Prosimy cytować jako: Inż. Ap. Chem. 2018, 57, 4, 106-107

Agnieszka MARKOWSKA-RADOMSKA, Ewa DŁUSKA, Agata METERA

e-mail: agnieszka.markowska@pw.edu.pl

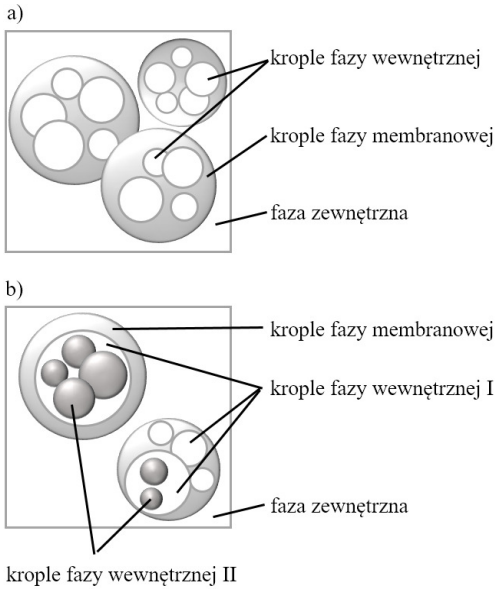
Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Emulsje wielokrotne – wielofazowe nośniki nutraceutyków w żywności funkcjonalnej

Wstęp

Badania w zakresie nauk o żywieniu i zdrowiu człowieka oraz genomiki żywieniowej wykazały, że spożywanie żywności zawierającej nutraceutyki daje możliwość oddziaływania na określone funkcje fizjologiczne organizmu i uzyskanie korzystnych efektów w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych (np. otyłości, chorób układu sercowo-naczyniowego, cukrzycy typu 2, osteoporozy, nowotworów), [*Moustaid-Moussa i Berdanier, 2001; Watson i Preedy, 2014*].

Emulsje wielokrotne wykazują duże potencjalne możliwości w zakresie ich wykorzystania w projektowaniu produktów spożywczych wzbogaconych o nutraceutyki (żywność funkcjonalna). Są to układy wielofazowe o wielorzędowej strukturze wewnętrznej, która zapewnia możliwość enkapsulacji kilku substancji prozdrowotnych w określonych fazach lub w każdej z faz (emulsje wieloskładnikowe) (Rys 1). Układy te umożliwiają uwalnianie substancji z określoną szybkością w miejscu docelowym oraz zwiększenie ich trwałości i stabilności, zwłaszcza nietrwałych składników aktywnych dzięki ich izolacji od środowiska zewnętrznego i innych składników [*Dłuska i in., 2017*].



Rys. 1. Struktura emulsji wielokrotnych: a) emulsje podwójne, b) emulsje potrójne

Praca dotyczy opracowania wielofazowych strukturyzowanych ciekłych nośników do jednoczesnej enkapsulacji różnych składników bioaktywnych (nutraceutyków) o znaczeniu profilaktycznym w chorobach cywilizacyjnych i ich kontrolowanego uwalniania przy wykorzystaniu parametrów (*pH*) fizjologicznego środowiska układu pokarmowego.

Badania doświadczalne

Materiały. Jako bioaktywną substancję modelową wykorzystano w badaniach *Rodaminę B*, którą enkapsulowano w kroplach fazy wewnętrznej (W1). *Rodamina B* stanowi analog leku α-tokoferolu tj. witaminy E. Dla obu substancji masy molowe i rozmiary cząsteczek są zbliżone, co pozwala na zachowanie podobieństwa współczynników dyfuzji tych substancji w badaniach uwalniania.

Olejową fazę membranową (O) emulsji stanowił drugi składnik bioaktywny tj. olej sojowy będący źródłem m.in. lecytyny, witaminy K oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Składy ciekłych faz emulsji wielokrotnych zestawiono w tab.1. Odczynniki wykorzystane w badaniach pochodziły z firmy *Sigma*, Polska.

