniji od tri ispitivana analita tijekom simulacije probave. Kurkumin ostaje relativno stabilan tijekom simulacije gastričnih uvjeta (koncentracija pada na 92% početne koncentracije), ali je pad koncentracije zamjetan tijekom simulacije intestinalne probave (koncentracija pada na oko 70%).

4.2. BIODOSTUPNOST KAROTENOIDA I KURKUMINA U FORMULACIJAMA S VLAKNIMA

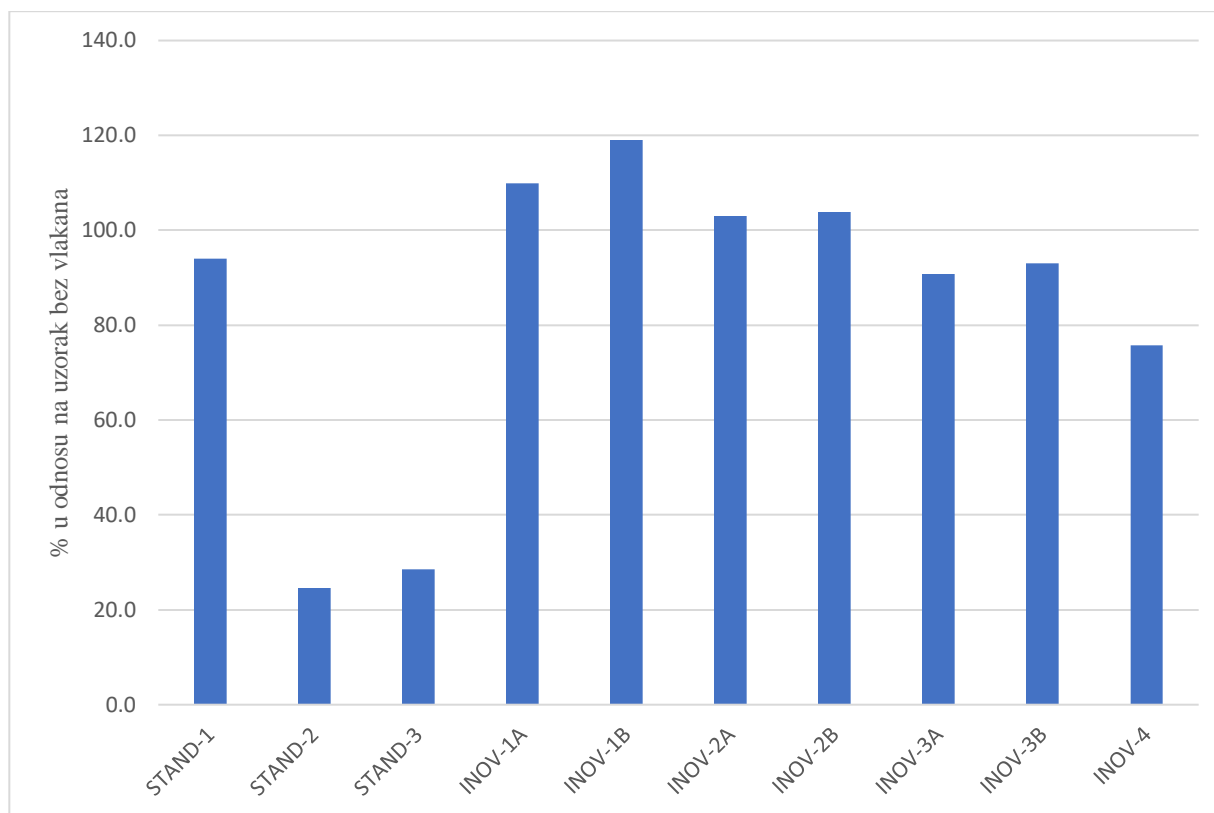
Nakon stabilnosti istražena je biodostupnost karotenoida i kurkumina u mješavinama vlakana. Korišten je analogan princip kao i kod određivanja i računanja stabilnosti karotenoida pomoću UV-Vis spektrofotometrije i baždarnih pravaca.

Relativna biodostupnost uzorka izražena je u odnosu na uzorak bez vlakana na kojem je proveden jednaki protokol simulacije digestije (Tablica 5.)

Tablica 5. Biodostupnost ispitivanih analita uz 10 ispitivanih mješavina prehrambenih vlakana izražena kao postotak u odnosu na uzorak bez vlakana

Mješavina vlakna	% u odnosi na uzorak bez vlakana		
	Beta karoten	Likopen	Kurkumin
STAND-1	94,0	97,1	113,7
STAND-2	24,6	49,9	55,6
STAND-3	28,5	73,8	56,7
INOV-1A	109,9	95,8	60,6
INOV-1B	119,0	98,3	39,5
INOV-2A	103,0	92,0	51,7
INOV-2B	103,9	79,7	89,9
INOV-3A	90,8	77,8	62,3
INOV-3B	93,0	83,4	57,5
INOV-4	75,7	72,3	103,3

4.2.1. BIODOSTUPNOST BETA KAROTENA S MJEŠAVINAMA PREHRAMBENIH VLAKANA



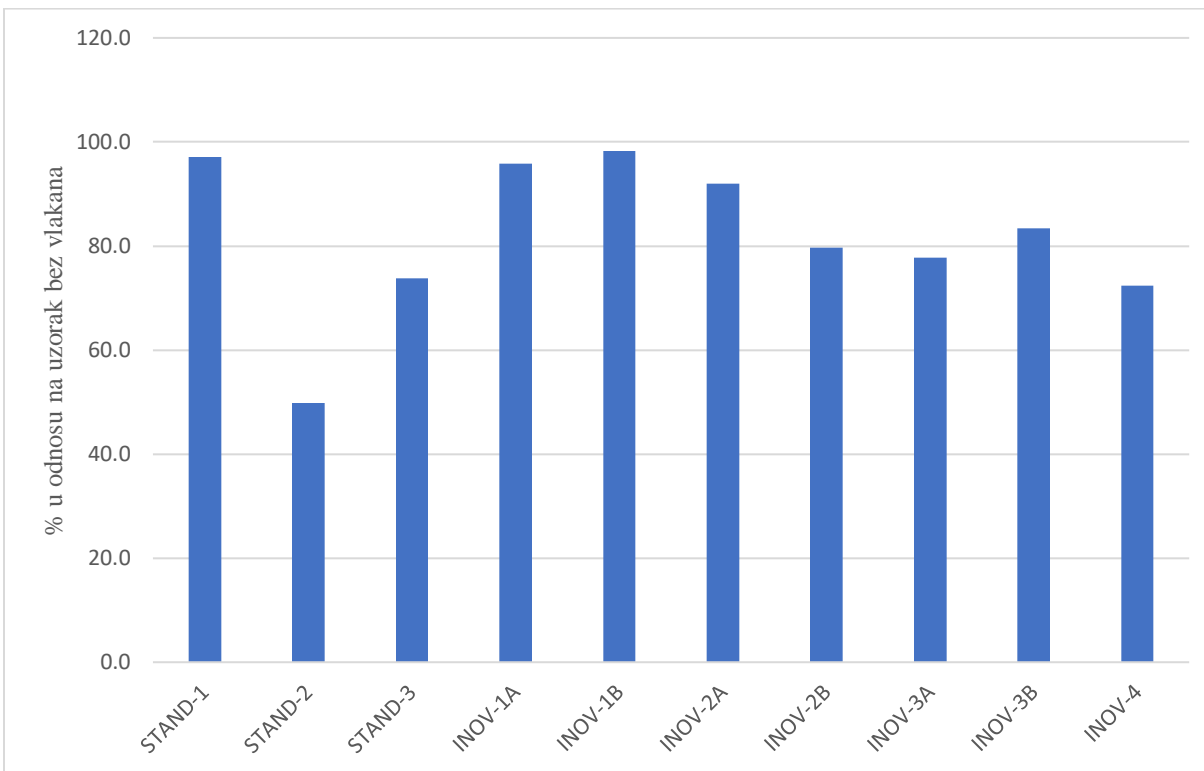
Slika 13. Biodostupnost beta karotena u otopini sa ispitivanim mješavinama vlakana izražena kao postotak slobodne frakcije u odnosu na količinu u otopini bez vlakana

Dobivene vrijednosti biodostupnosti beta karotena su vrlo različite (Slika 13.). Najveće smanjenje biodostupnosti beta karotena pokazuju dvije standardne mješavine – STAND-2 (za 75,4%) i STAND-3 (za 71,5%). Čak četiri mješavine pokazuju relativno povećanje biodostupnosti - INOV-1A (za 9,9%), INOV-1B (za 19%), INOV-2A (za 3 %) i INOV-2B (za 3,9%). Četiri mješavine smanjuju biodostupnost beta karotena, ali ne toliko značajno kao STAND-2 i STAND-3. STAND-1 smanjuje biodostupnost za 6%, INOV-3A za 9,2%, INOV-3B za 7%, dok INOV-4 za 24,3%.

Sve standardne mješavine (STAND-1, STAND-2, STAND-3) smanjuju relativnu biodostupnost beta karotena. Nove, inovativne mješavine imaju različiti utjecaj na biodostupnost, 4 povećavaju dok 3 smanjuju biodostupnost. Povećanje biodostupnosti beta karotena može biti posljedica

ekstrakcije drugih spojeva iz mješavina koji pokazuju apsorpciju na istoj valnoj duljini kao i beta karoten (490nm). Malo povećanje biodostupnosti moguća je i posljedica ljudske greške ili greške u mjerenju.

4.2.2. BIODOSTUPNOST LIKOPENA S MJEŠAVINAMA PREHRAMBENIH VLAKANA

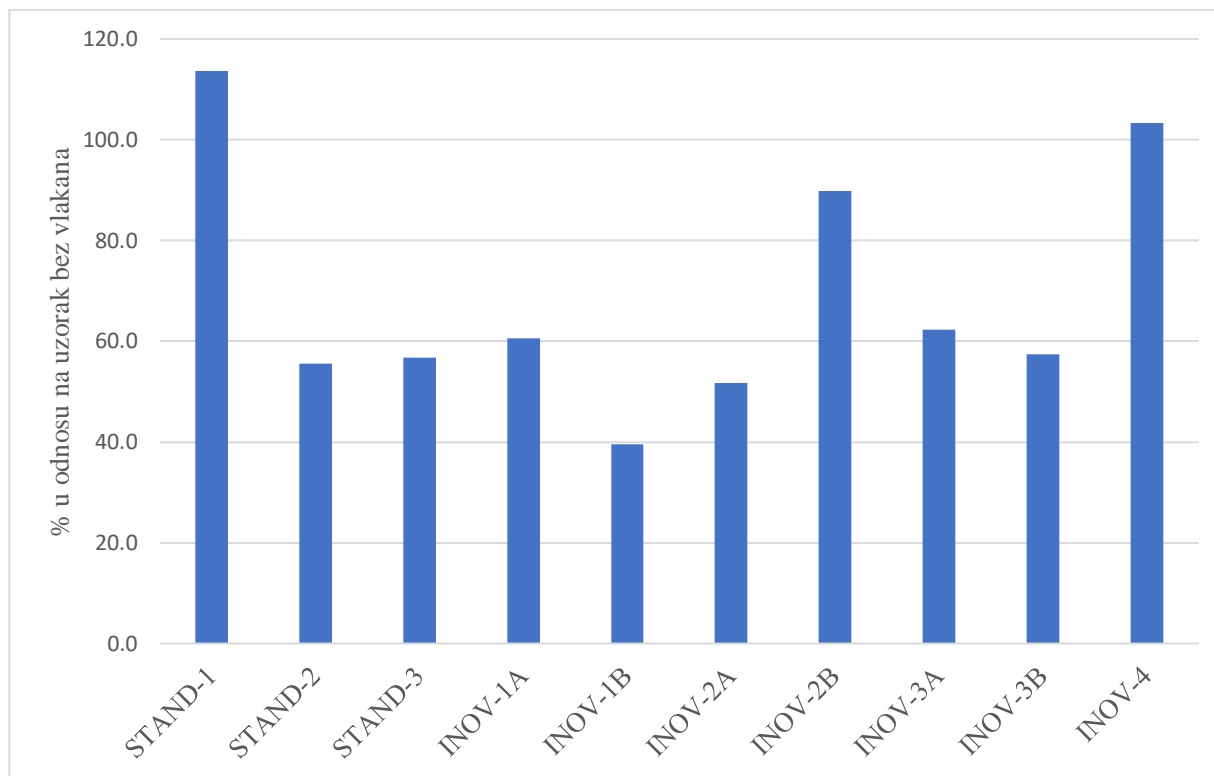


Slika 14. Biodostupnost likopena u otopini sa ispitivanim mješavinama prehrambenih vlakana izražena kao postotak slobodne frakcije u odnosu na količinu u otopini bez vlakana

Sve mješavine vlakana prikazuju smanjenje biodostupnosti likopena (Slika 14.). Sve inovativne (INOV) mješavine pokazuju smanjenje biodostupnosti manje od 30% - INOV-1A (za 4,2%), INOV-1B (za 1,7%), INOV-2A (za 8%), INOV-2B (za 20,3%), INOV-3A (za 22,2%), INOV DI 3B (za 16,6%) INOV-4 (za 27,7%). Standardne (STAND) mješavine pokazuju različite postotke smanjenja biodostupnosti – STAND-1 (za 2,9%), STAND-2 (za 50,1%), STAND-3 (za 26,2%). Smanjenje biodostupnosti manje od 10% prikazuju 4 mješavine – STAND-1, INOV1A, INOV-1B, INOV-2A.

Najveće smanjenje biodostupnosti likopena pokazuje standardna mješavina STAND-2. Ostale 4 mješavine pokazuju smanjenje biodostupnosti između 15-30%, što je uočljivo, ali ne toliko značajan gubitak.

