

Zpracování keratinových odpadů

Bc. Anna Fialová

Diplomová práce
2006



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Anna FIALOVÁ

Studijní program: N 2808 Chemie a technologie materiálů

Studijní obor: Inženýrství polymerů

Téma práce: Zpracování keratinových odpadů

Zásady pro vypracování:

- 1. Popište strukturu a vlastnosti keratinového materiálu (srst, ovčí vlna, peří, rohy, kopyta, paznehty)**
- 2. Provedte literární studii o nakládání keratinovými odpady**
- 3. Popište možnosti aplikace degradovaných produktů keratinu (keratinové hydrolysáty)**
- 3. V experimentální části se zaměřte na možnosti dvoufázového rozkladu ovčí vlny**
- 4. Tabelárně a statisticky zpracujte výsledky**
- 5. Zhodnoťte výsledky experimentální práce, navrhněte optimalisaci rozkladu ovčí vlny a využití keratinového hydrolysátu v praxi**

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

dle doporučení vedoucího práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.

Ústav inženýrství a hygieny obouvaní

Datum zadání diplomové práce:

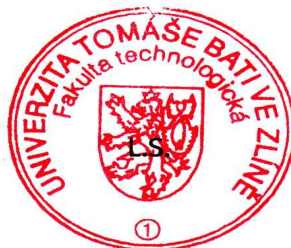
23. listopadu 2005

Termín odevzdání diplomové práce:

12. května 2006

Ve Zlíně dne 7. února 2006


prof. Ing. Josef Šimoník, CSc.
děkan




prof. Ing. Josef Šimoník, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Diplomová práce se v teoretické části zabývá keratinovým odpadem, především ovčí vlnou a zpracováním odpadu z kožedělného průmyslu. Experimentální část je zaměřena na enzymovou hydrolýzou ovčí vlny. V laboratorních podmínkách byly provedeny 2-fázové experimenty, při kterých byla rozložena ovčí vlna. V 1. fázi byla vlna předzpracována redukčním činidlem (2-mercaptoethanol) a v 2. fázi rozložena pomocí enzymu Savinase Ultra 16L. Byly stanoveny optimální podmínky hydrolýzy. Ovčí vlna je koželužský odpad, který obsahuje bílkovinu keratin, a ten je možno dále využít. Získaný keratinový hydrolyzát by mohl najít uplatnění v obalové technice, domácí kosmetice a zemědělství.

Klíčová slova: enzymová hydrolýza, ovčí vlna, keratin, odpad, hydrolyzát

ABSTRACT

This graduation theses in it's theoretic part is engaged in keratin waste, especially fleece and processing leather indurstry wast. The experimental part is targeting the enzyme hydrolysis of fleece. A two stage experiments were performed under laboratory conditions, where fleece was decomposed. In the 1st phase the fleece was precultivated by reduction factor (2-mercaptoethanol). In the 2nd phase the fleece was decomposed by enzym Savinase Ultra 16L. An optimal conditions for hydrolysis were designated. Fleece is a tanning industry waste which contains protein keratin which can be further put to use. Aquired keratin hydrolysate could be used in wrapping technology, cosmetics, and agriculture.

Keywords: enzyme hydrolysis, fleece, keratin, waste, hydrolysate

Děkuji svému vedoucímu Ing. Pavlu Mokrejšovi, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, pomoc při experimentech a důležité rady a připomínky při její tvorbě. Děkuji také laborantkám za pomoc při experimentech. Tato práce by nemohla vzniknout bez laskavého přístupu mých blízkých, a proto i jim patří můj dík.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být naloženo podle uvážení vedoucího diplomové práce a vedoucího katedry. V případě publikace budu uvedena jako spoluautorka.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Ve Křtomili, 10.5.2006

.....

Bc. Anna Fialová

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 KERATIN	10
2 STAVBA ZVÍŘECÍCH CHLUPŮ	12
3 DRUHY SRSTI POUŽÍVANÉ KE ZPRACOVÁNÍ	15
4 DĚLENÍ ODPADŮ KOŽEDĚLNÉHO PRŮMYSLU	18
4.1 ODPADY VZNIKAJÍCÍ PŘI VÝROBĚ SUROVÝCH KŮŽÍ	18
4.2 ODPADY VZNIKAJÍCÍ PŘI KOŽEDĚLNÉ VÝROBĚ	18
4.3 ODPADY VZNIKAJÍCÍ PŘI ZPRACOVÁNÍ USNÍ A KOŽEŠIN	19
4.4 OSTATNÍ DRUHY ODPADŮ KOŽEDĚLNÉ VÝROBY	20
5 ZPRACOVÁNÍ ODPADŮ KOŽEDĚLNÉHO PRŮMYSLU	21
5.1 VÝZNAM ZPRACOVÁNÍ ODPADŮ KOŽEDĚLNÉHO PRŮMYSLU	21
5.2 PŘEHLED TECHNOLOGIÍ ZPRACOVÁNÍ KOŽEDĚLNÉHO ODPADU	21
5.2.1 Výroba a využití bílkovinných hydrolyzátů	23
5.2.2 Využití keratinového materiálu	26
6 NAKLÁDÁNÍ S ODPADY	27
6.1 VŠEOBECNÉ POVINNOSTI FYZICKÝCH A PRÁVNICKÝCH OSOB	27
6.2 POVINNOSTI PŮVODCŮ ODPADŮ	27
6.3 POVINNOSTI PŘI ÚPRAVĚ, VYUŽÍVÁNÍ A ZNEŠKODŇOVÁNÍ ODPADŮ	28
6.4 TECHNOLOGIE ZPRACOVÁNÍ KOŽELUŽSKÝCH ODPADŮ	29
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST PRÁCE	33
7.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	34
7.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	36
7.3 ANALYTICKÉ STANOVENÍ OVČÍ VLNY	37
7.3.1 Stanovení popela	37
7.3.2 Stanovení obsahu tuku	37
7.3.3 Stanovení dusíku	38
7.3.4 Stanovení síranů	39
7.3.5 Stanovení sušiny	41
7.3.6 Výsledky analýzy ovčí vlny	41
7.4 PŘÍPRAVA VLNY KE STANOVENÍ	42
7.5 PLÁNOVÁNÍ A VYHODNOCOVÁNÍ EXPERIMENTŮ	42
7.6 PILOTNÍ EXPERIMENTY	44
7.6.1 Pilotní experiment č.1	45
7.6.2 Pilotní experiment č. 2	45

7.6.3	Pilotní experiment č. 3	46
7.6.4	Pilotní experiment č. 4	46
7.6.5	Pilotní experiment č. 5	47
7.7	SOUSTAVA EXPERIMENTŮ 2^3	48
7.8	SOUSTAVA EXPERIMENTŮ 3^2	50
8	DISKUSE K NAMĚŘENÝM HODNOTÁM.....	54
8.1	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ FAKTOROVÝCH POKUSŮ 2^3	54
8.2	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ FAKTOROVÝCH POKUSŮ 3^2	61
	ZÁVĚR	65
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	66
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	69
	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
	SEZNAM TABULEK.....	72
	SEZNAM PŘÍLOH.....	73

ÚVOD

Kožedělný průmysl patří mezi průmyslová odvětví, kde se vytváří značné množství odpadu. Tyto odpady mohou přispívat ke znečištění životního prostředí. S každým odpadem by mělo být podle možností zacházeno tak, aby co největší množství z něj mohlo být recyklováno případně nějakým vhodným způsobem využito. Samozřejmě, bylo by vhodné minimalizovat množství odpadu již při jeho výrobě, což je sice možné, ale přes veškerou snahu stále velké množství odpadu zůstává. Diplomová práce by měla pomoci najít uplatnění pro odpad z keratinového materiálu, který kožedělný průmysl produkuje. Zároveň shrnuje poznatky o nakládání s odpady z kožedělného průmyslu.

Tato práce se zabývá enzymovým rozkladem ovčí vlny na keratinový hydrolyzát. Před zahálením enzymové hydrolyzy je třeba z vlny odstranit tuk. Dále bude vlna podrobena analytickému zkoumání, kde se stanoví obsah popela, síry, síranů, dusíku, sušina, a také množství tuku u neodtučené vlny.

Dále bude prováděna enzymová hydrolyza. Vzhledem k tomu, že není znám přesný postup, jak by se mělo pracovat, bude před zahájením faktorových pokusů, jež budou určeny pro statistické vyhodnocení, provedena série pilotních experimentů, které napomohou připravit další postup při hydrolyze. Budou sledovány 3 veličiny, které ovlivňují rozklad vlny. Tyto veličiny jsou teplota, která bude použita při 2. fázi enzymové hydrolyzy, dále bude sledována doba 2. fáze hydrolyzy a zjistí se, jaké množství enzymu Savinase Ultra 16L bude užito, aby hydrolyza proběhla co nejlépe.

Následovat budou faktorové experimenty, kde se po první sérii faktorových pokusů 2^3 stanoví proměnná, která zůstane konstantní a v další sérii faktorových pokusů 3^2 bude pracovní postup dále optimalizován. Bude stanovena hmotnost nerozloženého zbytku vlny a množství sušiny keratinového hydrolyzátu a výsledné proměnné budou hodnoceny statistickým programem Statgraphics verze 6.0.

Ze získaných keratinových hydrolyzátů vytvoříme zkušební vzorek keratinového filmu a zhodnotíme, jak bude zkušební vzorek vypadat.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KERATIN

Keratin patří mezi fibrilární (vláknité) proteiny mající silně protáhlé molekuly, jejichž sekundární struktura má dominantní charakter. Mnoho fibrilárních proteinů kůže, šlach a kostí slouží jako stavební materiály, které mají ochrannou, spojovací nebo podpůrnou úlohu v živých organismech. Proteiny svalů a bičků mají pohybové funkce. [1]

Vláknité proteiny málokdy krystalizují, proto nelze obvykle určit jejich strukturu rentgenovou analýzou. Tyto proteiny se spíše shlukují do vláken, v kterých jsou osy jejich molekul víceméně souběžné s osou vlákna, ale kde postrádají specifickou orientaci v jiných směrech. Rentgenový difrakční obrazec takového vlákna obsahuje málo informací, daleko méně, než by bylo možno získat z krystalického proteinu, a proto nejsou struktury fibrilárních proteinů podrobně známy. [1]

Spojení a interakce v bílkovinném vlákně: všechna bílkovinná vlákna se skládají z bílkovinných řetězových molekul, jsou spojeny různými vazbami, které dosahují síly kovalentní vazby i slabšího vzájemného ovlivňování. Vazby v bílkovinách jsou vodíkové můstky, Coulombické interakce, Van der Waalsovy síly a hydrofobní vazby v přítomnosti vody. Keratinová vlákna jsou členy skupiny bílkovinných vláken spolu s hedvábím a kolagenem, ten je nerozpustný a fyzikálně i chemicky stálý. Tyto vlastnosti vlny jsou vysvětleny molekulovým shromažďováním, zhuštěním a zesíťováním, a také krystalickou strukturou v mikrofibrilách. [2]

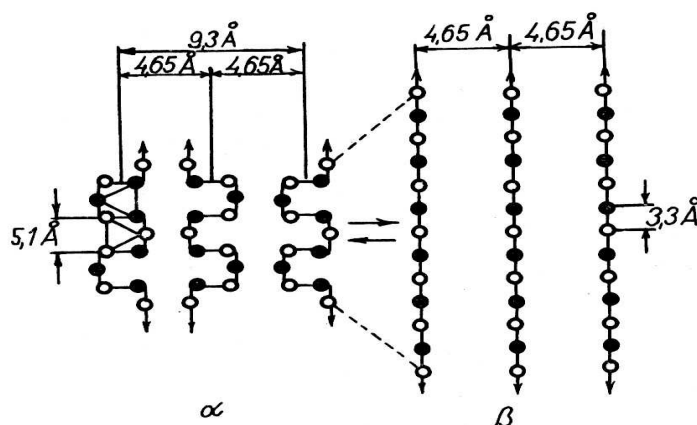
Z hlediska chemického složení je srst živočichů tvořena bílkovinou zvanou keratin. Keratin je základní složkou rohů a paznehtů a kopyt zvířat. Dále je obsažen v peří a ovčí vlně. [3]

Keratin je biologický útvar složený z řady vzájemně se lišících bílkovin. Společným znakem těchto bílkovin je nerozpustnost ve vodě, odolnost proti působení proteolytických enzymů a přítomnost příčných vazeb disulfidického typu. K typickým aminokyselinám patří cystin, cystein a methionin. Tyto aminokyseliny obsahují ve své molekule síru. Obsah síry se pohybuje od 2 do 5% na sušinu. Po zesíťování jsou jednotlivé bílkoviny spojeny do prostorové sítě, v níž ztratily svou identitu, a jsou součástí makromolekuly s velmi vysokou molekulovou hmotností. Proto každá charakterizace keratinu musí vycházet z produktu, u kterého bylo prostorové zesíťování odstraněno. Disulfidické můstky obsažené v keratinu lze rozštěpit buď oxidačním nebo redukčním způsobem. [3]

Nejvýznamnější aminokyselina keratinu je právě cystin a společně s cysteinem má významnou úlohu jako redoxsystém při dýchání v buňkách. Po odumření buněk převládá proces oxidační nad redukčním, tvoří se cystin, a tím nastává proces keratinizace neboli rohovění. [4]

Další typické znaky aminokyselinového složení keratinů jsou poměrně vysoký obsah argininu 6 až 11%, nízký obsah histidinu 0,6 až 1,5%, střední množství lysinu a přítomnost tryptofanu. Keratiny obsahují poměrně velké množství hydroxyaminokyselin – serinu a treoninu a kyselin asparagové a glutamové. Polovina karboxylových skupin je ve formě amidů. [4]

Strukturní forma keratinu je spirála alfa. Alfa forma keratinu se může modifikovat v přítomnosti vody a polárních sloučenin na formu beta viz. Obr.1. Přechod spirály alfa na konfiguraci beta můžeme charakterizovat tak, že keratin ve formě alfa je v nenataženém stavu a skupiny CO a NH peptidických vazeb tvoří intrapeptidické vodíkové vazby navzájem, tyto vazby se roztažením poruší. [4]



Obr. 1 Přechod α -formy keratinu na β -formu

Keratin je mechanicky odolný chemicky nereaktivní protein, vyskytující se u všech vyšších obratlovců. α -formy keratinu se vyskytují u savců, β -formy keratinu u plazů a ptáků. α -keratin je bohatý na cysteinové zbytky, které spojují příčnými vazbami sousední polypeptidové řetězce. Tím jsou vysvětleny jeho dvě nejdůležitější biologické vlastnosti, nerozpustnost a pevnost v ohybu. α -keratiny jsou buď tvrdé nebo měkké, podle toho, zda mají vysoký nebo nízký obsah síry. Tvrdé keratin vlasů, rohoviny a nehtů jsou méně pružné než měkké keratiny kůže a mozolů, protože disulfidové vazby odolávají deformačním silám. [1]

