

Příprava potravinářských želatin z kuřecího kolagenu

Bc. Adéla Havelková

Diplomová práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Adéla Havelková**
Osobní číslo: **T16235**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Příprava potravinářských želatin z kuřecího kolagenu**

Zásady pro vypracování:

- 1. V teoretické části se zaměřte na výrobu želatin z tradičních surovinových zdrojů a na možnosti využití kolagenních vedlejších produktů jatečného průmyslu na výrobu želatin.**
- 2. V praktické části se zpracujte vybranou tkáň z porážky drůbeže biotechnologickým procesem na želatiny; studujte vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu a charakterizujte připravené želatiny.**
- 3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, provedte diskusi.**
- 4. Navrhněte optimální podmínky zpracování přípravy jakostních želatin a zhodnoťte význam výsledků pro praxi.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] SCHRIEBER, R., GAREIS, H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*, 2007.

Weinheim: Wiley-VCH Verlag.

[2] OCKERMAN, H.W., HANSEN, C.L. *Animal By-Product processing Utilization*, 2000.

CRC Press: Boca Raton.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.**

Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání diplomové práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: HAVELKOVÁ ADELA

Obor: TP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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.

Ve Zlíně .2.5.2019

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlázení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užíje-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá zpracováním kuřecích běháků na potravinářské želatiny biochemickým procesem. Teoretická část je zaměřena na výrobu želatin z tradičních surovinových zdrojů, možnosti využití kolagenních vedlejších produktů na výrobu želatin a aplikací želatin v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Praktická část se zabývá studiem vlivů vybraných technologických podmínek na účinnost extrakce, pevnosti gelu, obsahem popela v želatinách a jejich charakterizací stanovením viskozity, čirosti, teploty tání gelu, pH a sušinou. Naměřené výsledky jsou vyhodnoceny statistickým programem Minitab 15. V závěru jsou navrženy optimální podmínky zpracování kuřecích běháků na potravinářské želatiny. Tímto postupem lze připravit želatiny o pevnosti gelu v rozmezí 55 – 407 g; viskozitě 1,9 – 15,9 mPa.s; čirosti 0,5 – 54,1 %; teplotě tání v rozmezí 35,5 – 39 °C; pH 6,52 – 9,53 a obsahu popela 0,52 – 8,90 %. Připravené želatiny lze použít v potravinářském i farmaceutickém průmyslu.

Klíčová slova: kuřecí běháky, extrakce, želatina, enzymové opracování

ABSTRACT

This thesis deals with processing of chicken talons for quality food gelatines. The theoretical part describes production of gelatines from traditional raw materials, the possibility of using collagenous by-products for the production of gelatines and the application of gelatin in the food and pharmaceutical industry. The practical part is focused on the study of the effects of selected technological conditions on the extraction efficiency, gel strength, ash content in gelatines and their characterization by viscosity, clarity, melting point and dry matter. The results are evaluated by the statistical program Minitab 15. At the end of the thesis, optimal conditions for processing chicken talons for high quality food gelatines are proposed. In this way, gelatines with a gel strength in the range of 55 – 407 g; pH 6,52 – 9,53; viscosity of 1,9 – 15,9 mPa.s; clarity of 0,5 – 54,1 %; melting point between 35,5 – 39 °C and ash content 0,52 – 8,90 %. Prepared gelatins can be used in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: chicken paws, extraction, gelatine, enzyme treatment

Ráda bych poděkovala panu doc. Ing. Pavlovi Mokrejšovi, Ph.D za trpělivost, pomoc, cenné rady a připomínky při psaní diplomové práce. Také bych ráda poděkovala paní laborantce Miroslavě Žaludkové za pomoc při práci v laboratoři.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| ÚVOD..... | 10 |
| I TEORETICKÁ ČