

Komplexní zpracování vedlejších produktů ze zvěřiny a ověření jejich aplikačního potenciálu

Kateřina Kopecká

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Kateřina Kopecká
Osobní číslo:	T22071
Studijní program:	B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace:	Polymerní materiály a technologie
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Komplexní zpracování vedlejších produktů ze zvěřiny a ověření jejich aplikačního potenciálu

Zásady pro vypracování

- V literární studii se zaměřte na současný stav řešené problematiky a kriticky jej zhodnotte.
- Aplikujte technologický postup přípravy modifikovaného nevyužitého tuku lipasami, připravte hydrolysát kolagenu z vhodných tkání.
- Připravte kosmetické matrice podle doporučeného složení a postupu. Otestujte připravené matrice bioinženýrskými ne-invasivními metodami.
- Výsledky měření zpracujte, proveďte kritickou diskusi a doporučte vhodnost využití získaných výsledků pro využití při výrobě kosmetických produktů.

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

Seznam doporučené literatury:

Schrieber, R.; Gareis, H. *Gelatine Handbook – Theory and Industrial Practice*, 1st ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2007.
Baki, G.; Durand, D.; Alexander, K.S. *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*. Wiley–VCH: Weinheim, Germany, 2015.
Fereidoon, S. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. John Wiley & Sons: Chichester, UK, 2005, Volume 1–6.
Barel, A.O.; Paye M.; Maibach, H.I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. Elsevier: New York, USA, 2009.
Sharma, H.; Giriprasad, R.; Goswami, M. Animal fat-processing and its quality control. *J. Food Process. Technol.* 2013, 4, 8.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.**
Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D. v.r.
děkan

Ing. Jana Navrátilová, Ph.D. v.r.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

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

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá komplexním zpracováním vedlejších produktů ze zvěřiny a ověřením jejich aplikačního potenciálu. Teoretická část se zabývá představením bílkovin, tuku a jeho zpracování a měřením biofyzikálních parametrů kůže. Cílem bylo připravit hydrolyzovaný kolagen z jeleních šlach a hydrolyzovaný tuk z tukové tkáně daňka a následně z těchto surovin vytvořit formulace, jejichž účinky byly hodnoceny in vivo na základě změn hydratace, transepidermální ztráty vody a pH pokožky. Výsledky ukázaly, že přídavek kolagenu významně přispívá ke zlepšení bariérové funkce kůže a stabilizaci jejího pH. Formulace s kolagenem vykazovaly lepší výsledky v hydrataci a snížení TEWL oproti kontrolním vzorkům. Výsledky potvrzují možnost využití vedlejších produktů ze zvěřiny v kosmetickém průmyslu a přispívají k principům cirkulární ekonomiky.

Klíčová slova: kolagen, tuk, zvěřina, TEWL, hydratace kůže, pH pokožky, cirkulární ekonomika

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the complex processing of game by-products and verification of their application potential. The theoretical part deals with the introduction of protein, fat and its processing and the measurement of biophysical parameters of the skin. The goal was to prepare hydrolysed collagen and hydrolysed fat from deer tendon and adipose tissue and then to develop formulations from these raw materials whose effects were evaluated in vivo based on changes in hydration, transepidermal water loss and skin pH. The results showed that the addition of collagen significantly contributed to the improvement of skin barrier function and stabilization of skin pH. Formulations with collagen showed better results in hydration and TEWL reduction compared to controls. The results confirm the possibility of using animal by-products in the cosmetic industry and contribute to the principles of circular economy.

Keywords: collagen, fat, venison, TEWL, skin hydration, skin pH, circular economy

Zde bych chtěla poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce panu prof. Ing. Pavlu Mokrejšovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu, čas a trpělivost.

Dále bych chtěla poděkovat paní Ing. Janě Pavlačkové, Ph.D. a slečně Ing. Tereze Novotné za jejich pomoc při realizaci praktické části.

Dále bych chtěla poděkovat všem dobrovolníkům, kteří se zúčastnili měření, neboť bez nich by se měření neuskutečnilo.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 PŘÍRODNÍ POLYMERY	13
1.1 BÍLKOVINY	13
1.1.1 Klasifikace bílkovin	13
1.1.2 Struktura bílkovin.....	14
1.2 KOLAGEN	14
1.3 HYDROLYZOVANÝ KOLAGEN	16
1.3.1 Výroba HC	16
2 LIPIDY	18
3 ZPRACOVÁNÍ ŽIVOČIŠNÝCH TUKŮ A ROSTLINNÝCH OLEJŮ.....	19
3.1 ZPRACOVÁNÍ OLEJŮ	19
3.1.1 Předúprava.....	20
3.1.2 Extrakce na expeleru nebo šroubovém lisu.....	21
3.1.3 Přímá extrakce rozpouštědlem	21
3.1.4 Extrakce rozpouštědlem s předlisováním.....	22
3.2 ZPRACOVÁNÍ TUKŮ	22
3.2.1 Mokré zpracování.....	22
3.2.2 Suché zpracování	23
3.2.3 Další zpracování.....	23
3.3 ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA.....	23
4 VEDLEJŠÍ PRODUKTY ZE ZVĚŘINY	25
5 MĚŘENÍ BIOFYZIKÁLNÍCH PARAMETRŮ KŮŽE	26
5.1 MĚŘENÍ HYDRATACE KŮŽE	26
5.2 MĚŘENÍ TRANS-EPIDERMÁLNÍ ZTRÁTY VODY	28
5.3 MĚŘENÍ PH.....	29
6 ZHODNOCENÍ LITERÁRNÍ STUDIE A CÍLE PRÁCE	31
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
7 MATERIÁLY A METODY	33
7.1 SUROVINY	33
7.2 PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE	33
7.2.1 Přístroje	33
7.2.2 Pomůcky.....	33
7.2.3 Chemikálie	33
7.3 PŘÍPRAVA HYDROLYZOVANÉHO KOLAGENU	33
7.3.1 Příprava kolagenu.....	33

7.3.2	Enzymatické opracování kolagenu.....	34
7.4	PŘÍPRAVA HYDROLYZOVANÉHO TUKU	35
7.4.1	Opracování suroviny	35
7.4.2	Enzymatická hydrolýza	35
7.5	PŘÍPRAVA KOSMETICKÝCH FORMULACÍ.....	35
7.5.1	Krémový základ	36
7.5.2	Formulace	36
7.6	MĚŘENÍ IN VIVO	36
7.6.1	Soubor dobrovolníků	36
7.6.2	Organizace měření.....	37
8	VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUZE.....	39
8.1	ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH DAT	39
8.2	VYHODNOCENÍ HYDRATACE.....	39
8.3	VYHODNOCENÍ TRANSEPIDERMÁLNÍ ZTRÁTY VODY	41
8.4	VYHODNOCENÍ PH.....	43
9	ZHODNOCENÍ PŘÍNOSŮ PRÁCE.....	45
	ZÁVĚR.....	46
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
	SEZNAM OBRÁZKŮ	51
	SEZNAM TABULEK.....	52
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53
	SEZNAM PŘÍLOH.....	54

ÚVOD

V posledních letech se stále více zdůrazňuje potřeba udržitelného využívání přírodních zdrojů a snižování odpadu. Tento trend je podporován rostoucím zájmem o cirkulární ekonomiku a ekologické inovace, které směřují ke komplexnímu využití všech částí živočišných surovin. Vedlejší produkty, které vznikají při zpracování zvěřiny, jako jsou šlachy a tuková tkáň, jsou často považovány za odpad, přestože obsahují biologicky cenné složky, jako je kolagen nebo lipidy, které lze efektivně využít.

Motivací k realizaci této práce byl odborný zájem o přírodní polymery, zejména o jejich strukturu, funkční vlastnosti a biologické účinky při interakci s organismem. Zaujala mě také možnost využít vedlejší produkty ze zpracování zvěřiny, které jsou obvykle opomíjené, a proměnit je v materiály s novým praktickým uplatněním. Tento přístup v sobě spojuje prvky inovace, udržitelnosti a aplikačního potenciálu.

Kolagen je hlavní strukturální bílkovinou živočišné kůže, šlach a chrupavek, a jeho význam v oblasti péče o pokožku je dobře zdokumentován. Působí jako hydratační a regenerační složka, podporuje elasticitu pokožky, obnovu kožní bariéry a tím i ochranu před vnějšími vlivy. Hydrolyzovaný kolagen, tedy kolagen enzymaticky rozštěpený na menší fragmenty, vykazuje navíc vyšší biologickou dostupnost a lepší penetrační schopnosti v kosmetických aplikacích.

Tato bakalářská práce se zaměřuje na využití vedlejších produktů ze zvěřiny, konkrétně jeleních šlach a tukové tkáně z daňka, k přípravě hydrolyzovaného kolagenu a hydrolyzovaného tuku. Na základě těchto surovin byly vyvinuty kosmetické formulace, jejichž účinky byly následně testovány na pokožce dobrovolníků. Hodnocení účinků formulací bylo založeno na měření biofyzikálních parametrů pokožky: hydratace, transepidermální ztráty vody a hodnoty pH.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PŘÍRODNÍ POLYMERY

Přírodní polymery jsou polymery, které lze chemicky získat z přírody. Mohou být izolovány z rostlinných a živočišných zdrojů nebo syntetizovány mikroorganismy. Přírodní polymery se obecně klasifikují na základě jejich zdrojů v přírodě, jako jsou polysacharidy, proteiny, polynukleotidy, polyisopreny a polyestery. Přírodní polymery, jako jsou tyto, tvoří hlavní stavební kameny živočišného a rostlinného života. Stejně jako u syntetických polymerů je jejich základní vlastností vysoká molekulová hmotnost a mezimolekulární uspořádanost (krystalinita).[1; 2]

1.1 Bílkoviny

Bílkoviny (proteiny) jsou důležitou třídou biologických makromolekul přítomných ve všech biologických organismech, které se skládají z prvků jako uhlík, vodík, dusík, kyslík a síra. Všechny bílkoviny jsou polymery aminokyselin. Pokud je klasifikujeme podle jejich fyzikální velikosti, jsou proteiny nanočástice (označení: 1-100 nm). Polymery, známé také jako polypeptidy, se skládají ze sekvence 20 různých L- α -aminokyselin. Pro řetězců kratší než 40 zbytků se místo termínu protein často používá termín „peptid“. Aby mohly plnit své biologické funkce, skládají se proteiny do jedné nebo více specifických prostorových konformací, které jsou řízeny řadou nekovalentních interakcí, jako jsou vodíková vazba, iontové interakce, van der Waalovy síly. Pro pochopení funkcí proteinů na molekulární úrovni je často nutné určit trojrozměrnou strukturu proteinů. [3; 4]

1.1.1 Klasifikace bílkovin

Podle jejich složení se bílkoviny dělí na dvě hlavní skupiny. Jednoduché bílkoviny, například krevní sérový albumin, se při hydrolýze rozkládají pouze na aminokyseliny a neobsahují žádné další složky. Naopak složené bílkoviny (konjugované proteiny), které jsou mnohem běžnější, poskytují při hydrolýze kromě aminokyselin i další sloučeniny, například sacharidy, tuky nebo nukleové kyseliny.

Další způsob klasifikace bílkovin vychází z tvaru jejich molekuly, podle kterého rozlišujeme fibrilární a globulární bílkoviny. Fibrilární (vláknité) bílkoviny, jako například kolagen nebo keratin, mají polypeptidové řetězce uspořádané do dlouhých vláken. Jsou pevné, nerozpustné ve vodě a v přírodě plní stavební a podpůrnou funkci – nacházejí se například ve šlachách, rozích, kopytech nebo svazech. Globulární bílkoviny mají molekuly sbalené do

kompaktních, téměř kulovitých útvarů. Jsou obecně rozpustné ve vodě a vyskytují se uvnitř buněk. Do této skupiny patří většina z přibližně 2 000 známých enzymů.[5]

1.1.2 Struktura bílkovin

Primární struktura proteinu představuje specifické složení polypeptidového řetězce. Několik aminokyselin se k sobě váže peptidovými vazbami a tvoří páteř polypeptidového řetězce. Každá bílkovina má jedinečný polypeptidový řetězec obsahující vysoce specifické uspořádání sekvence aminokyselin. Lineární uspořádání aminokyselin tvořících peptidový řetězec a označuje se jako primární struktura bílkovin.

Sekundární struktury proteinů, α -helix a β -list, pomáhají vytvářet trojrozměrnou strukturu proteinů prostřednictvím interakcí mezi zbytky aminokyselin v polypeptidové páteři. α -helix, je pravotočivá nebo levotočivá svinutá konformace, ve které každá páteřní N-H skupina daruje vodíkovou vazbu k páteřní C=O skupině aminokyseliny. β -list (také β -skládaný list) je druhou formou pravidelné sekundární struktury v bílkovinách, která se skládá z β -řetězců spojených příčně ve nebo více vodíkovými vazbami, čímž vzniká zpravidla zkroucený, skládaný list. β -řetězec je úsek aminokyselin, obvykle 5–10 aminokyselin dlouhý, jehož peptidové páteře jsou téměř úplně protažené.

