

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2016-788

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **13.12.2016**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **25.07.2018**

(Věstník č. 30/2018)

A61K 31/726 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61K 38/01 (2006.01)
A61K 38/02 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
C08B 37/08 (2006.01)
C07K 1/12 (2006.01)
C07C 211/00 (2006.01)

(71) Přihlašovatel:
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Praha 6, CZ
EcoFuel Laboratories s.r.o., Praha 9 - Libeň, CZ
RABBIT Trhový Štěpánov a.s., Trhový Štěpánov,
CZ

látek je zpracována v jednom kroku představujícím
hydrolyzu jedním enzymem.

(72) Původce:
prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc., Praha 13, CZ
doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D., Praha 6, CZ
Ing. Hana Stiborová, Ph.D., Praha 6, CZ
Ing. Petr Kaštánek, Ph.D., Praha 2, CZ
Ing. Olga Kromusová, Praha 5, CZ
Ing. Tomáš Fulín, Divišov, CZ
Ing. Zdeněk Jandajsek, CSc., Loket, CZ

(54) Název přihlášky vynálezu:
**Využití zbytku po strojním oddělení
drůbežího masa pro přípravu směsi
obsahující bioaktivní látky**

(57) Anotace:
Hlavním významem technického řešení je využití
odpadu vzniklého v drůbežářském průmyslu po
strojním oddělení drůbežího masa k přípravě směsi
bioaktivních látek obsahující chondroitin sulfát,
kyselinu hyaluronovou, nízkomolekulární peptidy a
volné aminokyseliny. Výše zmíněný odpad
obsahuje jednak zbytky chrupavek, které jsou
bohatým zdrojem chondroitin sulfátu, dále pak
kůži, která je bohatá na kyselinu hyaluronovou,
chondroitin sulfát, kolagen, a současně obsahuje
zbytky masa (bílkovin), které pak jsou zdrojem
bioaktivních peptidů a aminokyselin vznikajících
během hydrolyzy pomocí enzymů s proteolytickou
aktivitou. Ve výsledném produktu je bohaté
zastoupení uvedených bioaktivních komponentů.
Výchozí surovina je odpadem, resp. vedlejším
produktem průmyslové výroby a jako vstupní
surovina tak představuje minimální finanční
náklady. Na výsledný směsný produkt bioaktivních

CZ 2016 - 788 A3

Využití zbytku po strojním oddělení drůbežího masa pro přípravu směsi obsahující bioaktivní látky

Oblast techniky

Vynález se týká využití zbytků po strojním oddělení drůbežího masa pro přípravu produktu obsahujícího bioaktivní látky - kyselinu hyaluronovou, chondroitin sulfát, nízkomolekulární peptidy a volné aminokyseliny, využitelného pro přípravu výrobků s chondroprotektivními, regeneračními a posilujícími účinky.

Dosavadní stav techniky

Strojně oddělené maso (SOM) je definováno v nařízení 853/2004/ES (příloha I, čl. 1.14) jako produkt získaný strojním oddělováním masa, které zbylo po vykostění na kostech nebo z celých těl poražené drůbeže tak, že se ztratí nebo změní struktura svalových vláken. Po strojním oddělení masa vzniká tzv. separát (SOM) a zbytek po strojním oddělení masa (ZSOM), který obsahuje převážně chrupavky, kosti, kůži a menší množství tuku. ZSOM je potravinářský odpad s minimální přidanou hodnotou, v současné době se především využívá do krmiv, především pro psy [1] nebo jako hnojivo [2]. Cena za jeden kilogram odpadu po mechanické separaci masa se pohybuje v rozmezí 2-4 Kč. Proto další využití ZSOM k izolaci a přípravě směsi bioaktivních látek s vysokou přidanou hodnotou může významně přispět k zefektivnění ekonomiky drůbežářských provozů.

Chondroitin sulfát má u obratlovců centrální roli v biologických procesech; podílí se na regulaci růstových faktorů, cytokinů, chemokinů, adhezi molekul a lipoproteinů skrz specifické interakce [3]. Izolace chondroitin sulfátu byla popsána z různých živočišných zdrojů, ačkoliv komerční preparáty obsahující chondroitin sulfát jsou založeny na jeho separaci především z hovězí průdušnice, prasečí nosní přepážky, kuřecích prsních chrupavek, žraločích ploutví a rybích chrupavek [4]. Příklady patentů popisující izolaci chondroitin sulfátu z těchto zdrojů jsou např. (GB19710027157, CN105440158, WO2012159655). Chondroitin sulfát se používá především k léčbě osteoartrózy.