4.2.3. BIODOSTUPNOST KURKUMINA S MJEŠAVINAMA PREHRAMBENIH VLAKANA

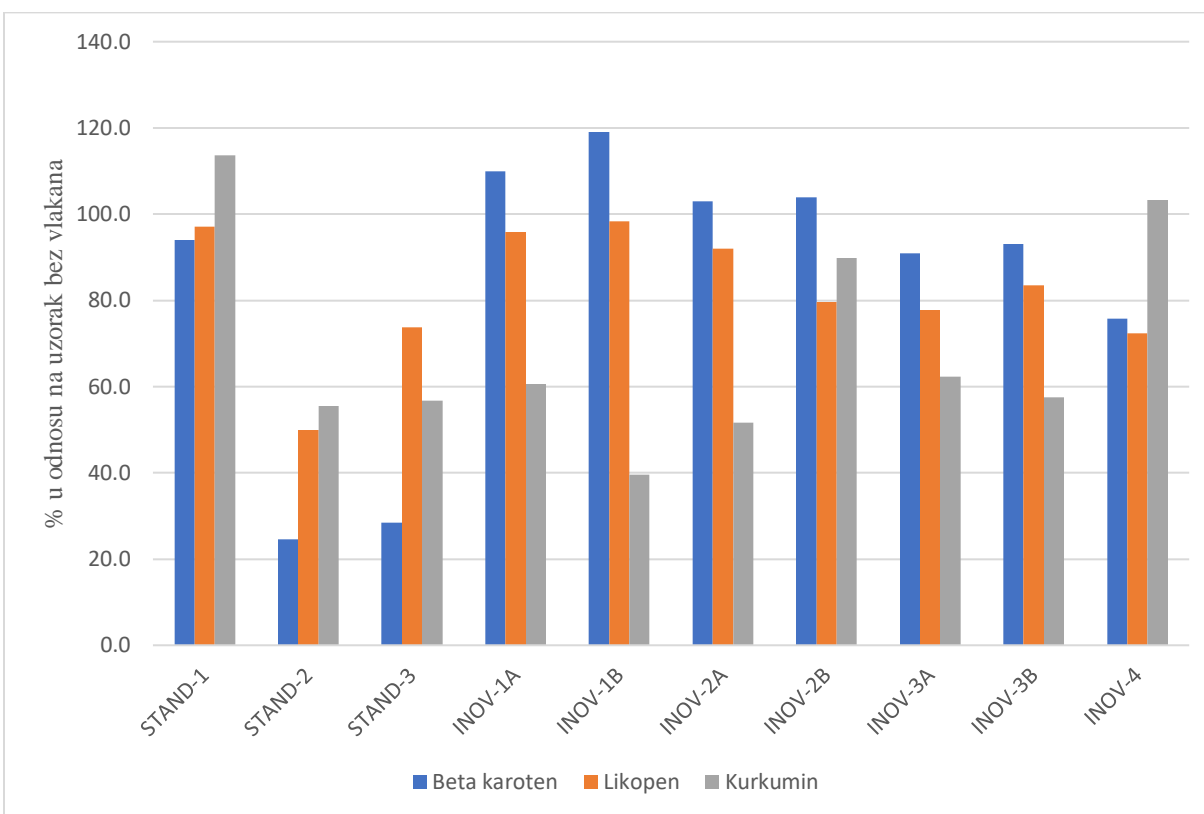


Slika 15. Biodostupnost kurkumina u otopini sa ispitivanim mješavinama prehrambenih vlakana izražena kao postotak slobodne frakcije u odnosu na količinu u otopini bez vlakana

Rezultati biodostupnosti za kurkumin su vrlo raznoliki (Slika 15.). Većina uzoraka pokazuje veliko smanjenje biodostupnosti - između 37,3 i 40,5%. To su uzorci STAND-2 (za 44,4%), STAND-3 (za 43,3%), INOV-1A (za 39,4%), INOV-1B (za 40,5%), INOV-2A (za 48,3%), INOV-3A (za 37,7%), INOV-3B (za 42,5%). Jedan uzorak pokazuje uočljivo, ali ne i veliko smanjenje biodostupnosti - INOV-2B za 11,1%. Dva uzorka pokazuju povećanje biodostupnosti – STAND-1 (za 13,7%) i INOV-4 (za 3,3%). Prividno povećanje biodostupnosti likopena može biti posljedica ekstrakcije spojeva iz mješavine tijekom digestije koji apsorbiraju na istoj valnoj duljini kao i

kurkumin, povećanje topljivosti stvaranjem kompleksa s vlaknima i sastavnicama u mješavinama ili nastankom bolje topljivih produkata razgradnjom koji također pokazuju svojstvo apsorpcije na 425 nm.

4.2.4. USPOREDBA BIODOSTUPNOSTI BETA KAROTENA, LIKOPENA I KURKUMINA S ISTIM PREHRAMBENIM MJEŠAVINAMA



Slika 16. Usporedba biodostupnosti različitih spojeva s istim mješavinama prehrambenih vlakana

Usporedbom biodostupnosti (Slika 16.) karotenoida i kurkumina u istim mješavinama vlakana uočava se velika razlika ovisno o analitu. Nema značajne korelacije između biodostupnosti različitih karotenoida kod iste mješavine vlakana. Dvije standardne mješavine (STAND-2 i STAND-3) pokazuju značajno smanjenje biodostupnosti sva tri ispitana analita, dok treća ispitana standardna mješavina pokazuje veliku biodostupnost beta karotena i likopena te čak i povećanje biodostupnosti kurkumina. Uspoređujući 7 inovativnih mješavina, biodostupnost kurkumina

pokazuje najveće oscilacije. INOV-2A najmanje utječe na biodostupnost beta karotena, INOV-1B najmanje utječe na biodostupnost likopena, a INOV-4 najmanje utječe na biodostupnost kurkumina.