Trojrozměrná struktura bílkovin představuje terciární strukturu. Z velké části představuje terciární strukturu správné složení proteinu v jeho nativní formě. Skládání nativního proteinu řídí několik fyzikálních a chemických faktorů. Mezi interakce stabilizující terciární strukturu patří disulfidové vazby, hydrofobní interakce, vodíkové vazby a iontové interakce. [4; 5]

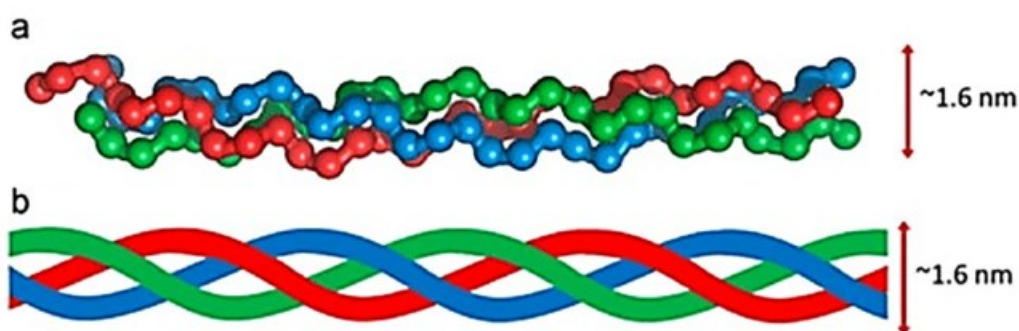
1.2 Kolagen

Kolagen je hlavní strukturální bílkovinou kůže, šlach a kostí. Slovo kolagen pochází z řeckého slova, kde „kola“ znamená guma a „gen“ znamená vyrábět. Kolagen je považován za jeden z nejužitečnějších biomateriálů. Díky své nízké imunogenitě a vysoké biokompatibilitě byl intenzivně studován jako polymer pro použití v mnoha biomedicínských výrobcích, jako jsou kosmetické a farmaceutické produkty. Používá se také jako bezpečný a účinný biomateriál v tkáňovém inženýrství a klinických aplikacích. Je složkou dentálních kompozitů, šablon pro regeneraci kůže a biodegradabilních matic a používá se v kardiovaskulární chirurgii, plastické chirurgii, ortopedii, urologii, neurologii a oftalmologii. V potravinářském průmyslu je po kolagenu velká poptávka, protože má dobré funkční vlastnosti jako je schopnost absorpce vody a schopnost tvořit emulze.[6; 7; 8; 9]

Kolagen se získává z vedlejších průmyslových produktů, jako jsou kosti, chrupavky, šlachy a kůže skotu, prasat, kuřat, ryb nebo jiných organismů, a může být podroben procesu hydrolýzy za účelem získání bioaktivních peptidů. [6; 9]

Výhodou použití hydrolyzátů kolagenu oproti nativnímu kolagenu je jeho vysoká míra stravitelnosti, která přispívá ke zvýšené absorpci, distribuci a využití v lidském organismu. Největší příznivé účinky kolagenních peptidů se projevují u populace s degradací kolagenu nebo s vyšším rizikem vzniku tohoto typu onemocnění, jako je úbytek kostí a chrupavek v důsledku stárnutí, nebo dokonce v důsledku namáhavé fyzické aktivity, nárazů do kloubů, nadváhy, hormonálních změn, úrazů, popálenin, agresivní léčby rakoviny a kožních a zubních implantátů. Kolagen lze tedy považovat za nutriční produkt, protože kromě své nutriční funkce (přísun aminokyselin) podporuje fyziologické přínosy a ochranu před některými chorobami. [6; 7; 8; 9]

U savců tvoří 25-35 % celkové hmotnosti bílkovin kolagen. Dosud bylo popsáno 29 typů kolagenu. Typy I, II a III odpovídají 80-90 % celkového kolagenu nacházejícího se v lidském těle a typ I je nejhojněji zastoupen v kůži. V chrupavce převažuje kolagen typu II. Ostatní typy kolagenu (I, IV, V, VI, IX a XI) se podílejí na tvorbě a stabilizaci sítě kolagenních vláken typu II. Strukturu kolagenu charakterizuje pořadí aminokyselin a kovalentní struktury, které se v molekule nacházejí, a také postranní modifikace aminokyselinových řetězců hydroxylací, glykosylací a síťováním. Molekula kolagenu má trimetrickou povahu, což umožňuje kombinace pro- α řetězců. Trojitá šroubovicová struktura je běžným rysem kolagenu, který může mít různý výskyt od 96 % u kolagenu typu I po 10 % u kolagenu typu XII. [6; 7; 8; 9]



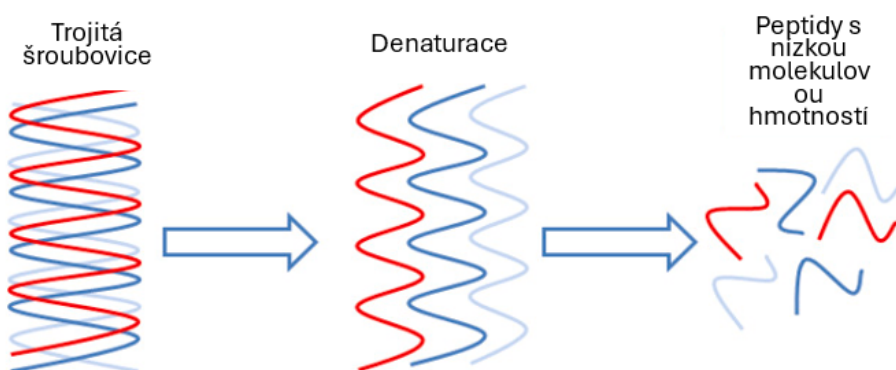
Obrázek 1 – a. trojřetězcová helikální struktura; b. schématicky znázorněná trojřetězcová helikální struktura [10]

1.3 Hydrolyzovaný kolagen

Hydrolyzovaný kolagen (HC) se skládá z mnoha malých a nízkomolekulárních aminokyselinových řetězců, které mohou být produkovány buď v zásaditém, nebo kyselém prostředí prostřednictvím enzymatické aktivity. HC lze získat z různých zdrojů, při nichž se k extrakci kolagenu typu I z hovězí, vepřové, kuřecí a rybí chrupavky používá kyselina octová. Díky svým vlastnostem se často používá v potravinářském průmyslu, protože zlepšuje senzorické vlastnosti, a také v kosmetickém průmyslu jako funkční složka krémů na obličej a tělo díky svým hydratačním vlastnostem. Používá se také při farmaceutickém vývoji antioxidantních doplňků stravy, často v kombinaci s kyselinou hyaluronovou a vitamínem C. Zvyšuje také minerální hustotu a chrání kloubní chrupavky. [11; 12]

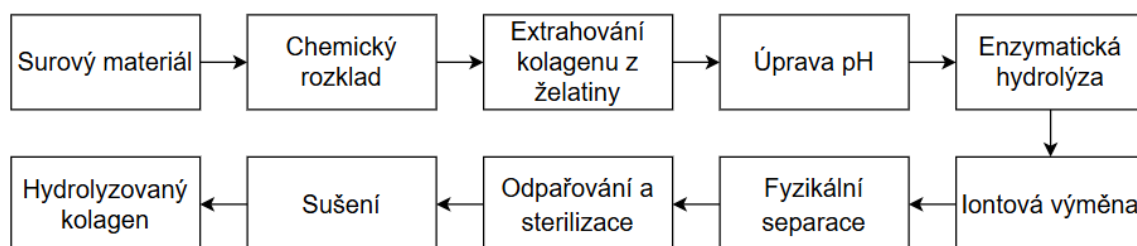
1.3.1 Výroba HC

Hydrolyzovaný kolagen se vyrábí ze stejných surovin jako tradiční želatina, která se vyrábí denaturací a částečnou hydrolyzací kolagenu. Kolagen a jeho hydrolyzovaná forma se běžně vyrábí z vepřové nebo hovězí kůže. Nemoc šílených krav a náboženský zákaz kolagenu z vepřové kůže a kostí v některých oblastech si však vyžádaly hledání nových mořských nebo drůbežích zdrojů, které jsou pro spotřebitele bezpečnější. Chemická nebo enzymatická hydrolyza jsou dvě metody získávání hydrolyzovaného kolagenu. Přestože mnoho výrobců stále používá chemickou hydrolyzu, upřednostňuje se enzymatická hydrolyza proteázami, protože je lépe kontrolovatelná. Kvůli stabilní trojitě šroubovici mají enzymy potíže s rozkladem kolagenové domény, ale denaturovaná želatina je proteázami rychle lokalizována. Často se používá kombinace enzymatických a chemických metod hydrolyzy. Výrobce nejprve připraví chemickou hydrolyzou želatinu, která je poté hydrolyzována enzymy, dokud není dosaženo požadované molekulové hmotnosti.

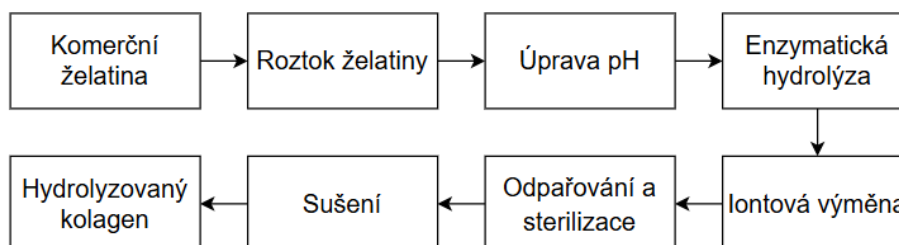


Obrázek 2 Denaturace nativního kolagenového proteinu na malé peptidy s nízkou molekulovou hmotností.[11]

Trypsin, pepsin, chymotrypsin a další jsou komerční proteázy, které byly použity k výrobě hydrolyzátu kolagenu. Mikrobiální alkaláza je široce používána díky své široké specifitě a vysoké schopnosti dosáhnout hydrolyzy v krátkém čase. Parametry hydrolyzy jsou koncentrace substrátu, poměr enzymu k substrátu, teplota a pH. Tyto čtyři parametry hydrolyzy jsou hlavními faktory určujícími rychlost enzymatické reakce. Obecný postup výroby hydrolyzovaného kolagenu pomocí kombinace chemické a enzymatické hydrolyzy je znázorněn na Obrázku 3, zatímco obecný postup výroby hydrolyzovaného kolagenu pomocí komerční želatiny jako výchozího materiálu je znázorněn na Obrázku 4. [11; 12]



Obrázek 3 Obecný postup výroby hydrolyzovaného kolagenu kombinovanou metodou[11]

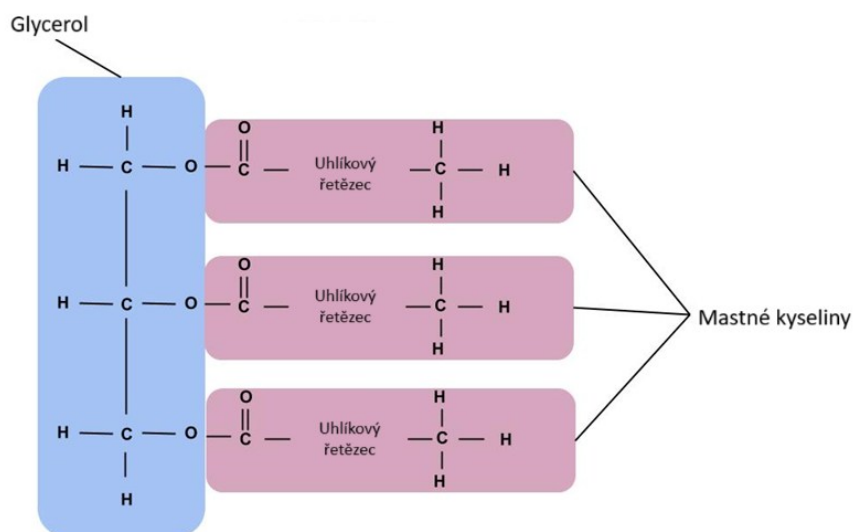


Obrázek 4 Obecný postup výroby hydrolyzovaného kolagenu s komerční želatinou jako surovinou[11]

2 LIPIDY

Termín lipid je obecný popis třídy molekul, které jsou nerozpustné ve vodě, ale rozpustné v nepolárních rozpouštědlech, jako je chloroform, uhlovodíky nebo alkoholy. Je však třeba poznamenat, že existují členové specifické systematické klasifikace, například na základě chemické struktury, kteří neodpovídají obecnému popisu lipidů. Například mastné kyseliny obsahující jeden až čtyři uhlíky v alifatických ocasech jsou zcela mísitelné s vodou a nerozpustné v nepolárních rozpouštědlech.

