



ZVEZA ZA TEHNIČNO KULTURO SLOVENIJE

57. SREČANJE MLADIH RAZISKOVALCEV SLOVENIJE 2023

**ANTIOKSIDACIJSKA UČINKOVITOST PREHRANSKIH DOPOLNIL KURKUMINA IN
KURKUME**

PRI pH od 6,5 do 7,5

Področje: **Kemija in kemijska tehnologija**

Raziskovalna naloga



Avtorja:

Nejc Berlič, 9. razred OŠ Kungota

Gala Koletnik, 9. razred OŠ Kungota

Mentorica: Zdenka Keuc, OŠ Kungota

Zg. Kungota, marec 2023

| | |
|--|----|
| 1 UVOD | 5 |
| 1.1 Raziskovalno vprašanje..... | 5 |
| 1.2 Hipoteze..... | 6 |
| 1.3 Tehnike dela | 6 |
| | |
| 2 PRELGED OBJAV | 6 |
| 2.1 Tanko črevo in absorpcija kurkumina | 6 |
| 2.2 Kurkuma..... | 7 |
| 2.3 Lastnosti kurkumina..... | 8 |
| 2.4 Formulacije kurkumina | 12 |
| 2.5 UV-VIS spektroskopija kurkumina..... | 13 |
| | |
| 3 PRAKTIČNI DEL | 15 |
| 3.1 Materiali in metode dela..... | 15 |
| 3.1.1 Kemikalije..... | 15 |
| 3.1.2 Steklovina in drobni inventar..... | 16 |
| 3.1.3 Aparature | 16 |
| 3.2 Priprava raztopin | 16 |
| 3.2.1 Priprava raztopin čistega kurkumina pri različnih ph vrednostih | 16 |
| 3.2.2 Priprava vodnih raztopin kurkumina različnih koncentracij (umeritvena premica) | 17 |
| 3.2.3 Barva etanolne raztopine kurkumina pri različnih ph vrednostih | 17 |
| 3.2.4 Priprava raztopin enkapsuliranega kurkumina pri različnih ph vrednostih | 18 |
| 3.2.5 Priprava raztopin začimb kurkume pri različnih ph vrednostih..... | 18 |
| 3.2.6 Kolorimetrične meritve..... | 19 |
| 3.2.7 DPPH test..... | 20 |
| | |
| 4 REZULTATI Z RAZPRAVO | 21 |
| 4.2 Barva in topnost raztopin enkapsuliranega kurkumina pri različnih ph vrednostih | 22 |
| 4.3 Barva in topnost raztopin kurkume pri različnih ph vrednostih | 22 |
| 4.4 Vrednosti absorbance različnih koncentracij kurkumina (umeritvena premica)..... | 23 |
| 4.5 Absorbance vzorcev kurkumina pri različnih vrednostih ph..... | 24 |
| 4.6 Antioksidacijska učinkovitost vzorcev kurkumina pri ph od 6,5 do 7,5 | 27 |
| | |
| 5 ZAKLJUČKI Z RAZPRAVO | 30 |
| 5.1 Zaključki..... | 32 |

| | |
|--------------------------------|----|
| 5.1 Družbena odgovornost | 33 |
| 6 VIRI | 35 |

Kazalo grafov

| | |
|---|----|
| Graf 1. Število kliničnih preskušanj za kurkumin v obdobju med 1994 in 2022 | 10 |
| Graf 2. Umeritvena premica za kurkumin pri pH 7..... | 23 |
| Graf 3. Sprememba v koncentraciji kurkumina v vzorcu 1 v odvisnosti od pH | 25 |
| Graf 4. Sprememba v koncentraciji kurkumina v vzorcu 2 v odvisnosti od pH | 25 |
| Graf 5. Sprememba v koncentraciji kurkumina v standardu v odvisnosti od pH..... | 26 |
| Graf 6. Sprememba v koncentraciji kurkumina v standardu v odvisnosti od pH..... | 26 |
| Graf 7. Antioksidacijska učinkovitost vzorcev pri pH 6 | 29 |
| Graf 8. Primerjava antioksidacijske učinkovitosti preučevanih vzorcev kurkumina | 29 |

Kazalo preglednic

| | |
|---|----|
| Slika 1. Strukturna formula čistega kurkumina, (C ₂₁ H ₂₀ O ₆) (Lee in sod., 2013, str. 340)..... | 5 |
| Slika 2. pH prebavnega trakta od zelo nizkega pH v želodcu (<i>stomach</i>), do zmerno kislega ob vstopu v tanko črevo (<i>ascending colon</i>), preko nevtralnega do rahlo bazičnega v spodnjem delu tankega črevesja (<i>distal in descending colon</i>). | 7 |
| Slika 3. (a) Kurkuma rastlina, (b) korenika kurkume in (c) rizom kurkume..... | 8 |
| Slika 4. Najpomembnejši predstavniki kurkominoidov | 9 |
| Slika 5. Keto-enolno ravnotežje kurkominoida (povzeto po Kanhathaisong s sod., 2011, str. 160)..... | 10 |
| Slika 6. Možne uporabe kurkumina (povzeto po Prado-Audelo s sod. 2019, str. 8)..... | 11 |
| Slika 7. Razgradnja kurkumina v odvisnosti od pH (Zhang s sod., 2020) | 12 |
| Slika 8. Primeri različnih inkapsulacij kurkumina (različne vrste koloidnega dovajalnega sistema) za izboljšanje njegove stabilnosti in biološke dostopnosti (ni narisano v merilu) (Prasad s sod., 2014, str. 2)..... | 13 |
| Slika 9. UV-VIS spekter kurkumina. (a) Absorpcija v metanolu, največji vrh absorpcije pri 420 nm; (b) Absorpcija v nevtralnem mediju, največji vrh absorpcija, ugotovljena pri 420 nm; in (c) absorpcija v bazičnem mediju, ugotovljen najvišji vrh absorpcije pri 470 nm (Sharma, 2012, str. 380)..... | 14 |
| Slika 10. Izhodiščna raztopina kurkumina (5,00 x 10 ⁻³ mol/l)..... | 17 |
| Slika 11. Vernierjev kolorimeter GoDIRECT ®..... | 19 |
| Slika 12. Sprememba strukture in posledično barve DPPH radikala v stiku z antioksidantom (AH) (Baliyan s sod., 2022, str. 1)..... | 20 |
| Slika 13. Sprememba barve in topnosti čistega kurkumina pri različnih vrednostih pH vodnih raztopin | 21 |

| | |
|---|----|
| Slika 14. Topnost in barva kurkumina pri pH 6,5 in pH 10,0 | 21 |
| Slika 15. Enolna oblika kurkumina | 30 |
| Slika 16. Oblike kurkumina v odvisnosti od pH | 31 |
| Slika 17. Antioksidativno delovanje kurkumina (Sahne s sod., 2017, str, 694)..... | 32 |

POVZETEK

Raziskovali smo dva farmacevtska pripravka kurkumina, enega v liposomski oblogi in v tekoči obliki ter drugega v kombinaciji s kolagenom, v trdnem agregatnem stanju. Za primerjavo smo vzeli tri primere začimb kurkume in čisti kurkumin. Namen te raziskave je bil preveriti, ali razgradnja kurkumina, ki je prisoten v vseh vzorcih, v okolju, ki simulira pH tankega črevesa, vpliva na njegovo antioksidativno učinkovitost. Meritve so bile izvedene kolorimetrično in ugotovljeno je bilo, da je kurkumin izjemno močan antioksidant, saj je bilo le 30 sekund dovolj, da se je absorbanca radikala DPPH zmanjšala za 40 % do 60 %. Prehranska dopolnila s kurkuminom so v izbranih pH območjih pokazala večjo antioksidativno učinkovitost kot čisti kurkumin, vendar razlika ni bila velika in predvidevamo, da je posledica dodatka še dveh antioksidantov, to sta vitamina D in C. Vsi vzorci kurkume so pokazali 40% antioksidativno učinkovitost.

Ključne besede: kurkumin, antioksidacijska učinkovitost, pH

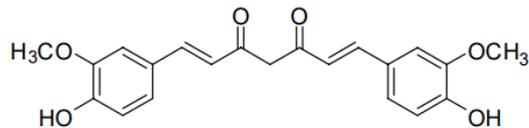
ABSTRACT

Two pharmaceutical preparations of curcumin, one in a liposome coating and in liquid form and the other in combination with collagen, in powder form were investigated. For comparison, we took three examples of spices turmeric and pure curcumin. The aim of this research was to examine whether the degradation of curcumin, present in both types of dietary supplements, in an environment that simulates the pH of the small intestine, affects its antioxidant efficiency. The measurements were carried out colourimetrically and based on the experimental data it was found that curcumin is one of the strongest natural antioxidants, as only 30 seconds were enough to reduce DPPH radical absorbances from 40% to 60%. Dietary supplements with curcumin showed a higher antioxidant efficiency in the selected pH ranges, compared to pure curcumin, but the difference is not big, and we assume that it is the result of the addition of two more powerful antioxidants, i.e., vitamins D and C.

Key words: curcumin, antioxidant efficiency, pH

1 UVOD

Kurkuma (*Curcuma longa* L.) je v znanstvenem svetu pritegnila veliko pozornosti predvsem zaradi svojih močnih protivnetnih, protibolečinskih in antioksidativnih lastnosti (Lee in sod., 2013, str. 338). Te lastnosti so hitro pripisali učinkovini kurkuminu (*diferuloilmetan*), ki je v zadnjem desetletju v osredju predvsem zaradi preučevanja njegovega učinka na možgane (npr. zaviranje razvoja Alzheimerjeve bolezni) in zaviranja rasti rakavih celic (Zheng, 2022, str. 2791).



Slika 1. Strukturna formula čistega kurkumina, (C₂₁H₂₀O₆) (Wrightin sod., 2013, str. 6218)

Vendar se medicina sooča z veliko zapreko, to je izjemno slaba biološka razpoložljivost kurkumina, kar pomeni, da se slabo absorbira iz črevesja, hkrati pa se v tankem črevesju tudi hitro presnovi (Dolinar, 2019, str. 299) in izloči z blatom. Kurkumin je hidrofoben in zato neprimeren za intravenski vnos (Lexicomp, 2019, str. 1). Zaradi tega je že dalj časa prisotna ideja o izdelavi kompleksov kurkumina (v nadaljevanju formulacij kurkumina), kjer bi opisane težave z njegovo uporabo lahko uspešno premostili. Znanstveniki iščejo najboljšo kombinacijo med hitrostjo sproščanja kurkumina iz formulacije in uspešno biološko razpoložljivostjo. Nekaj teh formulacij, v obliki prehranskih dopolnil, je dostopnih tudi slovenskim uporabnikom. V osnovi se razlikujejo v tem, da je v enih kurkumin v liposomskem ovoju in praviloma tekoč in v drugih v kombinaciji z različni izvori kolagena in je praviloma v trdni obliki. Izdelkom so lahko dodani še fosfolipidi, lecitin, kovinski ioni in druge učinkovine, kot so vitamini.

Cilj te raziskave je preučiti ali razgradnja kurkumina, prisotnega v obeh tipih prehranskih dopolnil, v okolju, ki simulira pH tankega črevesja, vpliva na njegovo antioksidacijsko učinkovitost. Ker nam sodobne instrumentalne analitske metode niso bile na voljo, prav tako ne metode dela odvzema vzorcev *in vivo*, smo raziskavo izvedeli *in vitro*, preko priprave raztopin, ki so simulirale pH fiziološke pogoje tankega črevesja in meritve izvedeli kolorimetrično. Zanimalo nas je ali razgradni produkti kurkumina v nevtralnem in bazičnem pH ohranijo svojo antioksidativno sposobnost.

1.1 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Zastavili smo si naslednje raziskovalno vprašanje: ***Kako se spremeni antioksidacijska sposobnost kurkumina iz prehranskega dopolnila in začimbe kurkume pri pH od 6,5 do pH 7,5, v primerjavi s čistim kurkuminom?***

Izbrano pH območje predstavlja vrednost, ki ponazarja tisti del pH tankega črevesja, kjer poteka najboljše absorpcija hranil in zdravilnih učinkovin.

1.2 HIPOTEZE

Za pH območje od 6,5 do pH 7,5 smo postavili tri hipoteze.

Hipoteza 1. Vsa prehranska dopolnila s kurkuminom bodo v izbranem pH območju, v primerjavi s čistim kurkuminom, pokazala večjo antioksidacijsko učinkovitost.

Hipoteza 2. Med razgradnimi produkti različnih formulacij kurkumina bodo razlike v antioksidacijski učinkovitosti.

Hipoteza 3. Začimba kurkuma ima nižjo antioksidacijsko učinkovitost kot čisti kurkumin.