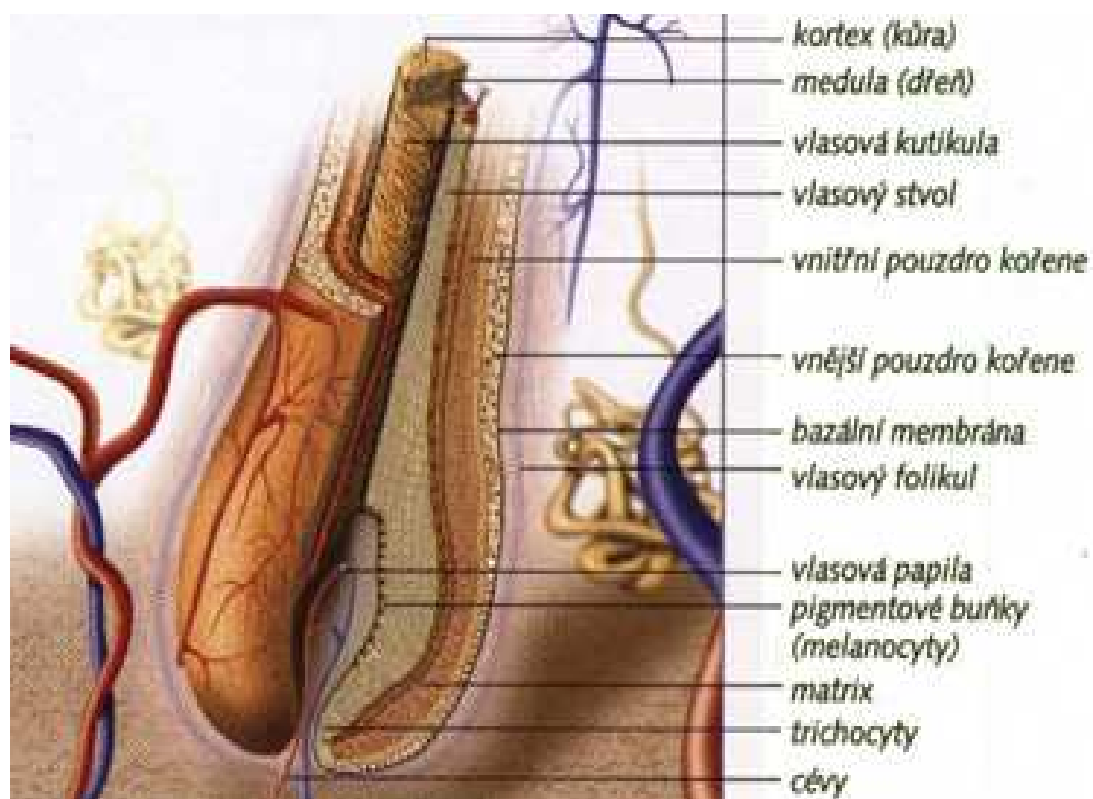
2 STAVBA ZVÍŘECÍCH CHLUPŮ

Zvířecí chlup se skládá ze tří částí – stvolu, to je část nad pokožkou, kořene – část pod pokožkou a chlupové cibulky. Stvol a kořen chlupu obsahují odumřelé buňky. Chlupová cibulka je tvořena živými epidermálními buňkami. Kořen chlupu je umístěn v chlupovém váčku, ten se skládá z kolagenových a elastinových vláken. Na dně váčku je výrůstek nazývaný papila, který má mnoho krevních a mízních cév a vyživuje chlup. Vnější chlupová pochva se skládá z pokožkových buněk a je vlastně pokožkou chlupového váčku. Rohovitá vrstva je pouze ve vrchní části chlupového váčku, ve spodní části zůstává jen vrstva slizová. Bílkoviny vnitřní chlupové pochvy se liší od bílkovin chlupu i od bílkovin rohovité vrstvy pokožky. Stavba chlupu je znázorněna na Obr. 2. [4]

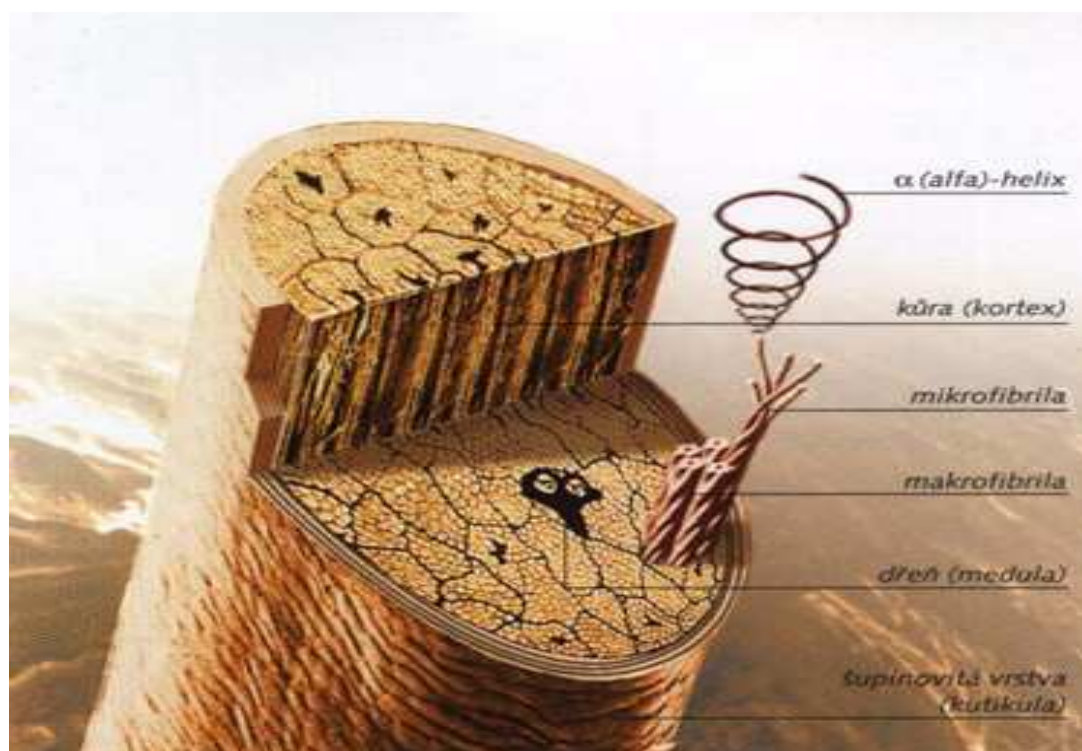
Na příčném řezu chlupu viz. Obr. 3 lze pod mikroskopem pozorovat tři vrstvy: pokožku, kůru a dřeň. Pokožka tvoří obal chlupu o tloušťce 0,5 až 3 μm . Skládá se ze zrohovatělých buněk, které tvoří šupinky rozličného tvaru a uspořádání. Šupinky chrání chlup před působením vnějších vlivů a chemikálií. [4]

Chlupová kůra je od pokožky oddělena blánou. Jednotlivé buňky v kůře jsou uloženy na sobě ve směru osy chlupu, a poněvadž jsou pevně spojeny, dodává chlupová kůra chlupu mechanické vlastnosti, jako pevnost, pružnost, tažnost. Tloušťka kůry je různá podle druhu zvířete. [4]

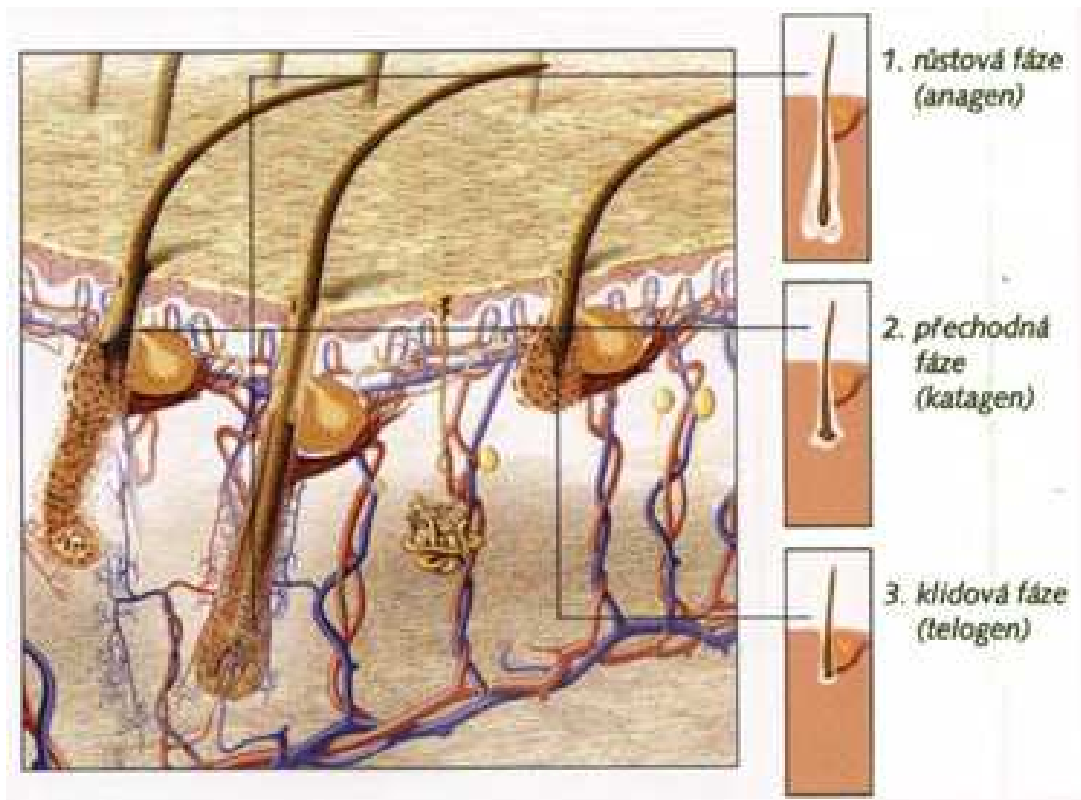
Dřeň chlupu je složena z mnohostěnných zrohovatělých buněk. Uvnitř buněk a v mezibuněčných prostorech je vzduch a pigmenty. Je to pórovitá řídká tkáň. Spojení mezi buňkami nemá dobrou soudržnost, a proto nemá dřeň pro pevnost chlupu význam. Kořen a špička chlupu dřeň nemají. [4]



Obr. 2 Řez chlupem (vlasem)



Obr. 3 Řez stvolem chlupu (vlasu)



Obr. 4 Životní fáze chlupů (vlasů)

Chlup neroste po celý život, ale podléhá cyklickému procesu, v jehož průběhu se střídají fáze aktivního růstu s relativně krátkou dobou absolutní nečinnosti (znázorněno na Obr. 4). Rozlišujeme tři různé fáze cyklu:

- růstová fáze (anagen)
- přechodná fáze (katagen)
- klidová fáze (telogen)

[5]

3 DRUHY SRSTI POUŽÍVANÉ KE ZPRACOVÁNÍ

Ke zpracování v koželužském průmyslu se používají tyto druhy zvířecí srsti :

1. hovězí srst
2. telecí srst
3. ovčí vlna
4. kozí srst
5. zaječí a králičí srst
6. srst ze spárkaté zvěře [4]

Hovězí srst představuje značnou část odpadních chlupů. Má délku podle stavu a věku zvířete 6 až 40 mm. Většinou se získávají z chovaného dobytka. Jen malá část pochází ze zvířat, žijících v přírodě jako jsou buvol, bizon, zubr a tur. Chovný hovězí dobytek se dělí na řadu odlišných plemen. V našich zemích se pěstuje skot převážně těžšího typu. Část dobytka se chová hlavně pro produkci mléka, větší počet kusů se však pěstuje pro jatečné účely. [3,4]

U telecí srsti jsou chlupy rovné, tvrdé, ale kratší. U mladších telat je srst měkká a obsahuje mnoho podrostu. Malá délka chlupů není na závadu jejich plstivosti. U starších telat je podobná srstí hovězí. [4]

Kozí srst tvoří velkou část koželužských odpadních chlupů. Je nestejnorodá, protože kromě hrubých a dlouhých pesíků obsahuje mnoho jemné, měkké podsady. Vzájemný poměr pesíků a podsady závisí hlavně na plemeni, klimatických podmínkách a věku zvířete. Této srsti se používá na výrobu technických plstí. Vzhledem k tomu, že u nás jsou kozy chovány vesměs v soukromém zemědělském sektoru, tvoří kozí srst nepatrný podíl v našem kožedělném průmyslu. [3,4]

Zaječí srst je jednou z nejcennějších surovin pro výrobu vysoce kvalitních plstí. Tloušťka a délka srsti závisí na podmínkách, v nichž zvířata žijí. Z hlediska zpracování se zaječí srst třídí na: korunní hřbet, černý hřbet, modrou stranu, břicho. Tato srst se používá v kloboučnictví. Srst divokých zajíců je kvalitnější než domácích králíků. Srst získaná z odřezků se používá při výrobě plstí, v čalounictví. [4]

Srst ze spárkaté zvěře - jelení, srnčí, daňčí a mufloní srst odpadá při jirchářském zpracování kůže těchto zvířat. Její výskyt není veliký. Této srsti se používá hlavně v čalounictví. [4]

Ovčí vlna je považována za jednu z nejcennějších koželužských srstí. Tato srst je hrubá, nestejnorodá, obsahuje mnoho dlouhých a hrubých chlupů i krátkou a jemnou podsadu. Ovčí vlnu lze výborně spřádat, plstít a valchovat. Stupeň těchto vlastností závisí především na kvalitě srsti. Čím je srst jemnější a čím více drobných zvlnění má vlas na jednotku délky, tím je lepší pro zpracování. Z tohoto hlediska je nejlepší vlna z ovcí druhu merino a kříženců, která má stejnou délku a je jemná. Ovčí srst slouží na výrobu nejjakostnějších plstěných výrobků a lepší druhy na výrobu česané vlněné příze. [4]

Ovčí vlna je nejvýznamnější textilní vlákno živočišného původu. K oděvním účelům se využívá již několik tisíc let. Vlna na ovcích tvoří souvislou vrstvu, která se nazývá rouno. Stříháním živých ovcí se získává tzv. střížní vlna. Rouno nemá všude stejnou kvalitu. Nejlepší vlna je na lopatkách a bocích ovce, střední jakost má vlna z hřbetu, nejméně hodnotná je vlna na nohou, ocasu a hlavě, kde roste hrubá krycí srst. [6]

Ovce se podle jakosti vlny, její jemnosti a podle obsahu pesíků a podsady v rounu dělí na ovce:

- merinové
- kříženecké
- anglické
- nížinné [6]

Z merinových ovcí se získává kratší, jemná a kvalitní vlna. Rouno těchto ovcí je tvořeno podsadou. Kříženecké ovce dávají větší množství vlny dobré kvality. Vlna anglických ovcí je tvořena pesíky. Je dlouhá a lesklá, může být jemná nebo hrubší podle různých plemen anglických ovcí. Vlna nížinných ovcí je hrubá, málo zkadeřená a poměrně dlouhá. V rounu je podsada i pesíky. Pěstují se tam, kde se merinovým a kříženeckým ovcím pro méně příznivé klimatické podmínky nedaří. Kvalita vlny závisí na plemenu ovce a na podmínkách, v nichž se ovce chovají. Největší množství vlny produkuje Austrálie.

[6]

Vlastnosti vlněných vláken: skutečná délka vlněných vláken je 50 až 400 mm, tloušťka 6 až 120 um. Protože vlněná vlákna jsou více či méně obloučkovaná, je skutečná délka mírně napnutých vláken větší než přirozená délka vláken naměřená u zkadeřených vláken. Obloučkovitost vláken bývá větší u jemnějších vln. Různá plemena ovcí dávají vlnu různé jemnosti. [6]

Nejcennější barva vlny je bílá, ale může být např. i černá nebo hnědá. Pevnost vlněných vláken je nižší než pevnost vláken rostlinného původu. Mají však vysokou tažnost, která se za mokra ještě zvyšuje. Za mokra se vlněná vlákna mohou protáhnout až o polovinu své délky. Vlněná vlákna mají také výbornou pružnost a velmi dobrou tvárnost. Vlhkost přijímá vlna velmi snadno. Vlákna mohou přijmout 30 až 40% vlhkosti, aniž by byla na omak mokrá. [6]

Charakteristickou vlastností vlny a většiny vláken zvířecího původu je plstivost. Je podmíněna stavbou vláken. Šupinky na jejich povrchu se mohou při vzájemném pohybu vláken do sebe zaklesnout, takže za příznivých podmínek (tj. za určité teploty, vlhkosti, tlaku a za pomocného působení některých chemických činidel) se vlákna mohou navzájem propojit tak, že vytvoří souvislou vrstvu plsti. Plstivost vlny je kromě šupinkové struktury ovlivněna tvárností, tažností a pružností vláken. Jemné a kratší vlny se plstí lépe. Plstivost vlny se využívá při výrobě plstí a při úpravě vlněných výrobků, jindy je nežádoucí (např. při praní vlněných výrobků). [6]

Vlna má velmi dobré tepelně izolační vlastnosti. Tepelná odolnost vlněných vláken je nižší než tepelná odolnost vláken rostlinného původu. Při žehlení snesou teplotu 150-160°C, při použití vlhké prostěrky až 190°C. Vlna prakticky nestárne. Působením slunečního světla však klesá pevnost vláken a bílá vlákna žloutnou. Vlnu mohou poškozovat moli. Po zapálení se vlna škvaří, zapáchá po rohovině a mění se v křehkou pórovitou kuličku černé barvy. [6]

4 DĚLENÍ ODPADŮ KOŽEDĚLNÉHO PRŮMYSLU

Jednotlivé druhy odpadů v kožedělném průmyslu se rozdělují podle vzniku a výskytu takto :

1. odpady vznikající při manipulaci se surovými kůžemi
2. odpady vznikající při zpracování surových kůží (při výrobě usní a kožešin)
3. odpady vznikající při zpracování usní
4. ostatní druhy odpadů [4]

4.1 Odpady vznikající při výrobě surových kůží

K co nejlepšímu využití kůží je vhodné dokonale upravit surové kůže pro další zpracování. Kůže jsou dodávány na váhu a proto je v zájmu dodavatele ponechat na kůži co nejvíce různých orgánů, jež zvyšují váhu suroviny. Tyto části jsou však pro zpracování v koželužnách zcela bezcenné a je třeba je z kůží odstranit.