Lipidy lze klasifikovat podle jejich fyzikálních vlastností při pokojové teplotě (tj. oleje jsou kapalné a tuky pevné), polaritě (tj. polární a neutrální lipidy), esenciálnosti pro člověka (tj. esenciální a neesenciální mastné kyseliny) nebo struktury (tj. jednoduché lipidy, komplexní lipidy nebo odvozené lipidy). Jednoduché lipidy se skládají z mastných kyselin a alkoholů a obecně je lze hydrolyzovat na dvě různé složky, alkoholy a mastné kyseliny. Mezi složité lipidy patří fosfolipidy, glykolipidy. Odvozené lipidy jsou deriváty, jako jsou volné mastné kyseliny, steroly a alkoholy s přímým řetězcem, získané hydrolyzou jednoduchých nebo komplexních lipidů. Mezi potravinové lipidy patří oleje a tuky, z nichž většinu tvoří triacylglyceroly (TAG). Kromě toho byly v potravinových jedlých olejích obsaženy i některé další méně významné složky, jako jsou fosfolipidy, cholesterol, estery cholesterolu a v tucích rozpustné mikroživiny, např. vitaminy a polyfenoly. Potravinové oleje a tuky jsou pro člověka důležitými makronutrienty a z hlediska spotřeby jsou vedle sacharidů a bílkovin jednou ze tří hlavních tříd potravin. Jsou nezbytné pro zásobování energií a udržování normálních funkcí lidského těla. [13; 14]



Obrázek 5 Struktura lipidu [15]

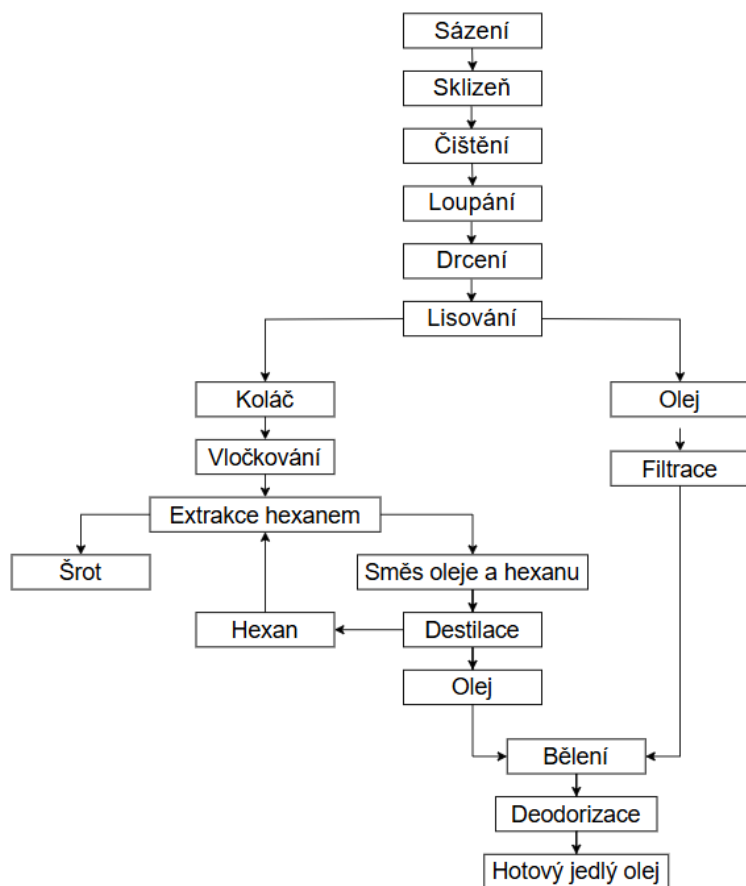
3 ZPRACOVÁNÍ ŽIVOČIŠNÝCH TUKŮ A ROSTLINNÝCH OLEJŮ

Jedlé tuky a oleje se již tisíce let oddělují ze živočišných tkání, olejnatých semen a olejnatých plodů. Účelem všech procesů získávání tuků a olejů je získat triglyceridy ve vysokém výtěžku a čistotě a vyrobit co nejhodnotnější produkty.

Olejnaté plody se lisují za účelem získání oleje, někdy po vysušení nebo sterilizaci, nebo se lisují za studena, aby se zachovala chuť a vůně (jako u oliv). [16; 17]

3.1 Zpracování olejů

Olejnatá semena se zpracovávají extrakcí na expelerech nebo na šnekových lisech, extrakcí rozpouštědlem před lisováním nebo extrakcí rozpouštědlem na expanzním stroji. Upřednostňovaný postup extrakce olejnatých semen závisí na množství oleje obsaženého v olejnatých semenech, na množství oleje, které může zůstat ve šrotu, na tom, jaká je přípustná denaturace bílkovin šrotu, na dostupném investičním kapitálu a na tom, jak přísné jsou zákony na ochranu životního prostředí, pokud jde o emise organických sloučenin.



Obrázek 6 Průmyslové zpracování jedlého oleje (zdroj: vlastní)

3.1.1 Předúprava

Většina olejnatých semen vyžaduje před oddělením oleje od pevné části semene určitý stupeň čištění a úpravy. Cizí látky snižují výtěžnost oleje a bílkovin, nepříznivě ovlivňují kvalitu oleje a zvyšují opotřebení a poškození zpracovatelského zařízení. Stonky, lusky, listy, zlomené zrno, nečistoty, drobné kamínky a cizí semena jsou typickými složkami cizorodých látek, které se nacházejí v sóji, slunečnici, řepce a arašidech.

Po vyčištění se většina semen vyloupne. Slupky mají nízký obsah oleje, absorbují a zadržují olej v lisovacím koláči a snižují kapacitu extrakčního zařízení. Některé slupky olejnatých semen navíc obsahují vysoce tavitelné vosky, které se extrahují spolu s olejem. Proces extrakce oleje je usnadněn rozmělněním semen na malé částice. Zmenšení velikosti za účelem rozrušení olejonosných buněk lze dosáhnout mletím nebo válcováním semen, aby vznikly vločky. Většina extrakčních zařízení dává přednost vločkování olejnatých semen, ale některá větší olejnatá semena je nutné před odesláním do lisovny nahrubo rozemlít vločkovacími válci.

Dalším krokem přípravy je zahřátí nebo vaření rozemletých nebo vločkových olejnatých semen. Teplota vaření se může lišit podle druhu semen a může se pohybovat v rozmezí 80 až 105 °C. Při správném vaření dochází k úplnému rozpadu olejových buněk, srážení bílkovin, které usnadňuje oddělení oleje a moučky, zvýšení tekutosti oleje při vyšších teplotách, zničení plísní a bakterií, deaktivaci enzymů a vysušení na vhodný obsah vlhkosti. Vliv enzymů na oleje spočívá v tom, že lipáza způsobuje zvýšení obsahu volných mastných kyselin, lipoxygenáza způsobuje vyšší obsah peroxidu a sekundárních oxidačních produktů, fosfolipáza způsobuje zvýšený obsah nehydratovatelných fosfolipidů a myrosináza způsobuje tvorbu sirných sloučenin a chuťové a trávící problémy šrotu.

Před zavedením expandéru bylo vaření posledním krokem úpravy olejnatých semen. Expandér je extrudér s nízkým smykem, který zahřívá, homogenizuje a olejnatých semen do podoby porézních koleček nebo pelet s vysokou objemovou hmotností. Do vloček nebo koláče olejnatých semen v expandéru se pod tlakem vstříkuje pára a tato směs se pak vytlačuje přes desky do atmosféry. Expandéry také ovlivňují kvalitu oleje; inaktivují katabolické enzymy, které podporují oxidaci nenasycených mastných kyselin, a produkují vyšší množství fosfatidů, které jsou hydratovatelnější pro snadnější odstranění při odkalování vodou. [16; 18; 19]

3.1.2 Extrakce na expeleru nebo šroubovém lisu

Proces lisování slouží k mechanické extrakci oleje ze semen bez použití rozpouštědla. Aby se dosáhlo vyššího výtěžku oleje, musí být materiál semen vystaven vyšším tlakům po delší dobu zdržení ve šnekových lisech. Vyšších tlaků se dosahuje především nižší vlhkostí osiva, která vede k podstatně vyššímu tření v lisech. [19]

Ve šroubovém lisu se vařené vločky rozdělí na surový olej a lisovací koláč. Výlisky, které mohou obsahovat 3 až 10 % oleje, se obvykle melou na šrot a prodávají se jako zdroj bílkovin. Po usazení a filtraci, aby se odstranily jemné částice, se surový olej převádí do rafinerií oleje, kde se dále zpracovává na hotové výrobky. V různých částech světa se k mechanické extrakci sójových bobů, lněných semen, hrachových oříšků, kopry nebo kokosových ořechů, palmových jader a dalších druhů olejnatých semen používají kontinuální šnekové lisy.

Nižší výlisné teploty oleje lisovaného za studena zlepšují kvalitu oleje s ohledem na fosfolipidy a barvu oproti oleji lisovanému za tepla při teplotě. Výtěžnost oleje a obsah nutričních složek, jako jsou tokoferoly, karoten a fenolové kyseliny, se však při lisování za vyšší teploty zlepšují. Vyšší kvalita surového oleje získaného lisováním místo extrakce rozpouštědlem může umožnit mírnější podmínky zpracování. [16; 18]

3.1.3 Přímá extrakce rozpouštědlem

Přímou extrakcí rozpouštědlem se olej získává přímo z upravených olejnatých semen pomocí organického rozpouštědla. Extrakce rozpouštědlem ze sójových vloček byla běžnou praxí, ale byla problematická u olejnatých semen s vysokým obsahem oleje (bavlník, slunečnice, řepka a podzemnice olejná). Vysoký obsah oleje v olejnatých vločkách způsoboval, že se během extrakce rozpadaly na jemné částice. Tento problém vyřešila metoda vytlačování s nízkým smykem pomocí zařízení označovaných jako expandéry. Po správné přípravě olejnatých semen lze zahájit proces extrakce. Teorie extrakce je velmi jednoduchá: Olej se z koláče, vloček nebo koleček vyluhuje rozpouštědlem, obvykle hexanem. Přestože zvýšená teplota snižuje viskozitu oleje a zlepšuje jeho difúzi, tlak par hexanu omezuje praktické provozní teploty extraktoru a jeho obsahu na přibližně 50 až 55 °C. Oddělení oleje a rozpouštědla se provádí běžnými destilačními metodami. Plná miscela, což je směs rozpouštědla a oleje, se destiluje, aby se olej uvolnil z rozpouštědla. Získané rozpouštědlo se oddělí od nahromaděné vlhkosti v gravitační separační nádrži a znovu se použije při extrakci rozpouštědla. Olej zbavený hexanu se před uskladněním nebo

dalším zpracováním ochladí a přefiltruje. Extrakce rozpouštědlem může ve srovnání s lisováním snížit kvalitu oleje kvůli zvýšenému obsahu nežádoucích minoritních složek, jako jsou fosfolipidy a barviva. [16; 18; 20]

3.1.4 Extrakce rozpouštědlem s předlisováním

Extrakci rozpouštědlem s předlisováním se část oleje odstraní pomocí expelerů a zbytek oleje se extrahuje organickým rozpouštědlem. Při předlisování se expeler přiškrtí, takže vzniká menší tlak a získává se méně oleje. Obsah oleje v předlisovaném koláči je obvykle 15 až 18 %. Zbývající olej v tomto částečně odmaštěném koláči se pak extrahuje rozpouštědlem stejným postupem jako při přímé extrakci rozpouštědlem. Předlisovaný a rozpouštědlem extrahovaný olej se před rafinací obvykle smísí. Výhodou tohoto systému je zvýšení kapacity šroubového lisu a menší množství rozpouštědlové extrakce pro získání oleje z odmaštěného koláče. [16; 18; 21]

3.2 Zpracování tuků

Živočišné tuky se z tukových tkání získávají vařením, které se nazývá kafilerní zpracování. Dva převládající kafilerní procesy jsou mokré a suché kafilerní zpracování. Mokré kafilerní zpracování produkuje kvalitnější olej, zatímco suché kafilerní zpracování produkuje nejvyšší kvalitu bílkoviny. Mokrá proces se upřednostňuje pro jedlé živočišné tuky a suchý proces pro nejedlé produkty. Bez ohledu na použitý proces se materiály z výkrmny masokombinátu, které mají být kafilerně zpracovány, se rozbijí na malé kousky (2 až 5 cm) pomocí drtiče. Kousky se pak vaří v dávkovacích nebo kontinuálních vařicích s mícháním, aby se odpařila vlhkost, rozpadly se tukové buňky a uvolnil se tuk. Postup, který následuje po tomto okamžiku, určuje použitý proces kafilerního zpracování.

Zpracování zahrnuje řadu kroků čištění, po nichž následuje úprava na použitelnější produkty a nakonec balení. [16; 22; 21]

3.2.1 Mokrý zpracování

Existují dva druhy mokrého kafilerního zpracování: nízkoteplotní, které se provádí při teplotách do bodu varu vody, a vysokoteplotní nebo parní kafilerní zpracování, které se provádí pod tlakem v uzavřených nádobách. Sádlo vyrobené tímto procesem se označuje jako sádlo s prvotřídní párou. Typickým zařízením je vertikální ocelová válcová nádoba s kuželovým dnem, konstruovaná pro tlak páry 40 až 60 psi (2,7 až 4 bar) a odpovídající vysokou teplotu. Nádoba je naplněna tukem z vaření a malým množstvím vody a pára se

vstříkuje, aby se voda uvařila a vytlačila vzduch. Poté se nádoba uzavře, s výjimkou malého ventilačního otvoru, a vstřikování páry pokračuje, dokud není dosaženo provozní teploty a tlaku. Za těchto podmínek se tuk oddělí od pevných látek a stoupá k horní části nádoby. Poté se tlak uvolní a tuk se odsaje a vyčistí usazováním nebo odstředivkou. Během parního kafilerního zpracování dochází k určité hydrolýze tuku, která zvyšuje obsah volných mastných kyselin nad 0,35 %. [16; 22]

3.2.2 Suché zpracování

Suché kafilerní zpracování zahrnuje vaření materiálu při teplotě 115 až 120 °C v míchaných nádobách s parním pláštěm, dokud se neodpaří vlhkost, obvykle 1,5 až 4 hodiny. Během zpracování se do tukového materiálu nevstříkuje pára jako při mokřém procesu. Vařený materiál se poté prosévá, aby se odčerpал volný tuk, a poté se lisuje vysokoproteinová sušina, aby se oddělilo zbývajících 6 až 10 % zbytkového tuku. Tuk se pak odstředí nebo přefiltruje. [16; 22]

3.2.3 Další zpracování

Další zpracování zahrnuje řadu kroků čištění, po nichž následuje modifikace na použitelnější produkty a nakonec balení. Hlavní kroky jsou:

Usazování a odkalování při nichž se odstraňují živočišné nebo rostlinné bílkoviny, zbytky sacharidů, fosfatidy a voda.

Neutralizace/rafinace alkálií kde se jedná o odstranění neglyceridových mastných látek promytím olejů silně alkalickými vodnými roztoky (hydroxid sodný).

Bělení kde se odstraňují obsažené pigmenty, které vytvářejí nežádoucí barvy (karotenoidy, gossypol atd.) nebo podporují oxidaci lipidů (chlorofyl).

Deodorizace pro zbavení chuti.[16; 17]

3.3 Enzymatická hydrolýza

Při hydrolýze tuků a olejů dochází ke štěpení triacylglycerolů na mastné kyseliny a glycerol za přítomnosti vody. Hydrolýzu lze provádět vysokotlakým štěpením vodní parou, saponifikací (alkalickou hydrolýzou) a biotechnologickými procesy s použitím lipáz. Účelem je změnit fyzikální (tavicí) vlastnosti výsledných tuků tak, aby více odpovídaly vlastnostem požadovaným pro potravinářské nebo jiné účely.[23]

Při hydrolýze dochází ke změnám na molekulární úrovni při štěpení mastných kyselin. Souběžně s hydrolýzou probíhá také esterifikace, což je opačný proces. Esterové vazby se během reakce za enzymové nebo kyselé katalýzy přerozdělují. Během redistribuce se mastná kyselina váže na jinou pozici glycerolu. Rovnováha mezi přímou reakcí (hydrolýzou) a zpětnou reakcí (esterifikací) je řízena obsahem vody v reakční směsi. Pokud je ve směsi nadbytek vody, převažuje hydrolýza, zatímco za podmínek, kdy je voda vyloučena, se dává přednost esterifikaci. Pokud jsou podmínky esterifikace reaktantů správně nastaveny, mohou esterifikací mastných kyselin s glycerolem vznikat monoacylglyceroly, diacylglyceroly a triacylglyceroly. Enzymatická hydrolýza a esterifikace se používají v průmyslu k úpravě tuků. Modifikací tuků lze získat produkty s požadovanými funkčními vlastnostmi, jako je bod tání, obsah pevné fáze a oxidační stabilita. Tyto procesy mění funkčnost tuků a olejů a jejich nutriční vlastnosti.[24]

4 VEDLEJŠÍ PRODUKTY ZE ZVĚŘINY

Maso zvěře je vysoce ceněnou kulinářskou a zpracovatelskou surovinou díky své chuti, vynikajícím nutričním vlastnostem a vysoké stabilitě pH v procesu zrání. V posledních několika letech se zájem o toto maso zvyšuje, protože je považováno za „přírodní a udržitelné“. Volně žijící zvířata mají vysoký standard života a živí se převážně přirozenou potravou. Jejich maso neobsahuje antibiotika a hormony.[25] Běžné využití zvěřiny bývá na lov trofejí, hlavně kvůli masu, paroží a kožešinám. Zvěřina dnes pochází nejen z volné přírody, ale stále častěji i z farmových chovů. Na Novém Zélandu, v Austrálii, Číně a Kanadě se maso jelenovitých získává převážně z farmových chovů, zatímco v Evropě se tradičně získávalo především lovem divoké zvěře. S rostoucí poptávkou po zvěřině však zájem o farmový chov roste i v evropských zemích. Nevýhodou této suroviny je však její sezónní dostupnost, protože v období říje se zvyšuje produkce hormonů, což mění pachové vlastnosti a negativně ovlivňuje senzorickou kvalitu masa a tuku, proto probíhá odlov v podzimních měsících po skončení říje. [26; 27]

V porovnání s ostatními druhy jelenovitých je maso daňků považováno za zdravější produkt díky vyššímu obsahu n-3 polynenasycených mastných kyselin. Má vysoký obsah bílkovin, hemového železa, mědi, zinku a draslíku a nízký obsah nasycených mastných kyselin. Maso jelenovitých je také dobrým zdrojem nutričně významné konjugované kyseliny linolové. [25]

Průmysl výroby a zpracování masa je jedním z největších producentů organického odpadu v potravinářském odvětví. Při jatečném zpracování zvířat vzniká mnoho živočišných surovin, které nejsou přímo využity. Mezi ně patří například krev, srst, kosti a v některých případech také tuková tkáň. Efektivním zpracováním těchto surovin lze snížit ekologickou zátěž potravinářského průmyslu a podpořit principy cirkulární ekonomiky. Nevyužité suroviny lze využít například redukcí, novým využitím anebo recyklací. Cirkulární ekonomika hraje v současnosti stále důležitější roli, a proto je klíčové hledat možnosti využití i méně běžných vedlejších živočišných produktů.[26; 27]

5 MĚŘENÍ BIOFYZIKÁLNÍCH PARAMETRŮ KŮŽE

Stanice MPA 10 je adaptérový systém určený k měření pomocí sond tewametru, korneometru a pH metru od německého výrobce Courage+Khazaka electronic GmbH.[28; 29]



Obrázek 7 stanice MPA 10 (zdroj: vlastní)

5.1 Měření hydratace kůže

Měření hydratace vrchní vrstvy kůže je důležitým nástrojem pro hodnocení kožních účinků přípravků péče o pokožku z hlediska jejich účinnosti a pro sledování stavu různých kožních onemocnění.

Na trhu jsou k dispozici různá neinvazivní zařízení pro sledování hydratace kůže. Tato zařízení se liší svými způsoby měření, které zahrnují elektrické, mikrovlnné a spektroskopické metody. Každé zařízení nabízí jedinečnou možnost studovat specifický jev v neporušené kůži, který může korelovat s úrovní hydratace kůže.

Spektroskopie a zobrazovací metoda magnetické rezonance zahrnuje neinvazivní měření hustoty protonů v kůži. Protony vody reagují na magnetické prostředí a určují se užitečné parametry, které poskytují informace o koncentraci a rozložení molekul vody v epidermis.

Infračervená spektroskopie se opírá o vlastnost molekuly vody jako intenzivního absorberu infračervené spektroskopie. Infračervené absorpční spektrum vody v kůži lze získat pomocí vhodného přístrojového vybavení a použít k určení množství vody v rohové vrstvě.

Kromě výše uvedených neinvazivních technik se k objektivnímu posouzení míry šupinatosti povrchu, která koreluje s mírou hydratace kůže, používá minimálně invazivní metoda zvaná

skvamometrie, při níž se odebírají vzorky stratum corneum pomocí disků potažených lepidlem.[30; 31]

Mezi standardní, komerčně dostupné přístroje pro hodnocení hydratace kůže patří korneometr. Měření je založeno na měření kapacity dielektrického prostředí, v nejsvrchnější vrstvě kůže. S rostoucí hydratací se mění její di-elektrické vlastnosti. Měření je založeno na skutečnosti, že voda má vyšší dielektrickou konstantu než většina ostatních látek.

Zlaté dráhy v horní části hlavice sondy Corneometr CM 825, oddělené od kůže skleněnou destičkou, vytvářejí mezi dráhami elektrické pole se střídavou přitažlivostí. Jedna stopa vytváří přebytek elektronů (mínusový náboj) druhá nedostatek elektronů (plusový náboj). Po přiložení na povrch kůže pronikne rozptylové pole již do první vrstvy kůže. Korneometr měří změnu dielektrické konstanty způsobenou hydratací povrchu kůže změnou kapacity přesného kondenzátoru. Měření dokáže odhalit i nepatrné změny v úrovni hydratace. [32]



Obrázek 8 sonda Corneometr CM 825 (zdroj: vlastní)

Tabulka 1 Stupnice pro interpretaci korneometru [29]

Typ kůže	Hydratace [k. j.]
Normální	Nad 45
Suchá	30–45
Velmi suchá	Pod 30

5.2 Měření trans-epidermální ztráty vody

Trans-epidermální ztráta vody (TEWL) je nejpoužívanější metodou pro hodnocení integrity kožní bariéry a hodnocení potenciálu podráždění nebo ochranných vlastností lokálních přípravků. Zjišťuje množství vody, které difunduje přes rohovou vrstvu kůže do vnějšího prostředí. Protože jednou z nejdůležitějších funkcí kůže je udržet vodu uvnitř těla, používá se zvýšení TEWL jako indikátor zhoršené bariérové funkce kůže. K měření TEWL je zatím k dispozici řada komerčních přístrojů. [33]

Sonda Tewameter TM 300 s otevřenou konstrukcí komůrky slouží k měření TEWL. Válcovitá sonda je otevřená z obou stran a obsahuje senzory relativní vlhkosti spolu s teplotními čidly. Na základě těchto snímačů se měří gradient tlaku vodní páry nad povrchem kůže. Tento gradient je ovlivněn jak rychlostí difúze vody z nejvrchnější vrstvy pokožky, tak rychlostí odpařování vody z povrchu kůže, tedy okolním mikroklimatem. Proto je důležité minimalizovat možné pocení během měření. Narušení bariérové funkce kůže vede ke zvýšení TEWL, což se projeví vyšší naměřenou hodnotou. [34; 29]



Obrázek 9 sonda Tewameter TM 300 (zdroj: vlastní)

Tabulka 2 Stupnice pro interpretaci hodnot tewametru [29]

Interpretace	Hodnoty TEWL [$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]
Velmi dobrý stav	0–9
Dobrý stav	10–14
Normální stav	15–25
Napjatý stav	26–29
Kritický stav	Nad 30

5.3 Měření pH

Sondou Skin-pH-Meter pH 905 slouží k měření pH kůže. Měření je založeno na vysoce kvalitní kombinované elektrodě, kde jsou v jednom pouzdře umístěny jak elektroda citlivá na H^+ ionty, tak přídatná referenční elektroda. Je připojena k rukojeti sondy obsahující měřicí elektroniku.[35]



Obrázek 10 sonda Skin-pH-Meter pH 905 (zdroj: vlastní)

Tabulka 3 Stupnice pro interpretaci pH metru [29]

pH	Od 3,5	3,8	4,0	4,3	4,5	5,0	5,3	5,5	5,7	5,9	6,2	6,5	Nad 6,5
Žena	Kyselé				Neutrální				Zásadité				
Muž	Kyselé			Neutrální					Zásadité				

6 ZHODNOCENÍ LITERÁRNÍ STUDIE A CÍLE PRÁCE

V teoretické části jsme se seznámili s pojmem přírodní polymery, přičemž zvláštní pozornost byla věnována kolagenu a jeho hydrolyzované formě, která tvoří předmět praktické části práce. Dále byly představeny lipidy a postupy jejich zpracování, a to jak ve formě živočišných tuků, tak rostlinných olejů. Následně byly popsány základní suroviny pocházející z vedlejších produktů při zpracování zvěřiny. V závěru této části byly objasněny metody měření vybraných biofyzikálních parametrů kůže, jako je hydratace, trans-epidermální ztráta vody a pH.

Hlavním cílem bylo navázat na diplomovou práci Ing. Jakuba Dvořáka, který vytvořil metodiku pro výrobu hydrolyzovaného kolagenu z jeleních šlach, a tím podpořit cirkulární ekonomiku a najít využití zatím nevyužitých odpadních surovin ze zvěřiny jako jsou například šlachy nebo tuk. Cílem bylo připravit hydrolyzovaný kolagen a hydrolyzovaný tuk a z nich vytvořit produkt u kterého by se ověřil jeho aplikační potenciál. Aplikační potenciál se ověřoval měřením hydratace, TEWL a pH pokožky dobrovolníků.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 MATERIÁLY A METODY

7.1 Suroviny

Hlavními využívanými surovinami byly jelení šlachy, dančí tuk, které jsou odpadní materiálem při zpracování zvěře. Použitými enzymy pro enzymatické opracování byly Promatex a Lipex.

7.2 Přístroje, pomůcky a chemikálie

7.2.1 Přístroje

Řezačka, sušárna, třepačka, topná deska, magnetická míchačka, chladnička, mrazák, mixer, předvážky

7.2.2 Pomůcky

Odměrný válec, síto, kádinky, pipeta, Erlenmayerova baňka, pryžové ucpávky, skleněná tyčinka, tkanina, teploměr, plech, nepřilnavá fólie, magnetické míchadélko, lžička, Büchnerova nálevka, odsávací baňka, třecí miska s tloučkem, plastové kelímky s víčkem

7.2.3 Chemikálie

Destilovaná voda, 0,2M NaCl, 0,03M NaOH, petrolether, ether, HCl, oxid křemičitý ve formě gelu

7.3 Příprava hydrolyzovaného kolagenu

Hydrolyzovaný kolagen byl vyroben podle metodiky vytvořené Ing. Jakubem Dvořákem v jeho diplomové práci.[36]

7.3.1 Příprava kolagenu

Výchozí surovinou pro přípravu kolagenu byly jelení šlachy. Pro usnadnění dalšího postupu byla tato surovina rozemleta a uložena při teplotě -18 °C. Před zahájením vlastního procesu byla ponechána k rozmrazení při 5 °C.