Kyselina hyaluronová je lineární polysacharid tvořený disacharidem obsahujícím N-acetyl-D-glucosamin a kyselinu glukuronovou. Je součástí synoviální tekutiny a tvoří jednu z hlavních složek mezibuněčné hmoty. Kyselina hyaluronová má široké uplatnění v biomedicině jako jsou oftalmologie, otolaryngologie, ortopedická aplikace a revmatologie, estetická medicína a plastická chirurgie, ale nachází uplatnění také v kosmetice [5]. Biotechnologická výroba kyseliny hyaluronové je založena především na mikrobiální kultivaci bakterií rodu *Streptococcus* (např. patenty US 7575914 B2; US 4517295 A) a izolaci z kohoutích hřebínků (US 4141973 B1).

V celém světě se zvyšuje poptávka po proteinových hydrolyzátech, protože obsahují peptidy se specifickými biologickými vlastnostmi, které jsou snáze stravitelné bez negativní imunologické odezvy, zejména pro děti. Výhodné jsou zejména hydrolyzáty z živočišných zdrojů, protože obsahují všechny esenciální aminokyseliny, které se u hydrolyzátů z rostlin musí do formulací doplňovat [6]. Proteinové hydrolyzáty jsou lépe stravitelné, než intaktní proteiny a využití nacházejí například i ve výživě sportovců [7]. Během hydrolyzy proteinů dochází k uvolnění i volných aminokyselin. Proteinový hydrolyzát získaný z drůbeží suroviny je zejména vhodný u jedinců s netolerancí k mléčné bílkovině nebo alergií k sójové bílkovině [8, 9].

Směsný produkt obsahující bioaktivní látky jako je chondroitin sulfát, kyselina hyaluronová, volné aminokyseliny, peptidy a postup jejich izolace je popsán v patentech WO2012/143324 A1 a US 6780841 B2. V případě obou zmíněných patentů je výchozí surovinou čistá kuřecí prsní chrupavka, která však nereprezentuje přímý odpadní materiál při zpracování drůbeže. Získání čisté kuřecí chrupavky je časově a finančně náročný proces. Naopak zde předkládané řešení je založeno na přímém využití vedlejšího odpadního produktu, zbytku po strojním oddělení masa (ZSOM), který vzniká při výrobě separátu. Zbytek po strojním oddělení masa je produkován ve velkém množství a tvoří cca 4-6% váhy kuřete. Naopak prsní chrupavka (výchozí produkt patentů WO2012/143324 A1 a US 6780841 B2) není z kostry kuřete oddělena mechanicky (strojově), ale musí se nákladně separovat, což není předmětem výše dvou uvedených patentů. Kuřecí prsní chrupavka, jako výchozí surovina, rovněž představuje pouze cca 0,3% váhy kuřete, což je 13 až 20krát méně ve srovnání s množstvím ZSOM. U výše dvou zmíněných patentů tak nejsou ostatní chrupavky a povázky, coby potenciální suroviny pro enzymatickou produkci kyseliny hyaluronové a chondroitin sulfátu, využity.

Využití ZSOM k izolaci chondroitin sulfátu bylo v nedávné době popsáno [10], ale výsledný produkt obsahoval pouze chondroitin sulfát.

Podstata vynálezu

Principem vynálezu je využití vedlejšího živočišného produktu (odpadu), zbytků po strojním oddělení drůbežího masa, pro přípravu produktu obsahující směs bioaktivních látek – kyseliny hyaluronové, chondroitin sulfátu, peptidů o molekulové hmotnosti menších než 5000 Da a volných aminokyselin.

Produkt připravený dle předkládaného vynálezu obsahuje nejen chondroitin sulfát, ale i další účinné látky, jako jsou kyselina hyaluronová, peptidy a volné aminokyseliny (Tab. 2), které zvyšují využitelnost preparátu vedle chondroprotektivních také na regenerační a posilující účinky na organismus.

Podstatou předkládaného vynálezu je způsob přípravy směsného produktu obsahujícího kyselinu hyaluronovou, chondroitin sulfát, nízkomolekulární peptidy a volné aminokyseliny, v němž se zbytky po strojním oddělení drůbežího masa podrobí sekvenci kroků: a) vytvoření směsi zbytků po strojním oddělení masa s vodou či roztokem pufru, b) zahřátí směsi, c) enzymatická hydrolýza směsi pomocí papainu, d) inaktivace enzymu, e) separace směsného produktu ze směsi po hydrolýze.

Hlavní výhodou tohoto řešení je skutečnost, že zbytky po strojním oddělení drůbežího masa obsahují jednak zbytky chrupavek, které jsou bohatým zdrojem chondroitin sulfátu, dále pak kůži, která je bohatá na zastoupení kyseliny hyaluronové, ale obsahuje rovněž chondroitin sulfát a kolagen [11], a současně zbytky masa (bílkovin), které jsou zdrojem bioaktivních peptidů a aminokyselin vznikajících hydrolýzním postupem dle předloženého vynálezu. Z těchto důvodů je výsledný produkt bohatý na zastoupení všech těchto bioaktivních komponentů. Další výhodou je, že výchozí surovina je běžným odpadem, resp. vedlejším produktem z průmyslové výroby a vstupní surovina tak představuje minimální finanční náklady a na výsledný směsný bioaktivní produkt je zpracována v jednom hydrolýzním kroku jedním enzymem.

Výhody přímého využití ZSOM podle předkládaného vynálezu oproti použití čisté kuřecí chrupavky (dokumenty WO2012/143324 A1 a US 6780841 B2) k izolaci bioaktivních látek jsou tedy především v i) nulových finančních nákladech k přípravě vstupní suroviny (ZSOM je přímý odpad vznikající při strojním oddělení masa, naopak prsní chrupavka není při zpracování kuřat z kostry kuřete oddělována mechanicky) a v ii) několikanásobně vyšším váhovém podílu vstupní suroviny z celkové váhy kuřete (ZSOM reprezentuje 13 až 20krát vyšší podíl než při využití pouze prsní chrupavky).

Objasnění výkresů

Obr. 1 znázorňuje příklad procesu izolace bioaktivních látek ze ZSOM.

Obr 2: závislost množství hydrolyzátu (jako % hm^z ZSOM) v závislosti na množství pufru a době hydrolýzy.

Obr 3: závislost množství hydrolyzátu (jako % hm^z z ZSOM) v závislosti na množství pufru a koncentraci enzymu.

Obr. 4 ve 3D projekci znázorňuje závislost doby hydrolýzy a množství pufru na množství vzniklého hydrolyzátu.

Příklady provedení vynálezu

Podle navrženého postupu vynálezu se ZSOM, tvořící typicky částice o velikosti pod 30mm, podrobí buď přímo, nebo po namletí, kupř. na frakci pod 5mm, sekvenci kroků: 1) vytvoření směsi zbytků po strojním oddělení masa s vodou či roztokem pufru, 2) zahřátí směsi, 3) enzymatická hydrolýza směsi papainem při teplotě odpovídající použitému enzymu papainu, 4) inaktivace enzymu a 5) separace směsného produktu ze směsi po hydrolýze.

Typické zastoupení bílkovin a tuků v ZSOM je uvedeno v tab. 1.

Tab. 1 Zastoupení bílkovin a tuků ve zbytku po strojním oddělení masa

Sušina (% hmot.)	Bílkoviny (% hmot.)	Tuk (% hmot.)
Ve vzorku		
37,67	21,09	9,07
V sušině	55,99	24,08

Vytvoření směsi ZSOM s vodou či roztokem pufru je s výhodou provedeno s použitím fosfátového pufru o pH 7. Vhodný poměr ZSOM : vodě či roztoku pufru je kupř. 1 : 0,5 až 2. Ohřev vzniklé směsi je realizován na teplotu kupř. v rozsahu 80 až 121 °C po dobu typicky 10 až 30 minut. Vzhledem k potenciální kontaminaci ZSOM mikroorganismy, zejména bakteriemi *Salmonella* sp., je vhodné provést ohřev na sterilizační teplotu, kupř. 121 °C a udržovat tuto teplotu po dobu 15 min.

Následně je provedena enzymatická hydrolýza proteolytickým enzymem papainem v poměru kupř. 0,01 až 0,5 dílů enzymu na 100 dílů ZSOM. Případek enzymu je realizován po ochlazení směsi na teplotu vhodnou pro vysokou aktivitu enzymu, typicky kupř. na teplotu 50 až 55 °C. Enzymatická hydrolýza je poté, s výhodou za míchání směsi, realizována po dobu potřebnou pro dosažení požadované konverze na směsný produkt, s výhodou kupř. po dobu 3 až 24 hodin.

Pro ukončení hydrolýzy je enzym inaktivován, kupř. ohřevem směsi, s výhodou na teplotu kupř. 80 až 95 °C po dobu kupř. 1 až 20 min.