Odpady, které se získávají při ošetřování surových kůží na jatkách a při počátečním zpracování v koželužnách, se dělí na:

- odpady ze surových kůží – odřezky kůží, líčka, čílka, nožiny, čumáky, ocasy, uší, šlahy, chrupavky
- kostní odpady – zbytky končetin, lebeční kosti, ocasy
- keratinové odpady – rohy, kopyta, paznehty
- koňské hřívy a žíně [4]

4.2 Odpady vznikající při kožedělné výrobě

V kožedělném průmyslu vzniká celá řada nejrozmanitějších odpadů. Odpady z kožedělných výrob obsahují pestré směs látek chemického a biologického charakteru. Mohou být inertní, biologicky rozložitelné i nebezpečné. Převážnou část z nich lze dobře využít a zhodnotit. [7]

Koželužský a kožišnický výrobní proces se skládá z řady různých operací, při nichž se surová kůže přeměňuje na hotový výrobek, tj. na useň nebo kožišinu. Při tomto technologickém procesu vznikají tyto druhy důležitých odpadů:

1. Mázdra a podkožní tuk – získávají se při mízdření kůží před námokem nebo po něm. Odstraněním těchto částí se usnadní loužení, dosáhne se lepšího prodloužení a zlepší se jakost výrobků.
2. Chlupy, štětiny, vlna – získávají se při zpracování suroviny na vrchové, spodkové, galanterní a jiné druhy usní. Vhodný způsob uvolnění chlupů se volí podle kvality srsti. U podřadnějších druhů se používá loužení, což má za následek narušení chlupu. U kvalitnějších druhů srsti se používá tzv. švédování a enzymatické loužení. Nejlepší vepřové štětiny se vytrhávají z kůže ještě před jejím opracováním.
3. Klihovka – získává se opracováním vyloužené a odchlupené kůže, holiny. Dle způsobu opracování ji rozdělujeme na klikovku strojní, ruční a štípenkovou. Klihovka je cenný koželužský odpad a představuje důležitou a hodnotnou průmyslovou surovinu.
4. Postružiny – vznikají při úpravě tloušťky vyčiněných kůží. Aby těchto odpadů vznikalo co nejméně, je vhodné volit suroviny o vhodné váhové třídě pro určité druhy výrobků a brát v úvahu konečnou tloušťku hotových usní.
5. Odpady vyčiněných a vybarvených usní – vznikají při začišťování okrajů při úpravě tvaru kůží zastříhováním a vyrážením. Jako tento odpad se zařazují oddělené kousky a znehodnocené štípenky, které jsou malé, proděravělé, tenké nebo jinak poškozené, které již nelze dále koželužsky zpracovat.
6. Kožní prach – vzniká při opracování nejrůznějších druhů usní jako jsou velury, podšívky, nubuky a jiné, u nichž se lícová popřípadě rubová strana upravuje broušením, aby se dosáhlo požadovaného vzhledu a dala se vhodně upravovat. [3,4]

4.3 Odpady vznikající při zpracování usní a kožešin

Velká část odpadů vzniká při manipulaci s usní při vysekávání dílců pro obuvnictví a galanterii. Tyto druhy odpadů jsou nejdražší, do jejich ceny se započítává cena suroviny, chemikálií a navíc také cena strojní a lidské práce. Množství odpadu se dá ovlivnit vhodným naskládáním vysekávaných dílců vedle sebe, aby kůže byla co nejlépe využita.

[4]

4.4 Ostatní druhy odpadů kožedělné výroby

Do této skupiny jsou zařazeny odpady, které se vyskytují v menší míře a jejichž výskyt je nepravidelný, jsou to:

- odpadní tuk
- srst a pesíky
- třísko
- odpadní vody a koželužské kaly

Odpadní tuk se v koželužské a kožišnické výrobě získává při zpracování kůží, které obsahují větší množství tuku.

Srst a pesíky jsou odpadem, který vzniká při stříhání a úpravě kožešin. [3,4]

5 ZPRACOVÁNÍ ODPADŮ KOŽEDĚLNÉHO PRŮMYSLU

5.1 Význam zpracování odpadů kožedělného průmyslu

Z kožedělné výroby přechází do odpadu 30 až 50% suroviny. Což je velké množství. Děje se tak již při vlastním zpracování nebo při manipulaci s usněmi a kožešinami v obuvnickém a galanterním průmyslu.

Surová kůže je nejdražším článkem výroby a její cena představuje okolo 60 až 80% celkové ceny hotového výrobku. Z toho je zřejmé, že je důležité aby bylo vhodně a co nejvíce ekonomicky zacházeno s touto cennou surovinou. Velmi totiž záleží na maximálním využití usní v obuvnické a galanterní výrobě. Je nutno vést a organizovat výrobní proces tak, aby suroviny byly co nejlépe využity, a aby se vznik odpadů omezil na co nejnižší možnou míru.

Odpady z koželužského průmyslu je nutno považovat za důležité a hodnotné suroviny, a proto mají být správně ošetřeny a vhodně dodány k dalšímu zpracování.

[4]

5.2 Přehled technologií zpracování kožedělného odpadu

Zhruba 30 – 40% primární suroviny přechází na odpad. Možnosti vzniku nebezpečných odpadů jsou poměrně vysoké, protože 80 – 90% koželužen ve světě používá k činění chromité soli. Stupeň environmentální nebezpečnosti chromu bývá přitom jedním z nejvíce diskutovaných problémů mezi koželužským průmyslem a orgány státní a veřejné správy. Odpady z kožedělných výrob (odpadový tuk, srst, keratinové odpady) obsahují pestrou směs látek chemického a biologického charakteru. Mohou být inertní, biologicky rozložitelné i nebezpečné. Převážnou část lze výhodně zužitkovat a zhodnotit. [8]

1. Výroba štípenkových usní: ze štípenek získaných rozřezáním plátů kůže po celé ploše, v českých koželužnách je běžně zavedena.
2. Výroba vláknitých usní: z činěných odpadů, štípenky, postružin, odřezků.

3. Výroba drobných kožených výrobků: ze štípenek a činěných odřezků. Zejména malé firmy a živnostníci využívají dostupnosti štípenkových usní i druhé jakosti a usňových odřezků k výrobě drobných předmětů.
4. Výroba želatiny a kožního klihu: zdrojem jsou surové odřezky, strojní klihovka a štípenka čerstvých a loužených kůží. V České republice nejsou podmínky pro konkurenci schopnou výrobu želatiny, ale kožní klich se vyrábí.
5. Výroba plnicích přípravků a zpracování vlny: z chlupů z hovězin a ovčín, v ČR se zachyt chlupů z hovězin neprovádí, vlna z ovčín je nízké kvality.
6. Výroba potravinářských párkových střev: z holinové (klihovkové) štípenky, pro pokrytí potřeb se dováží do ČR holinová štípenka z Itálie.
7. Získávání tuku: ze strojní klihovky, koželužny dodávají strojní klihovku do několika specializovaných firem, mezi něž patří i veterinární asanační ústavy, kde se klihovka zpracovává.
8. Výroba kolagenních produktů: z odřezků a štípenky z holiny, v malém rozsahu se vyrábí hračky pro psy a kočky.
9. Hnojení a úprava půdy: zdrojem jsou zbytky po kompostování a anaerobní fermentaci chlupů, čistírenské kaly. Chlupy obsahují organický dusík, což je látka vhodná k hnojení. Podle zákonných požadavků však vyžaduje aplikace těchto odpadů do půdy, aby byly důsledně roztříděny a jednotlivé frakce potřebným způsobem upraveny. Nežádoucí je kromě nedostatečné hygienizace také nežádoucí množství chrómu.
10. Kompostování: využívají se chlupy, odřezky z čerstvých kůží, strojní klihovka a štípenka z čerstvých a loužených kůží, vyčiněná štípenka a postružiny, tuky a čistírenské kaly. Kapacit na výrobu kompostů je relativně dostatek, problémy jsou s uplatněním kompostů. Zájem kompostárenských firem o koželužské odpady je proto velmi malý. Špatně se kompostují těžce rozložitelné látky, u kterých probíhá proces mineralizace a humifikace dlouhodobě a nesnadno a nebo které je třeba předfermentovat nebo upravovat jako je rohovina. [8,9]
11. Anaerobní fermentace: využití chlupů, odřezků z čerstvých kůží, strojní klihovky a štípenky z čerstvých a loužených kůží, tuků, čistírenských kalů. V ČR je zavedena

pouze na jedné ČOV, kde se společně čistí také koželužské odpadní vody. Kaly se zhodnocují na bioplyn.

12. Termická úprava: zdrojem jsou tuky, směsi nehalogenovaných organických rozpouštědel, aplikuje se pouze při zpracování strojní klišovky k oddělování tuků.
13. Recyklace organických rozpouštědel: v některých koželužnách zpracovávajících ovčiny se při odtučnění regenerují rozpouštědla (nikoliv směsi) destilací.
14. Regenerace filtrů: u filtrů s aktivním uhlím, používaných k odstraňování plyných emisí, tato technologie není v České republice zatím zavedena.
15. Opakované použití a recyklace obalových materiálů: zpětný odběr se provádí u nádob, přepravek, plastových a lepenkových obalů. [8]

5.2.1 Výroba a využití bílkovinných hydrolyzátů

Hydrolyzáty z kolagenu je možno je vyrábět z kůží, odřezků kůže, jatečních odpadů, hydrolýzou želatiny nebo klišu. Hydrolýza se může provádět parou pod tlakem, nejvhodnější je však enzymatická hydrolýza, která se usměrňuje teplotou a optimální hodnotou pH. [10]

Hydrolyzáty mohou mít definovanou distribuci molekulových hmotností. Mohou se čistit, filtrovat, zahušťovat, sterilovat a práškovat. Působením peroxidu vodíku se získávají hydrolyzáty světlé barvy a bez zápachu. [10]

Hydrolyzáty z kolagenu mohou být použity v potravinářství, kosmetice, jako látky uchovávající vůni nebo chuť. Z hlediska výživy je kolagen neplnohodnotnou bílkovinou, zejména pro nízký obsah aminokyseliny lysinu. Hydrolyzáty mohou nahradit kasein při výrobě pigmentových apretur v koželužství. Podřadnější hydrolyzáty jsou vhodnější jako přísady do krmiv a hnojiv. Přídavek kolagenu při výrobě některých polymerů má podporovat biologickou odbouratelnost plastů. [10]

Podle typu činidla, které působí na koželužský odpad, rozlišujeme alkalickou, kyselou a enzymatickou hydrolýzu.

U alkalické hydrolyzy se rozklad provádí za použití uhličitanu vápenatého a oxidu hořečnatého za zvýšeného tlaku. Izolovaný bílkovinný hydrolyzát obsahuje řádově jednotky až desetiny procent oxidu chromitého v závislosti na podmínkách hydrolyzy, ale také značné množství sodných, draselných, vápenatých a hořečnatých solí. [10]

Produktem alkalické hydrolyzy chromočiněných postružin je žlutohnědá kapalina sirupovité konzistence, která se pro další využití dodává v cisternách. Hydrolyzáty z chromočiněných odpadů se dodávaly jako přídatné bílkovinné krmivo pro výkrm vepřů (v množství do 3 %), skotu (do 1 %) a drůbeže. V játrech drůbeže však byl prokázán zvýšený obsah chrómu. [10]

Kyselá hydrolyza vede k produktům se značně vyšším obsahem oxidu chromitého, který lze následně obtížně snižovat. Praktická využitelnost alkalických nebo kyselých hydrolyzátů z usňových odpadů je omezena obsahem chrómu, obsahem solí a poměrně nízkou molekulovou hmotností. [10]

Enzymové postupy rozkladu chromočiněných postružin se začaly uplatňovat v posledních letech. Volbou podmínek při enzymové hydrolyze chromočiněných odpadů je možno získat produkty o různých vlastnostech a různém obsahu chrómu a vést proces i tak, že se získají hydrolyzáty s obsahem chrómu pod hygienické normy. Hydrolyzáty lze použít pro řadu průmyslových aplikací. Filtrační koláč lze recyklovat ve formě koželužských břeček. [10]

Usňové odpady lze enzymově rozložit na bílkovinný podíl a zbytek obsahující chrom, a různé soli, obdobně jako chromičité postružiny. Bílkovinný substrát je však zabarven. Biotechnologický rozklad je náročnější, neboť vyžaduje pracovat v několika stupních s celkově vyšším nasazením enzymu. Oddělení kapalné a pevné fáze je rovněž náročnější. Bílkovinný hydrolyzát je možno použít jako přídatek dusíkaté složky při výrobě hnojiv. Chrom obsažený ve filtračním koláči je možno po jeho spálení na oxid chromitý dále využít. [10]

Nutriční hodnotu peří lze využít jako zdroj krmiva pro dobytek. Pokrok v technologii nabízí významný prostor pro využití biologicky přeměněného peří pomocí enzymu. Ze směsi znečišťujícího životního prostředí se stává výživně vylepšené na bílkoviny bohaté krmivo pro dobytek. Poslední informace o zpracování keratinů zdůrazňují vhodnost využití peří

biotechnologemi pro vytvoření výživných látek jako vhodnou alternativu k dřívějšímu horkovodnímu zpracování peří. [11]

Kapilární elektroforéza z bílkovin chlupů laboratorních krys nasátých alkoholem byla užita pro získání informací o rozpustnosti keratinového proteinu krysích chlupů. Stejná metoda byla použita pro odhalení přítomnosti dalších bílkovin v alkoholu nasátých krysích chlupích. [12]

Keratin z drůbežího peří byl smíchán s 0,1 g Ca(OH)_2 na 1 g peří a získal se kapalný produkt bohatý na aminokyseliny polypeptidy, kterého může být užito jako krmiva. Účinky a vlastnosti rozpuštěného keratinu byly studovány. U vysokých teplot okolo 150 °C bylo 80% keratinu z peří rozloženo během 25 minut zatímco při teplotě 100 °C je potřeba k této reakci celých 300 minut. Po 3 hodinách hydrolýzy při teplotě 150 °C bylo rozloženo 95% drůbežího peří. [13]

Spojení enzymu a zásadité technologie je využito u zpracování odpadů z drůbežích jatek. Byla použita předpříprava suroviny a hydrolýza. Enzymem je zásaditá proteáza ve velkém měřítku užívaná v potravinářství. Peří se po předběžné úpravě zpracovává s 0,3 M roztokem NaOH při 80 °C a po přidání trávícího enzymu proběhne hydrolýza při 55-60 °C. Po vysušení se získá těžký naředlý prášek s vysokým obsahem bílkovin, který je vhodný jako bílkovinný koncentrát ke krmení dobytka. [14]

Hydrolyzát z drůbežího peří byl vyroben rozkladem bílkovin s keratin rozpouštějícími bakteriemi. Amino-kyselé složení vyplývající z hydrolýzy bylo způsobeno nedostatkem methioninu, lysinu a histidinu. Byla hodnocena stravitelnost a enzymem pepsinem a pankreatinem. Hydrolyzát měl nižší stravitelnost jako sójová bílkovina, ale vyšší než pševá moučka a mleté peří. Tyto bakteriální hydrolyzáty s peří se ukázaly vhodné jako přísada do krmiv. [15]

V americkém zemědělském výzkumu se snaží vyrobit nejrůznější plastové materiály z drůbežího peří. Nyní je testováno použití materiálů z peří pro užití v takových věcech, jako jsou biologicky odbouratelné plenky a teplotní izolace bytů. [16]

5.2.2 Využití keratinového materiálu

Vepřové štětiny se získávají pařením prasat a odštětinováním na strojích. Z jednoho vepře je až 180g štětin. V bubnové pračce se zbaví nečistot, odstředí se a suší při teplotě 60-70 °C. U kruponovaných prasat se štětiny získávají při loužení kůží. Používají se v kartáčnické výrobě. [17]

Koňské hřívy a žíně se sestřihují se těsně u kůže a třídí se podle délky. Používají se jako výplňový materiál v kartáčnictví. Na jatkách se těžší srst a chlupy z ušních boltců krav, používají se na výrobu malířských štětců. [17]

Mezi nejčastěji získávanou rohovinu patří hovězí rohy. Ty se paří v duplikátorové vaně při 80 °C po dobu 15 minut. Pomocí kleští se oddělí vnitřek dužina neboli rohové lůžko od samotné rohoviny tzv. rohového toulce. Tento proces se nazývá vytluokání. Paznehty (nožiny zbavené šlach) se paří a rohovina se také vytluče. Získává se také tuk tzv. paznehtový olej. Vytlučená rohovina z koňských kopyt se pro další zpracování suší na obsah vlhkosti 24%. Rohovina se používá k výrobě uměleckých a řezbářských výrobků podobně jako slonovina. Odpad z rohoviny se v asanačních podnicích zpracovává hydrolýzou a za zvýšené teploty se vyrábí krmný hydrolyzát. Rozemletím rohoviny se vyrábí rohová moučka a používá se jako hnojivo. [17]