Po rozmrazení byly nejprve odstraněny albuminy. Tento krok probíhal promýváním na sítu po dobu 2 minut za použití studené vody, následovalo pětiminutové máčení v čisté studené vodě a opětovné promývání po dobu 2 minut.

K odstranění globulinů byl využit 0,2M roztok NaCl. Směs suroviny s roztokem byla připravena v poměru 1:6 a ponechána k máčení po dobu 1,5 hodiny. Poté následovalo filtrování přes síto a jednodominutové promývání studenou vodou.

V rámci alkalického ošetření byl aplikován 0,03M roztok NaOH. Surovina byla s tímto roztokem smíchána ve stejném poměru (1:6) a ponechána 45 minut při občasném míchání. Poté bylo provedeno promývání studenou vodou po dobu 1 minuty a následovalo další máčení v roztoku NaOH po dobu 45 minut. Celý tento cyklus byl zopakován třikrát.

Sušení bylo provedeno rozprostřením upravené suroviny do tenké vrstvy a následným sušením při teplotě 35 °C po dobu 24–36 hodin.

Pro odstranění tukových složek byla připravena směs petroletheru a etheru v poměru 1:1. Vysušená surovina byla extrahována tímto rozpouštědlem v poměru 1:6 za stálého třepání po dobu 8 hodin. Po této době bylo rozpouštědlo vyměněno a proces opakován pětkrát. Po ukončení posledního cyklu bylo zbytkové rozpouštědlo odstraněno a surovina ponechána k dosušení v digestoři.

Závěrečná úprava spočívala v rozemletí kolagenu pomocí pulzního mletí, aby se minimalizovalo tepelné zatížení. Výsledná velikost částic byla přibližně 3 mm. Takto zpracovaný kolagen byl uchováván v uzavřené nádobě na temném místě.

7.3.2 Enzymatické opracování kolagenu

Bylo naváženo 80 g vysušeného kolagenu, který byl následně smíchán s destilovanou vodou v poměru 1:10. Směs byla třepána po dobu 20 minut na laboratorní třepačce. Po ukončení třepání bylo zkontrolováno pH a případně upraveno na hodnotu v rozmezí 6,5–7 pomocí roztoku NaOH.

Do takto upravené směsi byl přidán proteolytický enzym Protamex v množství odpovídajícím 1,2 % vzhledem k hmotnosti sušiny. Enzymatická hydrolyza probíhala za kontinuálního třepání po dobu 72 hodin při teplotě 18 °C. Přibližně 30 minut po zahájení procesu bylo opětovně zkontrolováno pH a v případě potřeby korigováno na požadované rozmezí (6,5–7) pomocí NaOH nebo HCl.

Po uplynutí inkubační doby byla směs přefiltrována přes síto vystlané třemi vrstvami filtrační tkaniny. Získaný hydrolyzát byl rozlit na plechy pokryté nepřilnavou fólií a vysušen při teplotě 70 °C po dobu 24 hodin.

7.4 Příprava hydrolyzovaného tuku

7.4.1 Opracování suroviny

Získaná tuková tkáň obsahovala velké množství svalových bílkovin, a proto bylo nutné ji homogenizovat. Primární zpracování surového materiálu probíhalo za použití řezacího zařízení, a to prostřednictvím systému perforovaných řezných desek. Materiál byl nejprve veden přes desku s otvory ve tvaru ledvin (průměr 20 mm), následně pak přes desku s kruhovými otvory o průměru 13 mm. Mezi řeznými deskami byl aplikován oboustranný nůž.

Rozemletá surovina byla tavena v peci při teplotě $70,0 \pm 1,0$ °C po dobu 2 hodin. Roztavená směs byla následně za tepla filtrována přes několik vrstev tkaniny za účelem získání čistého tuku. Oddělené bílkovinné složky a další nečistoty tvořily přibližně 40 % celkové hmotnosti.

7.4.2 Enzymatická hydrolýza

Hydrolýza tuku byla provedena vsádkovým způsobem. Do kádinky bylo přidáno 8 % vody a 2 % enzymu (vzhledem k hmotnosti tuku) a směs byla míchána při 450 ± 100 otáčkách za minutu po dobu 3 minut při teplotě $23,0 \pm 0,5$ °C. Poté byl přidán čistý tuk a směs byla umístěna do vodní lázně s teplotou $50,0 \pm 0,5$ °C, kde byla dále míchána při stejných otáčkách po dobu 2 hodin.

Po ukončení hydrolýzy byl enzym inaktivován zahřátím směsi rychlostí 6 °C/min na teplotu $85,0 \pm 0,5$ °C, která byla udržována po dobu 5 minut.

Následně byl přidán oxid křemičitý ve formě gelu v množství odpovídajícím 20 % hmotnosti tuku. Směs byla míchána 3 minuty při 450 ± 100 otáčkách za minutu a poté filtrována přes filtrační papír pomocí Büchnerovy nálevky. Před samotnou filtrací bylo laboratorní sklo předeřháto na teplotu přibližně 100 °C.

Po filtraci byl tuk ponechán v kádince při laboratorní teplotě $21,0 \pm 0,5$ °C po dobu 1 hodiny a následně uložen do chladničky nastavené na $4,0 \pm 0,2$ °C.

7.5 Příprava kosmetických formulací

Původním cílem bylo vytvořit strukturu typu lipstick na bázi hydrolyzovaného tuku s přidavkem hydrolyzovaného kolagenu a následně ověřit aplikační potenciál tohoto produktu. Během realizace však vyvstal problém, neboť hydrolyzovaný kolagen není rozpustný v tuku a k jeho rozpuštění je nezbytná přítomnost vody. Z tohoto důvodu byla v dané fázi zvolena alternativní strategie – jako nosič byl použit komerčně dostupný krémový základ, který

umožňuje dispergování kolagenu ve vodné fázi. Hydrolyzovaný tuk by se dal dále kromě potravinářství využít k přípravě krémového základu, kde by emulze byla netradičně připravena z hydrolyzovaného zvířecího tuku namísto parafínu. Tato možnost z časových důvodů a možných komplikací (zápach a barva základu) nebyla využita, a proto byla zvolena alternativní strategie.

7.5.1 Krémový základ

Složení krémového základu (Fagron a.s., Olomouc):

Aqua purificata, Alcohol cetylstearyllicus, Carbomerum 980, Methylparabenum, Paraffinum liquidum, Paraffinum solidum, Propylenglycolum, Propylparabenum, Slovasol 2430, Trolaminum

7.5.2 Formulace

Kolagen byl nejprve ve třetí misce s tloučkem rozmělněn na menší částice, což usnadnilo jeho následnou dispergaci. Následně byly připraveny tři formulace o hmotnosti 30 g navážením krémového základu a přidáním 0,5 % a 1 % hydrolyzovaného kolagenu podle tabulky.

Tabulka 4 Navážky formulací

Formulace	Zkratka	Krémový základ [g]	Kolagen	
			[%]	[g]
1	z	30,00	0	0
2	0,5 %	30,00	0,5	0,15
3	1 %	30,00	1	0,30

Vzorky byly homogenizovány ručním mícháním přibližně 5 minut v plastových kelímkách s víčkem o objemu 30 ml. Označené vzorky byly uchovávány v chladničce při cca 4 °C.

7.6 Měření in vivo

7.6.1 Soubor dobrovolníků

Experimentu se účastnilo 8 dobrovolníků (5 žen a 3 muži) ve věku 21–24 let (průměrný věk $21,9 \pm 1,0$).

Z důvodu usnadnění byli dobrovolníci rozděleni do dvou skupin. Před zahájením experimentu byly dobrovolníci seznámeni s jeho průběhem, informovány o bezpečnostních opatřeních a možných rizicích. Podepsali individuální informovaný souhlas (příloha P I) a vyplnili dotazník týkající se jejich zdravotního stavu (příloha P II). Byly také poučeny, aby po dobu trvání experimentu nepoužívaly na testovanou oblast žádné kosmetické přípravky, pouze čistou vodu, a aby tato místa sušili jemně ručníkem. V den měření jim bylo vždy připomenuto, aby se vyhnuli náročné fyzické aktivitě před samotným testem a dostavili se 15 minut před měřením z důvodu aklimatizace.

7.6.2 Organizace měření

Měření in-vivo probíhala ve dnech 21.1. – 23.1.2025 za standardních podmínek v laboratoři (průměrná teplota $22,7 \pm 0,2$ °C; průměrná vlhkost $23,5 \pm 1,5$ %).

Testované formulace byly nejprve dostatečně promíchány, aby byla zaručena rovnoměrná dispergace kolagenu, a následně naplněny do označených 2 ml injekčních stříkaček a uloženy do exsikátoru.

K odmaštění pokožky na volární straně předloktí dobrovolníků byl použit 0,5% roztok dodecylsulfátu sodného (SDS) ve fyziologickém roztoku. Připravený roztok byl nalit do Petriho misky, do které byly pomocí pinzety vloženy nastříhané proužky filtračního papíru o rozměrech 2×4 cm. Tyto proužky byly poté přiloženy na volární předloktí pravé i levé ruky dobrovolníků a zafixovány náplastí (Obrázek 11). Předúprava pokožky trvala 4 hodiny.

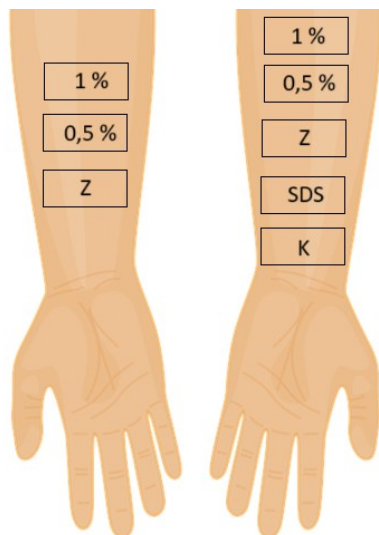


Obrázek 11 Napuštěné proužky filtračního papíru přiložené na předloktí (nalevo) a zafixované náplastmi (napravo) (zdroj: vlastní)

Po uplynutí této doby byly náplasti s filtračními papíry odstraněny a místa označena fixem.

Takto připravená místa byla před nanesením formulací proměřena v čase 0 sondami pro měření hydratace, tewametrem a sondou pro pH. Měřilo se vždy ve stejném pořadí, nejprve 15 hodnot TEWL pomocí tewametru, 5 hodnot hydratace pokožky pomocí korneometru a jedna hodnota pH pomocí pH metru. Na levé ruce bylo vždy také proměřeno místo přirozeného stavu pokožky (kontrola) a místo předúpravy (SDS).

Po prvním proměření byly nanесeny jednotlivé formulace. Všechny tři formulace byly nanесeny jak na levé, tak na pravé volární předloktí z důvodu získání většího souboru dat a zmírnění odchylek. Na každé označené místo bylo injekční stříkačkou aplikováno 1 ml formulace, která byla následně rozetřena plastovou tyčinkou do rovnoměrné vrstvy po celé ploše.



Obrázek 12 Aplikační schéma (K – kontrola; SDS – předúprava; Z – formulace 1 (základ); 0,5 % – formulace 2; 1 % – formulace 3) (zdroj: vlastní)

U všech dobrovolníků byl dodržen postup vždy stejně a měření probíhala v časových intervalech po 1, 2, 3, 4 a 24 hodinách od aplikace.

8 VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUZE

8.1 Zpracování naměřených dat

Všechna naměřená data byla zpracována v programu Microsoft Office Excel. Od každého dobrovolníka byly získány vždy jedna hodnota kontroly a předúpravy a dvě hodnoty pro každou ze tří formulací. Vyhodnocení z jednotlivých časů probíhalo následovně:

Hydratace – byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka ze tří naměřených hodnot (nejvyšší a nejnižší hodnoty byly zanedbány).

TEWL – z 15 naměřených hodnot bylo vždy prvních 5 zanedbáno z důvodu vyrovnávání teploty uvnitř komůrky sondy a teploty povrchu pokožky. Z 10 hodnot byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

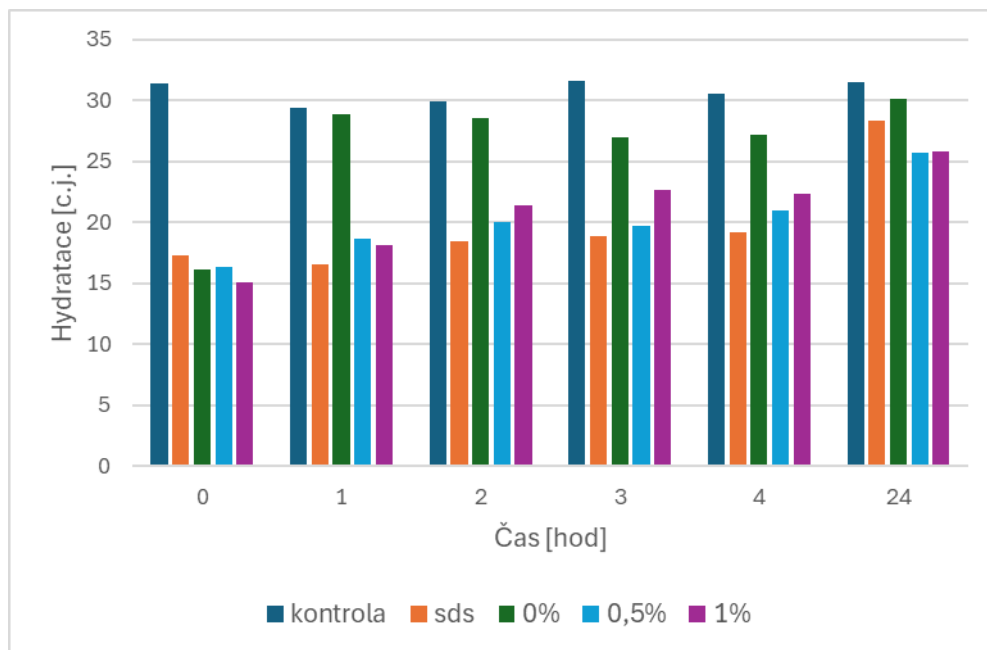
pH – byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

8.2 Vyhodnocení hydratace

V této části jsou shrnuty výsledky z měření hydratace u krémových formulací. Hodnoty hydratace formulací se směrodatnými odchylkami jsou shrnuty v Tabulce 5. Na Obrázku 13 je vidět porovnání vlivu formulací na hydrataci s kontrolou a předúpravou (SDS).