Po inaktivaci enzymu je z kapalně směsi izolován směsný hydrolytický produkt, obsahující chondroitin sulfát, kyselinu hyaluronovou, nízkomolekulární peptidy a volné aminokyseliny. Izolace směsného produktu může být kupř. realizována sekvencí kroků: separace velkých fragmentů kostí přes síto – odstředění kostní drtě a nehydrolyzovaného podílu – gravitační separace tuku – filtrace kapalného podílu, s výhodou na filtru s nanesenou křemelinou – zahuštění na odparce či membránovými procesy – sušení, s výhodou sprejové či lyofilizace finálního produktu. V závislosti na čistotě a způsobu využití finálního produktu je možno některé kroky vynechat, kupř. filtraci kapalného podílu, nebo naopak přidat, kupř. ultrafiltraci či dialýzu kapalného podílu pro odstranění solí a nízkomolekulárních látek (Obr. 1).

Vzhledem k tomu, že se výchozí surovina může měnit dle toho, zda dochází k separaci masa ze hřbetů, krků, koster nebo jejich vzájemné kombinace, liší se i poměry obsahu bioaktivních látek v produktu dle výchozího složení použité suroviny.

Průmyslově se nejčastěji využívá směs hřbetů, krků a koster. Jelikož je výchozí surovina odpadní produkt z živočišné výroby, může se výtěžnost jednotlivých bioaktivních látek měnit. V tabulce 2 jsou uvedeny typické hodnoty získané zpracováním různých šarží ZSOM.

Tab. 2 Charakteristika výsledného produktu

Specifikace produktu	
Rozpustnost	Rozpustný ve vodě
pH	7-8
Vzhled	Bílý/krémový
Vůně	Bez zápachu či s vůní kuřecího bujonu
Typický obsah bioaktivních látek	mg/g lyofilizovaného produktu
Chondroitin sulfát	60-170
Kyselina hyaluronová	55-150
Peptidy (< 5000 Da)	200-700
Volné aminokyseliny	9-26
Mikrobiologická analýza	
<i>E. coli</i>	negativní
<i>Salmonella</i>	negativní

Příklad 1

500g zbytků po strojním oddělení masa, tvořeném směsí hřbetů, koster a krků, s velikostí částic do 30mm, bylo bez další mechanické úpravy smícháno s 0,5L fosfátového pufru o pH 7,57, připraveného smísením $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a KH_2PO_4 v 500ml demineralizované vody. Směs byla autoklávována 15 min při 121°C a po ochlazení na 55°C přidáno 250mg papainu (Profix 500, Kerry Food Ingredients (Cork) Ltd), směs poté míchána při 500rpm při teplotě 50°C po dobu 24h. Poté byl enzym inaktivován zahřátím směsi na teplotu 90°C, směs přelita přes sítko a odděleny hrubé kosti, jejichž hmotnost po vysušení činila 30,5g. Bylo získáno 823ml kapalné frakce, která byla odstředována po dobu 10 min při 4000rpm, čímž došlo k oddělení tuhé frakce (nehydrolyzovaný podíl a kostní sekvestry, o celkové suché hmotnosti 31,1g), tukové fáze (31,0g) a vodné fáze. Vodní fáze hydrolyzátu byla dále přefiltrována přes filtr Whatman 54, po přidavku 8g křemelinu. Bylo získáno 573g filtrátu se sušinou 98,7g/l, který byl následně zahuštěn na vakuové odparce při teplotě 60°C na 89g medovité substance, která po lyofilizaci poskytla 56g práškovitého produktu béžové barvy a slabé vůně kuřecího bujonu. Analýza tohoto produktu prokázala obsah 8hm% kyseliny hyaluronové, 12hm% chondroitin sulfátu, 47hm% peptidů a 2,6hm% volných aminokyselin. Distribuce molekulových hmotností peptidů se pohybovala do 3500 Da; převládal výskyt nízkomolekulárních peptidů od 700 do 1500 Da. Z volných aminokyselin bylo v produktu zastoupeno více než 40% esenciálních zahrnujících fenylalanin, isoleucin, leucin, methionin, valin, threonin, tryptofan, histidin a lysin.

Příklad 2

Byla provedena optimalizace podmínek hydrolýzy s tím, že bylo realizováno 14 pokusů, při nichž bylo 840g ZSOM důkladně rozemleto na částičky pod 1mm a v hnětači důkladně homogenizováno, aby byl minimalizován vliv heterogenity suroviny. V každém ze 14 experimentů pak bylo hydrolyzováno 60g homogenizovaného ZSOM. Pro optimalizaci byly zvoleny 3 nezávislé parametry, a to množství pufru (36, 84ml), množství papainu (14,4, 60mg) a doba hydrolýzy (3, 15h). Experimenty byly navrženy metodou centrálních kompozitních plánů. Jako závislé proměnné byly měřeny koncentrace kyseliny hyaluronové, chondroitin sulfátu, peptidů a volných aminokyselin v hydrolyzátu, jakož i množství hydrolyzátu. Ostatní podmínky a postup zpracování byl použit stejný jako v příkladu 1. Podmínky jednotlivých experimentů i složení produktu (práškovitého produktu po hydrolýze) uvádí tabulka 3.

Tab 3: Podmínky pokusů a výsledky

Podmínky pokusu				Složení produktu hydrolýzy					
Pokus č.	ml pufru	mg papainu	doba hydrolýzy (h)	kys. hyaluronová HA (g)	chondroitin sulfát (g)	peptidy (g)	volné aminokyseliny (g)	výtěžek směsi (% hm)	obsah HA ve směsi (% hm)
1	36	37,2	9	0,35	0,51	1,81	0,083	4,59	12,66
2	60	37,2	9	0,16	0,45	3,2	0,125	6,56	4,01
3	84	60	3	0,31	0,56	3,88	0,121	8,12	6,35
4	84	14,4	15	0,59	0,9	5,95	0,222	12,77	7,66
5	36	14,4	3	0,31	0,54	2,4	0,076	5,54	9,42
6	60	37,2	9	0,47	0,64	4,12	0,104	8,88	8,78
7	36	60	15	0,62	0,72	2,03	0,057	5,72	18,06
8	60	37,2	9	0,58	0,77	3,28	0,088	7,88	12,29
9	60	37,2	15	0,96	1,23	3,29	0,102	9,29	17,26
10	60	37,2	9	0,46	0,57	3,71	0,091	8,04	9,45
11	84	37,2	9	0,48	0,62	3,15	0,111	7,27	10,98
12	60	14,4	9	0,39	0,65	2,4	0,101	5,9	11
13	60	60	9	0,62	0,7	6,1	0,145	12,59	8,15
14	60	37,2	3	0,28	0,36	3,25	0,088	6,63	6,96

Experimenty byly následně vyhodnoceny statisticky pomocí programu Expert Design 8 a pro jednotlivé analyty v produktu byly vyhodnoceny závislosti na podmínkách pokusu. Příklad závislosti obsahu směsi účinných látek (kyseliny hyaluronové, chondroitin sulfátu, peptidů a volných aminokyselin) na množství pufru, době hydrolýzy a množství enzymu je uveden na Obr. 2 a Obr 3.

Na základě získaných závislostí byla provedena numerická optimalizace podmínek hydrolýzy ZSOM, při nichž by byla maximalizována produkce hydrolyzátu tak, aby hydrolyzátu vznikalo min. 10% vztaheno na hmotnost původního ZSOM a současně aby hydrolyzáat obsahoval minimálně 10hm% kyseliny hyaluronové. Na Obr. 4 jsou v 3D projekci znázorněny reakční podmínky, za nichž je předpoklad dosažení těchto požadavků na produkt, a to při optimální koncentraci papainu 60mg/l při zpracování 60g ZSOM. Z této optimalizace vyplývá, že při zvýšené koncentraci enzymu a zvýšení množství pufru na 84ml na 60g ZSOM je možno zkrátit dobu hydrolýzy z 24 na 15hodin.

Reference:

- [1] S.M. Murray, A.R. Patil, G.C. Fahey, N.R. Merchen, D.M. Hughes, Raw and rendered animal by-products as ingredients in dog diets, *Journal of animal science*, 75 (1997) 2497-2505.
- [2] K. Jayathilakan, K. Sultana, K. Radhakrishna, A.S. Bawa, Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review, *Journal of Food Science and Technology*, 49 (2012) 278-293.
- [3] C. Malavaki, S. Mizumoto, N. Karamanos, K. Sugahara, Recent Advances in the Structural Study of Functional Chondroitin Sulfate and Dermatan Sulfate in Health and Disease, *Connective Tissue Research*, 49 (2008) 133-139.
- [4] C. Schiraldi, D. Cimini, M. De Rosa, Production of chondroitin sulfate and chondroitin, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87 (2010) 1209-1220.
- [5] G. Kogan, L. Šoltés, R. Stern, P. Gemeiner, Hyaluronic acid: A natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications, *Biotechnology Letters*, 29 (2007) 17-25.
- [6] N. Bhaskar, V.K. Modi, K. Govindaraju, C. Radha, R.G. Lalitha, Utilization of meat industry by products: Protein hydrolysate from sheep visceral mass, *Bioresource Technology*, 98 (2007) 388-394.
- [7] A.H. Manninen, Protein hydrolysates in sports nutrition, *Nutrition & Metabolism*, 6 (2009) 38-38.
- [8] S. Freier, B. Kletter, I. Gery, E. Lebenthal, M. Geifman, Intolerance to milk protein, *The Journal of Pediatrics*, 75 (1969) 623-631.
- [9] D. Mittag, S. Vieths, L. Vogel, W.-M. Becker, H.-P. Rihs, A. Helbling, B. Wüthrich, B.K. Ballmer-Weber, Soybean allergy in patients allergic to birch pollen: Clinical investigation and molecular characterization of allergens, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113 (2004) 148-154.
- [10] T. Nakano, Z. Pietrasik, L. Ozimek, M. Betti, Extraction, isolation and analysis of chondroitin sulfate from broiler chicken biomass, *Process Biochemistry*, 47 (2012) 1909-1918.
- [11] K. Kondo, N. Seno, K. Anno, Mucopolysaccharides from chicken skin of three age groups, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 244 (1971) 513-522.

Patenty:

- US 7575914 B2 - Microorganism producing hyaluronic acid and purification method of hyaluronic acid
- US 4517295 A - Hyaluronic acid from bacterial culture
- US 4141973 B1 - Ultrapure hyaluronic acid and the use thereof
- GB19710027157 19710419 - Pharmaceutical preparation comprising chondroitin sulphates A and C
- CN105440158 - Method for extracting chondroitin sulfate in pig nasal bones through dilute alkali and concentrated salt method
- CN20151879984 - Method for extracting chondroitin sulfate from pig nasal bone through ultrasonic method
- WO2012159655 - Shark-like chondroitin sulphate and process for the preparation thereof

~~Pro křídlo~~

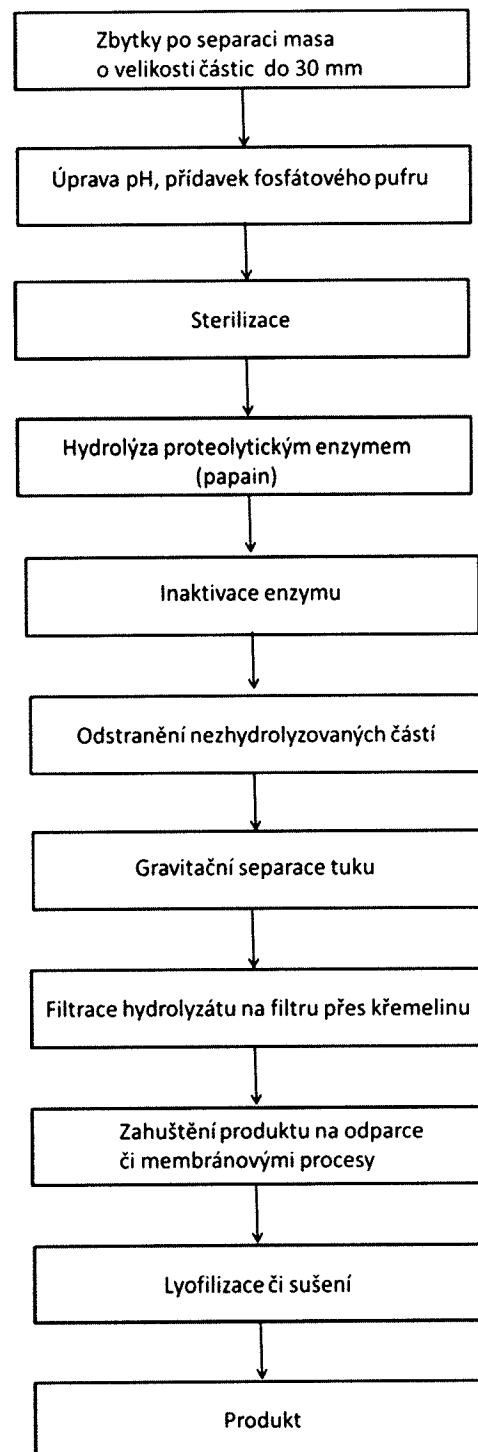
7-8-

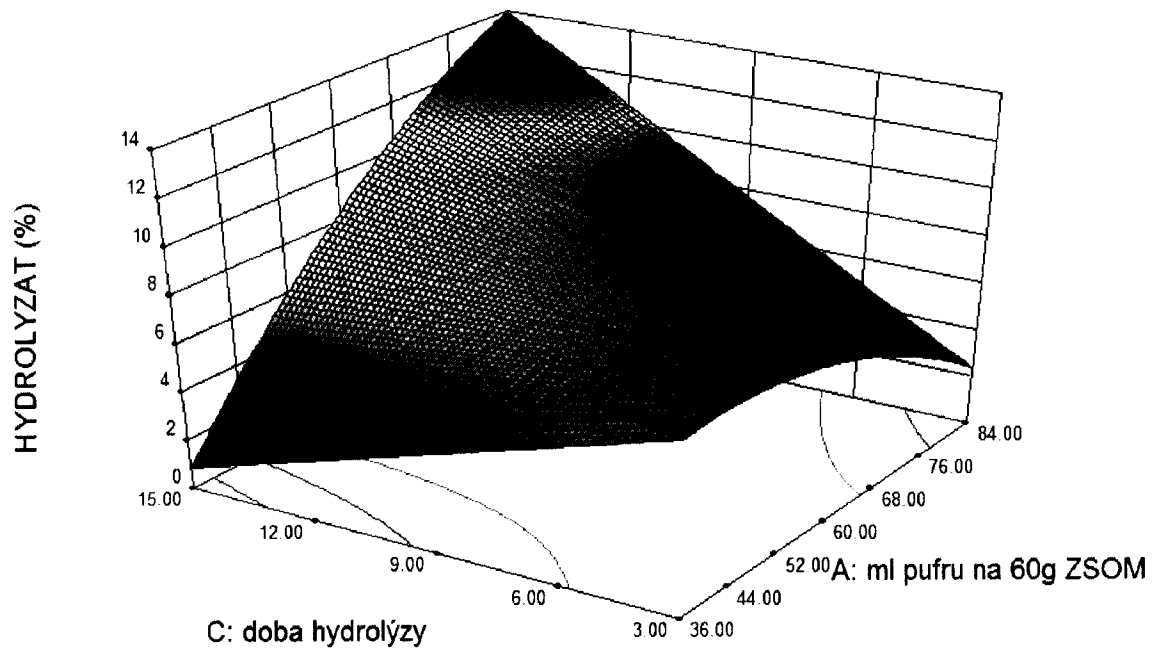
05.04.18

~~PV 2016-788~~

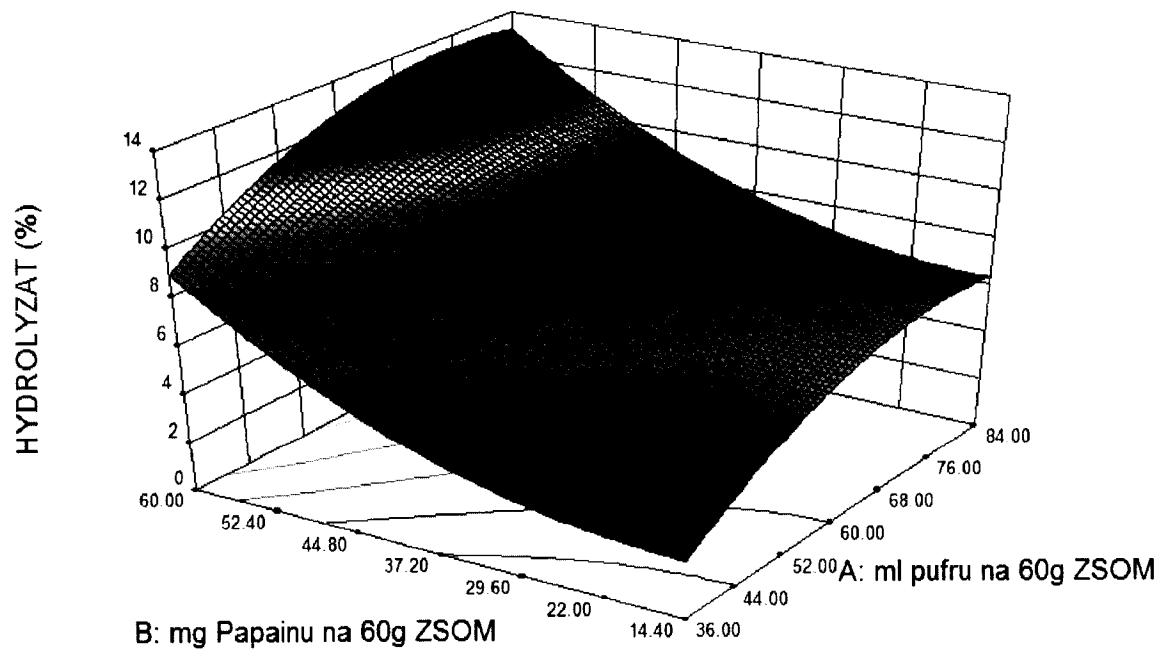
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob přípravy směsného produktu obsahujícího kyselinu hyaluronovou, chondroitin sulfát, nízkomolekulární peptidy a volné aminokyseliny, **vyznačující s tím**, že zbytky po strojním oddělení drůbežího masa se podrobí sekvenci kroků: a) vytvoření směsi zbytků po strojním oddělení masa s roztokem pufru, výhodně fosfátového pufru o pH 7,57, b) zahřátí směsi, c) enzymatická hydrolýza směsi enzymem papainem, d) inaktivace enzymu, e) separace směsného produktu ze směsi po hydrolýze.