1.3 TEHNIKE DELA

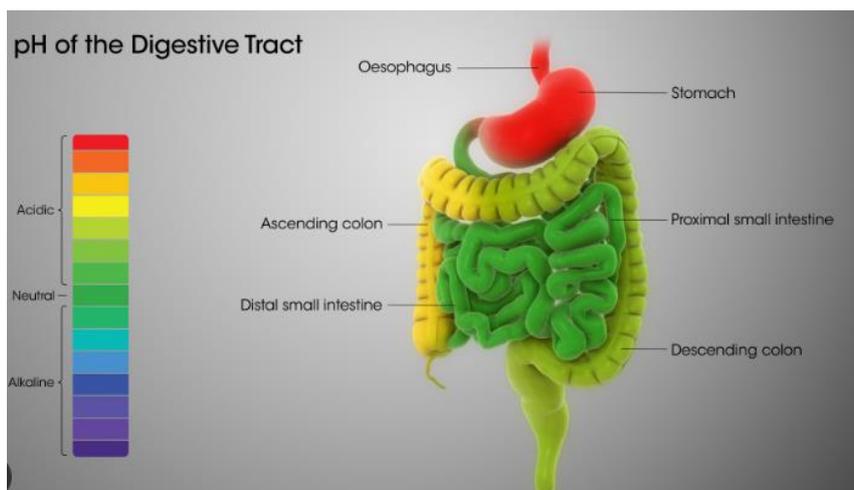
Pri izdelavi raziskovalne naloge bomo uporabili:

- metodo dela z viri (pregled dostopne literature).
- pridobili različne vzorce enkapsuliranega kurkumina (lekarne).
- pridobili različne vzorce kurkume (trgovine z živili).
- kolorimetrično določili vsebnost kurkumina v vzorcih.
- kolorimetrično določili antioksidacijsko učinkovitost raztopin kurkumina, pri različnih pH-jih, s pomočjo testa z DPPH radikalom.

2 PRELGED OBJAV

2.1 TANKO ČREVO IN ABSORPCIJA KURKUMINA

Tanko črevo je sestavljeno iz dvanajstnika (*duodenum*), zgornjega dela črevesa (*jejunum*) in spodnjega dela črevesa (*ileum*). Dolžina tankega črevesa je med 2 in 7 metrov, notranji premer pa med 2 in 4 cm (Hribar s sod., 2016, str. 1647). Zaradi svoje anatomske sestave je tanko črevo primarno mesto za absorpcijo hranil in zdravilnih učinkovin (Vouk, 2017, str. 8). Črevo je nagubano, kar notranjo površino poveča za 600-krat in posledično tudi površino za absorpcijo hranil in zdravilnih učinkovin. V tankem črevesu se pH postopoma poveča od pH 6,0 do pH 6,5 v dvanajstniku; 6,6 v zgornjem delu tankega črevesja in 7,5 na koncu tankega črevesa (Fallingborg, 1999, str. 183). Poprečna temperatura v tankem črevesju je 37°C.



Slika 2. pH prebavnega trakta od zelo nizkega pH v želodcu (*stomach*), do zmerno kislega ob vstopu v tanko črevo (*ascending colon*), preko nevtralnega do rahlo bazičnega v spodnjem delu tankega črevesja (*distal in descending colon*)¹.

Kurkumin v hrani ali prehranskih dodatkih in različnih formulacijah je »izziv« zaradi svoje slabe topnosti v vodi, to je le 3,21 mg/L pri 25°C, visoke kemične nestabilnosti v nevtralnem in bazičnem delu pH lestvice in posledično omejene oralne biološke dostopnosti (Prado-Audelo, 2019, str. 56). Kemična reaktivnost in topnost kurkumina je odvisna od pH medija, v katerem je raztopljen. Prado-Audelo s sod. (2019, str. 4) ugotavlja, da je čisti kurkumin v kislih pogojih slabo topen in raztopina ohranja rumeno barvo. Pri nevtralnem pH kurkumin postane boljše topen in v bazičnem njegova topnost ponovno naraste, vendar se spremeni barva (iz rumene v oranžno - rdečo), ki je posledica deprotonacije oz. pomika ravnotežja v keto-enolnem ravnotežju kurkumina, ki je opisana v poglavju 2.2. Številne farmacevtske družbe ta problem rešujejo z dostavnimi sistemi oz. različnimi farmacevtskimi oblikami oz. formulacijami (npr. kapsule na osnovi emulzije v katerih je kurkumin dobro topen).

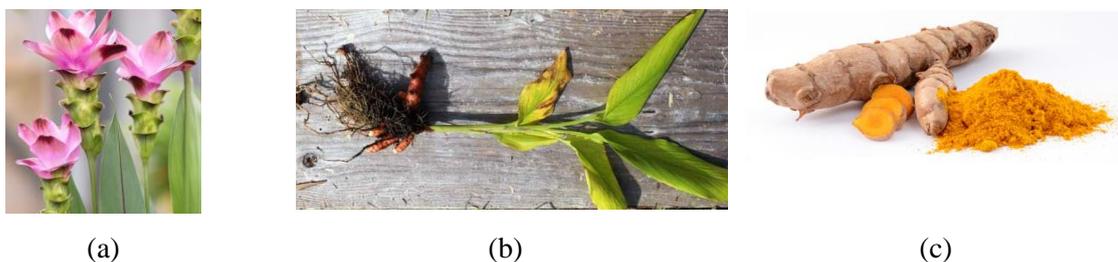
2.2 KURKUMA

Kurkuma je začimba, pridobljena iz korenin rastline *Curcuma Longa L.*, ki spada v družino ingverjevki (lat. *Zingiberales* (ingverjevci)). Kadar govorimo o kurkumi mislimo praviloma vedno na *Curcuma Longa L.* (ang. *Turmeric*), čeprav kurkume zavzemajo družino preko 100 vrst rastlin. Rastlina izhaja iz tropskih gozdov Azije, posebej Kitajske, Indije in Indonezije. Je rastlina z lepimi, dekorativnimi listi in vijolično-belimi cvetovi (slika 3), trajnica, ki dobro uspeva na zemlji, ki je bogata z humusom. Korenine zrastejo od 2 do 8 cm. Zanje je značilen vonj po agrumih ter rahlo pikanten in trpek okus. Kurkuma zraste do višine enega metra².

¹ Vir slike: <https://www.scientificanimations.com/digestive-system/uncategorized/> Uporabljeno 1. 3. 2023

Kurkuma se že stoletja uporablja kot začimba, ki daje jedem značilen azijski okus in rumeno barvo. Ta je posledica vsebnosti polifenola kurkumina. Kurkumin je zaradi močne rumene barve tudi prehransko barvilo (E100).

Maščobni izvlečki kurkume in njene aktivne komponente izkazujejo močno antioksidativno delovanje, kar pomeni, da preprečujejo poškodbe tkiv zaradi nekontroliranih oksidativnih procesov (npr. lovijo proste radikale, ki povzročajo oksidativne poškodbe v telesu ali preprečuje nastajanje prostih radikalov) in zmanjšujejo nastajanje vnetnih procesov. Poleg kurkumina v koreniki kurkume najdemo še maščobne kisline, saharide in različne flavonoide ter mineralne snovi kot so mangan, železo, vitamin B₆, veliko vlaknin in tudi kalija (Prado-Audelo, 2019, str. 57).



Slika 3. (a) Kurkuma rastlina, (b) korenika kurkume in (c) rizom kurkume²

Kurkuma ima zelo pomembno vlogo v kitajski in indijski tradicionalni medicini. Sprva so jo uporabljali predvsem kot zdravilo proti vnetju, že od nekdaj pa jo uporabljajo tudi za čiščenje krvi in prebavil ter pri težavah z jetri in žolčniku, pa tudi pri hepatitisu (Sanolabor³, 2022).

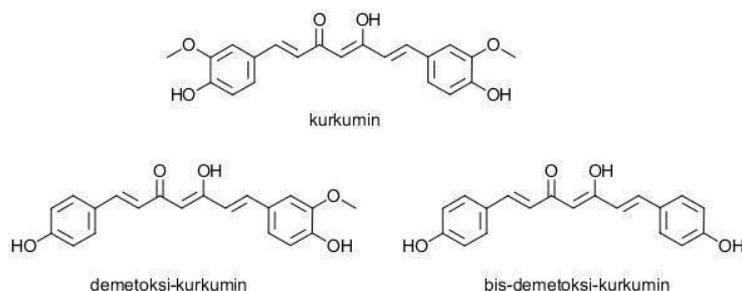
2.3 LASTNOSTI KURKUMINA

Kurkuminoidi, maščobno topni polifenoli, dajejo rastlini *Curcumi Longa L.* oranžno barvo. Korenika kurkume, *Curcuma longa L.*, je pomemben vir naravnega rumenega pigmenta, kurkumina - [1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion] in še dveh kurkuminoidov, to sta demetoksikurkumin in bisdemetoksikurkumin (Jayaprakasha s sod., 2002, str.3663; Jayaprakasha s sod., 2005, str. 533) (slika 4).

Kurkuma vsebuje manj kot 2 mg kurkumina/g korenine (Jiang s sod., 2006, str. 21). Vsebnost kurkuminoidov v kurkumi je torej zelo majhna.

² viri slik- (a) in (c) <https://uvicpermaculture.wordpress.com/> in (b) <https://www.fmed.eu> Uporabljeno 2. 1. 2023.

³ Vir: <https://www.sanolabor.si/artikel/kurkuma-600-plus-60-kapsul> (povzeto 5. 1. 2023).



Slika 4. Najpomembnejši predstavniki kurkuminoidov⁴

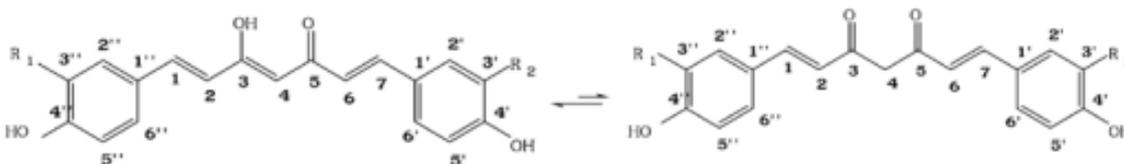
Za boljše razumevanje biološke aktivnosti kurkumina je pomembno, da se vsaj malo poglobimo v oksidacijo kurkumina in nastale produkte. Če kurkumin dodamo različnim celičnim strukturam, se kurkumin hitro spremeni iz ene same molekule v družino različnih spojin. Te raziskave so še na začetku, vendar je potrebno dopustiti možnost, da biološki učinki kurkumina morda niso samo posledica izhodiščne molekule (kurkumina), ampak tudi njegovih razgradnih produktov in številnih izomerov. V tem kontekstu je zelo pomembna študija, ki jo opravil Schneider s sod. (2015, str. 7607). Predpostavil je, da bi ključno vlogo pri večji biološki dostopnosti kurkumina lahko imela njegova avtooksidacija *in vivo*. Encimi peroksidaze bi kurkumin lahko izrabili kot redukcijski substrat, kar bi lahko povzročilo encimsko katalizirano oksidativno pretvorbo. Tudi oksidativni stres ali vnetni procesi bi lahko prispevali k avtooksidaciji kurkumina. V teku avtooksidacije kurkumina nastajajo produkti predstavljeni v preglednici 1. Dodan je njihov razpolovni čas ($t_{1/2}$).

Preglednica 1. Kurkumin in njegovi analogi ter produkti avtooksidacije (Schneider s sod., 2015, str. 7606)

| Strukturna formula spojine | Razpolovni čas avtooksidacije ($t_{1/2}$) | Glavni produkt |
|------------------------------------|--|--------------------------------------|
| <p>curcumin</p> | Nekaj minut | <p>bicyclopentadione</p> |
| <p>demethoxycurcumin (DMC)</p> | Nekaj ur | <p>demethoxybicyclopentadione</p> |
| <p>bisdemethoxycurcumin (BDMC)</p> | Stabilna spojina, ki zahteva encimsko razgradnjo | <p>bisdemethoxybicyclopentadione</p> |

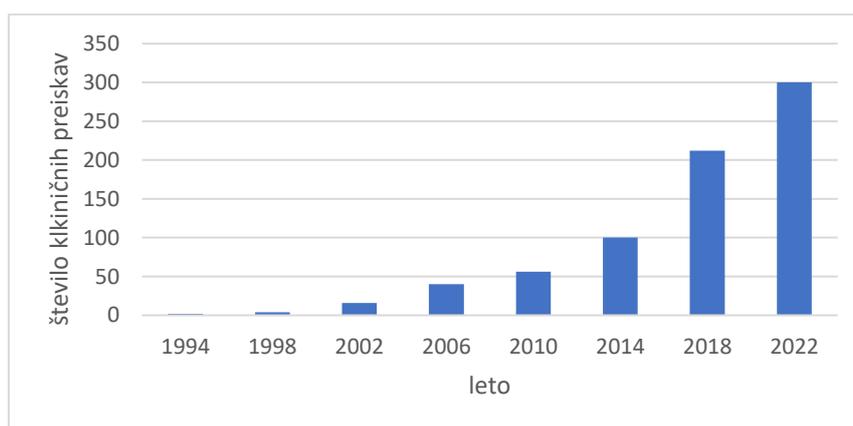
⁴ Vir: <https://www.plantagea.hr/kurkuminoidi/> (povzeto 5. 1. 2023)

Tønnesen s sod. (1982, str. 475) navaja, da je pri kurkuminu prisotna keto-enolna tautomerija (slika 5). Na splošno je molekula kurkumina sestavljena iz dveh fenolnih skupin, ki ju skupaj drži diketonski del.



Slika 5. Keto-enolno ravnotežje kurkuminoida (povzeto po Kanhathaisong s sod., 2011, str. 160)

Število kliničnih testiranj, ki testirajo terapevtski potencial kurkumina, se je v zadnjem desetletju eksponentno povečalo. Za iskalni izraz »kurkumin« v registru *Clinicaltrials.gov*⁵ je leta 2014 navedenih 106 testiranj, v primerjavi s samo štirimi testiranjmi leta 2004 ali 300 testiranjmi v letu 2022. Kot vidimo iz grafa 1 gre za eksponentno rast raziskav.