6 NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

6.1 Všeobecné povinnosti fyzických a právnických osob

Každý je povinen předcházet vzniku odpadů, omezovat jejich množství a nebezpečné vlastnosti. [18]

Odpady lze upravovat, využívat nebo zneškodňovat pouze v zařízeních, místech a objektech k tomu určených. Při této činnosti nesmí být ohrožováno nebo poškozováno životní prostředí a nesmí být překročeny limity znečištění stanovené zvláštními předpisy. Podmínky pro využití odpadů jako hnojiva stanoví vyhláškou ministerstvo zdravotnictví po dohodě s ministerstvem zemědělství. [18]

Původce odpadu se může odpadu zbavit pouze způsobem, který je v souladu s tímto zákonem a jinými právními předpisy. Na každého, kdo převezme odpady od původce, přecházejí povinnosti původce. [18]

Je-li původce odpadu znám, ale nezdržuje se na území České republiky, zajistí zneškodnění odpadu příslušný okresní úřad. Náklady s tím spojené je povinen hradit původce. [18]

Nepodaří-li se zjistit právnickou nebo fyzickou osobu, která odpad umístila na nemovitost, která není určena k ukládání odpadů, přechází povinnost zajistit zneškodnění odpadu na vlastníka nemovitosti na níž je odpad umístěn, a to na jeho vlastní náklady. Pokud vlastník nemovitosti v tomto řízení prokáže, že umístění odpadu jím nebylo způsobeno ani jím zaviněno a že učinil veškerá opatření k ochraně své nemovitosti, která lze na něm vyžadovat, uhradí mu účelně vynaložené náklady na zneškodnění příslušný okresní úřad. [18]

6.2 Povinnosti původců odpadů

Původce odpadů je povinen:

1. Odpady zařazovat podle druhů a kategorií stanovených v Katalogu odpadů
2. Odpady, které sám nemůže využít, trvale nabízet k využití jiné právnické nebo fyzické osobě, a to buď přímo nebo prostřednictvím právnické osoby
3. Nelze-li odpady využít - zajistit jejich zneškodnění

4. Kontrolovat nebezpečné vlastnosti odpadů a nakládat s nimi podle jejich skutečných vlastností
5. Shromažďovat odpady utříděné podle jednotlivých druhů a kategorií
6. Zabezpečit odpady před nežádoucím znehodnocením, odcizením nebo účinkem ohrožujícím životní prostředí
7. Vést evidenci odpadů v rozsahu stanoveném zákonem a vyhláškou ministerstva
8. Umožnit kontrolním orgánům přístup do objektů, prostorů a zařízení, na vyžádání předložit dokumentaci a poskytnout pravidelné a úplné informace související s nakládáním s odpady
9. Platit poplatky [18]

6.3 Povinnosti při úpravě, využívání a zneškodňování odpadů

Provozovat zařízení k zneškodňování odpadů a zařízení k úpravě a využívání nebezpečných odpadů lze jen se souhlasem okresního úřadu.

Oprávněná osoba je povinna:

1. Zabezpečit odpady před odcizením nebo únikem ohrožujícím životní prostředí
2. Zveřejňovat seznam druhů odpadů, k jejichž zneškodňování nebo úpravě je oprávněna
3. Vést evidenci odpadů v rozsahu stanoveném tímto zákonem a vyhláškou ministerstva
4. Zneškodnit odpady v mimořádných případech na základě rozhodnutí příslušného okresního úřadu, je-li to nezbytné z hlediska ochrany životního prostředí a pokud je to pro provozovatele technicky možné; náklady vzniklé tímto rozhodnutím hradí původce nebo, pokud není znám, okresní úřad, který rozhodnutí vydal
5. Umožnit kontrolním orgánům přístup do objektů, prostorů a zařízení, na vyžádání předložit dokumentaci a poskytnout pravdivé a úplné informace související s nakládáním s odpady
6. Zabezpečit po ukončení provozu skládky její asanaci, rekultivaci a následnou péči a zamezit negativnímu vlivu skládky na životní prostředí

7. Při provozování skládky zřídit a vést finanční rezervu na asanaci a zajištění skládky po jejím uzavření asanaci, rekultivaci a následnou péči zajišťovat z vlastních prostředků a prostředků finanční rezervy [18]

6.4 Technologie zpracování koželužských odpadů

Cílem hospodaření s odpady je jejich zneškodnění, což znamená vyloučení nebo omezení škodlivých účinků na životní prostředí. Stále většího významu nabývá využívání odpadu jako druhotné suroviny. Při jejím využití se uplatní pozitivní vliv na životní prostředí třemi způsoby. [19]

Prvním z nich je snížení zátěže prostředí škodlivým účinkem odpadů. Dále se šetří přírodní zdroje surovin i energie, a tím i životní prostředí při jejich získávání. Také se zmenšuje zátěž prostředí odpadními látkami a energie při zpracování primárních surovin. [19]

Před uložením odpadu na skládku je třeba odpad upravit, a to vypuštěním do ovzduší nebo dalším zpracováním. To se provádí z důvodů snížení množství nebo škodlivosti odpadu. Tato etapa je označovaná jako zneškodňování odpadů a patří sem :

1. Stabilizace odpadu, např. aerobním nebo anaerobním rozkladem organických látek, čímž se rozloží škodlivé látky a zčásti přemění na plynné odpady. Bioplyn z anaerobního odpadu lze využít jako palivo.
2. Spálení odpadů, včetně zvláště nebezpečných, čímž se zmenší škodlivost odpadu a zároveň jeho objem.
3. Sorpce (absorpce, adsorpce) škodlivých složek z odpadních plynů nebo z odpadních vod. Touto technologií se sice vyčistí látkový proud, avšak škodliviny se převádějí do jiné fáze.
4. Neutralizace kyselých nebo zásaditých odpadů zlepší pH odpadu a zmenší jeho škodlivost.
5. Srážení škodlivých látek z odpadních vod, čímž lze koncentrovat škodlivé látky do malého objemu sraženiny. [19]

Další etapou je ukládání zejména pevného odpadu na skládku, vypouštění kapalných odpadů

do vodoteče a plyných odpadů do ovzduší. Prakticky se tato etapa realizuje takto :

1. Skládkování je nejstarší způsob likvidace odpadů, v evropských zemích se skládkuje 40 až 90% všech odpadů. Řízené skládkování se i v současnosti považuje za ekologicky a ekonomicky vyhovující technologii. Základní podmínkou, která musí být splněna je, že skládka musí být důkladně odizolována od horninového podloží. Na rozdíl od spalování, zvláště netříděného odpadu, případné narušení životního prostředí probíhá při skládkování pozvolna a u kvalitních skládek by k němu nemělo docházet vůbec.
2. Recyklace odpadů což je opětne nebo další využívání výrobních, zpracovatelských a spotřebních odpadů, bez ohledu na místo nebo čas jejich vzniku a použití.
3. Kompostování je způsob, kdy se do půdy vrací organická hmota a živiny potřebné pro růst rostlin. Pokud odpady neobsahují nevhodné příměsi jako jsou tuky, detergenty a plasty, anebo ve vyšších koncentracích stopové prvky (sodík, hořčík, mangan, aj.) a případně těžké kovy (chrom, měď, nikl, aj.), je kompostování velmi vhodným způsobem jejich zneškodňování. Technologie kompostování zahrnuje strojní zařízení na drcení, třídění, separaci, vlhčení, míchání, provzdušňování i vyzrávání kompostu.
4. Ke kompostování jsou nevhodné organické látky s choroboplodnými zárodky, s obsahem pesticidů nebo toxických látek. Ty se mohou při použití kompostu v zemědělné výrobě dostat do potravin.
5. Ředění je nejjednodušší způsob zneškodňování odpadů, ale také způsob, který je nejvíce využíván pro ilegální vypouštění kapalných a plyných odpadů do přírody. Původně člověk vypouštěl a ukládal odpady do přírody bez zábran. Využíval tak přirozených samočisticích a asimilačních mechanismů přírody. U některých odpadů je možno využít těchto mechanismů přírody i dnes a vypouštět je do prostředí. Takové odpady, což jsou nejčastěji odpadní vody a plynné produkty spalování, jsou po určitém čase rozředěny a zneškodněny reakcemi s ostatními složkami, nebo rozloženy organismy na běžně se vyskytující látky. To je případ omezeného vypouštění např. vod s obsahem živin. Většinou však odpady nejsou jednoduché a neškodné sloučeniny, a

proto musí být odpad na místo zneškodnění dopraven a před zneškodněním provedena jeho úprava.

6. Spalování je destrukční proces, kterým se snižuje objem odpadu. Většina chemických i biologických látek se rozkládá a přechází na relativně méně škodlivé látky v popelu a ve spalinách. Při spalování dochází k oxidaci tuhých i kapalných odpadů obsahujících uhlík nebo oxid uhličitý, vodu a popel. Další chemické látky v procesu spalování mohou produkovat škodlivé emise, které je třeba odlučovat. Prakticky všechny výstupy ze spalovny (popílek, plynné emise, popel, škvára) je třeba kontrolovat z hlediska možných účinků na životní prostředí. Spalování, má-li být ekologicky nezávadné, vyžaduje účinnou filtraci emisí (plynů i pevných částic). Zachycený popílek ve filtrech obsahuje těžké kovy a musí se ukládat na speciální skládky.
7. Pyrolýza je tepelné zpracování odpadních látek v pyrolýzní peci při teplotě 250 až 1650 °C bez přístupu vzduchu, nebo za omezeného přístupu vzduchu a sníženého atmosférického tlaku. Výsledkem pyrolýzního rozkladu jsou kapalné látky (pyrolýzní olej) a plynné látky (pyrolýzní plyn). Tyto látky lze využít jako druhotnou surovinu (na výrobu benzenu, toluenu, aj.) nebo se velmi účinně bez výrazné produkce emisí spalují v kotlích na výrobu tepla. Většina těžkých kovů přechází do tuhých pyrolýzních zbytků a není obsažena v emisích. Pyrolýza je perspektivní technologie zvláště pro zneškodňování rizikových odpadů.

[19]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST PRÁCE

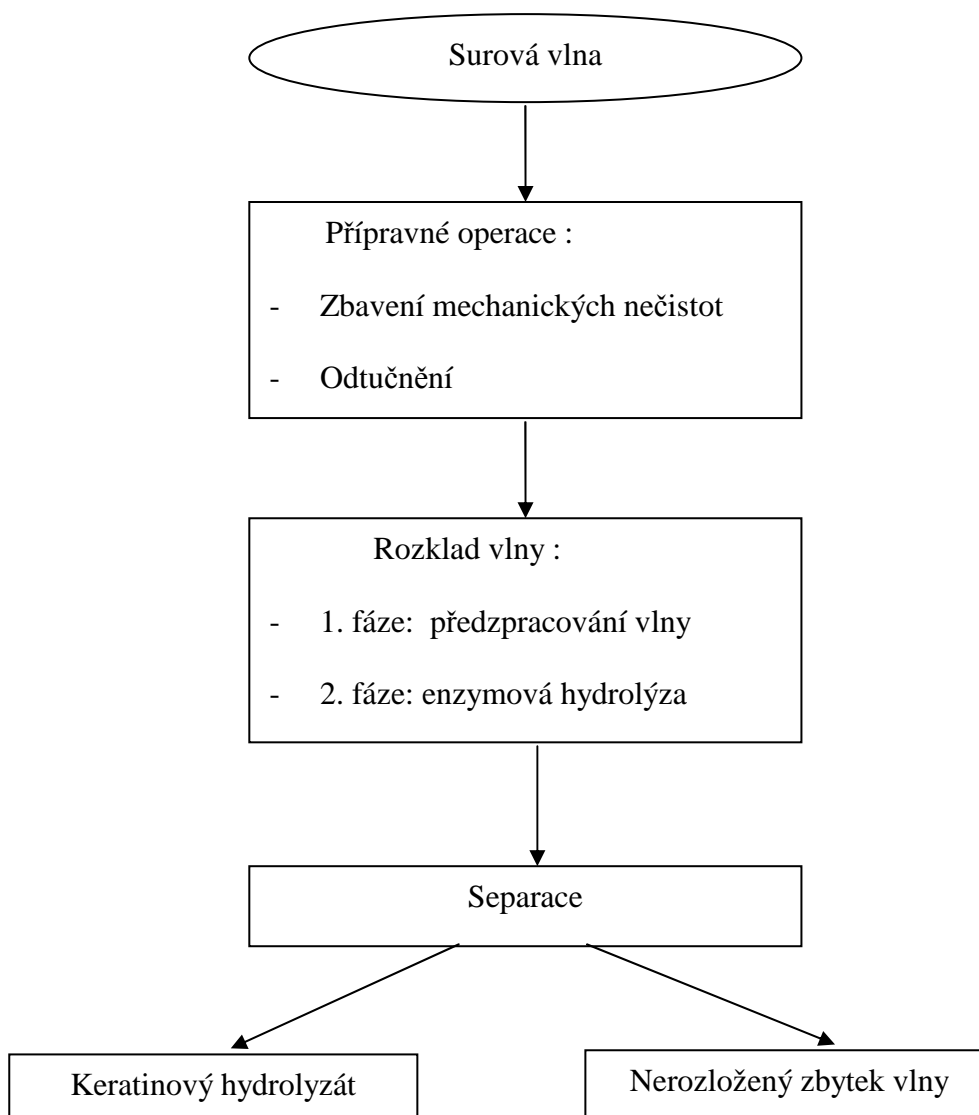
Cílem experimentů bylo posoudit možnosti enzymového rozkladu ovčí vlny a navržení optimálních podmínek rozkladu. Experimenty zaměřené na rozklad ovčí vlny byly provedeny v laboratorních podmínkách. Byla použita metoda 2-fázového rozkladu, kdy v 1. fázi byla vlna předzpracována redukčním činidlem (2-mercaptoethanol) o stanovené koncentraci za definovaných podmínek (teplota, doba, míchání) za účelem narušení struktury. Ve 2. fázi byla vlna podrobena enzymové hydrolýze za definovaných podmínek (pH, teplota, doba, míchání). Jako enzymový preparát byla použita proteináza Savinase Ultra 16L (výrobce NovoNordisk, Dánsko).

Před 2-fázovým rozkladem byla ovčí vlna v přípravných operacích vyčištěna, nastříhána a odtučněna. Úvodní orientační experimenty, byly nazvány experimenty, jejichž cílem bylo odhadnout vliv podmínek na rozklad vlny, zejména teploty, doby, množství enzymu, koncentraci 2-mercaptoethanolu, míchání. Pro statistické vyhodnocení a pro otestování významnosti sledovaných faktorů byly použity naplánované soustavy experimentů 2^3 a 3^2 .

Soustava experimentů 2^3 byla provedena dvouúrovňovými faktorovými pokusy se třemi sledovanými experimentálními proměnnými a se dvěma centrálními experimenty. Experimentální proměnné: doba enzymové hydrolýzy (2-8 hodin), teplota enzymové hydrolýzy (60-70 °C), dávka enzymu (0,5-3 %, vztaženo na hmotnost vlny).

Soustava experimentů 3^2 byla provedena dvouúrovňovými faktorovými pokusy se dvěma sledovanými experimentálními proměnnými. Experimentální proměnné: doba enzymové hydrolýzy (10-14 hodin), dávka enzymu (2-4 %, vztaženo na hmotnost vlny). Teplota 2. fáze hydrolýzy byla konstantní 60 °C.

Po rozkladu byla zbylá nerozložená tuhá fáze a kapalná fáze (keratinového hydrolyzátu) oddělena a gravimetricky se zjistilo procento nerozložené vlny. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny v programu Statgraphics verze 6,0 a byly stanoveny optimální podmínky rozkladu ovčí vlny. Byla provedena diskuze výsledků, grafické a tabelární zpracování.