2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující s tím**, že zbytky po strojním oddělení drůbežího masa jsou tvořeny směsí hřbetů, koster a krků.
3. Způsob podle nároků 1 nebo 2, **vyznačující s tím**, že směs zbytků po strojním oddělení masa s roztokem pufru má pH v rozmezí 7^{ax}8.
4. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, **vyznačující s tím**, že směs zbytků po strojním oddělení masa s roztokem pufru je zahřáta na teplotu zajišťující pasteraci či sterilizaci směsi.
5. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, **vyznačující s tím**, že po enzymatické hydrolýze je ze směsi separován produkt obsahující kyselinu hyaluronovou, chondroitin sulfát, nízkomolekulární peptidy a volné aminokyseliny.
6. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, **vyznačující s tím**, že separace produktu po enzymatické hydrolýze je realizována sekvencí kroků separace velkých fragmentů kostí přes síto – odstředění kostní drtě a nehydrolyzovaného podílu – gravitační separace tuku – filtrace kapalného podílu – zahuštění filtrátu – sušení.
7. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, **vyznačující s tím**, že vzniklý směsný produkt obsahuje min 8~~hm~~^{% hmotn.}% kyseliny hyaluronové.
8. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, **vyznačující s tím**, že vzniklý směsný produkt obsahuje min 10~~hm~~^{% hmotn.}% kyseliny hyaluronové.