Tab. 1. Skład faz ciekłych do wytwarzania emulsji

Faza	Skład
W1	Roztwór wodny soli sodowej kwasu alginowego (1,5-3% mas.) + *Pluronic P123* (0,02-0,05% mas.)
O	Olej sojowy + *Span 83* (2-5% mas.)
W2	Roztwór wodny soli sodowej karboksymetylocelulozy-CMC (1-4% mas.) + *Tween 80* (0,1-0,3% mas.) + *Pluronic P123* (2-7% mas.)

Wytwarzanie i charakterystyka emulsji wielokrotnych z enkapsulowanymi nutraceutykami. Emulsje otrzymywano w kontaktorze z przepływem *Couette'a-Taylora,* CTF (*Couette-Taylor-Flow*) [*Dłuska i Markowska-Radomska, 2010*] dla różnych parametrów wytwarzania (częstość obrotów cylindra wewnętrznego aparatu; wielkość i stosunek strumieni objętościowych poszczególnych faz wodnych (W1, W2) i olejowej (O)) warunkujących uzyskiwanie układów o różnych strukturach i rozmiarach kropel.

Charakterystyki emulsji uzyskano na podstawie obserwacji za pomocą mikroskopu optyczny *Olympus BX-60* oraz kamery cyfrowej *Olympus SC50* i analizy obrazu mikroskopowego z użyciem oprogramowania *Image-Pro Plus 4.5*. Badania stabilności prowadzono w 4 i 25°C analizując zmianę rozmiaru kropel emulsji po 5 dniach w stosunku do ich rozmiaru początkowego. Za stabilne uznawano układy w których zmiana rozmiaru kropel była mniejsza niż 10% w badanym czasie.

Badania uwalniania nutraceutyków. Uwalnianie prowadzono w temperaturze 37°C w szklanym zbiorniku o objętości 1000 cm^3 z mieszadłem. Częstość obrotów mieszadła wynosiła 100 obr/min. Do badań uwalniania emulsje rozcieńczano buforem PBS o *pH* 7, 5 i 2, co odpowiadało symulacji warunków panujących odpowiednio w jamie ustnej, przełyku i żołądku w stosunku objętościowym emulsja/ PBS = 1/10.

Po wytworzeniu emulsji i w trakcie procesu uwalniania mierzono stężenie *Rodaminy B* w fazie zewnętrznej emulsji w celu wyznaczenia stopni enkapsulacji substancji aktywnych oraz ich krzywych uwalniania. Oznaczenia prowadzono z wykorzystaniem spektrofotometru *UV-Vis* (*Helios alfa beta*) dla długości fali λ = 554 nm.

Wyniki i dyskusja

Wytwarzanie emulsji z nutraceutykami. Wytworzono stabilne emulsje podwójne (DE) typu W1/O/W2 (woda w oleju w wodzie) oraz potrójne (TE) typu O/W1/O/W2 (olej w wodzie w oleju w wodzie) z *Rodaminą B* i olejem sojowym. W przypadku emulsji potrójnych skład kropel faz olejowych (O): membranowej i wewnętrznej II był taki sam.

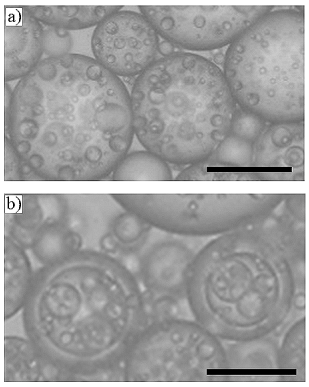
Na rys. 2 przedstawiono przykładowe zdjęcia uzyskanych struktur wielofazowych nośników nutraceutyków. Emulsje podwójne (Rys. 2a) i potrójne (Rys. 2b) wytworzono przy częstości obrotowej cylindra wewnętrznego kontaktora CTF wynoszącej 1200 obr./min oraz dla przepływów objętościowych faz (O) i (W2) równych odpowiednio 30 i 150 cm^3/min. Dla emulsji potrójnej przepływ fazy (W1) zawierającej *Rodaminę B* był dwukrotnie niższy niż w przypadku emulsji podwójnej i wynosił 15 cm^3/min.