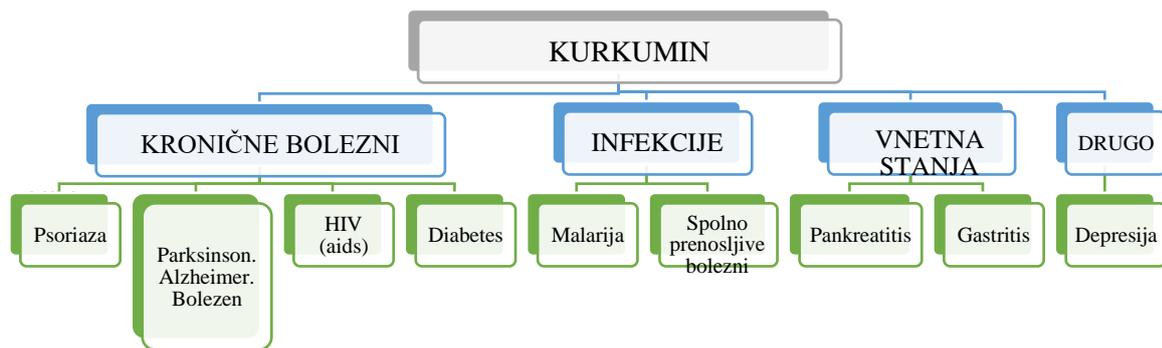


Graf 1. Število kliničnih preskušanj za kurkumin v obdobju med 1994 in 2022

Kurkumin kaže velik potencial pri zdravljenju artritisa, nekaterih rakavih obolenjih⁶, depresij, virusnih, nevrodegenerativnih boleznih itd. (Schenider s sod., 2016, str.1; Wright s sod., 2013, str. 6218; Ebeid s sod., 2022, str. 192) in številnih drugih boleznih. Nekatere od njih so predstavljene na sliki 6.

⁵ Povzeto iz: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=curcumin> Povzeto 30. 12. 2022

⁶ Do presenetljivih ugotovitev so prišli tudi raziskovalci iz Univerze v Južni Dakoti. Ugotovili so, da predhodno zdravljenje s kurkuma naredi rakave celice bolj občutljive za kemoterapijo in radioterapijo, medtem ko epidemiologi menijo, da je kurkuma eden izmed razlogov za nizko stopnjo Alzheimerjeve bolezni v Indiji, kjer je ta začimba del vsakodnevnih obrokov. Med prebivalstvom, starim od 70 do 79 let, je stopnja obolelosti za to boleznijo kar za četrtno manjša kot v Združenih državah Amerike (Sanolabor, 2022). V indijski tradicionalni medicini (ajurveda) se uporablja že tisočletja za zdravljenje rakastih obolenj in pri pojavih luskavice (psorize), prav tako pa tudi v kozmetičnih pripravkih (Gööck, 1979).



Slika 6. Možne uporabe kurkumina (povzeto po Prado-Audelo s sod. 2019, str. 8)

Kurkumin deluje kot stimulant za jetra in žolčnik pri izločanju žolča, bilirubina in holesterola. Izločanje teh snovi z leti pri posamezniku oslabi, kar pomeni, da se zmanjša absorpcija hranil, ki so topna v maščobah. Dr. Kreft, iz Fakultete za farmacijo, Univerze v Ljubljani (2019) pravi, da je pri kurkuminu najbolj raziskano njegovo protivnetno delovanje, kar pomeni, da bi lahko uživanje kurkume bilo v pomoč predvsem ljudem z vnetnimi obolenji⁷, pa ne le sklepov, temveč tudi črevesja (sindrom razdražljivega črevesja, Crohnova bolezen itn.) in pri kožnih vnetnih boleznih. Morda je veliko zanimanje zanj povezano z dejstvom, da pomaga pri boleznih, pri katerih medicina še ni dala zadovoljivega odgovora (vnetne sklepne in črevesne bolezni).

Vendar pa številne študije na živalih in klinične študije kažejo, da so koncentracije kurkumina v krvni plazmi, urinu in perifernih tkivih, tudi po velikih odmerkih izjemno nizke. Glavni dejavniki so kemična nestabilnost kurkumina pri nevtralnem in rahlo alkalnem pH, že omenjena dovzetnost za avtooksidacijo, njegov metabolizem ter nizka prehodnost skozi črevesno steno (Badran s sod., 2023, str. 3).

Topnost kurkumina v vodi je ocenjena na 3,21 mg/L pri 25 °C; boljše je topen v etanolu, dimetil sulfoksidu (DMSO), metanolu, acetonitrilu, kloroformu in etil acetatu (Benassi s sod., 2008, str. 168). Kurkumin ima torej hidrofobne lastnosti (Benassi s sod., 2008, str. 168).

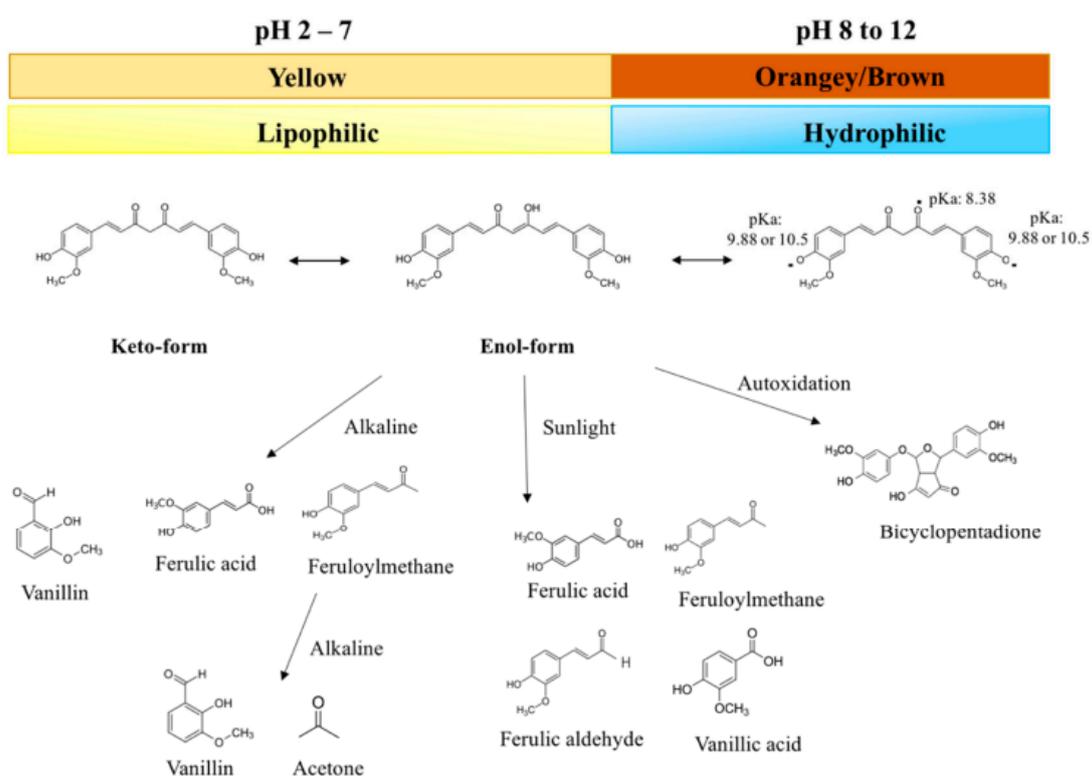
Shen in Ji (2012, str. 138) pravita, da je kurkumin bolj stabilen v kisli raztopini (pH 1,2 – 6,0) kot v bazičnem delu pH. Pri tem nastanejo različni produkti razgradnje. Kurkumin je občutljiv tudi na svetlobo. Razpade, ko je izpostavljen tako ultravijolični kot vidni svetlobi, tako v raztopini kot v trdnem stanju (Schenider s sod., 2015, str. 7607).

Če povzamemo: kurkumin se kemijsko razgradi, če je izpostavljen bazičnemu mediju, sončni svetlobi ali avtooksidativnim procesom.

⁷ Protivnetno pomeni, da zavira vnetje. To je proces, ki ga bele krvne celice v telesu izvajajo kot obrambo, kurkumin lahko pomaga. – opomba avtorjev.

Visoko tališče in nizka topnost kurkumina v vodi v kislih in nevtralnih pogojih pomeni, da imajo kristali čistega kurkumina običajno nizko biološko dostopnost, saj se kristali ne raztopijo v vodnih gastrointestinalnih tekočinah, kar zmanjša njihovo sposobnost transporta skozi plast epitelijskih celic (Tomeh s sod., 2019, str. 1033). Vendar so študije na podganah pokazale, da približno 90 % zaužitega kurkumina ostane v prebavilih, kar kaže, da je njegova razgradnja v črevesju relativno počasna (Sanidad s sod., 2019, str. 597) in posledično tudi absorpcija višja kot se mu pripisuje v kliničnih študijah.

Po zaužitju se kurkumin presnovi⁸. Podrobneje so razpadni produkti opisani na sliki 7 (Tan s sod., 2014, str. 1005).



Slika 7. Razgradnja kurkumina v odvisnosti od pH (Zhang s sod., 2020)

2.4 FORMULACIJE KURKUMINA

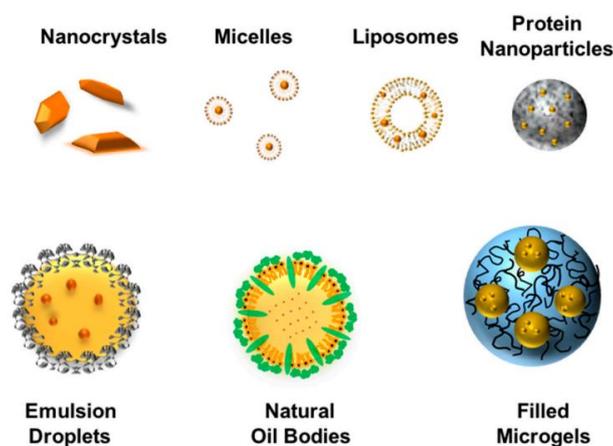
Zaradi slabe biološke dostopnosti kurkumina so znanstveniki za to molekulo razvili različne formulacije, ki vključujejo:

- modifikacijo trdnega stanja,
- zmanjšanje velikosti delcev,
- ustvarjanje prenasičenih raztopin,
- inkapsulacijo v nanodelce,

⁸ Encim reduktaza *CurA* vse skupaj samo še pospeši.

- inkubacijo v prisotnosti seruma ali s kultivacijo celic.

Novi pristopi dostave kurkumina do tarčnih celic vključujejo nanodelce, liposome, polimerne micle itd. Ujetje kurkumina v maščobno fazo kurkumin zaščiti pred kemično razgradnjo in pomeni fizično izolacijo od reaktantov v vodnih gastrointestinalnih tekočinah. Še več, uporaba prebavljivih lipidov vodi do presnove le-teh, raztapljanja kurkumina in s tem povečanje njegove biodostopnosti. Hidrofobne molekule lahko kurkumin prenašajo do epitelijskih celic, kjer se lahko absorbira, presnavlja in/ali izloči nazaj v črevesje. Nekatere snovi v živilih, kot sta piperin v črnem popru in nekateri katehini v zelenem čaju, lahko povečajo količino kurkumina, ki ostane v telesu (Prasad s sod., 2014, str. 2).



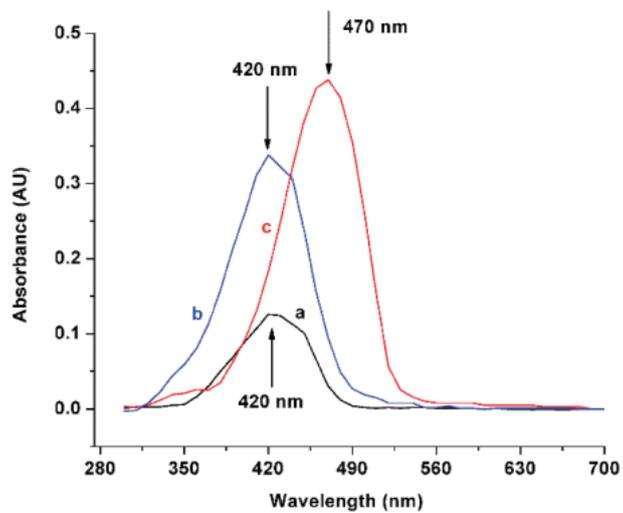
Slika 8. Primeri različnih inkapsulacij kurkumina (različne vrste koloidnega dovajalnega sistema) za izboljšanje njegove stabilnosti in biološke dostopnosti (ni narisano v merilu) (Prasad s sod., 2014, str. 2).

Vsak od dostavnih sistemov kurkumina ima svoje prednosti in slabosti, nepomemben ni tudi okoljski vidik enkapsulacije.

2.5 UV-VIS SPEKTROSKOPIJA KURKUMINA

Kot sva poudarila v prejšnjih poglavjih, je kemična reaktivnost in topnost kurkumina odvisna od pH medija, v katerem je prisoten. Vse raziskave kažejo, da je kurkumin v kislih pogojih slabše topen kot v nevtralnem, topnost se spet poveča v bazičnem pH, vendar pride do spremembe barve iz rumene v oranžno-rdečo, kar pripisujemo deprotonaciji enolne oblike kurkumina (Subramani s sod., 2017, str. 393).