4.3. RASPRAVA

Stabilnost karotenoida i kurkumina ispitivana je simulacijom probave koje je pokazala relativnu stabilnost beta karotena i likopena. Očekivano, beta karotenu se koncentracije ipak smanjuju tijekom vremena. Likopenu se koncentracije prividno povećava tijekom 4 sata simulacije probave što može biti posljedica raspada na produkte koji apsorbiraju na istoj valnoj duljini ili povećanoj topljivosti tijekom vremena u kiselim uvjetima. Koncentracija kurkumina se vidno smanjila tijekom simulacije probave, relativno je stabilan u gastričnim uvjetima, ali pokazuje veliki pad pri intestinalnim uvjetima. To može biti posljedica njegovog kratkog vremena poluraspada u uvjetima GIT-a i manje stabilnosti u lužnatijim uvjetima.

Različite mješavine prehrambenih vlakana imaju različite utjecaje na različite spojeve. Ukoliko bi bio poznat točan sastav mješavina moglo bi se zaključiti koji tip vlakana ima najveći utjecaj na biodostupnost karotenoida i kurkumina te na koji tip vlakana najviše utječu razlike u strukturi analita. Određene mješavine pokazuju sličan utjecaj na biodostupnost dok je kod drugih utjecaj značajno različit. Karakteristike pojedinih vlakana u mješavini bi nam dale uvid u zašto je to tako, no to nije obuhvaćeno opsegom ovog diplomskog rada.

Najveći negativan utjecaj na karotenoide imaju dvije standardne mješavine (STAND-1 i STAND-2) koje su vjerojatno slične svojim sastavom. Treća standardne mješavina (STAND-3) vjerojatno je svojim sastavom sličnija novim, inovativnim mješavinama. Inovativne mješavine bi svojim svojstvima trebale iskazivati bolja svojstva u odnosu na standardne. Utjecaj 7 inovativnih mješavina na biodostupnost ispitivanih spojeva je vrlo raznolika. Za svaki od tri ispitivana spoja moguće je izdvojiti jednu koja ima najmanji utjecaj na biodostupnost.

Prema razlikama biodostupnosti karotenoida uočljivo je da utjecaj na kurkumin značajno odstupa od onoga na beta karoten i likopen. Kurkumin ima više razlika u svojoj strukturi usporedno s beta karotenom i likopenom nego oni međusobno. Moguće je da preko svojih hidroksilnih i keto skupina ostvaruje jače vezanje za prehrambena vlakna. Kurkumin ima i u najmanju topljivost u vodi.

Vezanja za vlakna nije jedini čimbenik koji utječe na biodostupnost in vivo. Veliki problem in vivo biodostupnosti predstavlja lipofilnost spojeva. Beta karoten, likopen i kurkumin pokazuju značajna antioksidativna svojstva, no vrlo je i bitna formulacija u kojima će se nalaziti zbog slabe

apsorpcije u vodenom mediju GIT-a. Sva tri spoja imaju, u teoriji, veliki potencijal korištenja u liječenju bolesti i očuvanju zdravlja. Problem se javlja kod postizanja visokih (željenih) koncentracija u organizmu.

Stabilnost spojeva utječe na stupanj biodostupnosti, formulacije u kojima se nalaze karotenoidi trebaju im osiguravati što veću stabilnost zbog njihovog brzog raspada koji se događa pod utjecajem topline, svjetlosti, vodenog medija, a ne samo enzima u probavnom sustavu.

Stabilnost i biodostupnost karotenoida je pod utjecajem mnogih faktora, od kojih je vezanje za vlakna u formulaciji enteralne prehrane samo jedan. Iako uglavnom govorimo o smanjenju biodostupnosti vezanjem za vlakna, kod vrlo slabo topljivih spojeva nastajanje kompleksa i koloidnih struktura može povećati njihovu topljivost. (Palafox-Carlos i sur., 2011)

Ostale sastavnice prehrane koje utječu na obim apsorpcije su masti, metali, vitamini. Uklapanje nutraceutika, posebno antioksidansa, u nove enteralne pripravke zahtjeva mnoga istraživanja kojima će se ispitati utjecaj svih sastavnica enteralne prehrane i njihov zajednički učinak na biodostupnost antioksidansa.

5. ZAKLJUČCI

- Beta karoten i likopen su relativno stabilni tijekom simulacije probave.
- Kurkumin je relativno stabilan tijekom gastrične probave, no značajno se raspada tijekom intestinalne probave.
- 4 ispitivane mješavine vlakana povećavaju biodostupnost beta karotena, dok 6 mješavina vlakana smanjuje
- Mješavine vlakana STAND-1 i STAND-2 imaju najveći negativni utjecaj na biodostupnost beta karotena
- INOV-2A i INOV-1B imaju najmanji utjecaj na biodostupnost beta karotena
- Svih 10 ispitivanih mješavina vlakana smanjuju biodostupnost likopena.
- STAND-ON ima najveći utjecaj na smanjenje biodostupnosti likopena.
- STAND-1, INOV-1A i INOV-2B imaju najmanji utjecaj na biodostupnost likopena.
- 2 ispitivane mješavine vlakana povećavaju, a 8 ispitivanih mješavina smanjuje biodostupnost kurkumina.
- INOV-1B najviše smanjuje biodostupnost kurkumina.
- INOV-4 ima najmanji utjecaj na biodostupnost kurkumina.
- 5 ispitivanih mješavina vlakana smanjuje biodostupnost kurkumina za više od 40%.
- STAND-1 je najbolja od ispitivanih mješavina vlakana za sva 3 ispitivana analit.
- Standardne mješavine STAND-1 i STAND-2 imaju značajan utjecaj na smanjenje sva tri ispitivana spoja.
- Biodostupnost kurkumina se razlikuje za većinu ispitivanih mješavina vlakana u odnosu na beta karoten i likopen.