Tabulka 5 Naměřen hodnoty hydratace

Čas [hod]	Hodnoty hydratace [c. j.]				
	Kontrola	SDS	Formulace 1 0 % kolagenu	Formulace 2 0,5 % kolagenu	Formulace 3 1 % kolagenu
0	31,4 ± 9,1	17,3 ± 3,7	16,2 ± 3,5	16,4 ± 3,8	15,1 ± 3,6
1	29,4 ± 7,3	16,5 ± 3,1	28,8 ± 4,5	18,6 ± 4,4	18,2 ± 6,7
2	30,0 ± 6,7	18,5 ± 3,3	28,6 ± 5,4	20,1 ± 5,6	21,4 ± 7,5
3	31,6 ± 6,9	18,9 ± 2,2	27,0 ± 4,9	19,7 ± 5,0	22,6 ± 6,3
4	30,5 ± 7,7	19,1 ± 3,5	27,2 ± 6,2	21,1 ± 4,9	22,3 ± 4,6
24	31,5 ± 7,1	28,3 ± 8,4	30,1 ± 7,6	25,8 ± 5,7	25,8 ± 5,2



Obrázek 13 Závislost hydratace na čase

Před samotným měřením hydratačního efektu připravených formulací aplikovaných na volární stranu předloktí probandů byla provedena předúprava pokožky odmaštěním pomocí roztoku SDS. Cílem bylo minimalizovat individuální rozdíly v charakteru pokožky v místě měření. Po odmaštění pokožky roztokem SDS byly naměřeny nejnižší hodnoty hydratace v průběhu celého experimentu, viz Tabulka 5. Roztok SDS způsobil významné snížení hydratace. Podle stupnice uvedené v Tabulka 1 lze tento stav pokožky charakterizovat jako velmi suchý. V průběhu experimentu bylo pozorováno postupné zvyšování hydratace v odmaštěném místě, což odpovídá přirozené regeneraci pokožky a obnovení vlhkosti.

Nejvyšší hodnoty hydratace od hodiny 1 až po 24 hodin mezi všemi testovanými formulacemi dosahovala formulace 1 (základ bez přídavku kolagenu – 0 %). Hodnoty hydratace této formulace se velmi přibližovaly hodnotám kontrolního vzorku. Lze tedy konstatovat, že samotný krémový základ podporuje hydrataci pokožky na úroveň normálního stavu. V časovém rozmezí 1–24 hodin byly hodnoty hydratace u této formulace relativně stabilní.

U formulací 2 a 3, tedy u základu s přídavkem 0,5 % a 1 % kolagenu, bylo patrné, že přítomnost kolagenu zpomaluje zvyšování hydratace ve srovnání s formulací 1. Přestože hydratace během 24 hodin postupně rostla, i po 24 hodinách zůstávaly hodnoty relativně nízké. Výsledky tedy naznačují, že formulace 2 a 3 negativně ovlivňují jak rychlost, tak i výslednou úroveň hydratace ve srovnání s kontrolním vzorkem.

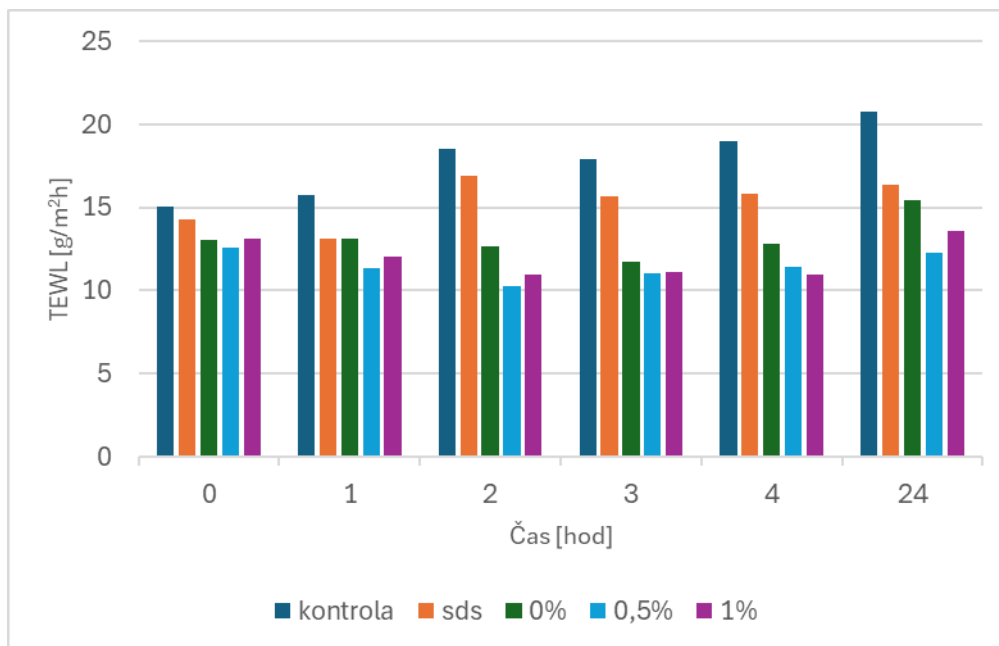
Odborná literatura [37; 38; 39] uvádí, že krémy s vyšším obsahem kolagenu zvyšují hydrataci pokožky výrazně efektivněji než kontrolní formulace bez přídavku kolagenu. Tento výsledek však nebyl potvrzen našimi měřeními, což může být způsobeno nízkou koncentrací kolagenu v testovaných vzorcích. Lze předpokládat, že k dosažení obdobného hydratačního účinku by bylo zapotřebí použít formulace s obsahem kolagenu vyšším než 1 %.

8.3 Vyhodnocení transepidermální ztráty vody

Zde jsou shrnuty výsledky z měření transepidermální ztráty vody u krémových formulací. Hodnoty TEWL formulací se směrodatnými odchylkami jsou shrnuty v Tabulce 6. Na Obrázku 14 je vidět porovnání vlivu formulací na hydrataci s kontrolou a předúpravou (SDS).

Tabulka 6 Naměřené hodnoty TEWL

Čas [hod]	Hodnoty TEWL [g/m ² h]				
	Kontrola	SDS	Formulace 1 0 % kolagenu	Formulace 2 0,5 % kolagenu	Formulace 3 1 % kolagenu
0	15,1 ± 4,8	14,3 ± 2,3	13,1 ± 3,5	12,6 ± 2,9	13,1 ± 2,9
1	15,8 ± 11,1	13,2 ± 4,1	13,1 ± 3,5	11,4 ± 1,7	12,0 ± 5,4
2	18,5 ± 9,1	16,9 ± 7,7	12,6 ± 4,5	10,2 ± 1,6	10,9 ± 1,5
3	17,9 ± 9,9	15,7 ± 8,2	11,7 ± 2,2	11,0 ± 1,8	11,1 ± 2,6
4	19,0 ± 9,2	15,8 ± 6,1	12,8 ± 4,3	11,4 ± 2,2	11,0 ± 1,8
24	20,7 ± 14,3	16,4 ± 11,9	15,5 ± 10,1	12,3 ± 5,5	13,6 ± 7,4



Obrázek 14 Závislost TEWL na čase

Kontrola vykazovala nejvyšší hodnoty TEWL napříč všemi časy, přičemž docházelo k postupnému zvyšování hodnot až na více než 20 g/m²h po 24 hodinách. To odpovídá normálnímu stavu pokožky podle hodnot uvedených v Tabulce 2, ale zvyšující se trend signalizuje postupné oslabování bariérové funkce pokožky.

Hodnoty TEWL pro SDS se pohybovaly na rozhraní dobrého a normálního stavu pokožky, což ukazuje na částečné poškození bariéry, jak je pro SDS typické.

Hodnoty TEWL pro formulaci 1 s 0 % kolagenu byly relativně stabilní po celou dobu měření, růst hodnot nastal až po 24 hodinách, a kolísaly mezi dobrým a normálním stavem pokožky.

Formulace 2 a 3 s 0,5 % a 1 % kolagenu vykazovaly nejnižší hodnoty TEWL, stabilně v rozmezí dobrého stavu pokožky. Hodnoty od odmaštění (tedy času 0) nejprve klesaly a po 2. hodině se ustálily. Tyto vzorky dosahovaly hodnot kolem 10–13 g/m²h, což odpovídá velmi dobré bariérové funkci kůže bez známek oslabení ani po 24 hodinách.

Výsledky měření TEWL ukazují, že přídavek kolagenu v koncentraci 0,5 % a 1 % výrazně zlepšuje stav kožní bariéry, což je v souladu s literárními údaji o vlastnostech kolagenu [38; 39]. Jeho ochranný efekt lze přičítat schopnosti vázat vodu a vytvářet na povrchu pokožky ochranný film, který omezuje transepidermální ztrátu vody.

Formulace bez přídavku kolagenu (0 %) vykazovala mírně lepší hodnoty než SDS, ale stále nebyla schopna zachovat optimální úroveň bariérové funkce po delší dobu. Tento výsledek

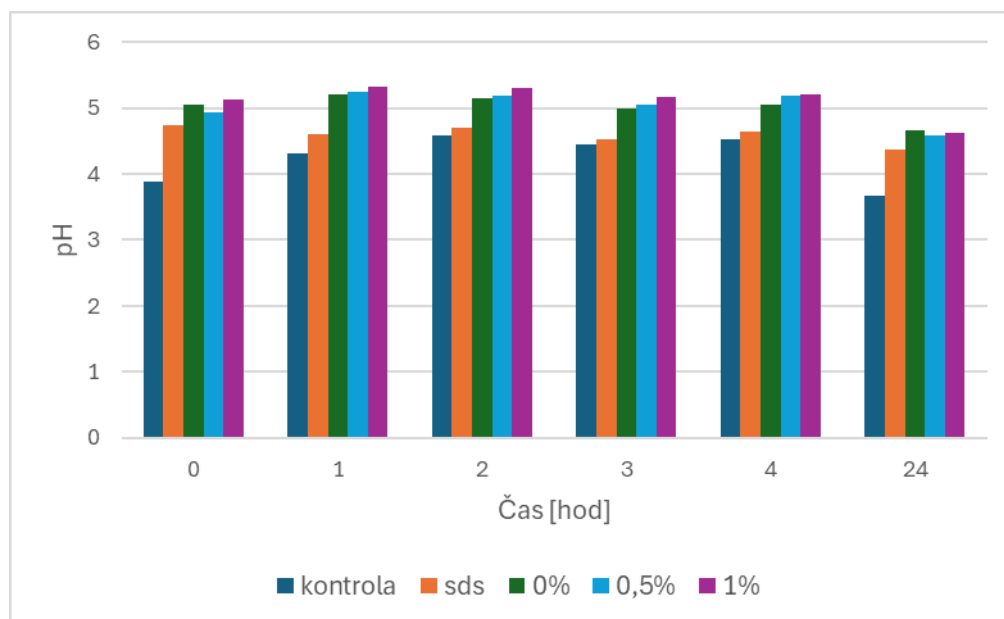
ukazuje, že samotné složení formulace bez kolagenu neposkytuje dostatečnou ochranu proti TEWL.

8.4 Vyhodnocení pH

Jako poslední jsou shrnuty výsledky z pH u krémových formulací. Hodnoty pH formulací se směrodatnými odchylkami jsou shrnuty v Tabulce 7. Na Obrázku 15 je vidět porovnání vlivu formulací na hydrataci s kontrolou a předúpravou (SDS).

Tabulka 7 Naměřené hodnoty pH

Čas [hod]	Hodnoty pH				
	Kontrola	SDS	Formulace 1 0 % kolagenu	Formulace 2 0,5 % kolagenu	Formulace 3 1 % kolagenu
0	3,9 ± 0,6	4,7 ± 0,5	5,1 ± 0,5	4,9 ± 0,7	5,1 ± 0,4
1	4,3 ± 0,8	4,6 ± 0,4	5,2 ± 0,3	5,2 ± 0,2	5,3 ± 0,2
2	4,6 ± 0,4	4,7 ± 0,4	5,1 ± 0,3	5,2 ± 0,3	5,3 ± 0,2
3	4,4 ± 0,4	4,5 ± 0,3	5,0 ± 0,3	5,0 ± 0,3	5,2 ± 0,2
4	4,5 ± 0,4	4,6 ± 0,4	5,0 ± 0,4	5,2 ± 0,3	5,2 ± 0,2
24	3,7 ± 1,0	4,4 ± 0,5	4,7 ± 0,5	4,6 ± 0,6	4,6 ± 0,5



Obrázek 15 Závislost pH na čase

U kontroly bylo pH nejnižší ve všech časových bodech, pohybovalo se přibližně mezi 3,7 a 4,6. To odpovídá přirozenému mírně kyselému pH zdravé pokožky. Výrazný pokles pH po 24 hodinách na hodnotu pod 4 ukazuje na možné oslabení ochranné funkce pokožky.