Kurkumin ima v kislem in nevtralnem pH absorpcijski vrh pri 420 nm (Sharma s sod., 2012, str. 375) in v bazičnem pri 470 nm. Te vrednosti navaja tudi Priyadarsini (2014, str. 20091)



Slika 9. UV-VIS spekter kurkumina. (a) Absorpcija v metanolu, največji vrh absorpcije pri 420 nm; (b) Absorpcija v nevtralnem mediju, največji vrh absorpcija, ugotovljena pri 420 nm; in (c) absorpcija v bazičnem mediju, ugotovljen najvišji vrh absorpcije pri 470 nm (Sharma, 2012, str. 380).

3 PRAKTIČNI DEL

3.1 MATERIALI IN METODE DE LA

Kot je razvidno iz preglednice 2, smo v raziskavi uporabili dva predstavnika enkapsuliranega kurkumina, tri začimbe kurkume in čisti kurkuminski standard.

Preglednica 2. Predstavitev vzorcev

| Zap. številka | Ime prehranskega dopolnila | Vsebnost kurkumina (mg) | Druge aktivne učinkovine | Dnevno priporočeni vnos | Opomba |
|---------------|--------------------------------|-------------------------|--|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | Curcuma forte (AVENOBO®) | 60 | Vitamin D ₃ (15,4 µg) Ekstrakt ingverja (100 mg) | 2 kapsuli (~120 mg) | Kapsule; temno oranžna raztopina |
| 2 | Collagen flex curcumin (Medex) | 30 | Nativni kolagen b-2cool (20 mg), Enkapsuliran izvleček kurkume CAVACURMIN (100 mg), od tega kurkuminoidi (15 mg), Hialuronska kislina (50 mg), Vitamin C (40 mg), Vitamin D (5µg), Silicij (20 mg) | 2 kapsuli (~320 mg) | Kapsule; Svetlo oranžen prah |
| 3 | Kurkuma v prahu (Biolux) | Ni podatka | Ni podatka | Ni podatka | Oranžna mleta kurkuma |
| 4 | Kurkuma (Hiša zelišč) | Ni podatka | Ni podatka | Ni podatka | Oranžna mleta kurkuma |
| 5 | Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | Ni podatka | V sledovih žitarice z glutenom, soja, mlečnih sestavin, oreščkov, gorčice in sezama | Ni podatka | Oranžna mleta kurkuma |
| 5 | Kurkumin (TCI) | 100% | Ni dodatnih spojin | Ni podatka | Svetlo oranžen prah |

3.1.1 Kemikalije

- ✓ 1,0 g Kurkumina (TCI, p.a.)
- ✓ 1l etanol (96%, Honeywell)
- ✓ 1l metanol (100%, Honeywell)
- ✓ 10l destilirane vode
- ✓ Vzorci prehranskih dopolnil in začimb
- ✓ puferne raztopine s pH 6; pH 6,5; pH 7 in pH 7,5 (Honeywell Fluka)

- ✓ Al folija
- ✓ Metanol (100%, Labexpert)
- ✓ DPPH (TCI) radikal.

3.1.2 Steklovina in drobni inventar

- ✓ 25 x 100 ml merilna bučka
- ✓ Merilne pipete

3.1.3 Aparature

- ✓ Tehnica, Kern ($\pm 0,001$ g)
- ✓ Kolorimeter Vernier GoDirect®
- ✓ pH meter Vernier
- ✓ Računalnik z aplikacijo Graph analysis (Vernier ®)

3.2 PRIPRAVA RAZTOPIN

3.2.1 Priprava raztopin čistega kurkumina pri različnih pH vrednostih

Najprej smo pripravili svežo $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ osnovno raztopino kurkumina in sicer tako, da smo 0,184 (+/- 0,001) g kurkumina natehtali v 100 ml merilno bučko in do oznake nalili 96% etanol. Merilno bučko smo nato ovili z aluminijevo folijo, da preprečimo stik s svetlobo. Kurkumin se v etanolu zelo dobro raztaplja, vendar ni stabilen na svetlobi.

Izračun:

$$c = \frac{m}{M \times V} = \frac{0,184 \text{ g}}{\frac{368 \text{ g}}{\text{mol}} \times 0,1 \text{ L}} = 5,00 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$$

Napaka priprave osnovne raztopine:

$$\varphi = \frac{0,001}{0,184} \times 100 = 0,05\%$$



Slika 10. Izhodiščna raztopina kurkumina ($5,00 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$)

3.2.2 Priprava vodnih raztopin kurkumina različnih koncentracij (umeritvena premica)

Osnovno raztopino kurkumina smo nato razredčili, kot je prikazano v preglednici 3. V ta namen smo uporabili 25 mL merilne bučke, v katere smo najprej s pomočjo merilne pipete natančno odmerili prostornino osnovne raztopine in nato do oznake dolili ustrezno puferno raztopino. Tudi te bučke smo ovili z Al folijo, da bi preprečili stik s svetlobo.

Izračun:

$$c_1 \times V_1 = c_2 \times V_2$$

$$c_2 = c_1 \times V_1 / V_2$$

$$c_2 = 0,005 \times \frac{0,005}{0,1} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$$

Napaka meritev:

$$\varphi = \frac{0,05}{5,00} \times 100 = 1\% \text{ (najmanjša)}$$

$$\varphi = \frac{0,05}{0,50} \times 100 = 10\% \text{ (največja)}$$

Preglednica 3. Priprava raztopin za umeritveno premico

| Prostornina $5,00 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ (m), +/- 0,05 ml | Koncentracija nove raztopine (mol/l) |
|--|--------------------------------------|
| 2,50 | $5,00 \times 10^{-4}$ |
| 1,25 | $2,50 \times 10^{-4}$ |
| 0,75 | $1,50 \times 10^{-4}$ |
| 0,50 | $1,00 \times 10^{-4}$ |
| 0,25 | $5,00 \times 10^{-5}$ |

3.2.3 Barva etanolne raztopine kurkumina pri različnih pH vrednostih

Pripravili smo vodne raztopine različnih pH vrednosti, od pH 1 do pH 10, in njihov točen pH izmerili z Vernierjevimi pH metrom. S pomočjo merilne pipete smo v epruvete odmerili 4 mL raztopine in nato v

vsako dodali 1 ml izhodiščne raztopine kurkumina v etanolu. Opazovali smo barvo raztopin in pojav oborine (izločanje kurkumina).

3.2.4 Priprava raztopin enkapsuliranega kurkumina pri različnih pH vrednostih

Pri pripravi teh raztopin smo se odločili, da bomo osnovne raztopine pripravili tako, da bomo upoštevali količino enkapsuliranega kurkumina, ki ga navaja proizvajalec, v eni kapsuli.

Primer izračuna:

Vzorec št. 1: ena kapsula ima 60 mg kurkumina

Nad vratom merilne bučke smo odprli kapsulo in nato celotno vsebino stresli v 250 ml merilno bučko. V bučko smo s pomočjo merilne dodali 5 ml etanola, stresali, da se je raztopina dobro premešala ter do oznake nalili ustrezno puferno raztopino. Merilne bučke smo ovili z Al folijo.

$$c = \frac{m}{M \times V} = \frac{0,060 \text{ g}}{\frac{368 \text{ g}}{\text{mol}} \times 0,25 \text{ L}} = 8,9 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$$

Vzorec št. 2: ena kapsula ima 30 mg kurkumina

$$c = \frac{m}{M \times V} = \frac{0,030 \text{ g}}{\frac{368 \text{ g}}{\text{mol}} \times 0,25 \text{ L}} = 4,5 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$$

3.2.5 Priprava raztopin začimb kurkume pri različnih pH vrednostih

Pr pripravi raztopin smo upoštevali podatek, da je v kurkumi cca 1% kurkumina. Zato smo se odločili, da bomo pripravili koncentracije $4,5 \times 10^{-4} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ in sicer tako, da smo si najprej izračunali maso kurkume, ki jo moramo natehtati.

$$c = \frac{m}{M \times V} = \frac{3,00 \text{ g}}{\frac{268 \text{ g}}{\text{mol}} \times 0,250 \text{ l}} = 4,5 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$$

100 g kurkume.....1 g kurkumina

X g0,030 g kurkumina

X= 3,00 g kurkume

S pomočjo analitske tehnice smo natehtali 3,00 g vsakega vzorca začimb in dodali 20 ml etanola ter do oznake 250 ml dolili ustrezno puferno raztopino.

3.2.6 Kolorimetrične meritve

Kolorimetrične meritve smo izvajali s kolorimetrom, GoDirect®, prikazanim na sliki 11.



Slika 11. Vernierjev kolorimeter GoDIRECT®

Kolorimeter deluje na osnovi Beer-Lambertov zakona, ki predpostavlja, da je absorbanca v korelaciji s koncentracijo snovi v vzorcu. A absorpcijo svetlobe pri prehodu skozi obarvano raztopino ali ne povsem prozorno snov lahko opišemo z enačbo:

$$A = \epsilon cl,$$

kjer je :

- ✓ A ...absorbanca
- ✓ ϵ ...absorpcijski koeficient (L cm/mol)
- ✓ c koncentracija (mol/L)
- ✓ l ... širina kivete (cm)

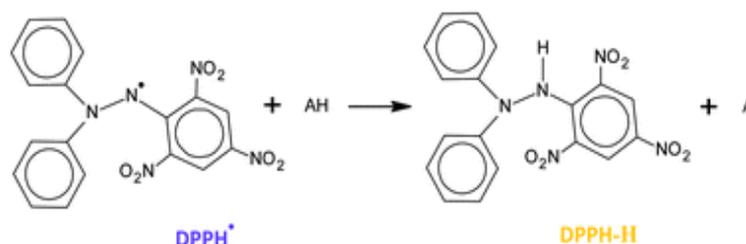
Pri dovolj razredčenih raztopinah velja, da je absorbanca (A) proporcionalna množinski koncentraciji (c) snovi v kiveti, kar pomeni, da lahko narišemo graf A proti c in s pomočjo enačbe umeritvene premice izračunamo koncentracijo preiskovane snovi v vzorcu.

Kolorimeter omogoča izbiro med štirimi valovnimi dolžinami (430 nm, 470 nm, 565 nm, 635 nm). Ker ima kurkumin svoj absorpcijski maksimum pri 430 nm, je bila kolorimetrična meritev zato precej natančna. Sensor smo najprej umerili (kalibrirali) z destilirano vodo.⁹

⁹ Go Direct Colorimeter ima enostopenjsko kalibracijo za vse štiri valovne dolžine.

3.2.7 DPPH test

DPPH je kratica za *1,1-difenil-2-pikril hidrazil radikal*, ki v kombinaciji z antioksidantom (kurkuminom) preide iz vijolične v rumeno/rjavo barvo. Za ta test je v literaturi navedenih več protokolov uporabe.



Slika 12. Sprememba strukture in posledično barve DPPH radikala v stiku z antioksidantom (AH) (Baliyan s sod., 2022, str. 1)

Za potrebe naše raziskave smo povzeli Baliyanov opis dela (Baliyan s sod., 2022, str. 1).

DPPH test

1. S pomočjo analitske tehtnice smo natehtali 0,025 g DPPH in ga raztopili v metanolu ter nato do oznake 100 ml dodali destilirano vodo. Da bi preprečili stik s svetlobo, smo merilno bučko ovili z Al folijo.
2. V kiveto smo vtili 3 ml raztopine in s pomočjo kolorimetra izmerili pri kateri valovni dolžini ima najvišjo absorbanco (λ_{max}).
3. Ko smo določili valovno dolžine z največjo absorbanco, smo 3 ml DPPH raztopine v kiveti dodali 1 ml preiskovane raztopine kurkumina in zabeležili začetno absorbanco (A_c) ter absorbanco po 30 sekundah (A_s). Rezultate smo vpisali v preglednico 9.
4. Antioksidacijsko aktivnost (v %) smo izračunali s pomočjo enačbe:

$$\% \text{ antioksidacijska aktivnosti} = [(A_c - A_s) \div A_c] \times 100$$

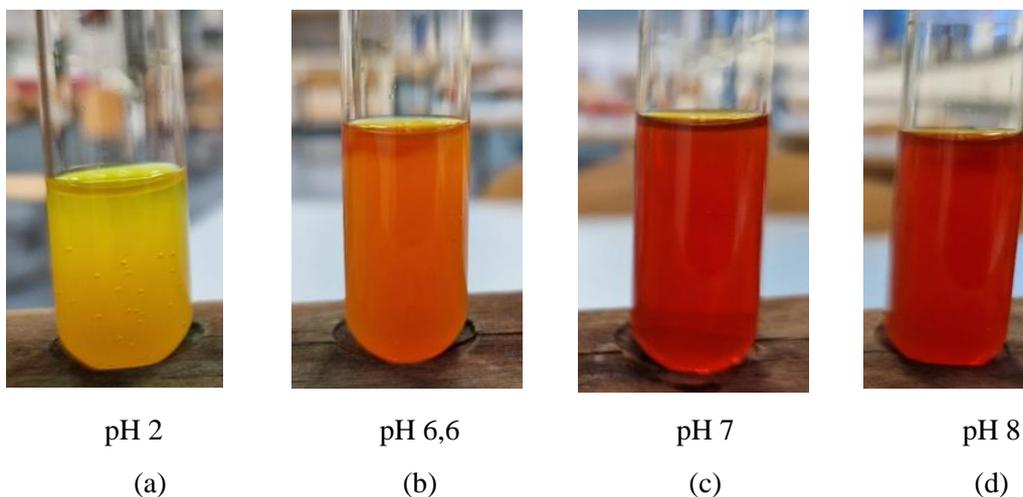
kjer je

- A_c —absorbance raztopine DPPH brez dodanega antioksidanta
- A_s —absorbanca preiskovane snovi.