6. POPIS KORIŠTENIH KRATICA

CAR - karotenoidi

GIT - gastrointestinalni trakt

INOV - inovativne mješavine

SGF - simulirana гастриčna tekućina

SIF - simulirana intestinalna tekućina

ROO - radikal

ROS - reaktivne kisikove vrste

STAND - standardne mješavine

7. LITERATURA

Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol. Pharmaceutics*, 4(6), 807–818.

Antioksidansi, <http://www.inpharma.hr/>, pristupljeno 2.8.2022.

Beta-carotene, <https://foodb.ca/>, pristupljeno 7.8.2022.

Böhm, V., Lietz, G., Olmedilla-Alonso, B., Phelan, D., Reboul, E., Bánati, D., Borel, P., Cortes-Real, J., de Lera, A. R., Desmarchelier, C., Dulinska-Litewka, J., Landrier, J. F., Milisav, I., Nolan, J., Porrini, M., Riso, P., Roob, J. M., Valanou, E., Wawrzyniak, A., Winklhofer-Roob, B. M., ... Bohn, T. (2021). From carotenoid intake to carotenoid blood and tissue concentrations - implications for dietary intake recommendations. *Nutr. Rev.*, 79(5), 544–573

Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J., & Decker, E. A. (2010). Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Crit. Rev. Food Sci. And Nutr.*, 50(6), 515–532.

Bošnjak, S. (2019). 'ULOGA PREHRAMBENIH VLAKANA U OČUVANJU ZDRAVLJA PROBAVNOG SUSTAVA', Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, citirano: 16.08.2022., <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:041452>

Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat. Protoc.*, 14(4), 991–1014.

Capuano E. (2017). The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(16), 3543–3564

Clark S. F. (2002). The biochemistry of antioxidants revisited. *Nutri. Clin. Pract. : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 17(1), 5–17.

Curcuma longa, <https://commons.wikimedia.org/>, pristupljeno 24.8.2022.

Curcuma longa, stock photo <https://www.canva.com/>, pristupljeno 24.8.2022.

Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(16), 2930.

Enteralna prehrana, <http://www.inpharma.hr/>, pristupljeno 27.7.2022.

Fiber, <https://www.hsph.harvard.edu>, pristupljeno 3.8.2022.

Grabowska, M., Wawrzyniak, D., Rolle, K., Chomczyński, P., Oziewicz, S., Jurga, S., & Barciszewski, J., (2019). Let food be your medicine: nutraceutical properties of lycopene. *Food Funct.*, 10(6), 3090–3102.

Holscher H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut microbes*, 8(2), 172–184.

Introduction to spectroscopy, <https://chem.libretexts.org/>, pristupljeno 15.6.2022.

Krznarić, Zeljko. (2008). Klinička prehrana danas. *MEDICUS; Vol.17 No.1_Nutricionizam*

Kurkumin, <https://e-brojevi.udd.hr/>, pristupljeno 5.8.2022.

Ljubičić M., Matek Sarić M., Ćurin, K & Marušić, J. (2019) *Prehrambena vlakna čuvari zdravlja*, Zadar, Sveučilište u Zadru, Odjel za zdravstvene studije; GM Pharma Zagreb d.o.o

Milani, A., Basirnejad, M., Shahbazi, S., & Bolhassani, A. (2017). Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *Br. J. Pharmacol.*, 174(11), 1290–1324.

Namirnice za enteralnu prehranu, <http://www.cezih.hr> (pristupljeno 27.7.2022.)

Oil Knockaert, G., Pulissery, S. K., Lemmens, L., Van Buggenhout, S., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2012). Carrot β -carotene degradation and isomerization kinetics during thermal processing in the presence of oil. *J. Agric. Food Chem.* 60(41), 10312–10319

Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *J. Food Sci.*, 76(1), R6–R15.

Pavić, T., Tomek Roksandić, S., Vranešić Bender, D. & Krznarić, Ž. (2018) Enteralna prehrana – gdje smo danas u farmakonutriciji?. *Liječnički vjesnik : glasilo Hrvatskoga liječničkog zbora*, 140 (76), 50-56.