**Obr. 1**



Obr. 2

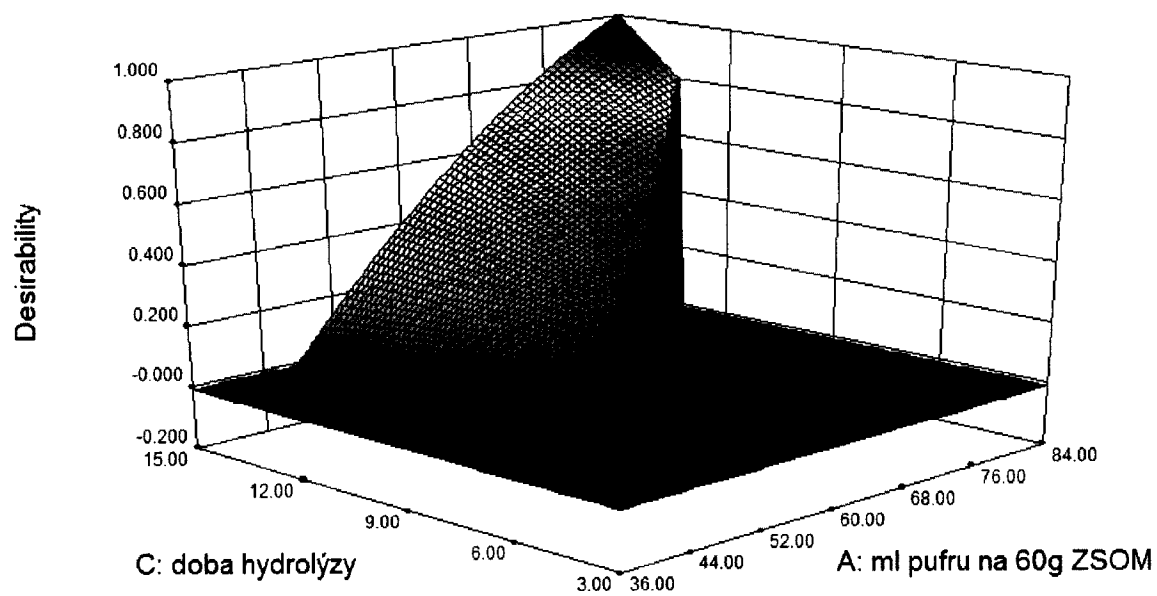


Obr. 3

05.03.18

3/3

PV 2018-788



Obr. 4