Obr. 5 Schéma znázorňující operace při zpracování ovčí vlny na hydrolyzát

7.1 Použité chemikálie

0,1 M 2-mercaptoethanol (Sigma – Aldrich)

Má vzorec C_2H_6OS . Je toxický v kontaktu s kůží, pleť jej rychle absorbuje a je škodlivý k vodním organismům. Dlouhodobě nepříznivě působí na životní prostředí. 2-mercaptoethanol je hořlavá kapalina s teplotou vnícení $77\text{ }^{\circ}\text{C}$, je bezbarvý, zapáchá, má molekulovou hmotnost $78,13\text{ g/mol}$, pH $4 - 6,20$. Při jeho rozkladu vznikají oxidy síry, oxid uhličitý a oxid uhelnatý. Musí být zpracováván jako nebezpečný odpad. [20]

Enzym Savinase Ultra 16L (NovoNordisk, Dánsko)

Savinase Ultra je dobře známá proteináza Savinase 16 L s vysoce efektivním stabilizačním činidlem 4-FPBA (4-formyl-fenyl-kyselina boritá). Enzymová stabilita je mimořádně důležitá k zajištění vysoké účinnosti po uskladnění pracích prostředků. V současné době se za tímto účelem přidává do kapalných pracích a mycích prostředků borát. Savinase Ultra obsahuje ve své receptuře stabilizační činidlo 4-FPBA. Díky své vysoké stabilizační účinnosti se potřebuje jen 1/100 normálního množství borátu. Toto množství zajišťuje stabilitu pro Savinase stejně jako pro jiné enzymy, jako jsou amylázy, lipázy a celulózy. 4-FPBA se chová jako reversibilní inhibitor proteinázy tak, že naváže proteinovou molekulu. Po zředění v prací lázni okolní hmota způsobí, že proteináza se uvolní z inhibitoru a enzymová aktivita se aktivuje během praní. Savinase Ultra 16 L obsahuje 2% 4-FPBA. [21]

Pro potřeby experimentů, aby se usnadnilo dávkování enzymu, byl připraven 2% zásobní roztok. Příprava 2,0000 g enzymu se zředí přesně do 100 ml a promíchá se. Roztok enzymu se uchovává v lednici a před dávkováním se nechá vytemperovat na pokojovou teplotu a důkladně promíchá. Dávkování enzymu: 1 ml zásobního roztoku odpovídá 1% enzymu na hmotnost vlny.

1%-ní Na_2CO_3	(Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
Jar	(Procter&Gamble, Rakona s.r.o, ČR)
Enzym Greasex 50L	(Novonordisk, Dánsko)
1%-ní NaOH	(Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
5%-ní NaOH	(Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
10% $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	(Lachema, Brno, ČR)
30%- ní H_2O_2 , p.a.	(Lachema, Brno, ČR)
96%-ní H_2SO_4 , p.a.	(Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
2%-ní H_3BO_3	(Lachema, Brno, ČR)
30%-ní NaOH	(Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
Tashirův indikátor	(UTB, Zlín, ČR)

- 0,1 N H₂SO₄ (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
35%-ní HCl, p.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
65%-ní HNO₃, p.a. (Lachema, Brno, ČR)
99%-ní CCl₃CH₃, p.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)

7.2 Použité přístroje

- Sušárna Binder WTB (Německo)
Laboratorní míchadlo LM 4 I (Česká republika)
Muflová pec Labotherm L9/11/S27 (Nabertherm Německo)
Vaříč ETA 2107, Eta (Česká republika)
Odstředivka EBA 20 (Hettich Německo)
Mineralizátor Hach Digesdahl Digestion (Dange USA)
Topné hnízdo 2000 ml LTHS 2000 (Brněnská Drutěva v.d. Česká republika)
Přístroj Parnas-Wagner (Česká republika)
pH metr GRYF 209 L s elektrodou H 3 113 (Německo)
Analytické váhy KERN 770 (Sartorius, Německo)
Tloušťkoměr TGL 7682-1 (Německo)

7.3 Analytické stanovení ovčí vlny

7.3.1 Stanovení popela

Na analytických vahách s přesností 0,0001 g se zváží přežíhaný a vychladnutý porcelánový kelímek. Na analytických vahách se naváží do kelímku asi 0,5 g vlny. Kelímek se vzorkem se opatrně spálí nad plynovým kahanem, a poté se žihá v muflové peci při 800 °C 2 hodiny a 30 minut.

Po částečném vychladnutí na kovové síťce (cca. 5 minut) se umístí do exikátoru a po vychladnutí na pokojovou teplotu se zváží. Žihání a vážení se opakuje (po 30 minutových intervalech) tak dlouho, dokud nebude mít popel konstantní hmotnost v rozmezí 0,2 mg.

Obsah popela v hmotnostních % :

$$P = \frac{m_p}{n} \cdot 100 \quad (1)$$

kde : P ... obsah popela v %

m_p ... hmotnost popela v g

n ... navážka vzorku vlny v g

7.3.2 Stanovení obsahu tuku

Do patrony se naváží 2 g vzorku vysušené vlny. Patrona se nasadí do destilační aparatury. Do předem zvážené varné baňky s třemi kuličkami nalijeme 150 ml chloroformu. Baňka se umístí do vodní lázně na vařič, nasadí se na ni destilační aparatura s chladičem. Destiluje se 5h za současného protékání chloroformu zpět přes patronu se vzorkem do varné baňky. Po 5h varu se zastaví kohout na destilační aparatuře a nechá se z roztoku oddestilovat převážná část chloroformu. Zbytek se odpaří v digestoři a sušárně při teplotě 80 °C. Po ochlazení v exikátoru se varná baňka s tukem zváží.

Obsah tuku ve vlně v hmotnostních % :

$$T_k = \frac{m_T}{n} \cdot 100 \quad (2)$$

kde : T_k ... obsah tuku v %

m_T ... množství tuku v g

n ... navážka vzorku vlny v g

7.3.3 Stanovení dusíku

Dusíkaté složky se varem s kyselinou sírovou převedou na síran amonný, z něhož se amoniak vytěsňuje destilací s vodní parou, po předchozím zalkalizování vzorku. Celkový dusík byl stanoven Kjedahlovou metodou.

Z alikvotní části zmineralizovaného produktu se vytěsňuje amoniak účinkem NaOH v Parnas-Wagnerově přístroji. Vzorek se naváží do mineralizační baňky, přidá se 15 ml kyseliny sírové dle velikosti navážky vzorku. Zahřívá se při 450 °C až roztok začne pěníť potom se intenzívně vaří do chvíle, kdy vymizí poslední zbytky uhlíku a roztok se vyčeří. Po každých 15 minutách vaření se navíc roztok čeří 10 ml peroxidu vodíku. Roztok se ochladí a opatrně přelije do 25 ml odměrné baňky dle navážky a dolije destilovanou vodou až po značku.

Překontroluje se množství vody ve varné baňce Parnas-Wagnerova přístroje, a po případném doplnění se uvede do varu. Do chladiče se pustí voda, a pod ústí chladiče se umístí baňka s asi 50 ml 2%-ní kyseliny borité. Ústí chladiče musí být ponořeno pod hladinou kyseliny. Do destilační baňky přístroje se odpipetuje 25 ml vzorku a přidá se 20 ml 30%-ního roztoku NaOH, po opláchnutí nálevky a uzavření všech kohoutů se uvolněný amoniak předestiluje s vodní parou. Baňka s vodou se zahřívá a vodní pára přechází do reakční baňky, kde se roztok uvede do varu.

Destilát se chytá v titrační baňce s 50 ml roztoku kyseliny borité. Destilace trvá 15 minut od počátku varu v destilační baňce. Ústí chladiče se před vyjmutím titrační baňky opláchne vodou a do baňky se přidají 3 kapky Tashirova indikátoru. Titruje se 0,1 N roztokem kyseliny sírové do vzniku červenofialového zbarvení.

Obsah dusíku v % hmotnosti :

$$N = \frac{a \cdot c \cdot f \cdot Mn \cdot ft \cdot fz \cdot 0,001}{n} \cdot fs \cdot 100 \quad (3)$$

- kde : N ...obsah dusíku v %
- a ... spotřeba 0,1N kyseliny sírové v ml
- f ... faktor roztoku kyseliny sírové
- fz ... faktor zředění
- n ... navážka vzorku v g
- c ...koncentrace 0,1N kyseliny sírové v mol/l (0,05)
- Mn ...molární hmotnost dusíku (14,01 g/mol)
- ft ...titrační faktor (2)
- 0,0001 ...přepočítací faktor z ml na l
- fs ...přepočítací faktor na sušinu $f = 100 : (100-H)$
- H ...obsah těkavých látek vlny v %

7.3.4 Stanovení síranů

Vzorek vlny se zmineralizuje a sírany se v zmineralizovaném produktu stanoví gravimetricky. Ionty SO_4^{2-} reagují ve slabě okyseleném prostředí s ionty Ba^{2+} za vzniku velmi málo rozpustné sraženiny síranu barnatého:



Do Kjeldahlovy baňky se naváží 1,5 g odtučněné vlny. Přidá se 50 ml kyseliny dusičné. Mineralizujeme 2 hodiny do vymizení posledních zbytků uhlíku a vyčeření roztoku. Přičemž po každých 15 minutách vaření se navíc roztok čeří 5 ml 30%-ního peroxidu vodíku. Po ochlazení se roztok opatrně přelije do 200 ml odměrné baňky a dolije destilovanou vodou až po značku. Vzorek se přefiltruje a již se nedoplňuje vodou. Přelije se do kádinky 600 ml.

Směs se zahřeje k varu a za stálého míchání se k ní přidává horký roztok 10%-ního chloridu barnatého než se vytvoří sraženina. Směs se asi minutu míchá. Ve vodní lázni se vaří 1 hodinu. Ponechá se v klidu 2 hodiny – lépe přes noc. Filtruje se přes filtrační papír KA 4 (Filpap, Česká republika), který se předem vysuší a zváží. Sraženina se promývá horkou destilovanou vodou, dokud se neodtaní veškeré chloridy. Filtrát se zkouší roztokem dusičnanu stříbrného.

Filtr se sraženinou se vysuší při teplotě 105 °C, pak se přenese do předem vyžehnaného a zváženého porcelánového kelímku. Filtr se opatrně zpopelní cca 30 minut, a poté se žihá v muflové peci při teplotě 800 °C 1 hodinu. Ochladí se v exsikátoru a zváží.

Množství síranů ve vzorku se vypočítá podle vzorce :

$$c_m(SO_4^{2-}) = \frac{mBaSO_4 \cdot fp}{n} \cdot 100 \quad (5)$$

kde : $c_m(SO_4^{2-})$... množství síranů v %

$mBaSO_4$... hmotnost BaSO₄ zjištěná vážením v g

fp ... stechiometrický přepočítávací faktor, pro přepočet BaSO₄ na SO₄²⁻, $f = 0,412$

n ... navážka vzorku na stanovení v g

Přepočet na množství síry :

$$c_m(S) = \frac{M(S)}{M(SO_4^{2-})} \cdot c_m(SO_4^{2-}) \quad (6)$$

kde : $c_m(SO_4^{2-})$... množství síranů v %

$c_m(S)$... množství síry v %

$M(SO_4^{2-})$... molární hmotnost síranů 96,056 g/mol

$M(S)$... molární hmotnost síry 32,06 g/mol

7.3.5 Stanovení sušiny

Stanovení sušiny bylo provedeno u odtučněné vlny v sušárně při 103 ± 2 °C do konstantní hmotnosti. Vlna byla vložena do koželužských misek. Výsledek je vypočten aritmetickým průměrem ze 3 stanovení.

$$S = \frac{m_2}{m_1} \cdot 100 \quad (7)$$

Výsledek se uvádí v procentech.

kde : S ... sušina v %

m_1 ... hmotnost vlny před vysušením v g

m_2 ... hmotnost vlny po vysušení v g

Obsah vlhkosti vlny :

$$\% \text{těkavých látek} = 100 - \% \text{sušiny} \quad (8)$$

7.3.6 Výsledky analýzy ovčí vlny

Tab. 1 Výsledky analýzy ovčí vlny

Parametr	Hodnota (%)
Popel (v sušině surové vlny)	9,76
Tuk (v sušině surové vlny)	11,38
Dusík (v sušině odtučněné vlny)	<0,1
Sírany (v sušině odtučněné vlny)	6,12
Síra (v sušině odtučněné vlny)	2,04
Sušina (odtučněné vlny)	89,55

7.4 Příprava vlny ke stanovení

30 g surové vlny se nejdříve mechanicky zbaví viditelných nečistot. Propere se v 1%-ním roztoku Na_2CO_3 (2000 ml) – dobře se promíchá. Poté se propere cca 1000 ml vody s 5 g jaru. Vlna se důkladně propere a na sítu pod tekoucí vodou mírně teplou do úplného odstranění jaru.

Vlna se enzymově odtuční podle následujícího postupu: 30 g vlny se vloží do 2000ml vody (přehřáté na 40 °C), přidá se 1,5 g enzymu Greasex 50L (Novonordisk, Dánsko). Obsahem se zamíchá. 1%-ním roztokem NaOH se upraví pH směsi na hodnotu 9,0. Kádinka se směsí se umístí do termostatu a při 40 °C se odtučňuje po dobu 24 hodin. Během této doby se obsahem občas zamíchá.

Vlna se důkladně propere na sítu pod tekoucí vodou mírně teplou a nechá se vysušit při 103 °C přes noc. Poté se nastříhá na malé kousky o délce do 5 mm. Uzavře se do zábrusové nádoby, kde zůstane připravena k pokusům.

7.5 Plánování a vyhodnocování experimentů

Základem všech chemických výzkumných a vývojových prací jsou jednotlivé experimenty a pozorování, jimiž zjišťujeme vliv jednoho nebo několika faktorů na určitý sledovaný ukazatel (výsledek). Na volbě postupu práce závisí i výsledky, tj. rychlost, přesnost, vydatnost experimentů.

Pro vyhodnocování experimentálně získaných údajů statistickými metodami je nejvýhodnější, když jsou tato data výsledkem určité předem naplánované soustavy experimentů, které říkáme plánovaný pokus nebo schéma.

Před zahájením vlastní experimentální práce je nutné zhodnotit níže uvedené skutečnosti :

[22]

- které faktory a na kolika úrovních chceme sledovat
- jaké máme surovinové, aparaturní a časové možnosti
- jakých a jak přesných výsledků chceme dosáhnout
- jaké závěry z nich budeme chtít vyvozovat

Teprve na základě takto provedené přípravy zvolíme podle okolností takový plánovaný pokus (schéma) a počet jeho opakování, který bude našim požadavkům a experimentálním možnostem nejlépe vyhovovat.

Je třeba poznamenat, že z hlediska množství informací, které mohou poskytnout, dělíme v praxi plánované pokusy na dvě skupiny :

1. Do první skupiny zahrnujeme ty plánované pokusy, které umožňují otestovat významnost jednotlivých faktorů (tj. hlavních efektů) zahrnutých do pokusu, eventuelně odhalit existenci interakcí a stanovit odhad s^2 rozptylu experimentální chyby σ^2 . Do této skupiny patří hlavně faktorové pokusy 2^n a krácené faktorové pokusy 2^n , kterých používáme při určování optimálních podmínek.
2. Do druhé skupiny pak řadíme složitější schémata, z jejichž výsledků můžeme nejen ověřit významnost hlavních efektů a interakcí, ale i vyjádřit vztahy mezi zkoumanými faktory a výsledkem pomocí mnohonásobné lineární a nelineární regrese, což usnadňuje přesnější určení optimálních podmínek. Jsou to hlavně vyšší faktorové pokusy, zejména ortogonální faktorové pokusy 3^n a tzv. složené faktorové pokusy.

Faktorový pokus je tedy soustavou určitého počtu experimentů, uspořádaných příslušným způsobem, který zahrnuje všechny možné kombinace úrovní všech možných kombinací sledovaných faktorů. Zpracovává tedy dané téma mnohem důkladněji než ostatní schémata a poskytuje i více informací. Faktorové pokusy jsou proto nejdůležitějšími a nejužívanějšími schématy v laboratoři i v provozu. A můžeme je provádět buď s jedním nebo s více opakováním.

Jsou-li výsledky na počátku experimentální práce hodně vzdáleny od optima, použijeme tzv. metody největšího spádu, abychom se co nejrychleji dostali do oblasti zahrnující optimum. Když jsme přibližně stanovili optimum, vyšetříme podrobně optimální oblast metodou lokálního zkoumání tak, abychom určili nejvhodnější technologické podmínky pro praktické využití.

Při realizaci diplomové práce bylo použito metody faktorových pokusů. Úvodní experimenty - faktorové pokusy 2^3 otestovaly vlivy jednotlivých proměnných na průběh reakce. Index 3 značí počet experimentálních proměnných a číslice 2 značí počet úrovní experimentů (minimum a maximum).

Pro sledování detailního vlivu byly použity pokusy 3^2 , kde horní index 2 značí počet proměnných a číslo 3 počet úrovní experimentů (minimum, střed, maximum).

Na vyhodnocení získaných výsledků byl použit počítačový program STATGRAPHICS verze 6,0. [23]

7.6 Pilotní experimenty

Modelový postup práce: Předzpracování vlny: do Erlenmayerovy baňky se naváží na analytických vahách cca 2g odtučněné vlny. Přidá se 100 ml předehřátého (55-60 °C) roztoku 2-merkptoethanolu. Zazátkuje se a dobře se promíchá. Je třeba dbát na to, aby veškerá vlna byla smáčena merkptoethanolem a nebyly zbytky na stěnách baňky.