- Rao, A. V., Ray, M. R., & Rao, L. G. (2006). Lycopene. *Adv. Food Nutr. Research*, *51*, 99–164.
- Rodriguez-Concepcion, M., Avalos, J., Bonet, M. L., Boronat, A., Gomez-Gomez, L., Hornero-Mendez, D., Limon, M. C., Meléndez-Martínez, A. J., Olmedilla-Alonso, B., Palou, A., Ribot, J., Rodrigo, M. J., Zacarias, L., & Zhu, C. (2018). A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progr. Lipid Res.*, *70*, 62–93.
- Scita G. (1992). Stability of beta-carotene under different laboratory conditions. *Methods Enzymol.*, *213*, 175–185.
- Sheng, B., Li, L., Zhang, X., Jiao, W., Zhao, D., Wang, X., Wan, L., Li, B., & Rong, H. (2018). Physicochemical Properties and Chemical Stability of β -Carotene Bilayer Emulsion Coated with Bovine Serum Albumin and Arabic Gum Compared to Monolayer Emulsions. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *23*(2), 495
- Stutz, H., Bresgen, N., & Eckl, P. M. (2015). Analytical tools for the analysis of β -carotene and its degradation products. *Free Radical Res.*, *49*(5), 650–680.
- Sun, T., Tadmor, Y., & Li, L. (2020). Pathways for Carotenoid Biosynthesis, Degradation, and Storage. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *2083*, 3–23.

8. SAŽETAK

Beta karoten, likopen i kurkumin su biljni pigmenti koji pokazuju veliki antioksidacijski potencijal. Bitni su i često korišteni u održavanju ljudskog zdravlja i sprječavanju nastanka bolesti. Zbog svog antioksidacijskog djelovanja smatraju se nutraceuticima – vrijednim sastavnicama novih oblika enteralne prehrane.

Enteralna prehrana, zbog svoje uloge dopunjavanja ljudske prehrane u stanjima i bolestima kada je to kompromitirano kroz zdravu prehranu, sadržajno je bogata makronutrijentima i mikronutrijentima. Prehrambena vlakna su bitna sastavnica koja osigurava zdravu probavu i može djelovati probiotički, no zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava stupaju u interakcije s karotenoidima i kurkuminom te mogu smanjiti njihovu biodostupnost.

U ovom diplomskom radu ispitana je stabilnost beta karotena, likopena i kurkumina u simuliranim uvjetima probave te biodostupnost s 10 mješavinama prehrambenih vlakana.

Beta karoten i likopen pokazali su stabilnost pri simulaciji uvjeta probave, dok se koncentracija kurkumina značajno smanjila (na oko 70%).

Likopenu je svih 10 ispitivanih mješavina prehrambenih vlakana smanjilo biodostupnost, dok je biodostupnost beta karotena i kurkumina s nekim mješavinama ostala nepromijenjena. Dvije standardne mješavine STAND-2 i STAND-3 imaju značajan utjecaj na smanjenje biodostupnosti sva tri ispitivana spoja. Inovativne mješavine imaju različiti utjecaj na spojeve, ovisno o njihovom sastavu. Sve inovativne mješavine imaju mali utjecaj na biodostupnost beta karotena. Najveća biodostupnost likopena je s mješavinom INOV-1B (98,3%). Najveća biodostupnost kurkumina je uz mješavinu STAND-1 (113,7%). Dobiveni rezultati upućuju na sličnost dviju standardnih mješavina (STAND-2 i STAND-3), a različite sastave ostalih 8 mješavina te različite afinitet prema vezanju ispitivanih spojeva ovisno o sastavu mješavina.

SUMMARY

Beta carotene, lycopene and curcumin are plant pigments that show great antioxidant potential. They are important in maintaining human health and preventing diseases. Due to their antioxidant effect, they are considered nutraceuticals - valuable components of new formulas of enteral nutrition.

Enteral nutrition, due to its role of supplementing human nutrition in conditions and diseases that compromise ingestion through a healthy diet, is rich in macronutrients and micronutrients. Dietary fibers are an essential component that ensures healthy digestion and can have a probiotic effect, but due to its physical and chemical properties, its interaction with carotenoids and curcumin can reduce their bioavailability.

The stability of beta carotene, lycopene, and curcumin in simulated digestive conditions and their bioavailability as affected by different dietary fibers mixtures were examined in this master thesis. Beta carotene and lycopene showed stability during the simulation of digestion conditions, while the concentration of curcumin decreased significantly (to about 70%).

The bioavailability of lycopene was reduced by all 10 dietary fiber mixtures that were analyzed, while the bioavailability of beta-carotene and curcumin remained unchanged when analyzed with some of 10 mixtures. Two standard mixtures STAND-2 and STAND-3 have a significant effect on reducing the bioavailability of all three analyzed compounds. Innovative mixtures have different effects on compounds, depending on their composition. All innovative mixtures have little effect on the bioavailability of beta-carotene. The highest bioavailability of lycopene was shown with the mixture INOV-1B (98.3%). The highest bioavailability of curcumin was shown with the STAND-3 mixture (113.7%). With obtained results it can be concluded there is similarity between two standard mixtures (STAND-2 and STAND-3), and there is difference between composition of the other 8 mixtures with different affinity towards the binding of analyzed compounds.