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

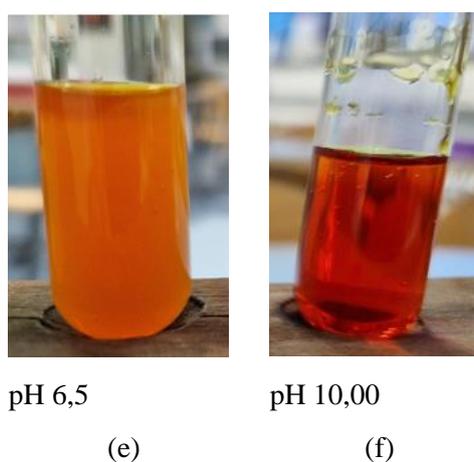
4.1 BARVA IN TOPNOST ETANOLNE RAZTOPINE KURKUMINA PRI RAZLIČNIH pH VREDNOSTIH

Na sliki 13 in 14 vidimo, da je barva in topnost čistega kurkumina odvisna od vrednosti pH vodnega medija.



Slika 13. Sprememba barve in topnosti čistega kurkumina pri različnih vrednostih pH vodnih raztopin

V kislem pH topnost kurkumina pade in izloča se oborina, kar vidimo na sliki 13 (a). Pri pH med 6 in 7 pride do spremembe barve raztopine kurkumina; barva preide iz rumene v oranžno (slika 13 (b)). Z naraščanjem pH (slika 13 (c) in 13 (d)) se intenzivnost oranžno-rdeče barve samo še stopnjuje. Pri pH 10 opazimo, da raztopina postane povsem bistra oz. transparenta (slika 14(f)).



Slika 14. Topnost in barva kurkumina pri pH 6,5 in pH 10,0

Preglednica 4. Barve raztopin čistega kurkumina pri različnih koncentracijah in vrednostih pH vodnih raztopin

| Koncentracija raztopine čistega kurkumina (<i>mol/l</i>) | Barva kurkumina pri pH vrednosti raztopine | | | |
|--|--|---------|-----------------|-------------|
| | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 7,5 |
| $5,00 \times 10^{-3}$ | rumeno - oranžna | oranžna | oranžno - rdeča | temno rdeča |

4.2 BARVA IN TOPNOST RAZTOPIN ENKAPSULIRANEGA KURKUMINA PRI RAZLIČNIH pH vrednostih

Preglednica 5. Barva in topnost raztopin enkapsuliranega kurkumina pri različnih pH vrednostih

| Koncentracija raztopine čistega kurkumina (<i>mol/l</i>) | Barva kurkumina pri pH vrednosti raztopine | | | |
|--|--|----------------------|-----|---------------|
| | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 7,5 |
| Curcuma forte (AVENOBO®) | svetlo rumena | fluorescentno zelena | | svetlo rumena |
| Collagen flex curcumin (Medex®) | svetlo rumena | svetlo rumena | | svetlo rumena |

Kot vidimo iz preglednice 5 se obarvanost raztopin enkapsuliranega kurkumina pri različnih pH vrednostih praktično ne razlikuje. Drugače je pri začimbi kurkumi različnih proizvajalcev, kjer opazimo precejšnje razlike v barvi.

4.3 BARVA IN TOPNOST RAZTOPIN KURKUME PRI RAZLIČNIH pH vrednostih

Preglednica 6. Barva in topnost raztopin kurkume pri različnih pH vrednostih

| Koncentracija raztopine čistega kurkumina (<i>mol/l</i>) | Barva kurkumina pri pH vrednosti raztopine | | | |
|--|--|-----------------------|----------------|----------------|
| | 6,0 | 6,5 | 7,0 | 7,5 |
| Kurkuma v prahu (Biolux) | svetlo oranžna | svetlo rumeno oranžna | svetlo rumena | svetlo oranžna |
| Kurkuma (Hiša zelišč) | svetlo oranžna | svetlo oranžna | svetlo oranžna | oranžna |
| Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | fluorescentno rumena | rumena | rumena | rumeno-oranžna |

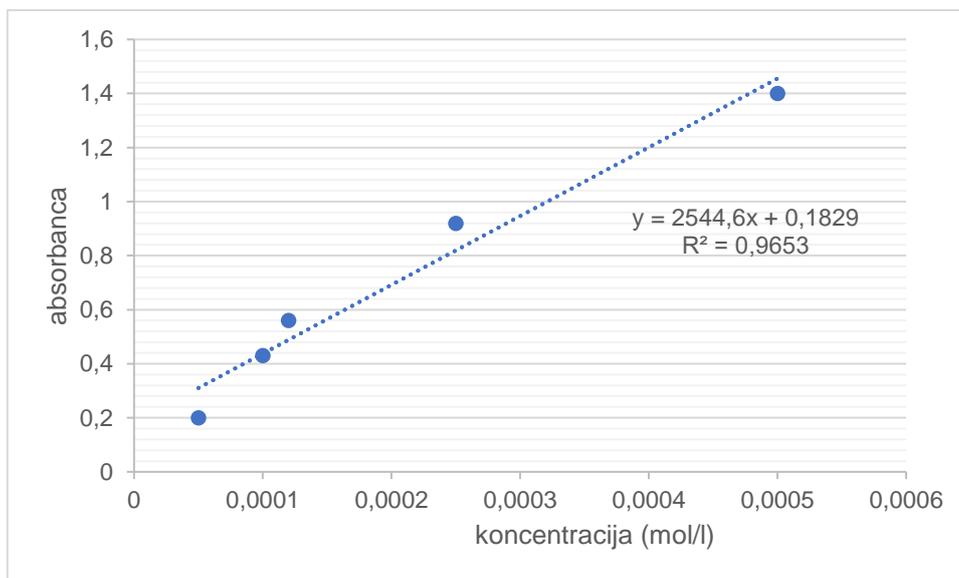
4.4 VREDNOSTI ABSORBANCE RAZLIČNIH KONCENTRACIJ KURKUMINA (UMERITVENA PREMICA)

Z uporabo kalorimetra Vernier GoDirect® smo izmerili absorbance pripravljenih raztopin čistega kurkumina pri pH 7. Podatki so zbrani v preglednici 7.

Preglednica 7. Umeritvena premica za kurkumin pri pH 7

| Koncentracija nove raztopine (mol/l) | A ($\lambda_{430\text{ nm}}$) |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| $5,00 \times 10^{-4}$ | 1,4 |
| $2,50 \times 10^{-4}$ | 0,92 |
| $1,50 \times 10^{-4}$ | 0,56 |
| $1,00 \times 10^{-4}$ | 0,43 |
| $5,00 \times 10^{-5}$ | 0,2 |

Na tej osnovi smo narisali graf Absorbanca (A) proti koncentraciji (mol/L).



Graf 2. Umeritvena premica za kurkumin pri pH 7

$$\text{Enačba premice je: } y = 2544,6 + 0,1829$$

4.5 ABSORBANCE VZORCEV KURKUMINA PRI RAZLIČNIH VREDNOSTIH pH

Preglednica 8. Absorbanca raztopin vzorcev kurkumina pri različnih pH vrednostih vodnih raztopin

| Zap. št. | Ime prehranskega dopolnila | Izhodiščna koncentracija kurkumina (mol/l) | Absorbanca pri pH | | | |
|----------|--------------------------------|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | 6,0 λ_{430} nm | 6,6 λ_{430} nm | 7,0 λ_{430} nm | 7,5 λ_{470} nm |
| 1 | Curcuma forte (AVENOBO®) | $8,9 \times 10^{-4}$ | 0,81 | 0,82 | 0,84 | 0,81 |
| 2 | Collagen flex curcumin (Medex) | $4,5 \times 10^{-4}$ | 0,48 | 0,41 | 0,46 | 0,44 |
| 3 | Kurkuma v prahu (Biolux) | $4,5 \times 10^{-4}$ | 0,42 | 0,66 | 0,53 | 0,55 |
| 4 | Kurkuma (Hiša zelišč) | $4,5 \times 10^{-4}$ | 0,94 | 1,0 | 1,23 | 1,28 |
| 5 | Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | $4,5 \times 10^{-4}$ | 0,97 | 1,02 | 1,15 | 1,29 |

Vrednosti absorbance smo odčitavali pri 430 nm za pH od 6 do 7. Za vrednost pH 7,5 smo kot vrednost, kjer je absorbanca kurkumina najvišja, vzeli, 470 nm (λ_{\max}), kar je posledica spremembe barve. S pomočjo enačb premice ($y = 2544,6x + 0,1829$) smo, glede na izmerjene absorbance, izračunali koncentracijo kurkumina pri različnih vrednostih pH (preglednica 9).

Preglednica 9. Koncentracija kurkumina pri različnih vrednostih pH

| Zap. št. | Ime prehranskega dopolnila | Izhodiščna koncentracija kurkumina (mol/L) | Koncentracija kurkumina (mol/L) pri pH | | | |
|----------|--------------------------------|--|--|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | | 6,0 | 6,6 | 7,0 | 7,5 |
| 1 | Curcuma forte (AVENOBO®) | $8,9 \times 10^{-4}$ | $2,4 \times 10^{-4}$ | $2,5 \times 10^{-4}$ | $2,6 \times 10^{-4}$ | $2,4 \times 10^{-4}$ |
| 2 | Collagen flex curcumin (Medex) | $4,5 \times 10^{-4}$ | $1,2 \times 10^{-4}$ | $1,0 \times 10^{-4}$ | $1,1 \times 10^{-4}$ | $1,1 \times 10^{-4}$ |
| 3 | Kurkuma v prahu (Biolux) | $4,5 \times 10^{-4}$ | $1,0 \times 10^{-4}$ | $1,9 \times 10^{-4}$ | $1,4 \times 10^{-4}$ | $1,4 \times 10^{-4}$ |
| 4 | Kurkuma (Hiša zelišč) | $4,5 \times 10^{-4}$ | $3,0 \times 10^{-4}$ | $3,2 \times 10^{-4}$ | $4,0 \times 10^{-4}$ | $4,3 \times 10^{-4}$ |
| 5 | Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | $4,5 \times 10^{-4}$ | $2,6 \times 10^{-4}$ | $3,2 \times 10^{-4}$ | $3,9 \times 10^{-4}$ | $4,1 \times 10^{-4}$ |

Primer izračuna:

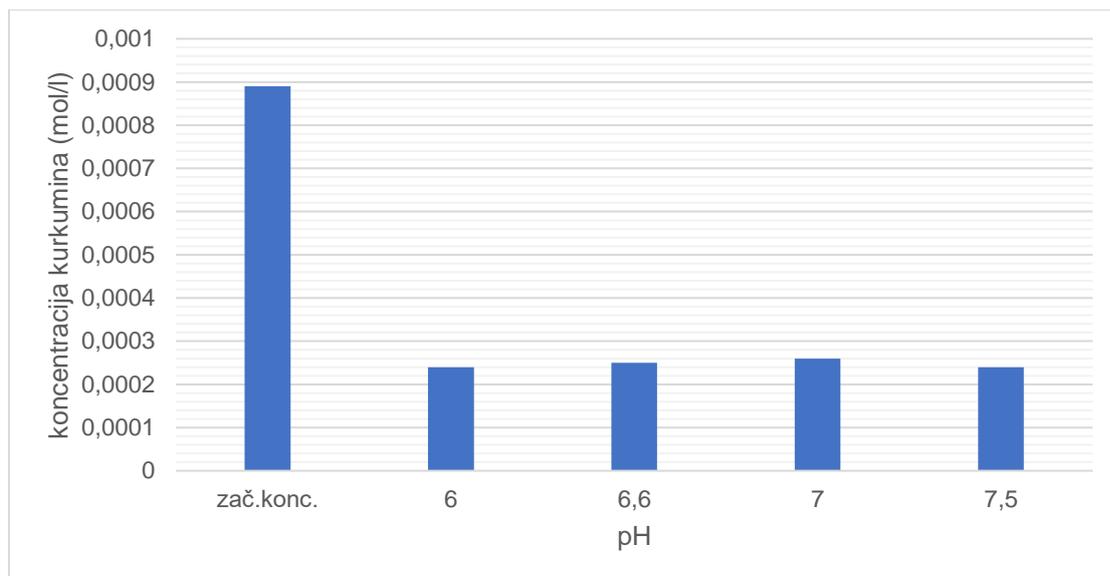
$$y = 2544,6x + 0,1829$$

$$0,98 - 0,1829 = 2544,6x$$

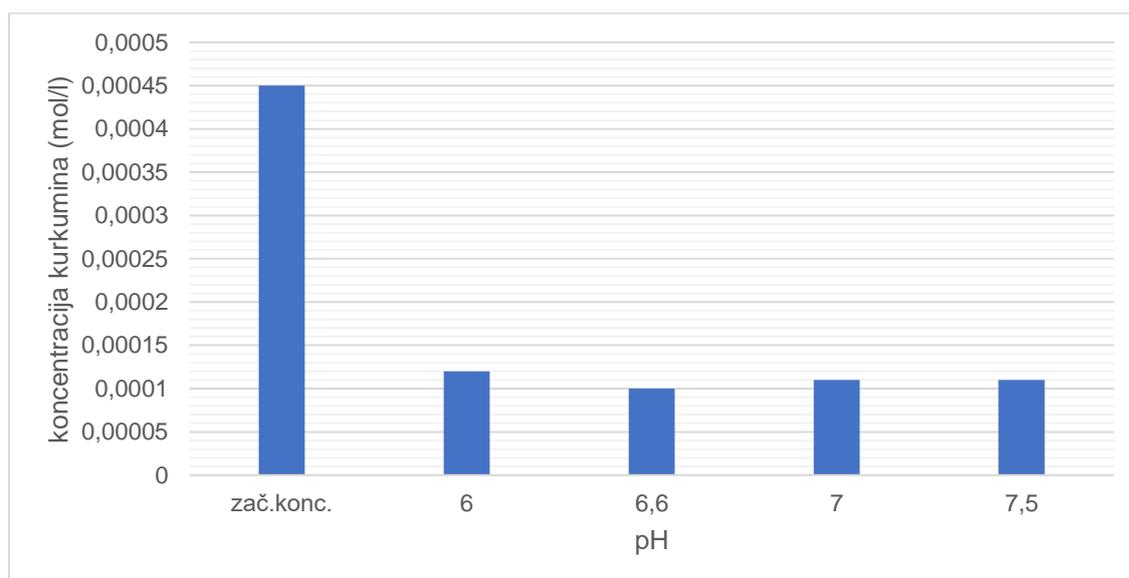
$$X = 0,00031 \text{ (} 3,1 \times 10^{-4} \text{)}$$

Kaj opazimo?

Pri obeh enkapsuliranih kurkuminih (zap. št. 1 in 2) je koncentracija v kislem pH bila precej nižja kot v izhodiščni raztopini etanola. Nihanja pripisujemo merilni napaki, vrednosti sproščenega kurkumina dosežejo slabih 30% enkapsulirane vrednosti.

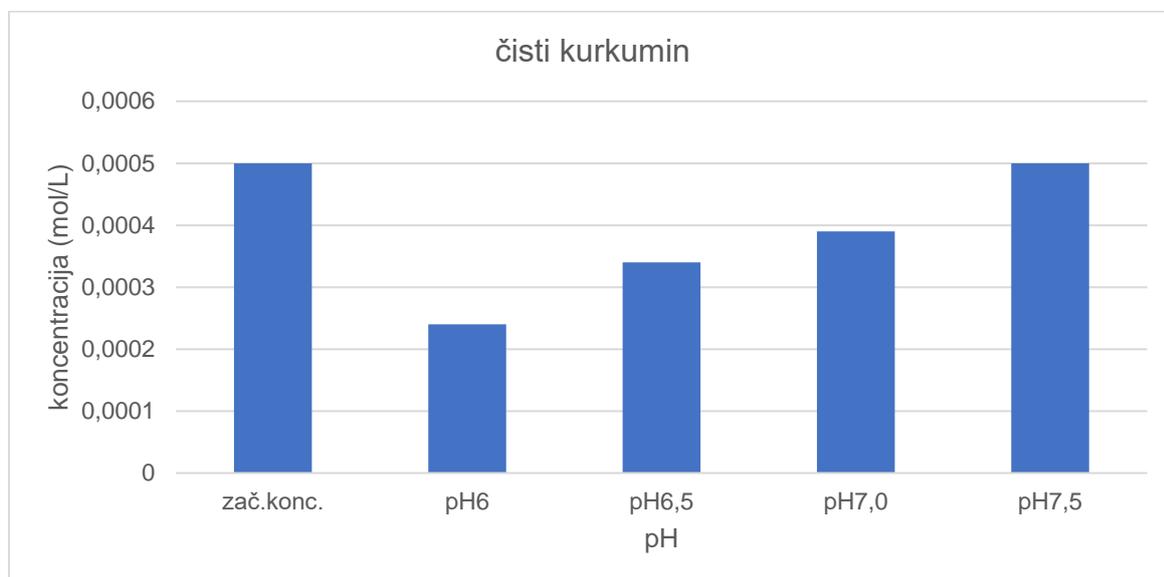


Graf 3. Sprememba v koncentraciji kurkumina v prehranskem dopolnilu 1 v odvisnosti od pH



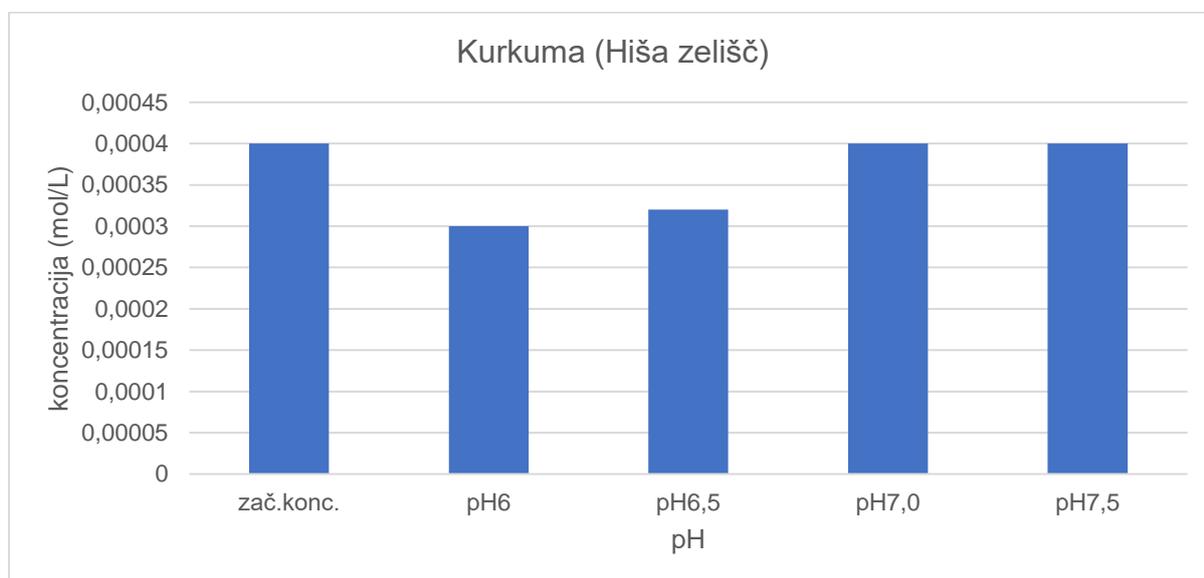
Graf 4. Sprememba v koncentraciji kurkumina v vzorcu 2 v odvisnosti od pH

Formulacije kurkumina torej zaščitijo kurkumin v tankem črevesju. Ujetost molekule v liposomskem ovoju očitno omogoča ustrezno zaščito v tankem črevesju ali pa vsaj omogoči, da se več kurkumina prenese do lipidnih membran, kjer se lahko absorbira. Podobno velja za kurkumin v kolagenskem ovoju. Primerjava s čistim kurkuminom in začimbo kurkumo je velika (graf 5 in 6).



Graf 5. Sprememba v koncentraciji kurkumina v standardu v odvisnosti od pH

Tudi pri začimbah (vzorci 2, 3 in 4) opazimo, da se vrednost pri pH 6 najprej zniža in potem narašča



Graf 6. Sprememba v koncentraciji kurkumina v začimbi kurkumi (Hiša zelišč) v odvisnosti od pH

Iz grafa 5 in 6 vidimo, da se je razgradnja kurkumina dejansko zelo hitra, vendar ne vemo kaj so ti razgradni produkti, kolikšna je njihova biološka učinkovitost v »nezaščiteni« obliki, ali je še vedno dostopen tarčnim celicam?

Formulacije kurkumina torej zaščitijo kurkumin v tankem črevesju. Zaščita molekule deluje in omogoča, da se več kurkumina prenese do črevesne stene, kjer se lahko absorbira.

4.6 ANTIOKSIDACIJSKA UČINKOVITOST VZORCEV KURKUMINA PRI pH od 6,5 do 7,5

Ko smo določili valovno dolžine z največjo absorbanco za DPPH radikal ($\lambda_{max} = 470 \text{ nm}$), smo 3 ml DPPH raztopine v kivetu dodali 1 ml preiskovane raztopine kurkumina (pri določenem pH) in zabeležili začetno absorbanco (A_c) ter absorbanco po 30 sekundah (A_s). Rezultate smo vpisali v preglednico in nato izračunali antioksidacijsko učinkovitost preiskovanega vzorca v prvih 30 sekundah.

Preglednica 10. Meritve spremembe absorbance DPPH v kombinaciji z različnimi vzorci kurkumina pri pH 6,0 in pH 6,5

| Zap. št. | Ime prehranskega dopolnila | Izhodiščna absorbanca DPPH pri $\lambda_{470} \text{ nm}$ za pH 6,0 | Absorbanca DPPH po 30 s pri $\lambda_{470} \text{ nm}$ za pH 6,0 | Izhodiščna absorbanca DPPH pri $\lambda_{470} \text{ nm}$ za pH 6,5 | Absorbanca DPPH po 30 s pri $\lambda_{470} \text{ nm}$ za pH 6,5 |
|----------|--------------------------------|---|--|---|--|
| 1 | Curcuma forte (AVENOBO®) | 1,41 | 4,65 | 1,42 | 0,78 |
| 2 | Collagen flex curcumin (Medex) | 1,32 | 0,53 | 1,41 | 0,52 |
| 3 | Kurkuma v prahu (Biolum) | 1,40 | 0,84 | 1,40 | 0,80 |
| 4 | Kurkuma (Hiša zelišč) | 1,34 | 0,83 | 1,41 | 0,86 |
| 5 | Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | 1,40 | 0,85 | 1,41 | 0,86 |
| 6 | Čisti kurkumin | 1,34 | 0,63 | 1,36 | 0,52 |

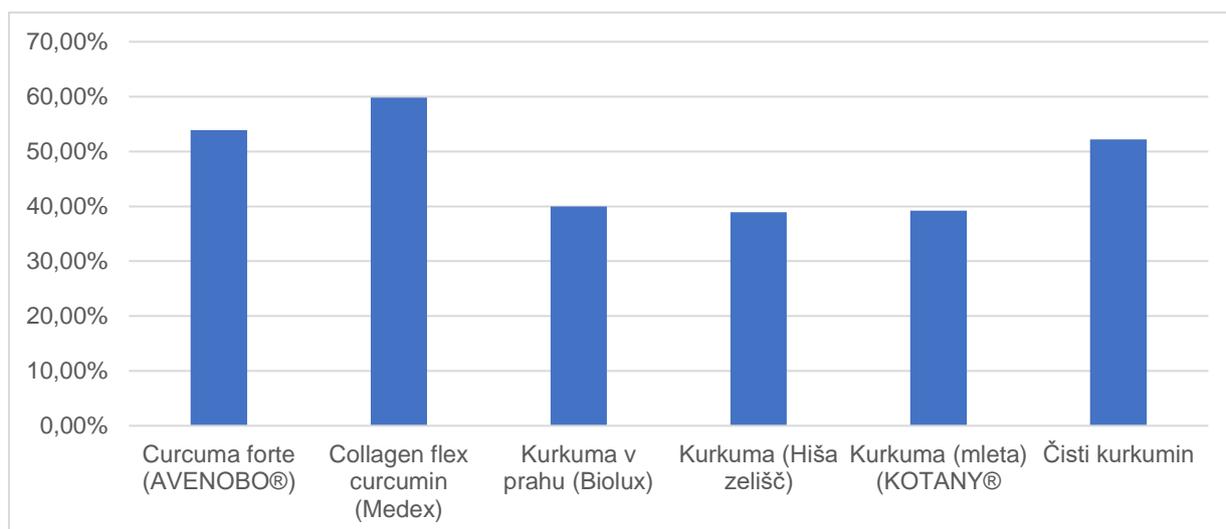
Preglednica 11. Meritve spremembe absorbanca DPPH v kombinaciji z različnimi vzorci kurkumina pri pH 7 in pH 7,5

| Zap. št. | Ime prehranskega dopolnila | Izhodiščna absorbanca DPPH pri λ_{470} nm pri pH 7,0 | Izhodiščna absorbanca DPPH pri λ_{470} nm pri pH 7,5 | Absorbanca DPPH po 30 s pri λ_{470} nm pri pH 7,0 | Absorbanca DPPH po 30 s pri λ_{470} nm pri pH 7,5 |
|----------|---------------------------------|--|--|---|---|
| 1 | Curcuma forte (AVENOBO®) | 1,41 | 1,33 | 0,66 | 0,67 |
| 2 | Collagen flex curcumin (Medex®) | 1,41 | 1,40 | 0,55 | 0,53 |
| 3 | Kurkuma v prahu (Biolux) | 1,38 | 1,36 | 0,76 | 0,76 |
| 4 | Kurkuma (Hiša zelišč) | 1,41 | 1,37 | 0,78 | 0,77 |
| 5 | Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | 1,41 | 1,37 | 0,77 | 0,73 |
| 6 | Čisti kurkumin | 1,35 | 1,34 | 0,73 | 0,70 |