Erlenmayerova baňka se vloží do předem vyhřátého (50 ± 1 °C) inkubátoru sušárny bez cirkulace vzduchu. Nechá se 2 h inkubovat při teplotě 50 ± 1 °C (s periodicitou 15 minut je vhodné obsahem baňky krátce promíchat). Roztok merkptoethanolu se dekantuje – opatrným slitím do jiné nádoby s užitím tkaniny. Supernatant se vylije. Vlna se důkladně promyje vodou (celkem cca 250 – 300 ml vody). Do každé baňky se nalije voda, dobře se promíchá a vylije, a toto se 2x opakuje.

Enzymová hydrolýza: k vlně v Erlenmayerově baňce přidáme 150 ml vody a umístíme na předem vyhřátou vodní lázeň o stanovené teplotě. Směs se 5 minut míchá hřídelovým míchadlem, a poté se upraví pH směsi na 8,8 – 9,2 přidávkem 5%-ního roztoku NaOH.

Pipetou se přidá zásobní roztok enzymu. Reakční směs se míchá za předepsané teploty po stanovenou dobu. Zbývá nerozložená tuhá fáze a kapalné fáze (keratinový hydrolyzát) se oddělí filtračním papírem KA-1 (Filpap, Česká republika) přes Büchnerovu nálevku. Nejdříve za atmosférického tlaku, teprve ke konci filtrace se filtruje za mírného podtlaku. Keratinový hydrolyzát se kvantitativně převede odměrné baňky a zjistí se jeho hmotnost.

Filtrační papír s nerozloženým zbytkem se promyje cca 100 ml vody, a poté se vysuší do konstantní hmotnosti při 103 °C v sušárně bez cirkulace vzduchu a po ochlazení v exsikátoru se zváží a se zjistí se tak množství nerozložené vlny.

7.6.1 Pilotní experiment č.1

První sada orientačních pokusů byla provedena dle modelového postupu práce. V první fázi byl použit 0,1 M roztok merkaptoethanolu.

Tab. 2 Výsledky pilotního experimentu č. 1

Navážka sušiny vlny (g)	Doba 2.fáze hydrolyzy (h)	Teplota 2.fáze hydrolyzy (°C)	Enzym na sušinu vlny (%)	Nerolozložená vlna (g)	Nerolozložená vlna (%)
1,8984	3	40	1	1,8259	96,18
1,9012	6	60	3	1,6815	88,44

Získané množství nerolozložené vlny bylo velmi nízké, proto byla zvýšena koncentrace 2-merkaptoethanolu u dalšího experimentu na 0,2 M., prodloužena doba 2. fáze hydrolyzy na 6 hodin a teplota 2. fáze hydrolyzy byla stanovena 60 °C.

7.6.2 Pilotní experiment č. 2

V druhé sadě orientačních pokusů se pracovalo dle modelového postupu, byl však použit roztok merkaptoethanolu o koncentraci 0,2 M. Doba 2. fáze enzymové hydrolyzy byla 6 hodin, teplota 2. fáze hydrolyzy 60 °C a zvýšilo se množství enzymu na 4 a 8%.

Tab. 3 Výsledky pilotního experimentu č. 2

Navážka sušiny vlny (g)	Enzym na sušinu vlny (%)	Nerolozložená vlna (g)	Nerolozložená vlna (%)	Sušina hydrolyzátu (g)	Procento sušiny z hydrolyzátu (%)	Bilanční chyba sušiny (%)
1,7863	4	1,6158	90,46	0,0642	0,0824	5,95
1,8005	8	1,5400	85,53	0,1184	0,1601	7,89

Poněvadž získané množství nerolozložené vlny, bylo stále velmi nízké, pro další experiment, se zvolila nižší koncentrace 2-merkaptoethanolu, přičemž nebyla provedena

jeho dekantace po předzpracování vlny. Doba 2. fáze enzymové hydrolýzy byla zvolena 3 hodiny, teplota 2. fáze hydrolýzy 40 °C a množství enzymu bylo ponecháno jako u pilotního experimentu č.2 4 a 8%.

7.6.3 Pilotní experiment č. 3

Při třetí sadě orientačních pokusů bylo použito 0,1 M mercaptoethanolu přičemž roztok 2-mercaptoethanolu nebyl dekatován, a po úpravě pH na hodnotu 8,8 - 9,2 se přidává enzym. Směs se inkubovala v sušárně při 60 °C v první fázi, druhá fáze probíhá při 40 °C. Doba 2. fáze hydrolýzy byla 3 hodiny.

Tab. 4 Výsledky pilotního experimentu č. 3

Navážka sušiny vlny (g)	Enzym na sušinu vlny (%)	Nerolozložená vlna (g)	Nerolozložená vlna (%)	Sušina hydrolyzátu (g)	Procento sušiny z hydrolyzátu (%)	Bilanční chyba sušiny (%)
1,7917	4	1,6822	93,88	0,0415	0,0553	3,80
1,7983	8	1,6507	91,79	0,0598	0,0697	4,88

Procento nerolozložené vlny bylo stále nízké, proto bylo rozhodnuto prodloužit inkubaci vlny v 0,1M 2-mercaptoethanolu (1. fázi) a zvýšit přídavek enzymu v 2. fázi hydrolýzy.

7.6.4 Pilotní experiment č. 4

V první fázi hydrolýzy byla inkubace ovčí vlny v 0,1M 2-mercaptoethanolu prodloužena z 2 hodin na 41 hodin a 30 minut při teplotě 60 °C. Nedekatuje se, po úpravě pH na 8,8 - 9,2 se přidá enzym a provádí se inkubace při 60 °C. Druhá fáze hydrolýzy trvá 6 hodin.

Tab. 5 Výsledky pilotního experimentu č. 4

Navážka sušiny vlny (g)	Enzymu na sušinu vlny (%)	Nerolozžená vlna (g)	Nerolozžená vlna (%)	Sušina hydrolyzátu (g)	Procento sušiny z hydrolyzátu (%)	Bilanční chyba sušiny (%)
1,8043	4	0,4387	24,31	0,9418	1,3376	23,49
1,7918	10	0,2448	13,66	0,9414	1,4666	33,80

Při tomto experimentu byla již vlna dobře rozložena. Pro vyzkoušení vlivu teploty 2. fáze hydrolyzy na množství nerolozžené vlny se zkrátí doba inkubace a provede se hydrolyza při použití nižšího obsahu enzymu.

7.6.5 Pilotní experiment č. 5

V poslední sadě orientačních pokusů se pracuje s 0,1 M mercaptoethanolem, 1.fáze hydrolyzy trvá 24 hodin při 60 °C, nedekatuje se, upraví se pH na 8,8 - 9,2, přidá se 1 % enzymu na navážku vlny a následuje inkubace při 60 °C.

Tab. 6 Výsledky pilotního experimentu č. 5

Navážka sušiny vlny (g)	Doba působení 2. fáze hydrolyzy (h)	Nerolozžená vlna (g)	Nerolozžená vlna (%)	Sušina hydrolyzátu (g)	Procento sušiny z hydrolyzátu (%)	Bilanční chyba sušiny (%)
1,8055	1	1,0510	58,21	0,5713	0,8397	10,15
1,7954	6	0,3784	21,08	0,8882	1,3555	29,45

Při tomto pilotním experimentu, bylo zjištěno, že doba 2. fáze má vliv na množství nerolozžené vlny. Z předchozích pilotních experimentů dále vyplývá, že důležitými faktory při hydrolyze je i teplota 2. fáze hydrolyzy a množství přidaného enzymu na sušinu vlny. Proto při pokusech pro statistické vyhodnocení použijeme dobu 2. fáze hydrolyzy

2-8 hodin, teplotu 2.fáze hydrolýzy 50-70 °C a množství použitého enzymu na sušinu vlny zvolíme 0,5-3%.

7.7 Soustava experimentů 2^3

Experimenty budou provedeny dvouúrovňovými faktorovými pokusy se třemi sledovanými experimentálními proměnnými a dvěma centrálními experimenty:

- a) doba enzymové hydrolýzy: 2 – 8 hodin
- b) teplota enzymové hydrolýzy: 50 – 70 °C
- c) dávka enzymu: 0,5 - 3 % (w/w vlny)

tj. $2^3 + 2 = 8 + 2 = 10$ experimentů

1. fáze (předzpracování vlny): do Erlenmayerovy baňky se naváží na analytických vahách cca 2g odtučněné vlny. Přidá se 100 ml předehřátého (55-60 °C) 0,1 M roztoku 2-merkapt ethanolu. Zazátkuje se a dobře se promíchá. Je třeba dbát na to, aby veškerá vlna byla smáčena merkapt ethanolom a nebyly zbytky na stěnách baňky.

Erlenmayerova baňka se vloží do předem vyhřátého (50 ± 1 °C) inkubátoru a inkubuje se 24 hodin při teplotě 50 ± 1 °C (s periodicitou 15 minut je vhodné obsahem baňky krátce promíchat).

2. fáze (enzymová hydrolýza): pH směsi se upraví na 8,8 – 9,2 přidávkem 5%-ního roztoku NaOH. Pipetou se přidá stanovené množství zásobního roztoku enzymu. Směs se inkubuje po stanovenou dobu hydrolýzy při stanovené teplotě. Přičemž se směs po 15 minutách míchá po celou dobu hydrolýzy.

Zbylá nerozložená tuhá fáze a kapalná fáze - keratinového hydrolyzátu se oddělí filtračním papírem KA-1 (Filpap, Česká republika) přes Büchnerovu nálevku, nejdříve za atmosférického tlaku, teprve ke konci filtrace se filtruje za mírného podtlaku. Keratinový hydrolyzáat se vlije do suché a předem zvažované odměrné baňky a zjistí se jeho hmotnost; uchová se k dalším pokusům.

Filtrační papír s nerozloženým zbytkem se promyje cca 100 ml vody, a poté se vysuší do konstantní hmotnosti - na předem zvážené a suché koželužské misce při 103 °C v sušárně bez cirkulace vzduchu a po ochlazení v exsikátoru se zváží, a tak se zjistí se tak množství nerozložené vlny.

Zjištěné výsledky (% nerozložené vlny) se statisticky vyhodnotí – program STATGRAPHICS 6.0 a zjistí se optimální podmínky hydrolyzy. Provede se diskuse výsledků, grafické a tabelární zpracování.

Tab. 7 Výsledky enzymové hydrolyzy soustavou experimentů 2³ – Nerozložená vlna

Navážka sušiny vlny (g)	Doba 2.fáze hydrolyzy (h)	Teplota 2.fáze hydrolyzy (°C)	Enzym na sušinu vlny (%)	Nerozložená vlna (g)	Nerozložená vlna (%)
1,7953	5	60	1,75	0,3547	19,76
1,8030	5	60	1,75	0,3480	19,30
1,8040	2	50	0,5	1,5178	84,13
1,8075	8	50	0,5	1,0259	56,76
1,8010	2	50	3	1,2568	69,78
1,8063	8	50	3	0,5380	29,78
1,8075	2	70	0,5	1,4353	79,41
1,8064	8	70	0,5	0,5314	29,42
1,7966	2	70	3	1,0927	60,82
1,8035	8	70	3	0,3906	21,66

Tab. 8 Výsledky enzymové hydrolýzy soustavou experimentů 2³ – Hydrolyzáty

Navážka sušiny vlny (g)	Doba 2.fáze hydrolýzy (h)	Teplota 2.fáze hydrolýzy (°C)	Enzym na sušinu vlny (%)	Sušina hydrolyzátu (g)	Procento sušiny z hydrolyzátu (%)	Bilanční chyba sušiny (%)
1,7953	5	60	1,75	1,0156	1,52	23,67
1,8030	5	60	1,75	0,8621	1,30	32,88
1,8040	2	50	0,5	0,2187	0,31	3,79
1,8075	8	50	0,5	0,5797	0,83	11,17
1,8010	2	50	3	0,4345	0,66	6,09
1,8063	8	50	3	0,7809	1,19	26,98
1,8075	2	70	0,5	0,2729	0,55	5,43
1,8064	8	70	0,5	1,1611	1,72	6,31
1,7966	2	70	3	0,6046	0,91	5,53
1,8035	8	70	3	0,8258	1,24	32,55

7.8 Soustava experimentů 3²

Experimenty budou provedeny dvouúrovňovými faktorovými pokusy se dvěma sledovanými experimentálními proměnnými:

- a) doba enzymové hydrolýzy: 10 – 14 hodin
- b) dávka enzymu: 2 - 4 % (w/w vlny)

tj. 3² = 9 experimentů

1. fáze (předzpracování vlny): do Erlenmayerovy baňky se naváží na analytických vahách cca 2g odtučněné vlny. Přidá se 100 ml předeřátého (55-60 °C) 0,1 M roztoku 2-merkptoethanolu. Zazátkuje se a dobře se promíchá. Je třeba dbát na to, aby veškerá vlna byla smáčena merkptoethanolem a nebyly zbytky na stěnách baňky.

Erlenmayerova baňka se vloží do předem vyhřátého (50 ± 1 °C) inkubátoru, inkubuje se 24 hodin při teplotě 50 ± 1 °C (s periodicitou 15 minut je vhodné obsahem baňky krátce promíchat).

2. fáze (enzymová hydrolýza): pH směsi se upraví na 8,8 – 9,2 přidávkem 5%-ního roztoku NaOH. Pipetou se přidá stanovené množství zásobního roztoku enzymu. Směs se inkubuje po stanovenou dobu hydrolýzy při teplotě 60 °C. Přičemž se směs po 15 minutách míchá po celou dobu hydrolýzy.

Zbylá nerozložená tuhá fáze a kapalné fáze (keratinový hydrolyzát) se oddělí filtračním papírem KA-1 (Filpap, Česká republika) přes Büchnerovu nálevku, nejdříve za atmosférického tlaku, teprve ke konci filtrace se filtruje mírným podtlakem. Keratinový hydrolyzát se vlije do suché a předem zvážené odměrné baňky a zjistí se jeho hmotnost; uchová se k dalším pokusům.

Filtrační papír s nerozloženým zbytkem se promyje cca 100 ml vody, a poté se vysuší do konstantní hmotnosti - na předem zvážené a suché koželužské misce při 103 °C v sušárně bez cirkulace vzduchu, a po ochlazení v exsikátoru se zváží, a tak se zjistí se tak množství nerozložené vlny.

Zjištěné výsledky (% nerozložené vlny) se statisticky vyhodnotí – program STATGRAPHICS 6.0 a zjistí se optimální podmínky hydrolýzy. Provede se diskuse výsledků, grafické a tabelární zpracování.