9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski
fakultet
Studij: farmacija
Zavod za kemiju prehrane
Domagojeva 2, 10000 Zagreb

Diplomski rad

INTERAKCIJE PREHRAMBENIH VLAKANA S KAROTENOIDIMA I KURKUMINOM IZ BILJNIH EKSTRAKATA: UTJECAJ NA BIODOSTUPNOST

Zrinka Filić
SAŽETAK

Beta karoten, likopen i kurkumin su biljni pigmenti koji pokazuju veliki antioksidacijski potencijal. Bitni su i često korišteni u održavanju ljudskog zdravlja i sprječavanju nastanka bolesti. Zbog svog antioksidacijskog djelovanja smatraju se nutraceuticima – vrijednim sastavnicama novih oblika enteralne prehrane.

Enteralna prehrana, zbog svoje uloge dopunjavanja ljudske prehrane u stanjima i bolestima kada je to kompromitirano kroz zdravu prehranu, sadržajno je bogata makronutrijentima i mikronutrijentima. Prehrambena vlakna su bitna sastavnica koja osigurava zdravu probavu i može djelovati probiotički, no zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava stupaju u interakcije s karotenoidima i kurkuminom te mogu smanjiti njihovu biodostupnost.

U ovom diplomskom radu ispitana je stabilnost beta karotena, likopena i kurkumina u simuliranim uvjetima probave te biodostupnost s 10 mješavinama prehrambenih vlakana.

Beta karoten i likopen pokazali su stabilnost pri simulaciji uvjeta probave, dok se koncentracija kurkumina značajno smanjila (na oko 70%).

Likopenu je svih 10 ispitivanih mješavina prehrambenih vlakana smanjilo biodostupnost, dok je biodostupnost beta karotena i kurkumina s nekim mješavinama ostala nepromijenjena. Dvije standardne mješavine STAND-2 i STAND-3 imaju značajan utjecaj na smanjenje biodostupnosti sva tri ispitivana spoja. Inovativne mješavine imaju različiti utjecaj na spojeve, ovisno o njihovom sastavu. Sve inovativne mješavine imaju mali utjecaj na biodostupnost beta karotena. Najveća biodostupnost likopena je s mješavinom INOV-1B (98,3%). Najveća biodostupnost kurkumina je uz mješavinu STAND-1 (113,7%). Dobiveni rezultati upućuju na sličnost dviju standardnih mješavina (STAND-2 i STAND-3), a različite sastave ostalih 8 mješavina te različite afinitet prema vezanju ispitivanih spojeva ovisno o sastavu mješavina.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 42 stranice, 16 grafičkih prikaza, 4 tablice i 31 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Karotenoidi, beta karoten, likopen, kurkumin, stabilnost, biodostupnost, prehrambena vlakna,

Mentor: **Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo**, redovni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo** redovni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Kristina Radić, viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Petra Turčić, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: Rujan 2022.

Basic documentation card

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za kemiju prehrane
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

INTERACTIONS OF DIETARY FIBERS WITH CAROTENOIDS AND CURCUMIN FROM PLANT EXTRACTS: EFFECT ON BIOAVAILABILITY

Zrinka Filić

SUMMARY

Beta carotene, lycopene and curcumin are plant pigments that show great antioxidant potential. They are important in maintaining human health and preventing diseases. Due to their antioxidant effect, they are considered nutraceuticals - valuable components of new formulas of enteral nutrition.

Enteral nutrition, due to its role of supplementing human nutrition in conditions and diseases that compromise ingestion through a healthy diet, is rich in macronutrients and micronutrients. Dietary fibers are an essential component that ensures healthy digestion and can have a probiotic effect, but due to its physical and chemical properties, its interaction with carotenoids and curcumin can reduce their bioavailability.

The stability of beta carotene, lycopene, and curcumin in simulated digestive conditions and their bioavailability as affected by different dietary fibers mixtures were examined in this master thesis.

Beta carotene and lycopene showed stability during the simulation of digestion conditions, while the concentration of curcumin decreased significantly (to about 70%).

The bioavailability of lycopene was reduced by all 10 dietary fiber mixtures that were analyzed, while the bioavailability of beta-carotene and curcumin remained unchanged when analyzed with some of 10 mixtures. Two standard mixtures STAND-2 and STAND-3 have a significant effect on reducing the bioavailability of all three analyzed compounds. Innovative mixtures have different effects on compounds, depending on their composition. All innovative mixtures have little effect on the bioavailability of beta-carotene. The highest bioavailability of lycopene was shown with the mixture INOV-1B (98.3%). The highest bioavailability of curcumin was shown with the STAND-3 mixture (113.7%). With obtained results it can be concluded there is similarity between two standard mixtures (STAND-2 and STAND-3), and there is difference between composition of the other 8 mixtures with different affinity towards the binding of analyzed compounds.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 42 pages, 16 figures, 4 tables and 31 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Carotenoids, beta carotene, lycopene, curcumin, stability, bioavailability, dietary fiber

Mentor: **Dubravka Vitali Čepo, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Dubravka Vitali Čepo, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Kristina Radić, Ph.D. *Postdoctoral researcher*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Petra Turčić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2022