Hodnoty pH u SDS byly vyšší než u kontroly, ale stále mírně klesaly v čase. Zvýšené pH po aplikaci SDS je typické a souvisí s narušením ochranné kyselé vrstvy pokožky, což může podporovat její podráždění a zhoršení bariérové funkce.

Formulace 1 s 0 % kolagenu vykazovala vyšší hodnoty pH než kontrola a SDS, pohybující se kolem 5, a byla poměrně stabilní v průběhu celého měření. To naznačuje lepší schopnost zachovat přirozenou ochrannou kyselost pokožky ve srovnání se samotným SDS.

Formulace 2 a 3 obsahující 0,5 % a 1 % kolagenu vykazovaly nejvyšší hodnoty pH, přibližně 4,9 až 5,3, a hodnoty byly stabilní až do 4. hodiny. I po 24 hodinách byl pokles pH méně výrazný. To naznačuje, že přídavek kolagenu pomáhá udržet stabilnější pH pokožky a podporuje regeneraci ochranné kyselé vrstvy.

Výsledky tedy ukazují, že formulace 2 a 3 přispívají k udržení optimálního pH pokožky, což je klíčové pro její zdraví a ochranu před mikrobiální kolonizací a podrážděním. Kolagen tedy významně přispívá k ochraně a regeneraci pokožky, jak uvádí literatura [40].

9 ZHODNOCENÍ PŘÍNOSŮ PRÁCE

Tato práce potvrdila náš předpoklad ohledně využití hydrolyzovaného kolagenu. Poptávka po přírodních a účinných složkách, jako je kolagen, nadále roste. Výrobky obsahující přírodní kolagen bývají vnímány jako prémiové, což firmám umožňuje vytvořit produkty s vyšší přidanou hodnotou a potenciálně vyšší marží. Navíc narůstá počet spotřebitelů, kteří preferují produkty s transparentním původem surovin a udržitelným způsobem výroby. Doplněním o krémový základ obsahující hydrolyzovaný tuk by mohl vzniknout komplexní produkt z vedlejších živočišných surovin. Takový výrobek by byl v současnosti atraktivní položkou na trhu, protože spotřebitelé stále více upřednostňují udržitelné produkty. Zároveň by zaujal i příznivce cirkulární ekonomiky a ty, kteří se snaží omezit plýtvání zdroji. Mezi potenciální slabiny však patří negativní postoj části veřejnosti zaměřené na ochranu zvířat, sezónní dostupnost surovin a omezený počet zařízení vhodných pro zpracování zvěře. Otevírá prostor pro inovace v oblasti funkčních potravin, výživových doplňků nebo kosmetických přípravků.

Hydrolyzovaný tuk díky svým vlastnostem nachází uplatnění jak v potravinářském, tak v kosmetickém průmyslu. V potravinářství slouží jako energeticky bohatá surovina pro výrobu pomazánek, masových konzerv, paštik či polotovarů, kde kromě výživové hodnoty zlepšuje konzistenci a chuť finálního produktu. V kosmetice pak funguje jako složka změkčující pokožku, pomáhá udržovat její hydrataci a zajišťuje lepší roztíratelnost krémů.

ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce byly úspěšně připraveny hydrolyzovaný kolagen z jeleních šlach a hydrolyzovaný tuk z dančí tukové tkáně jako vedlejší produkty ze zpracování zvěřiny. Tyto suroviny byly následně využity k vytvoření kosmetických formulací, jejichž účinnost byla ověřena pomocí měření biofyzikálních parametrů pokožky.

Výsledky in vivo testování prokázaly, že přídavek hydrolyzovaného kolagenu v koncentraci 0,5 % a 1 % vede ke snížení transepidermální ztráty vody (TEWL) a stabilizaci pH na hodnotách blízkých fyziologickému rozmezí. Formulace s kolagenem vykazovaly lepší výsledky než základní, pouze v případě měření hydratace vycházel základ lépe než formulace obsahující kolagen. Tento pozitivní vliv lze přičíst schopnosti kolagenu vázat vodu a podporovat obnovu přirozené kožní bariéry.

Výsledky této práce tak potvrdily potenciál vedlejších produktů ze zvěřiny, tedy hlavně hydrolyzovaného kolagenu, pro výrobu vysoce funkčních kosmetických produktů. Využití hydrolyzovaného tuku, by se dalo dále využít, kromě potravinářských účelů, k vytvoření netradičního krémového základu, ve kterém by byl hydrolyzovaný tuk obsažen v emulzi. Problémem této myšlenky by mohl být typický zápach tuku ze zvěřiny a zabarvení. Ukázalo se, že zpracováním těchto surovin lze dosáhnout přidané hodnoty a přispět k udržitelnému hospodaření s přírodními zdroji v duchu cirkulární ekonomiky.

Práce tak otevírá možnosti dalšího rozvoje v oblasti aplikace hydrolyzovaného kolagenu a hydrolyzovaného tuku nejen v kosmetice, ale také v dalších oblastech. Zajímavým navázáním by mohlo být kromě přípravy krémového základu z hydrolyzovaného tuku také porovnat hydrolyzovaný kolagen ze zvěřiny s jinými hydrolyzovanými kolageny například z ryb.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ALMAADEED, M. A. A.; DEEPALEKSHMI, P. a CARIGNANO, M. A. *Polymer Science and Innovative Applications - Materials, Techniques, and Future Developments*. Online. Elsevier, 2020. ISBN 978-0-12-816808-0. Dostupné z: https://app.knovel.com/kn/resources/kpPSIAMTF3/toc?b-q=natural%20polymer%20characterization&cid=kpPSIAMTF3&include_synonyms=no. [cit. 2025-02-10].
- [2] MYER, E. *Plastics Failure Guide - Cause and Prevention*. Online. 2nd Edition. Hanser Publishers, 2013. ISBN 978-1-56990-449-7. Dostupné z: https://app.knovel.com/kn/resources/kpPFGCPE01/toc?b-q=Natural%20polymers&cid=kpPFGCPE01&include_synonyms=no. [cit. 2025-02-10].
- [3] JAIN, M.; AMERA, G. M.; MUTHUKUMARAN, J. a SINGH, A. K. Insights into biological role of plant defense proteins: A review. Online. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2022, roč. 40. ISSN 18788181. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102293>. [cit. 2024-11-15].
- [4] *Food Proteins and Peptides Chemistry, Functionality, Interactions, and Commercialization*. Online. Boca Raton: CRC Press, 2012. ISBN 9780429147241. Dostupné z: <https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.1201/b11768/food-proteins-peptides-navam-hettiarachchy-maurice-marshall-arvind-kannan-kenji-sato?refId=bf709525-096c-4b28-a6c7-aceed5bc338c&context=ubx>. [cit. 2024-11-13].
- [5] MCMURRY, J. *Organická chemie*. Překlady vysokoškolských učebnic. V Brně: Vysoké učení technické, Nakladatelství VUTIUM, 2007. ISBN 978-80-7080-637-1.
- [6] CAMPOS, Luana Dias; SANTOS JUNIOR, L. D.; PIMENTEL, V. de A.; CARREGÃ, J. D.; CAZARIN, G. L. F. et al. Collagen supplementation in skin and orthopedic diseases: A review of the literature. Online. *Heliyon*. 1999, roč. 9, č. 4, s. 1-2. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14961>. [cit. 2025-02-11].
- [7] WANG, H. A Review of the Effects of Collagen Treatment in Clinical Studies. Online. *Polymers*. 2021, roč. 13, č. 22, s. 1-2. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13223868>. [cit. 2025-02-11].
- [8] MA, L.; LIANG, X.; YU, S. a ZHOU, J. Expression, characterization, and application potentiality evaluation of recombinant human-like collagen in *Pichia pastoris*. Online. *Bioresources and Bioprocessing*. 2022, roč. 9, č. 1, s. 1-2. ISSN 2197-4365. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00606-3>. [cit. 2025-02-11].
- [9] PETERKOVÁ, P. a LAPČÍK JR., L. Kolagen - Vlastnosti, Modifikace a Aplikace. *Chemické listy*. 2000, roč. 94, č. 6, s. 1-2. ISSN 1213-7103.
- [10] PATEL, K.; MUNIR, D. a SANTOS, R. M. Beneficial use of animal hides for abattoir and tannery waste management: a review of unconventional, innovative, and sustainable approaches. Online. *Environmental Science and Pollution Research*. 2022, roč. 29, č. 2, s. 1807-1823. ISSN 0944-1344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17101-5>. [cit. 2025-03-25].
- [11] AL HAJJ, W.; SALLA, M.; KRAYEM, M.; KHALED, S.; HASSAN, H. F. et al. Hydrolyzed collagen: Exploring its applications in the food and beverage industries and assessing its impact on human health – A comprehensive review. Online. *Heliyon*.

- 2024, roč. 10, č. 16, s. 1-6. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36433>. [cit. 2025-03-04].
- [12] HONG, H.; FAN, H.; CHALAMAIAH, M. a WU, J. Preparation of low-molecular-weight, collagen hydrolysates (peptides): Current progress, challenges, and future perspectives. Online. *Food Chemistry*. 2019, roč. 301, č. 125222, s. 1-5. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125222>. [cit. 2025-03-04].
- [13] YE, Z.; XU, Y.-J. a LIU, Y. Influences of dietary oils and fats, and the accompanied minor content of components on the gut microbiota and gut inflammation: A review. Online. 2021, roč. 113, s. 255-276. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.001>. [cit. 2024-11-15].
- [14] *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Fourth Edition*. Online. 4th Edition. CRC Press, 2017. ISBN 9781315151854. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9781315151854>. [cit. 2024-11-15].
- [15] *The chemical structure of a triglyceride, showing the glycerol backbone and three attached fatty acids*. Online. In: Open Oregon. Dostupné z: <https://openoregon.pressbooks.pub/nutritionscience/chapter/5b-lipid-types-structures/>. [cit. 2025-02-18].
- [16] *Formulating and Processing for Applications, Third Edition*. Online. 3rd Edition. Boca Raton: CRC Press, 2012. ISBN 9780429148064. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9781420061673>. [cit. 2024-10-23].
- [17] SHARMA, H. a GOSWAMI, M. Animal fat-Processing and Its Quality Control. Online. *Food Processing & Technology*. 2013, roč. 04, č. 08, s. 1-2. ISSN 21577110. Dostupné z: <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000252>. [cit. 2024-10-30].
- [18] HERNANDEZ, E. M. a KAMAL-ELDIN, A. *Processing and Nutrition of Fats and Oils*. Online. John Wiley, 2013. ISBN 9781118528761. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781118528761>. [cit. 2024-12-12].
- [19] BOECK, H. *Expanding and Expelling*. Online. AOCS. AOCS. Dostupné z: <https://www.aocs.org/resource/expanding-and-expelling/>. [cit. 2025-02-18].
- [20] CROWN IRON WORKS COMPANY. *Solvent Extraction*. Online. AOCS. AOCS. Dostupné z: <https://www.aocs.org/resource/solvent-extraction/>. [cit. 2025-02-18].
- [21] ALM, M. *Animal Fats*. Online. AOCS. AOCS. Dostupné z: <https://www.aocs.org/resource/animal-fats/>. [cit. 2025-02-18].
- [22] *BAILEY'S INDUSTRIAL OIL AND FAT PRODUCTS*. Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2005. ISBN 0-471-38460-7.
- [23] COWAN, W. D. *Enzymatic Interesterification*. Online. AOCS. AOCS. Dostupné z: <https://www.aocs.org/resource/enzymatic-interesterification/>. [cit. 2025-02-18].
- [24] NOVOTNÁ, T.; MOKREJŠ, P.; PAVLAČKOVÁ, J. a GÁL, R. Study of Processing Conditions during Enzymatic Hydrolysis of Deer By-Product Tallow for Targeted Changes at the Molecular Level and Properties of Modified Fats. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024, roč. 25, č. 7, s. 1-5. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms25074002>. [cit. 2024-11-27].
- [25] KILAR, J. a KASPRZYK, A. Fatty Acids and Nutraceutical Properties of Lipids in Fallow Deer (*Dama dama*) Meat Produced in Organic and Conventional Farming Systems. Online. *Foods*. 2021, roč. 10, č. 10, s. 1-2. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods10102290>. [cit. 2025-03-25].