Tab. 9 Výsledky enzymové hydrolýzy soustavou experimentů 3² – Nerozložená vlna

Navážka sušiny vlny (g)	Doba 2.fáze hydrolýzy (h)	Enzymu na sušinu vlny (%)	Nerozložená vlna (g)	Nerozložená vlna (%)
2,0096	10	2	0,4829	24,03
2,0022	10	3	0,4428	22,11
2,0142	10	4	0,3812	18,93
2,0184	12	2	0,4502	20,61
2,0131	12	3	0,3454	17,16
2,0125	12	4	0,2514	12,49
2,0144	14	2	0,3678	18,26
2,0061	14	3	0,3235	16,13
2,0159	14	4	0,2365	11,73

Tab. 10 Výsledky enzymové hydrolyzy soustavou experimentů 3² – Hydrolyzáty

Navážka sušiny vlny (g)	Doba 2.fáze hydrolyzy (h)	Enzym na sušinu vlny (%)	Sušina hydrolyzátu (g)	Procento sušiny z hydrolyzátu (%)	Bilanční chyba sušiny (%)
2,0096	10	2	1,3700	2,23	7,80
2,0022	10	3	1,4093	2,13	7,50
2,0142	10	4	1,5030	2,31	6,45
2,1840	12	2	1,4561	2,45	5,56
2,0131	12	3	1,5087	2,28	7,90
2,0125	12	4	1,7039	2,52	2,84
2,0144	14	2	1,6020	2,48	2,21
2,0061	14	3	1,5253	2,20	7,84
2,0159	14	4	1,7292	2,65	2,49

8 DISKUSE K NAMĚŘENÝM HODNOTÁM

8.1 Statistické vyhodnocení faktorových pokusů 2³

Tab. 11 Výsledky faktorových pokusů 2³

Sledované parametry	Součet čtverců	Regresní koeficienty
Konstanta	-	116,414
A : Doba	3062,31380	-0,971667
B : Teplota	301,4245	-0,42265
C : Enzym	572,7280	-15,456
AB	59,9605	-0,09075
AC	0,40500	0,06
BC	28,5005	0,1498
Celková chyba	1941,31501	-
Celková hodnota	5965,9516	-

Faktor korelace $R^2 = 0,674592$

$$y = k + A \cdot b_1 + B \cdot b_2 + C \cdot b_3 + AB \cdot b_{12} + AC \cdot b_{13} + BC \cdot b_{23} \quad (9)$$

$$y = 116,414 - 0,971667A - 0,42265B - 15,456C - 0,09075AB - 0,06AC + 0,1498BC$$

kde: k ... konstanta

b₁ ... A: doba

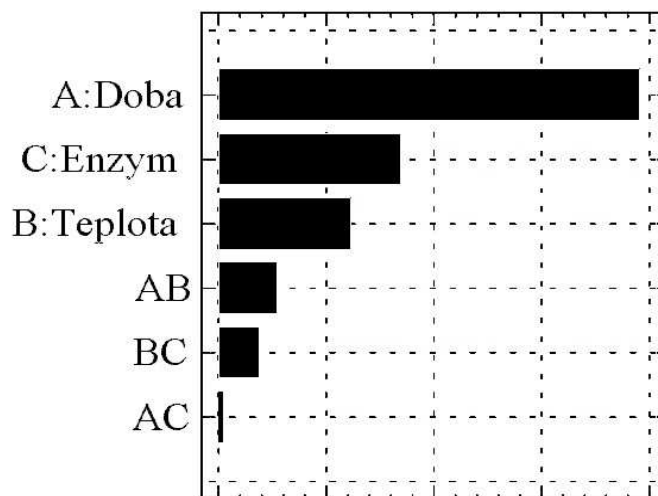
b₂ ... B: teplota

b₃ ... C: enzym

b₁₂ ... AB

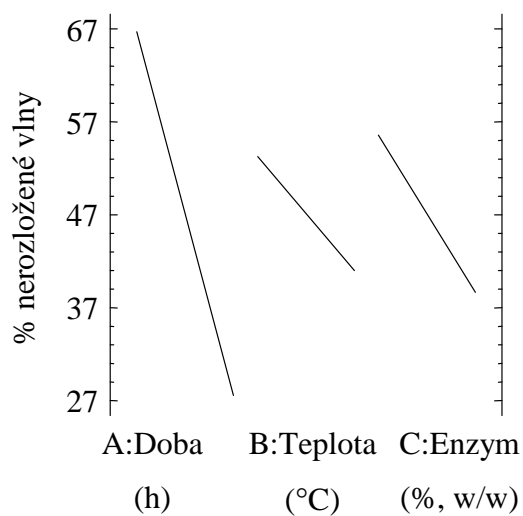
b₁₃ ... AC

b₂₃ ... BC

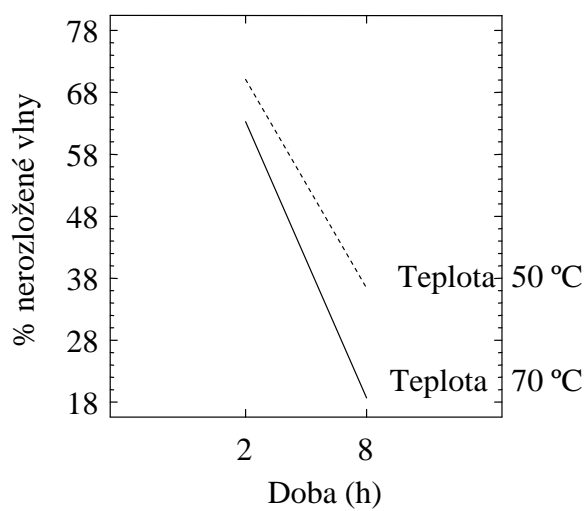


Obr. 6 Graf znázorňující statistickou významnost vlivu sledovaných faktorů na procento nerozložené vlny

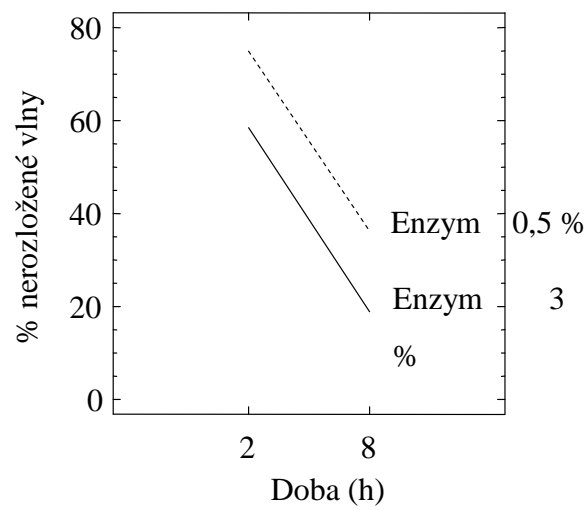
Dle grafu č. 6 ze 3 zkoumaných proměnných působících při enzymové hydrolýze měla nejvyšší významnost doba 2. fáze hydrolýzy. Statisticky nejméně významný faktor je teplota 2. fáze hydrolýzy. Proto bylo rozhodnuto při následujících faktorových pokusech 3^2 tento faktor eliminovat a sledovat vliv 2. fáze hydrolýzy a množství přidaného enzymu na navážku sušiny vlny na procento nerozložené vlny. Teplota zůstane konstantní s hodnotou $60\text{ }^{\circ}\text{C}$.



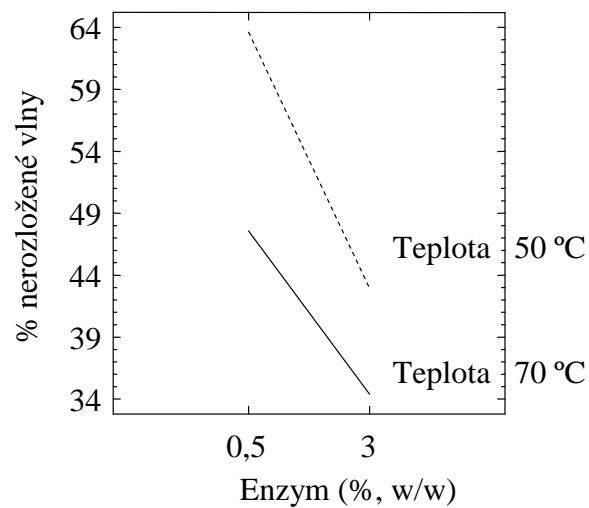
Obr. 7 Graf sledovaných faktorů působících na procento nerozložené vlny



Obr. 8 Graf účinků doby a teploty 2. fáze hydrolyzy na procento nerozložené vlny



Obr. 9 Graf účinků doby 2. fáze hydrolýzy množství enzymu na procento nerozložené vlny



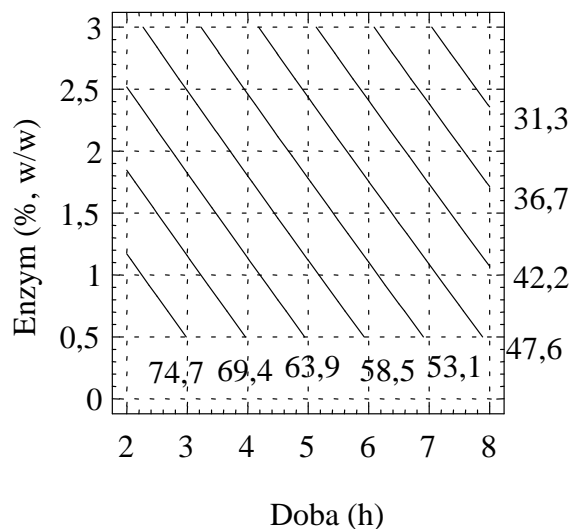
Obr. 10 Graf účinků teploty 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na procento nerozložené vlny

Graf č. 7 znázorňuje působení sledovaných faktorů na procento nerozložené vlny. Je z něho patrné, že největší vliv na enzymový rozklad vlny má doba 2. fáze hydrolýzy. Statisticky nejméně významný je vliv teploty 2. fáze hydrolýzy.

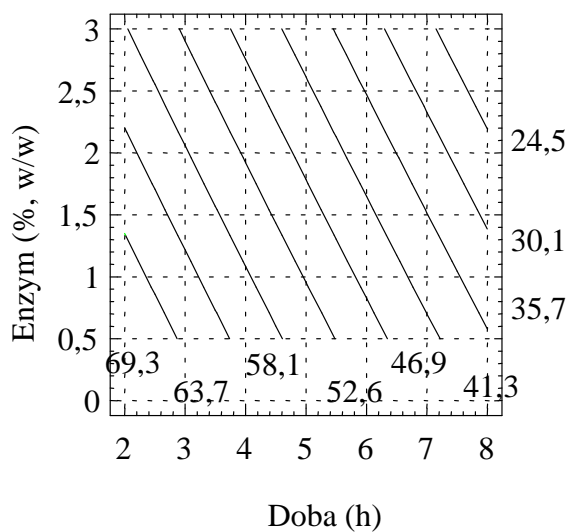
Graf č. 8 značí, že ze srovnání doby 2. fáze hydrolýzy a teploty 2. fáze hydrolýzy je patrné, že rozklad probíhá lépe při delší době hydrolýzy tedy při 8 než při 2 hodinách a zároveň lépe při teplotě 70 než při 50 °C.

Graf č. 9 vyjadřující srovnání působení doby 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na sušinu vlny na procento nerozložené vlny ukazuje výhodnější použití delší doby hydrolýzy 8 hodin než 2 hodiny, a také vhodnost vyššího přídávku enzymu 3% na sušinu vlny než 0,5%.

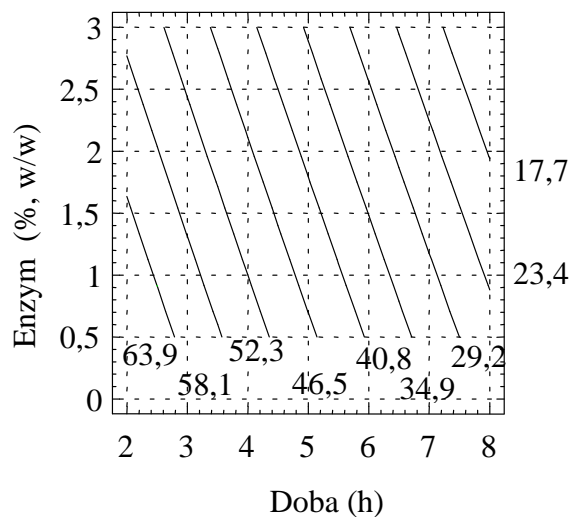
V grafu č. 10 závislost množství enzymu na sušinu vlny a teploty 2. fáze hydrolýzy značí, že na rozklad vlny má pozitivní vliv vyšší dávka enzymu 3 než 0,5% na sušinu vlny. Teplota 2. fáze hydrolýzy je vhodná vyšší tj. 70 než 50 °C.



Obr. 11 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu při teplotě 2. fáze hydrolýzy 50 °C



Obr. 12 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu při teplotě 2. fáze hydrolýzy 60 °C



Obr. 13 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu při teplotě 2. fáze hydrolýzy 70 °C

Grafy závislosti doby 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na sušinu vlny při teplotách 2. fáze hydrolýzy 50 °C, 60 °C a 70 °C mají odlišné hodnoty množství nerozložené vlny, ale shodně ukazují, že se zvyšující dobou 2. fáze hydrolýzy a zároveň zvyšujícím množstvím enzymu na sušinu vlny se snižuje množství nerozložené vlny.

Graf č. 11 vychází z hodnot získaných při teplotě 2. fáze hydrolýzy 50 °C. Nejvyššího množství nerozložené vlny bylo získáno při 2 hodinách 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na sušinu vlny 0,5%. Získalo se 84,13% nerozložené vlny. Nejnižší množství nerozložené vlny bylo stanoveno při 8 hodinách 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na sušinu vlny 3%, což činí 29,78% nerozložené vlny.

Graf č. 12 je zhotoven pro hodnotu teploty 2. fáze hydrolýzy 60 °C. Pro statistiku bylo použito 2 stanovení při shodné době 2. fáze hydrolýzy 5 hodin a množství enzymu na sušinu vlny 1,75%. Program Statgraphic vyhodnotil, jak by vypadalo množství nerozložené vlny pro množství enzymu 0,5-3% na sušinu vlny a dobu 2. fáze hydrolýzy 2-8 hodin.

V grafu č. 13 jsou hodnoty pro teplotu 2. fáze hydrolýzy 70 °C. Největšího množství nerozložené vlny se získalo při množství enzymu na sušinu vlny 0,5% a době 2. fáze hydrolýzy 2 hodin, což je 79,41%. Nejmenší množství nerozložené vlny bylo stanoveno u množství enzymu na sušinu vlny 3% a době 2. fáze hydrolýzy 8 hodin.

8.2 Statistické vyhodnocení faktorových pokusů 3²

Tab. 12 Výsledky faktorových pokusů 3²

Sledované parametry	Součet čtverců	Regresní koeficienty
Konstanta	-	96,5661
A : Doba	59,8504167	-11,7129
C : Enzym	65,0104167	3,60333
AC	0,5112250	-0,17875
AA	6,3249389	0,444583
CC	1,2534722	-0,791667
Celková chyba	1,2534722	-
Celková hodnota	134,839489	-

Faktor korelace $R^2 = 0,985991$

$$y = k + aA + cC + acAC + a^2A^2 + c^2C^2 \quad (10)$$

$$y = 96,5661 - 11,7129A + 3,60333C - 0,17875AC + 0,444583A^2 - 0,791667C^2$$

kde: k ... konstanta

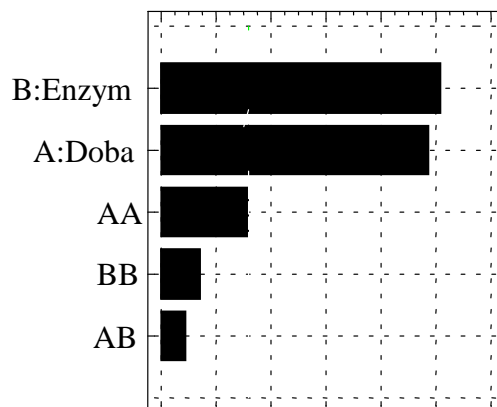
a ... A: doba

c ... C: enzym

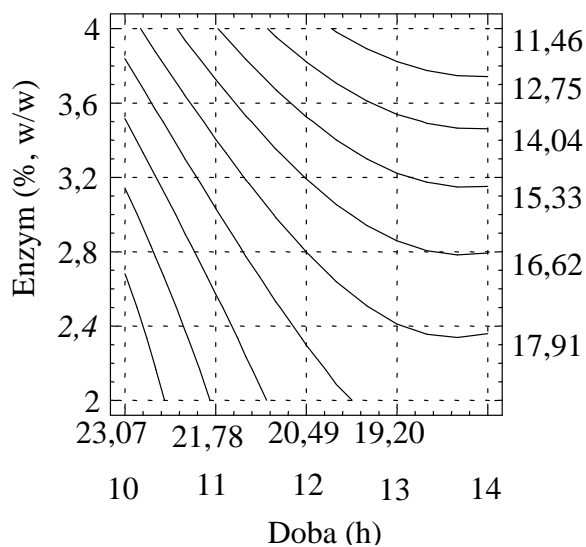
ac ... AC

a² ... AA

c² ... CC



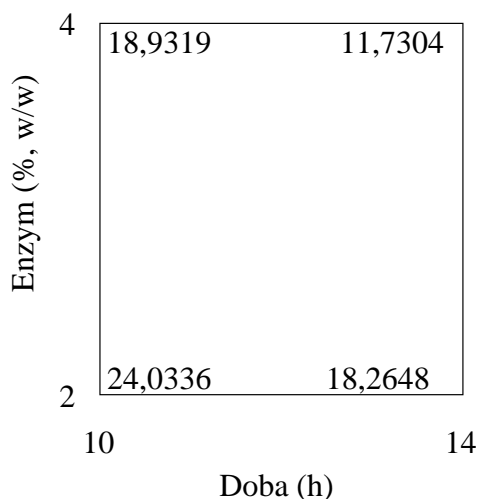
Obr. 14 Graf znázorňující statistickou významnost vlivu stanovovaných faktorů na procento nerozložené vlny



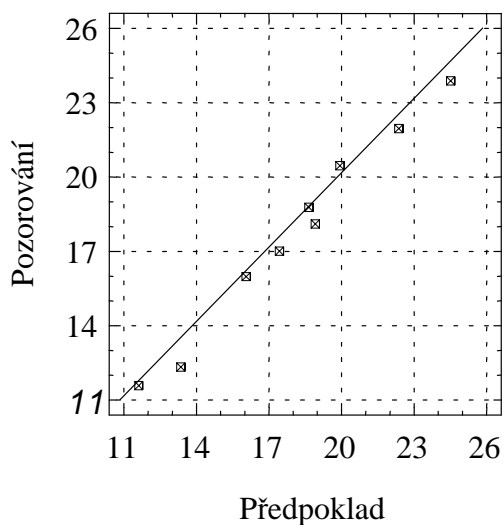
Obr. 15 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu na sušinu vlny

Graf č. 14 znázorňuje statistickou významnost stanovovaných faktorů na množství nerozložené vlny. U faktorových pokusů 3^2 bylo použito konstantní teploty 2. fáze hydrolyzy, a to 60 °C. Statisticky významnější ze dvou sledovaných faktorů (množství enzymu na sušinu vlny a doba 2. fáze hydrolyzy) je množství enzymu na sušinu vlny. Z grafu vyplývá, že obě hodnoty mají na průběh enzymové hydrolyzy nezanedbatelný vliv.