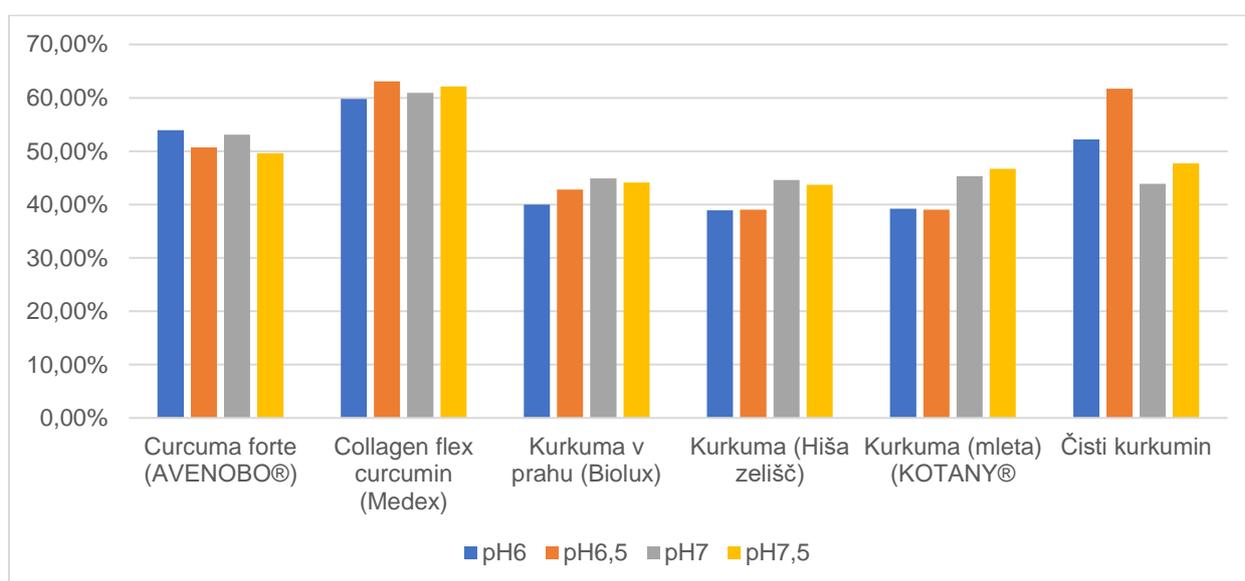
Preglednica 12. Antioksidacijska učinkovitost pripravkov kurkumina pri pH 6,0 in pH 7,5

| Zap. št. | Ime prehranskega dopolnila | Antioksidacijska učinkovitost pri pH 6,0 | Antioksidacijska učinkovitost pri pH 6,5 | Antioksidacijska učinkovitost pri pH 7,0 | Antioksidacijska učinkovitost pri pH 7,5 |
|----------|--------------------------------|--|--|--|--|
| 1 | Curcuma forte (AVENOBO®) | 53,9% | 50,7% | 53,1% | 49,6% |
| 2 | Collagen flex curcumin (Medex) | 59,8% | 63,1% | 60,9% | 62,1% |
| 3 | Kurkuma v prahu (Biolux) | 40,0% | 42,8% | 44,9% | 44,1% |
| 4 | Kurkuma (Hiša zelišč) | 38,9% | 39,0% | 44,6% | 43,7% |
| 5 | Kurkuma (mleta) (KOTANY®) | 39,2% | 39,0% | 45,3% | 46,7% |
| 6 | Čisti kurkumin | 52,2% | 61,7% | 43,9% | 47,7% |

Rezultati kažejo, da je najnižja antioksidacijska učinkovitost bila izmerjena pri vseh treh vrstah začimb kurkume (~40%), sledi čisti kurkumin in najvišja pri obeh enkapsuliranih pripravkih.



Graf 7. Antioksidacijska učinkovitost vzorcev pri pH 6



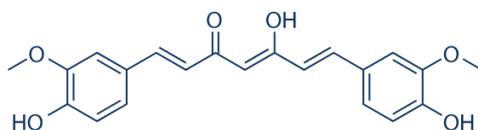
Graf 8. Primerjava antioksidacijske učinkovitosti preučevanih vzorcev kurkumina v odvisnosti od pH

Na tej osnovi bi lahko zaključili, da enkapsulacija kurkumina pomaga pri ohranitvi njegovega antioksidacijskega potenciala, vendar je razlika z začimbami kurkume manjša kot bi pričakovali. Rezultat je morda še nižji, saj obe formulaciji vsebujeta še druge močne antioksidante. *Collagen flex* vsebuje vitamin C in vitamin D, *Curcuma forte* pa vitamin D. Na deklaracijah vseh treh začimb ta podatek ni bil zapisan.

5 ZAKLJUČKI Z RAZPRAVO

V nalogi smo preučili dva farmacevtska pripravka kurkumina, enega v liposomskem ovoju in v tekoči obliki in v drugega v kombinaciji s kolagenom, v prašnati obliki. Za primerjavo smo vzeli tri primere začimbe kurkume in čisti kurkumin. Cilj te raziskave je preučiti ali razgradnja kurkumina, prisotnega v obeh tipih prehranskih dopolnilih in v začimbah, v okolju, ki simulira pH tankega črevesja, vpliva na njegovo antioksidacijsko učinkovitost

Strokovna literatura navaja, da je kurkumin bolj stabilen v kislem delu pH lestvice. V tej raziskavi smo ugotovili, da je kurkumin pri pH od 1 do 6 izjemno slabo topen v vodi, kar bi lahko pomenilo, da je tudi stabilen, vendar tega ne moremo trditi, saj je zaradi izjemno slabe topnosti težko izvajati kolorimetrične meritve in spremljati spremembe njegove koncentracije, ki bi se izkazovale v spremembi absorbance. Zelo hitro se pojavi rumena oborina, ki onemogoča kolorimetrične meritve. Meritve koncentracij kurkumina smo začeli meriti pri pH 6, opazili pa smo, da je oborina takoj po prehodu pH 7 začela izginjati. Meritve koncentracije kurkumina v nezaščiteni obliki (čisti kurkumin in v začimbi) pri pH od 6,0 do 7,5 kažejo, da se topnost kurkumina v vodi hitro poveča in že pri pH 7 doseže maksimalno koncentracijo. Pri tem je kurkumin stabilen, barva raztopine se po nekaj urah ne spremeni, kar bi lahko pomenilo, da je kurkumin (verjetno enolna ali pa že ionska oblika oblika) lahko stabilen tudi pri teh pogojih (slika 15). Vendar je potrebno omeniti, da smo vse raztopine vedno zaščitili z Al folijo in tudi temperatura se ni spreminjala, meritve pa izvali takoj po pripravi raztopin, kasneje pa ne več.



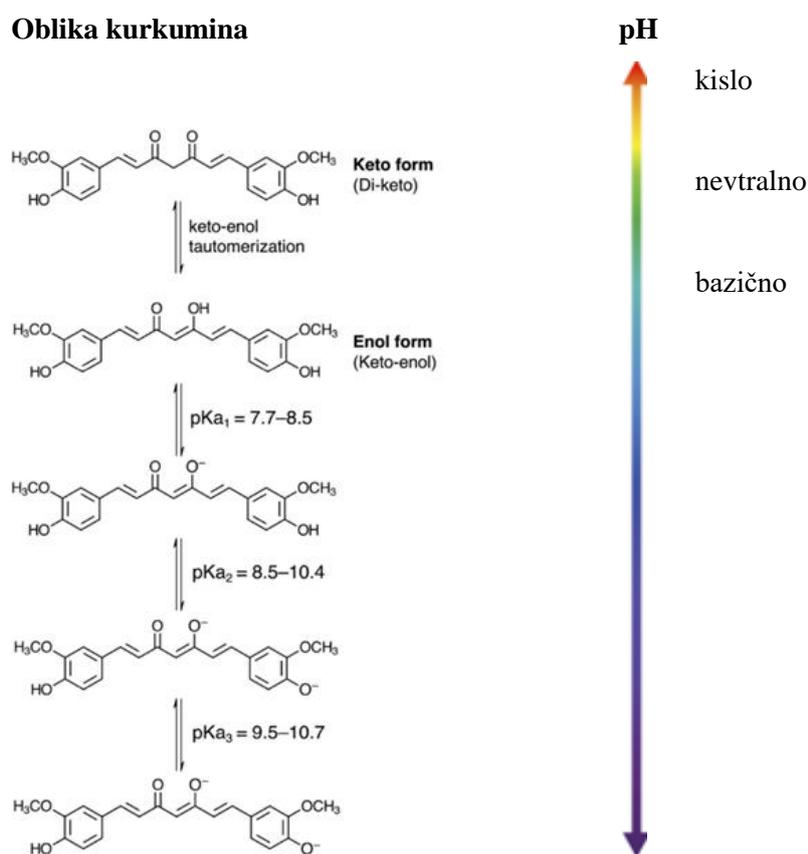
Slika 15. Enolna oblika kurkumina

Zato dopuščamo pa možnost, da je stabilnost kurkumina večja, ko se pH vrednost poveča ($\text{pH} > 7$) in ne v pogojih kislega pH, kot je trdi več avtorjev. K tej trditvi deloma prispevajo tudi podatki o izračunanih konstantah ravnotežja, ki so prikazani na sliki 16.

Topnost kurkumina se pri pH 6,5 poveča, kar se vidi tudi v spremembi barve, ki pa ni nujno samo posledica razpada kurkumina, ampak bolj verjetno prisotnosti različnih izomer. V teoretičnem delu smo opisali keto-enolno tautomerijo, vendar predvidevamo, da je možnih tudi več različnih *cis-trans* (geometrijskih) izomer, ki niso vse enako topne v polarnih topilih (npr. v vodi); *cis* praviloma bolj kot *trans*. Temu dejstvu pripisujemo tudi dvig antioksidativne učinkovitosti (v nadaljevanju AO) pri praktično vseh preučevanih vzorcih kurkumina, pri pH 7. Zavedamo se, da so deleži različnih izomer lahko povezani ne samo s polarnostjo topila in pH, ampak tudi s temperaturo in prisotnostjo encimov

(=biokatalizatorjev), kar v tej nalogi nismo preučili, v fizioloških pogojih pa to lahko igra ključno vlogo. Delež posameznih izomer je lahko ključen tudi pri oceni antioksidativne aktivnosti kurkumina.

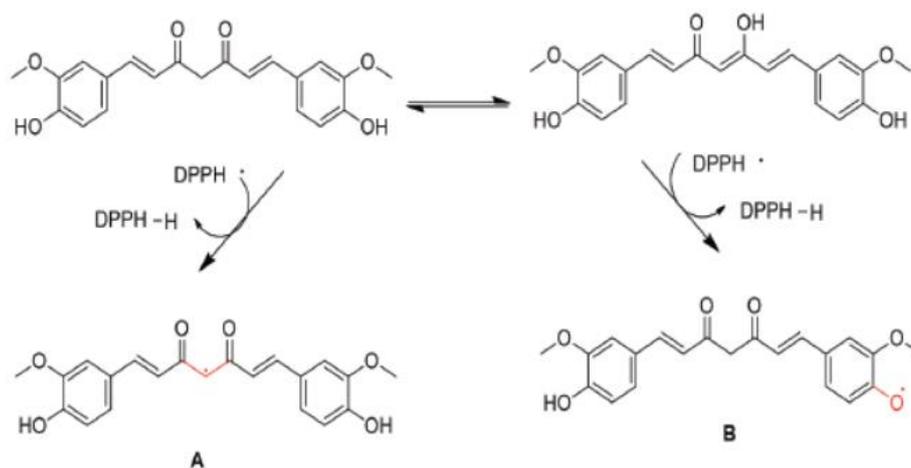
Glede na vizualne ocene (barva in prisotnost oborine) sklepamo, da pri pogojih $\text{pH} \leq 6,5$ prevladuje molekula v *keto* obliki, kjer kurkumin deluje kot **donor vodikovih ionov**, pri višjih vrednostih pH , pa je v ospredju *enolna* oz. deprotonirana oblika in ta je tista, ki ima najvišjo sposobnost »lovljenja« radikalov.



Slika 16. Oblike kurkumina v odvisnosti od pH

Kurkumin ima tri konstante ravnotežja (disociacijska konstanta kisline). Velja pravilo, da večja kot je vrednost pK_a , manjša je disociacija in tem šibkejša je kislina. pK_a vrednosti pri kurkumini se gibajo od 7,7 do 10,7, kar pomeni, da je šibka kislina (destilirana voda ima $\text{pK}_a = 14$).

To je tudi osnova za boljše razumevanje antioksidativne učinkovitosti kurkumina. Proton, ki se lahko donira DPPH radikalju je ključen za visoko antioksidacijsko učinkovitost kurkumina. Za reakcijo z radikalom DPPH sta predlagana dva mehanizma delovanja kurkumina (slika 17).



Slika 17. Antioksidativno delovanje kurkumina (Sahne s sod., 2017, str, 694)

5.1 ZAKLJUČKI

V nalogi smo preučili dva farmacevtska pripravka kurkumina, enega v liposomskem ovoju in v tekoči obliki in v drugega v kombinaciji s kolagenom, v prašnati obliki. Za primerjavo smo vzeli tri primere začimbe kurkume in čisti kurkumin. Cilj te raziskave je preučiti ali razgradnja kurkumina, prisotnega v obeh tipih prehranskih dopolnilih, v okolju, ki simulira pH tankega črevesja, vpliva na njegovo antioksidacijsko učinkovitost in fiziološko dostopnost. Meritve smo izvedeli kolorimetrično in na osnovi podatkov eksperimentov postavljamo naslednje zaključke:

1. Prehranska dopolnila s kurkuminom (vzorec 1 in 2) sta v izbranih pH območjih, v primerjavi čistim kurkuminom, pokazala večjo antioksidacijsko učinkovitost, vendar razlika med njima in vzorci začimb kurkume ni velika. Predvidevamo, da je bolj posledica dodatka še dveh močnih antioksidantov, to je vitamina D in C. Zato je **prva hipoteza le delno potrjena**. Prehranski dopolnila sta bili od 49% – 62% učinkoviti, čisti kurkumin 48%. Sta pa obe prehranski dopolnila uspešno zaščitili kurkumin pred sproščanjem in transformacijo v simuliranih pogojih tankega črevesja.