Prosimy cytować jako: Inż. Ap. Chem. 2018, 57, 4, 106-107

Skład faz emulsji był następujący:

– ***emulsja DE:*** (W1) alginian 1,5 % mas. + *Pluronic P123* 0,02 % mas.; (O): *Span 83* 1,5% mas.; (W2): sól sodowa karboksymetylo-celulozy (CMC) 2% mas. + *Tween 80* 0,1% wag. + *Pluronic P123* 2% mas.)

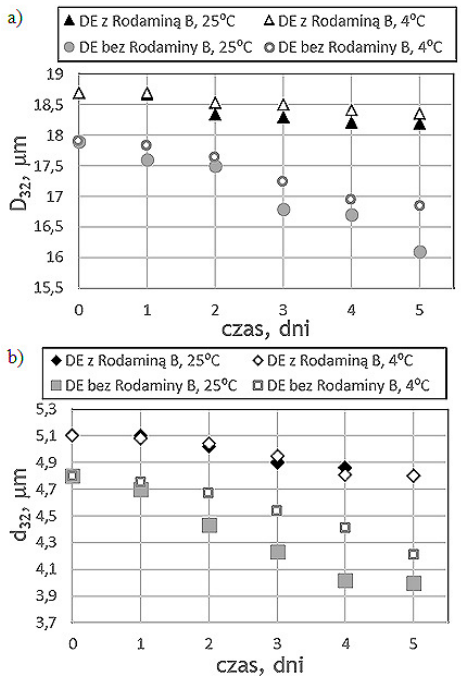
– ***emulsja TE:*** (W1): alginian 2% mas. + *Pluronic P123* 0,02% mas.; (O): *Span 83* 2% mas.; (W2): CMC 2 % mas. + *Tween 80* 0,1% mas.+ *Pluronic P123* 2 % mas.



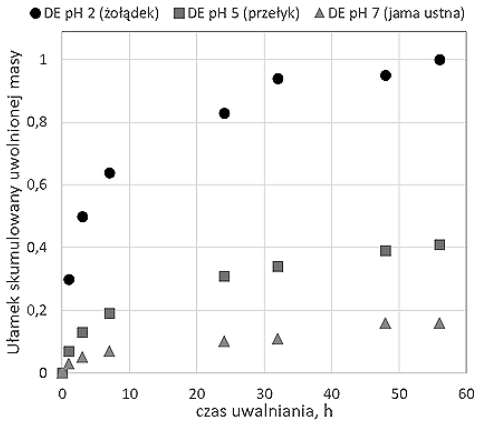
Rys. 2. Obrazy mikroskopowe emulsji wielokrotnych z olejem sojowym i *Rodaminą B* uzyskanych w reaktorze CTF a) emulsje podwójne (DE)i b) emulsje potrójne (TE), (marker 20 μm)

Dla emulsji podwójnej (DE) wyznaczone średnice *Sautera* kropel wynosiły odpowiednio 18,7 μm dla fazy membranowej i 5,1 μm dla fazy wewnętrznej. W przypadku emulsji potrójnych (TE) rozmiary średnic *Sautera* kropel faz rozproszonych wynosiły odpowiednio: 17,9 μm dla fazy membranowej, 15,2 μm dla fazy wewnętrznej I oraz 6,3 μm dla kropel fazy wewnętrznej II. Uzyskane stopnie enkapsulacji *Rodaminy B* w przypadku obu emulsji były podobne i wynosiły 89,6% (emulsja (DE)) oraz 90,4% (emulsja (TE)).

Porównanie charakterystyk emulsji DE (Rys. 3) z dwiema substancjami czynnymi (*Rodaminą B* i olejem sojowym) i emulsji zawierających tylko jedną substancję (olej sojowy) wykazało, iż dodatek *Rodaminy B* wpływał stabilizująco na strukturę emulsji.



Rys. 3. Zmiany średnic *Sautera* kropel emulsji podwójnej (DE) z olejem sojowym i *Rodaminą B* oraz bez *Rodaminy B* w temperaturach 4 i 25°C w ciągu 5 dni po wytworzeniu dla kropel a) fazy membranowej i b) fazy wewnętrznej (D_{32} -średnica *Sautera* kropel fazy membranowej, d_{32} -średnica *Sautera* kropel fazy wewnętrznej)



Rys. 4. Krzywe uwalniania *Rodaminy B* w warunkach symulujących środowisko układu pokarmowego tj. jamy ustnej, przełyku i żołądka (odpowiednio *pH* 7, 5 i 2) dla emulsji podwójnych (DE)

Uwalnianie nutraceutyków z emulsji. Na rys. 4 pokazano krzywe uwalniania dla emulsji podwójnej (DE) w postaci zależności skumulowanego ułamka masowego substancji uwolnionej od czasu. Ułamek ten wyrażony jest stosunkiem masy substancji uwolnionej po danym czasie do całkowitej masy składnika zamkniętego w emulsji.

Emulsja podwójna (DE) wykazywała różne szybkości uwalniania *Rodaminy B* w warunkach symulujących środowisko panujące w jamie ustnej, przełyku i żołądku (odpowiednio *pH* 7, 5 i 2) w temperaturze 37°C (Rys 4). Mocno kwaśne środowisko (*pH* 2) sprzyjało dużo szybszemu uwolnieniu substancji enkapsulowanej w porównaniu z *pH* 5 i 7.

Podsumowanie i wnioski

W ramach badań opracowano i wytworzono strukturyzowane ciekłe nośniki składników prozdrowotnych w formie emulsji potrójnych (typu O/W1/O/W2) oraz podwójnych (typu W1/O/W2) w kontaktorze z przepływem *Couette'a-Taylora*.

Uzyskano emulsje charakteryzujące się wysokimi stopniami enkapsulacji *Rodaminy B* (ok. 90%), różnymi rozmiarami (średnicami) kropel faz wewnętrznych i małymi stopniami polidyspersyjności (indeks polidyspersyjności < 1,3) oraz dużą stabilnością w temperaturze 4 i 25°C.

Przeprowadzone badania uwalniania nutraceutyków z emulsji podwójnych pokazały, że kwasowość środowiska silnie wpływa na szybkość ich uwalniania. Im większa kwasowość tym obserwowano szybszy proces uwalniania, związany ze zmniejszeniem lepkości fazy zewnętrznej emulsji wynikającym ze zmian konformacji przestrzennej cząsteczek CMC.

Uzyskane rezultaty potwierdzają perspektywę wykorzystania złożonych struktur emulsyjnych do jednoczesnej enkapsulacji, dostarczania i uwalniania kilku składników czynnych o działaniu prozdrowotnym w profilaktyce chorób cywilizacyjnych.

LITERATURA

Dłuska E., Markowska-Radomska A., (2010). Regimes of multiple emulsions of W1/O/W2 and O1/W/O2 type in the continuous Couette-Taylor flow contactor. *Chem. Eng. Technol.*, 33, 113-120. DOI: 10.1002/ceat.200900278

Dłuska E., Markowska-Radomska A., Metera A., Tudek B., Kosicki K., (2017) Multiple emulsions as effective platforms for controlled anti-cancer drug delivery. *Nanomedicine*, 12 (18), 2183–2197. DOI: 10.2217/nnm-2017-0112

Moustaid-Moussa N., Berdanier C.D. (2001*). Nutrient-Gene Interactions in Health and Disease*. CRC Press

Watson R.R., Preedy V.R., (2014). *Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease: Prevention and Therapy*. Academic Press

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki nr DEC-2017/01/X/ST8/01321