Závislost doby 2. fáze hydrolyzy a množství enzymu na sušinu vlny (graf č. 15) ukazuje, že se zvyšující dobou se snižuje množství nerozložené vlny a se zvyšujícím množstvím enzymu na sušinu vlny klesá množství nerozložené vlny. Nejnižšího množství nerozložené vlny bylo dosaženo při 14 hodinách 2. fáze hydrolyzy a množství enzymu na sušinu vlny 4%. Množství nerozložené vlny bylo 11,73. Nejvyšší množství nerozložené vlny zůstalo při době 2. fáze hydrolyzy 10 hodin a množství enzymu na sušinu vlny 2%, což činí 24,03% nerozložené vlny.



Obr. 16 Čtvercový graf závislosti doby 2. fáze hydrolyzy a množství enzymu na sušinu vlny na množství nerozložené vlny



Obr. 17 Graf závislosti hodnot předpokládaných a hodnot vzniklých pozorováním u množství nerozložení vlny

Graf č. 16 je grafem závislosti doby 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na sušinu vlny značí, že při 10 hodinách a 4 procentech enzymu zůstalo nerozloženo 18,93 % vlny, při 14 h a 4% enzymu 11,73% vlny, při 14 h a 2% enzymu 18,26% vlny a při 10 h a 2% enzymu zbylo 24,03% nerozložené vlny.

Graf č. 17 uvádí na obou osách množství nerozložení vlny, a zároveň ukazuje na ose x předpokládané hodnoty a na ose y hodnoty vzniklé pozorováním.

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo literární shrnutí způsobů nakládání s keratinovými odpady. Dále byly popsány vlastnosti keratinového materiálu (ovčí vlna, srst, peří, rohy, kopyta a paznehty). Jsou zde také zmíněny možnosti aplikace degradovaných produktů keratinu (keratinové hydrolyzáty) a kolagenní hydrolyzát.

V experimentální části byly provedeny tzv. pilotní pokusy, které sloužily k optimalizaci postupu, který byl aplikován u 2. fázových experimentů.

U faktorových pokusů 2^3 byl sledován a statisticky hodnocen vliv 3 proměnných veličin, kterými byly: doba a teplota 2. fáze hydrolyzy a množství enzymu na sušinu vlny. Statisticky bylo pomocí programu Statgraphics verze 6.0 vyhodnoceno, že teplota, je nejméně významný faktor pro hydrolyzu. Byla stanovena teplota, při které enzym nejlépe působí a ta byla použita u další série experimentů.

Faktorové pokusy 3^2 byly proto provedeny při teplotě 60 °C a sledovaly se proměnné doba 2. fáze hydrolyzy a množství enzymu na sušinu vlny. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při 14 hodinách působení 2. fáze hydrolyzy a při použití 4% enzymu na sušinu vlny. O těchto podmínkách lze říci, že byly pro enzymový rozklad vlny optimální. Z navážky 2,0159g sušiny vlny bylo získáno 0,2365g nerozložené vlny, což je 11,73%. Dále bylo získáno 1,7292g keratinového hydrolyzátu.

Z keratinového hydrolyzátu ze 4 stanovení byl zhotoven zkušební vzorek filmu o hmotnosti 5,7 g. Film byl připraven zahuštěním hydrolyzátu a jeho následným vysušením 32 hodin při teplotě 103 °C. Získaný film byl podchlazen 10 minut při teplotě -18 °C a sloupnut. Vzhledem k tomu, že výsledný film byl velmi křehký, bylo by třeba pro jeho využití upravit jeho vlastnosti. Keratinový film byl hnědooranžové barvy a obsahoval bublinky. Jeho průměrná tloušťka byla 1,08 mm.

Získaný keratinový hydrolyzát by mohl najít uplatnění v obalové technice (domácí kosmetika, enkapsulace aktivních substancí v zemědělství atd.) Proto předmětem navazujícího výzkumu bude příprava a testování vlastností keratinových filmů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VOET, D., VOETOVÁ, J. G. *Biochemie*, 1. vydání, Praha, Victoria Publishing, 1995, 1325 s. ISBN 80-85605-44-9
- [2] FAHNESTOCK, S. R., STEINBÜCHEL, A. *Biopolymers: Polyamides and Complex Proteinaceous materials II*, Weinheim, Wiley – VCH, 2003, ISBN 3-527-30223-9
- [3] BLAŽEJ, A. a kol. *Technologie kůže a kožešin*, 1. vydání, Praha, SNTL, 1984, 456s.
- [4] MLÁDEK, M. a kol. *Zpracování odpadů kožedělného průmyslu*, 1. vydání, Praha, SNTL, 1971, 324 s.
- [5] *Co byste měli vědět o vlasech* [online]. [cit. 2006-04-02]. Dostupný z WWW: <http://www.multiweb.cz/kadernictvi-erika/strana25.htm>
- [6] *Ovčí vlna* [online]. [cit. 2006-04-12]. Dostupný z WWW: <http://www.obleceni.cz/clanky/ovci-vlna.php>
- [7] KURAŠ, M. *Odpady a jejich využití a zneškodňování*, 1. vydání, Praha, Český ekologický ústav, 1994, ISBN 80-85087-32-4
- [8] HLAVATÁ, M. *Odpadové hospodářství*, 1. vydání, Ostrava, VŠB – Technická universita Ostrava, 2004, 174 s. ISBN 80-248-0737-8
- [9] *Kompost* [online]. [cit. 2006-04-05]. Dostupný z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kompost>
- [10] SÁHA, P: *Recyklace a likvidace odpadů*, Zlín, FT UTB, 2002, (Skripta – internetová podoba)
- [11] ONIFADE, A.A., AL-SANE, N.A., AL-MUSALLAM, A.A., AL-ZARBAN, S. *A review: Potentials for biotechnological applications of keratin – Degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources*, Department of Biological Sciences, Division of Botany and Microbiology, Faculty of Science, Kuwait University, Safat, Kuwait, 1998, [online]. [cit. 2006-05-12]. Dostupný z WWW: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method

- [12] JELÍNKOVÁ, D., DEYL, Z., MIKŠÍK, I., TAGLIARO, F. *Capillary electrophoresis of hair proteins modified by alcohol intake in laboratory rats*, Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic, 2000. [online]. [cit. 2006-04-05]. Dostupný z WWW:
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MImg&_imagekey
- [13] KELLYB, G. C., CHANGC, V. S., AGBOGBOA, F. K., HOLTZAPPLEA, M. T. *Lime treatment of keratinous materials for the generation of highly digestible animal feed: 1. Chicken feathers*, Department of Chemical Engineering, Texas A&M University, USA, 2005. [online]. [cit. 2006-04-12]. Dostupný z WWW:
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi
- [14] PENCHO, G. D. *Utilisation of waste feathers from poultry slaughter for production of a protein concentrate*, University of Sofia, Faculty of Biology, 1994, Sofia, Bulharsko. [online]. [cit. 2006-04-12]. Dostupný z WWW:
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MImg&_imagekey
- [15] GRAZZIOTIN, A., PIMENTEL, F.A., DE JONG, E.V., BRANDELLI, A. *Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase*, Departamento de Ciência de Alimentos, ICTA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, 2004. [online]. [cit. 2006-04-12]. Dostupný z WWW:
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_aset
- [16] *The Economist: Science and technology - Flights of fancy*, London, England, 2000, 82 s., ISSN 8153. [online]. [cit. 2006-04-05]. Dostupný z WWW:
<http://proquest.umi.com/pqdweb?index=5&did=48083964&SrchMode>
- [17] MLÁDEK, M. *Přírodní polymery*, Zlín, FT UTB, 2004, (Přednášky)
- [18] *Zákon č. 185/2001 sB., O odpadech*. [online]. [cit. 2006-04-17]. Dostupný z WWW: <http://www.env.cz/www/platnalegislativa.nsf/>
- [19] KUDLÁČEK, I. *Ekologie průmyslu*, 2. vydání, Vydavatelství ČVUT, Praha, 2002, 188 str, ISBN 80-01-02495-4
- [20] *2-mercaptoethanol* [online]. [cit. 2006-04-20]. Dostupný z WWW:
<http://www.sigma-aldrich.com>

- [21] *Savinase Ultra* [online]. [cit. 2006-04-20]. Dostupný z WWW:
<http://www.ekozym.cz/index.php?id=53>
- [22] KLÁSEK, A., CIHLÁŘ, P., PAVELKA, F.: *K problematice zpracování odpadů kožedělného průmyslu –XI. Odchromování postružin systémem peroxid vodíku –alkálie*, *Kožařství*, 1982, č.10, s.9
- [23] Statistický program Statgraphics Version 6.0, Program firmy Manugistic, Inc., Rockville, USA

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

a	Spotřeba 0,1N kyseliny sírové (ml)
ac	AC (součin množství enzymu a doby)
a ²	AA (doba ²)
c ²	CC (enzym ²)
b ₁	A: doba
b ₂	B: teplota
b ₃	C: enzym
b ₁₂	AB (součin doby a teploty)
b ₁₃	AC (součin doby a množství enzymu)
b ₂₃	BC (součin teploty a množství enzymu)
c	Koncentrace 0,1N kyseliny sírové (mol/l)
c _m (S)	Množství síry (g)
c _m (SO ₄ ²⁻)	Množství síranů (g)
ČOV	Čistírna odpadních vod
f	Faktor roztoku kyseliny sírové
fp	Stechiometrický přepočítávací faktor kyseliny sírové
fs	Přepočítávací faktor na sušinu
ft	Titrační faktor
fz	Faktor zředění
H	Vlhkost (%)
k	Konstanta
m ₁	Hmotnost vlny před vysušením (g)
m ₂	Hmotnost vlny po vysušení (g)
m(BaSO ₄)	Hmotnost BaSO ₄ (g)

Mn	Molární hmotnost dusíku (g/mol)
m_p	Hmotnost popela (g)
$M(S)$	Molární hmotnost síry (g/mol)
$M(SO_4^{2-})$	Molární hmotnost síranů (g/mol)
m_T	Množství tuku (g)
n	Navážka vzorku vlny (g)
N	Množství dusíku (%)
P	Obsah popela (g)
S	Obsah sušiny (g)
w/w	Hmotnost na hmotnost

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Přejchod α -formy keratinu na β -formu	11
Obr. 2 Řez chlupem (vlasem)	13
Obr. 3 Řez stvolem chlupu (vlasu)	13
Obr. 4 Životní fáze chlupů (vlasů)	14
Obr. 5 Schéma znázorňující operace při zpracování ovčí vlny na hydrolyzát	34
Obr. 6 Graf znázorňující statistickou významnost vlivu sledovaných faktorů na procento nerozložené vlny	55
Obr. 7 Graf sledovaných faktorů působících na procento nerozložené vlny	56
Obr. 8 Graf účinků doby a teploty 2. fáze hydrolýzy na procento nerozložené vlny	56
Obr. 9 Graf účinků doby 2. fáze hydrolýzy množství enzymu na procento nerozložené vlny	57
Obr. 10 Graf účinků teploty 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na procento	57
Obr. 11 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu při teplotě 2. fáze hydrolýzy 50 °C	58
Obr. 12 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu při teplotě 2. fáze hydrolýzy 60 °C	59
Obr. 13 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu při teplotě 2. fáze hydrolýzy 70 °C	59
Obr. 14 Graf znázorňující statistickou významnost vlivu stanovovaných faktorů na procento nerozložené vlny	62
Obr. 15 Graf znázorňující výsledkovou plochu množství nerozložené vlny v závislosti na době 2. fáze hydrolýzy a na množství enzymu na sušinu vlny	62
Obr. 16 Čtvercový graf závislosti doby 2. fáze hydrolýzy a množství enzymu na sušinu vlny na množství nerozložené vlny	63
Obr. 17 Graf závislosti hodnot předpokládaných a hodnot vzniklých pozorováním u množství nerozložené vlny	64

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Výsledky analýzy ovčí vlny	41
Tab. 2 Výsledky pilotního experimentu č. 1	45
Tab. 3 Výsledky pilotního experimentu č. 2	45
Tab. 4 Výsledky pilotního experimentu č. 3	46
Tab. 5 Výsledky pilotního experimentu č. 4	47
Tab. 6 Výsledky pilotního experimentu č. 5	47
Tab. 7 Výsledky enzymové hydrolýzy soustavou experimentů 2^3 – Nerozložená vlna.....	49
Tab. 8 Výsledky enzymové hydrolýzy soustavou experimentů 2^3 – Hydrolyzáty	50
Tab. 9 Výsledky enzymové hydrolýzy soustavou experimentů 3^2 – Nerozložená vlna.....	52
Tab. 10 Výsledky enzymové hydrolýzy soustavou experimentů 3^2 – Hydrolyzáty	53
Tab. 11 Výsledky faktorových pokusů 2^3	54
Tab. 12 Výsledky faktorových pokusů 3^2	61

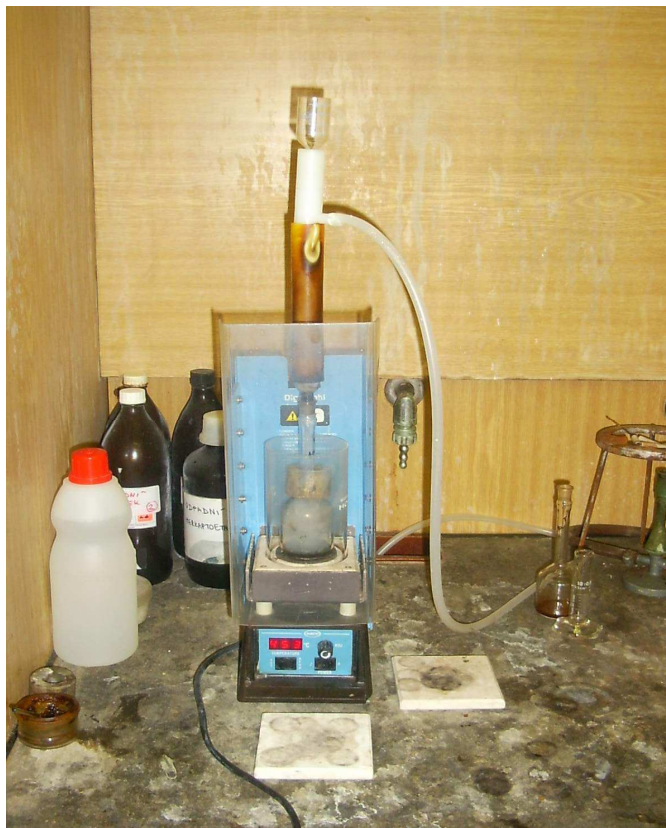
SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: Aparatura pro měření tuku.....	74
PŘÍLOHA P II: Aparatura pro mineralizaci.....	74
PŘÍLOHA P III: Surová vlna.....	75
PŘÍLOHA P IV: Odtučněná vlna.....	75
PŘÍLOHA P V: Vzorky vlny pro experimenty.....	76
PŘÍLOHA P VI: Nerozložená vlna.....	76
PŘÍLOHA P VII: Keratinový hydrolyzát.....	77
PŘÍLOHA P VIII: Keratinový film.....	77

PŘÍLOHA P I: APARATURA PRO MĚŘENÍ TUKU



PŘÍLOHA P II: APARATURA PRO MINERALIZACI



PŘÍLOHA P III: SUROVÁ VLNA



PŘÍLOHA P IV: ODTUČNĚNÁ VLNA



PŘÍLOHA P V: VZORKY VLNY PRO EXPERIMENTY



PŘÍLOHA P VI: NEROZLOŽENÁ VLNA



PŘÍLOHA P VII: KERATINOVÝ HYDROLYZÁT



PŘÍLOHA P VIII: KERATINOVÝ FILM