2. V hipotezi dve smo predvideli, da bodo med razgradnimi produkti obeh enkapsuliranih različic kurkumina razlike v antioksidacijski učinkovitosti, kar se je potrdilo (49 % proti 62%), vendar zopet ostaja dvom ali je to na račun razgradnih produktov kurkumina ali dodanih vitaminov. Zato je tudi **druga hipoteza le delno potrjena**.

3. Vsi trije vzorci preiskovane začimbe kurkume so pokazali zelo primerljivo antioksidacijsko učinkovitost, okoli 40%. To je bilo nižje kot poprečje pri čistem kurkuminu (48%), zato je **tretja hipoteza potrjena**, vendar s pridržkom. Začimbe kurkume so pri 7,0 in pH 7,5 kazale višjo AO kot čisti

kurkumin, kar pomeni, da je tudi v začimbah »zaščita«, ki kurkuminu omogoča, da ima visoko AO tudi pri teh vrednostih pH.

4. Na osnovi dobljenih rezultatov se zdi, da enkapsulacija kurkumin sicer zaščiti, vendar njegov antioksidacijska učinkovitost (od 49% do 62%) v primerjavi s kurkumo (40%), ni tako velika, kot je cenovna razlika. Kurkuma (začimba), kljub nizkemu deležu kurkumina, ohranja izjemno visoko antioksidacijsko učinkovitost (40%). Zato se zdi, da biološki učinki kurkumina morda niso samo posledica izhodiščne molekule (kurkumina), ampak tudi njegovih razgradnih produktov. Izomere kurkumina, ki so posledica spremembe pH, imajo prav tako visoko AO, ki je lahko posledica večje topnosti spojin.

Pri eksperimentalnem delu smo se ves čas soočali z nizko topnostjo kurkumina in kurkume v vodi, kar smo premoščali z uporabo metanola in etanola, dveh organskih topil, v katerih je topnost večja ter nizkimi koncentraciji raztopin, ki smo jim merili absorbance. Vedno smo najprej vzorec raztopili v enem od obeh alkoholov in šele nato dodali vodo oz. puferno raztopino. Vsi vzorci so bili ves čas oviti z Al folijo, da bi preprečili razpad učinkovine zaradi svetlobe.

Ker smo bili omejeni z opremo, vidimo predvsem na tem področju še veliko možnosti za izboljšave. Zaenkrat smo lahko samo ugibali v katere produkte je začel kurkumin razpadati od pH 6,5 dalje, z boljšo opremo bi jih lahko tudi prepoznali. K večji veljavnosti rezultatov, bi prispevalo tudi večje število vzorcev in kontrola nad starostjo uporabljenih začimb ter njihovim izvorom. Kurkuma se ravno zaradi foto občutljivosti kurkumina ne bi smela prodajati v prozorni embalaži.

Podaljšanje časa meritev bi dalo odgovor na vprašanje ali je kurkumin v kislem res stabilna molekula in če, kako hitra je razgradnja kurkumina v primerjavi s pH 7,5. Delež in hitrost razgradnje igrata bistveno vlogo pri absorpciji kurkumina v kri.

Vseeno pa lahko zaključimo, da obstaja velika verjetnost, da je kurkuma in kurkumin v njej, z vidika antioksidacijske učinkovitosti, zelo močna začimba in formulacije kurkumina ne dajejo bistveno boljših rezultatov v antioksidacijski učinkovitosti.

O biološki dostopnosti pa na osnovi izvedenih poskusov ne moremo sklepati. Prav tako se zavedamo, da rezultati *in vitro* ne morejo nadomestiti raziskav *in vivo*.

5.2 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Prehranska dopolnila so izdelki, ki se uporabljajo za dopolnjevanje prehrane in lahko vsebujejo vitamine, minerale, rastlinske izvlečke in druge sestavine. Podjetja, ki proizvajajo prehranska dopolnila, imajo pomembno vlogo pri zagotavljanju varnosti in kakovosti teh izdelkov ter zagotavljanju informacij o zelenih in neželenih učinkih. Njihova družbena odgovornost vključuje zagotavljanje varnosti in

kakovosti izdelkov, spoštovanje zakonov in predpisov. To vključuje tudi zagotavljanje pravih informacij ter spodbujanje njihove uporabe na način, ki izboljšuje zdravje in dobro počutje ljudi. Kurkumin se danes obravnava kot eden najmočnejših naravnih antioksidantov, o čemer smo se lahko prepričali tudi sami, saj je bilo samo 30 sekund dovolj, da se od 40% do 60 % radikala DPPH zreduciralo ob prisotnosti kurkuminskih pripravkov ali čistega kurkumina. Antioksidanti so snovi, ki pomagajo zmanjšati škodo, ki jo povzročijo prosti radikali v telesu. Slednji lahko poškodujejo celice in tkiva, kar lahko vodi v različna bolezenska stanja, kot so srčne bolezni, diabetes, rak in Alzheimerjeva bolezen. Poleg tega kurkumin lahko pomaga tudi zmanjšati vnetje v telesu. Ker je kurkumin trenutno zelo »vroča učinkovina«, vključena v številne raziskave, avtorja te naloga upava, da sva korektno predstavila vsaj eno lastnost te molekule, ki navdušuje številne uporabnike in znanstven svet, to je njen zelo visok antioksidacijski potencial.

- Badran, B Mesmar, K., Wehbe, N., El Kurdi, R. (2023). Curcumin-based Nanoformulations to Target Breast Cancer: Current Trends and Challenges, *Current Nanomaterials*, doi: 10.2174/2405461506666210831145230, 8, 1, str. 3-22.
- Baliyan S, Mukherjee R, Priyadarshini A, Vibhuti A, Gupta A, Pandey RP, Chang CM. Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*. 2022 Feb 16;27(4):str. 1326. doi: 10.3390/molecules27041326. PMID: 35209118; PMCID: PMC8878429.
- Benassi, R.; Ferrari, E.; Lazzari, S.; Spagnolo, F.; Saladini, M. Theoretical study on Curcumin: A comparison of calculated spectroscopic properties with NMR, UV-vis and IR experimental data. *J. Mol. Struct.* 2008, 892, str. 168–176. [CrossRef]
- Ebeid, F., Elgendy, Y., Mehennal, N. (2022). ALL-066 Safety and Efficacy of Turmeric in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, Vol. 2, 2; October 2022, str. 192.
- Fallingborg J. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Dan Med Bull.* 1999 Jun;46(3):183-96. PMID: 10421978.
- Gööck Roland, *Gewürze und Kräuter von A - Z" (V svetu začimb in dišav)*, Založba Mladinska knjiga in HP Droga Portorož, Ljubljana, 1979.
- Heger, M.; van Golen, R.F.; Broekgaarden, M.; Michel, M.C. The molecular basis for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin and its metabolites in relation to cancer. *Pharmacol. Rev.* 2014, 66, str. 222–307. [CrossRef] [PubMed]
- Hribar, M., Tronetelj, Klančar, U., Markun B., čeligoj Dujc, T., legen, I. (2016). A novel intestinal model apparatus for drug dissolution capable of simulating peristaltic action. *AAPS PharmSciTech.*; 18(5); str. 1646-56
- Jayaprakasha, G.K., Jagan Mohan Rao, L., and Sakariah, K.K. (2002). Improved HPLC for the determination of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin. *J. Agric. Food Chem.*, 50(13):str. 3663-3672.
- Jayaprakasha, G.K., Jagan Mohan Rao, L., and Sakariah, K.K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci. Tech.*, 16(12): str. 533-548
- Jiang, H., Timmermann, B.N., and Gang, D.R. (2006). Use of liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry to identify diarylheptanoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) rhizome. *J. Chromatogr. A*, 1111(1): str. 21-31.
- Kanhathaisong, S., Rattanaphani, S., Rattanaphani, V., Suranaree, T. M. (2011). A Spectroscopic Investigation Of the Complex of Turmeric Dye With Copper(II) in Aqueous Solution. *Journak of Sci. Technol.* 18(2):str. 159-165.
- Kharat, M., Du, Z., Zhang, G. and McClements, D.J. (2017) Physical and Chemical Stability of Curcumin in Aqueous Solutions and Emulsions: Impact of pH, Temperature and Molecular Environment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, str. 1525-1532. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04815>
- Lexicomp. *Curcuma longa* (Natural Products Database). Wolters Kluwer Clinical Drug Information; 2019. Dostopno na:

https://online.lexi.com/lco/action/doc/retrieve/docid/fc_rnp2/3750389?searchUrl=%2Ffco%2Faction%2Fsearch%3Fq%3Dcurcuma%26t%3Dname%26va%3Dcurcuma

Prado-Audelo, M.L., Caballero-Florán, I.H., Meza-Toledo, J.A., Mendoza-Muñoz, N., Torres M.G., Florán, B., Leyva-Gómez, G. (2019). Formulations of Curcumin Nanoparticles for Brain Diseases. *Biomolecules*, Vol. 9; str. 56; doi:10.3390/biom9020056 www.mdpi.com/journal/biomolecules

Prasad, S.; Tyagi, A.K.; Aggarwal, B.B. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: The golden pigment from golden spice. *Cancer Res. Treat.* 2014, 46, str. 2–18. [CrossRef]

Priyadarsini, K. The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. *Molecules* 2014, 19, str. 20091–20112. [CrossRef]

Sahne, F., Mohammadi, M. (2017). Enzyme-assisted ionic liquid extraction of bioactive compound from turmeric (*Curcuma longa* L.): Isolation, purification and analysis of curcumin, *Industrial Crops and Products*, Volume 95, str. 686–694. ISSN 0926-6690. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.037>.

Sanidad, K.Z.; Sukamtoh, E.; Xiao, H.; McClements, D.J.; Zhang, G.D. Curcumin: Recent advances in the development of strategies to improve oral bioavailability. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2019, 10, str. 597–617. [CrossRef]

Schneider, C., Gordon, O.N., Edwards, R.L., Lui, P.B. (2015). Degradation of curcumin: From mechanism to biological Implications. *J. Agric Food Chem* Vol. 9; 63(35): str. 7606–7614. doi:10.1021/acs.jafc.5b00244.

Sharma, K.; Agrawal, S.S.; Gupta, M. Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of curcumin in bulk drug and pharmaceutical dosage forms. *Int. J. Drug Dev. Res.* 2012, 4, str. 375–380.

Shen, L.; Ji, H.F. The pharmacology of curcumin: Is it the degradation products? *Trends Mol. Med.* 2012, 18, str. 138–144. [CrossRef]

Subramani, P.A.; Panati, K.; Lebaka, V.R.; Redd, D.D.; Narala, V.R. Nanostructures for curcumin delivery: Possibilities and challenges. In *Nano and -Micro Drug Delivery Systems*; Andrew, W., Ed.; Elsevier Science Ltd Design and Fabrication: Amsterdam, The Netherlands, 2017; str. 393–418.

Tan, S., Rupasinghe, T.W., Tull, D.L., Boughton, B., Oliver, C., McSweeney, C., Gras, S.L., Augustin, M.A. (2014). Degradation of curcuminoids by in vitro pure culture fermentation. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 62: str. 1005–15. [PubMed: 25317751]

Tønnesen H.H., Karlsen J., and Mostad A. (1982). Studies on curcumin and curcuminoids. XXXIX. Photophysical properties of bisdemethoxycurcumin. *Acta Chem. Scand.*, 36: str. 475–479

Tønnesen, H.H., Másson, M., and Loftsson, T. (2002). Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: solubility, chemical and photochemical stability. *Int. J. Pharm.*, 244(1–3): str. 127–135

Tomeh, M.A.; Hadianamrei, R.; Zhao, X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, str. 1033. [CrossRef] [PubMed]

Vouk, A. Vrednotenje sproščanja učinkovin iz mehansko različnih občutljivih farmacevtskih oblik na napravi za posnemanje črevesnega gibanja. 2017, Magistrska naloga, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani. Dostopno na: https://www.ffa.uni-lj.si/docs/default-source/knjiznica-doc/magistrske/2017/vouk_anja_mag_nal_2017.pdf?sfvrsn=2 Citirano: 31. 12. 2022V

Zheng, B., McClements, J.D. (2020). Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability
Molecules 2020, 25, str. 2791; doi:10.3390/molecules25122791

Wright, L. E., Frye, J. B., Gorti, B. Timmermann, B.N., Funk, J.L. (2013). Bioactivity of turmeric-derived curcuminoids and related metabolites in breast cancer. Current pharmaceutical design.19:str. 6218–25. [PubMed: 23448448]

5.1 Interneti članki

Dr. Lev Kreft v Kurkuma: kaj je res in kaj ni. Dostopno na: <https://vizita.si/zdravje/kurkuma.html>
Povzeto 30. 12. 2022.

Khera, G (2017). Scientific animation. Dostopno na: <https://www.scientificanimations.com/digestive-system/uncategorized/> Povzeto 30. 12. 2022
Plantagea: Kurkuminoidi. Dostopno na: <https://www.plantagea.hr/kurkuminoidi/> Citirano: 30. 12. 2022

Sanolabor (2022). Kurkuma – rastlina z mnogimi blagodejnimi učinki

Dostopno na: <https://www.sanolabor.si/svetovalnica/clanki-nasveti/kurkuma-rastlina-z-mnogimi-blagodejnimi-ucinki> Povzeto 30. 12. 2022