- [26] CHAKANYA, C.; DOKORA, A.-E.-M.; MUCHENJE, V. a HOFFMAN, L. C. The fallow deer (*Dama spp.*); endangered or not? Online. *Der Zoologische Garten*. 2016, roč. 85, č. 3-4, s. 160-172. ISSN 00445169. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.zoolgart.2015.11.002>. [cit. 2024-12-12].
- [27] NOVOTNÁ, T.; MOKREJŠ, P.; PAVLAČKOVÁ, J. a GÁL, R. *Potenciál nevyužitých vedlejších živočišných produktů tukové povahy ze zvěřiny*. 2024.
- [28] COURAGE + KHAZAKA ELECTRONIC GMBH. *Basic Probes Systems – MPA, MDD, Wireless*. Online. Courage + Khazaka electronic GmbH. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.com/en/scientific-products/multi-probe-adapter-basic-systems>. [cit. 2025-02-12].
- [29] SRNEC, A. *Studium účinnosti formulací s obsahem kolagenního hydrolyzátu in vivo*. Bakalářská práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2020.
- [30] HAMED, S, H.; ALTRABSHEH, B.; ASSA'D, T.; JARADAT, S.; ALSHRA'AH, M. et al. Construction, in vitro and in vivo evaluation of an in-house conductance meter for measurement of skin hydration. Online. *Medical Engineering & Physics*. 2012, roč. 34, č. 10, s. 1471-1476. ISSN 13504533. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2012.02.008>. [cit. 2025-03-04].
- [31] KLAASSEN, M.; DE VRIES, E.G. a MASEN, M.A. Interpersonal differences in the friction response of skin relate to FTIR measures for skin lipids and hydration. Online. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2020, roč. 189, č. 110883, s. 1-2. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110883>. [cit. 2025-03-04].
- [32] COURAGE + KHAZAKA ELECTRONIC GMBH. *Corneometer CM 825*. Online. Courage + Khazaka electronic GmbH. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.com/en/scientific-products/corneometer-cm-825>. [cit. 2025-02-12].
- [33] SCHOENFELDER, H.; LIU, Y. a LUNTER, D. J. Systematic investigation of factors, such as the impact of emulsifiers, which influence the measurement of skin barrier integrity by in-vitro trans-epidermal water loss (TEWL). Online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023, roč. 638, s. 1-2. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122930>. [cit. 2025-03-04].
- [34] *Tewameter TM Hex*. Online. Courage + Khazaka electronic GmbH. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.com/en/scientific-products/tewameter-tm-hex>. [cit. 2025-02-12].
- [35] COURAGE + KHAZAKA ELECTRONIC GMBH. *Skin-pH-Meter PH 905*. Online. Courage + Khazaka electronic GmbH. Dostupné z: <https://www.courage-khazaka.com/en/scientific-products/skin-ph-meter-ph-905>. [cit. 2025-02-12].
- [36] DVOŘÁK, J. *Vedlejší produkty ze zpracování zvěřiny jako netradiční zdroj kolagenu*. Diplomová práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2022.
- [37] TONG, M.; ZHANG, X.; ZHONG, J.; XIE, Q. a XIONG, S. Sources and types of collagens used in the cosmetic industry. Online. *Journal of Dermatologic Science and Cosmetic Technology*. 2025, roč. 2, č. 1, s. 5-6. ISSN 2950306X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jdsct.2025.100068>. [cit. 2025-04-28].
- [38] DE MIRANDA, R. B.; WEIMER, P. a ROSSI, R. C. Effects of hydrolyzed collagen supplementation on skin aging: a systematic review and meta-analysis. Online. *International Journal of Dermatology*. 2021, roč. 60, č. 12, s. 1449-1461. ISSN 0011-9059. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ijd.15518>. [cit. 2025-04-28].

- [39] BOLKE, L.; SCHLIPPE, G.; GERSS, J. a VOSS, W. A Collagen Supplement Improves Skin Hydration, Elasticity, Roughness, and Density: Results of a Randomized, Placebo-Controlled, Blind Study. Online. *Nutrients*. 2019, roč. 11, č. 10. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu11102494>. [cit. 2025-04-28].
- [40] LAMBERS, H.; PIESENS, S.; BLOEM, A.; PRONK, H. a FINKEL, P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. Online. *International Journal of Cosmetic Science*. 2006, roč. 28, č. 5, s. 359-370. ISSN 0142-5463. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x>. [cit. 2025-04-28].

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – a. trojřetězcová helikální struktura; b. schématicky znázorněná trojřetězcová helikální struktura [10].....	15
Obrázek 2 Denaturace nativního kolagenového proteinu na malé peptidy s nízkou molekulovou hmotností.[11].....	16
Obrázek 3 Obecný postup výroby hydrolyzovaného kolagenu kombinovanou metodou[11]	17
Obrázek 4 Obecný postup výroby hydrolyzovaného kolagenu s komerční želatinou jako surovinou[11].....	17
Obrázek 5 Struktura lipidu [15]	18
Obrázek 6 Průmyslové zpracování jedlého oleje (zdroj: vlastní)	19
Obrázek 7 stanice MPA 10 (<i>zdroj: vlastní</i>)	26
Obrázek 8 sonda Corneometr CM 825 (<i>zdroj: vlastní</i>)	27
Obrázek 9 sonda Tewameter TM 300 (<i>zdroj: vlastní</i>).....	28
Obrázek 10 sonda Skin-pH-Meter pH 905 (<i>zdroj: vlastní</i>)	29
Obrázek 11 Napuštěné proužky filtračního papíru přiložené na předloktí (nalevo) a zařezané náplastmi (napravo) (<i>zdroj: vlastní</i>)	37
Obrázek 12 Aplikační schéma (K – kontrola; SDS – předúprava; Z – formulace 1 (základ); 0,5 % – formulace 2; 1 % – formulace 3) (<i>zdroj: vlastní</i>)	38
Obrázek 13 Závislost hydratace na čase	40
Obrázek 14 Závislost TEWL na čase	42
Obrázek 15 Závislost pH na čase.....	43

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Stupnice pro interpretaci korneometru [29]	27
Tabulka 2 Stupnice pro interpretaci hodnot tewametru [29]	29
Tabulka 3 Stupnice pro interpretaci pH metru [29]	30
Tabulka 4 Navážky formulací	36
Tabulka 5 Naměřen hodnoty hydratace	39
Tabulka 6 Naměřené hodnoty TEWL	41
Tabulka 7 Naměřené hodnoty pH	43

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TEWL Transepidermální ztráta vody

SDS Dodecylsulfát sodný

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Individuální informovaný souhlas

Příloha P II: Dotazník účastníka in vivo studie

PŘÍLOHA P I: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

Informovaný souhlas

V rámci realizace *in vivo* studie budou na Vaši kůži aplikovány vzorky kosmetických formulací. Všechny známé informace dovolují testování na dobrovolnících.

Cíl studie

Cílem práce je zjistit odezvu Vaší pokožky na aplikovanou formulaci pomocí exaktně změřených veličin.

Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit Dotazník účastníka *in vivo* studie. Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v dané studii.

Metodika testu

Experiment bude prováděn pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Plánovaná studie zahrnuje jednorázový otevřený kožní test (epikutánní test na vnitřní straně předloktí, podrobná metodika viz níže).

Odstoupení ze studie

Ze studie je možno odstoupit po dohodě s organizátorem studie.

Rizika a nepříjemnosti

Během práce může dojít k podráždění odpovídající lehkému připálení sluncem. Místo aplikace může zrudnout nebo zčervenat, dočasně pálit, svědit nebo se vysušit. Nejsilnější očekávanou reakcí je zrudnutí, které může být doprovázeno místním otokem. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.

Podrobná metodika studie

Zkušební zařízení:	stanice MPA 5/10 se sondami korneometr, tewametr a pH metr (výrobce zkušebních zařízení fa Courage & Khazaka electronic, Německo)
Pomůcky:	laboratorní sklo, buničina, pinzeta, náplast
Místo aplikace:	volární strana předloktí předupravená 0,5% roztokem SDS ve fyziologickém roztoku či komerční micelární voda
Počet aplikací:	jedna
Místo aplikace	volární strana předloktí
Množství aplikované emulze:	0,1 ml, plocha 8 cm ²
Trvání testu:	krátkodobé
Odstranění testované látky:	není relevantní
Intervaly odečtu:	po čtyřhodinové předúpravě SDS (mic. H ₂ O) po hodinách
Typ reakce:	změna biofyzikálních hodnot povrchu kůže
Stupeň reakce:	vyjádření hodnotou měřené veličiny
Vyhodnocení:	časová změna hodnot měřených veličin

Systém klasifikace kožní reakce

Kožní reakce bude hodnocena změnou číselných hodnot naměřených pomocí zařízení stanice MPA 5/10 se sondami korneometr (hydratace), tewametr (transepidermální ztráta vody) a pH metr (pH pokožky).

Kriteria pro zařazení do souboru účastníků studie

Předpokladem pro zařazení do souboru pokusných osob pro epikutánní testy jsou následující kritéria:

- nepřítomnost jakéhokoliv onemocnění (i nachlazení) minimálně 1 týden před zahájením testu
- nepřítomnost jakéhokoliv kožního onemocnění (např. *psoriasis*, ekzém, rakovina kůže, jiné dermatitidy)
- nepřítomnost kožních abnormalit v místě testu (např. jizvy, mateřská znaménka, zarudnutí kůže po slunění)
- osoba nesmí mít astma, ani jiné chronické respirační choroby
- osoba nesmí mít *diabetes*, který je léčený inzulínem
- osoba nesmí být léčena pro imunodeficienci nebo autoimunitní onemocnění a neužívá léky s vlivem na imunitní systém
- osoba nesmí mít v anamnéze transplantaci orgánů a léčbu zhoubných onemocnění
- osoba nesmí užívat pravidelně léky s lokálním i celkovým protizánětlivým účinkem (např. aspirin, ibuprofen, kortikoidy)
- osoba musí být bez alergologické anamnézy
- vyloučeny jsou ženy těhotné nebo v laktaci
- vyloučena je osoba, která se současně zúčastňuje jakékoli jiné klinické studie nebo tato studie byla ukončena v době kratší než 14 dní před zahájením testu

Kriteria pro vyřazení ze souboru účastníků studie

Ze souboru pokusných osob pro epikutánní testy je vyřazena osoba, pokud:

- nedodržuje podmínky práce
- na vlastní žádost ukončí svou účast v testu
- změní se její zdravotní stav natolik, že by tím mohl být ovlivněn výsledek testu
- dojde u ní k navození takové situace a podmínek, které mohou ovlivnit výsledek experimentu

Prohlášení účastníka studie

Souhlasím se svou účastí ve studii, která mi byla popsána a která bude vedena kvalifikovanými pracovníky Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Beru na vědomí, že experiment může zahrnovat riziko nežádoucích účinků na kůži. Toto riziko mi bylo detailně objasněno a mohl(a) jsem se informovat o všech podrobnostech experimentu.

Vím, že mohu kdykoliv odvolat svůj souhlas s účastí v experimentu a mohu kdykoliv odstoupit od své účasti v dané studii.

Mohu si vyžádat další informace o experimentu a oznámit nežádoucí účinky u vedoucího studie, a to kdykoliv na určeném telefonním čísle.

Souhlasím, že data získaná během studie mohou být statisticky zpracována. Veškeré údaje o průběhu a výsledcích studie, které mne mohou identifikovat, zůstanou přísně důvěrné.

Prohlašuji, že toto poučení plně chápu a podepisuji ho při plném vědomí.

.....
Jméno a příjmení:

.....
podpis účastníka studie

Tel. kontakt účastníka studie:

Ve Zlíně dne

Souhlas se zpracováním osobních údajů

Já níže podepsanýtímto uděluji UTB ve Zlíně, TGM 5555, 760 01 Zlín souhlas se zpracováním mých osobních údajů, které jsem této organizaci poskytl(a) za účelem mé účasti v *in vivo* studii.

.....
Jméno a příjmení:

.....
podpis účastníka studie

Tel. kontakt účastníka studie:

Ve Zlíně dne

PŘÍLOHA P II: DOTAZNÍK ÚČASTNÍKA IN VIVO STUDIE

Dotazník účastníka *in vivo* studie

Věk:
Pohlaví:

Současný zdravotní stav:

Vyskytuje se u Vás nyní:	ano	ne	jaké
lupénka			-----
ekzém			-----
rakovina kůže			-----
jiné kožní problémy a onemocnění			
jizvy, mateřská znaménka, jiné vady kůže v místě testu			-----
zarudnutí kůže po slunění nebo z jiného důvodu v místě testu			-----
astma vyžadující denní příjem léků			-----
jiné chronické respirační onemocnění			
diabetes vyžadující léčbu inzulinem			-----
onemocnění imunitního systému			

Zdravotní stav v minulosti

Prodělal(a) jste:	ano	ne
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

Užívání léků

Berete či používáte pravidelně:	ano	ne	jaké
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

Alergologická léčba

Probíhá u vás v současné době:	ano	ne	jaká
alergologická léčba (kapky, injekce, apod.)			
dostali jste poslední dávku během minulého týdne			-----
očekáváte další dávky v průběhu studie			-----

Pouze pro ženy

Jste:	ano	ne
těhotná nebo kojící		

Alergie

Projevila se u vás někdy alergie na:	specifikujte:
detergenty a čisticí prostředky	
kosmetické přípravky a vůně parfémů	
přípravky do koupele a na mytí (šampón, mýdlo)	
pleťové krémy a mléka, lotiony	
antiperspiranty a deodoranty	
léky	
jiné materiály	

Doplňující údaje

Zdravotní stav:	specifikujte:
používáte pravidelně jakýkoliv přípravek pro léčbu kůže	
používáte pravidelně jakékoliv léčivo (na předpis, či volně prodejné)	
navštěvujete v současné době lékaře kvůli:	
alergiím	
kožním problémům	
z jiného důvodu	
máte nějaké jiné zdravotní potíže	

Účast v dalších studiích

Studie:	Typ studie:	Datum poslední studie:
účastnil(a) jste se někdy kožního testu	-----	
účastníte se v současné době jiné studie jakéhokoliv druhu		

Datum:

Pouze pro účely organizátora měření

Na základě zjištěných údajů je účastník a) přijat
b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum:

Podpis organizátora studie: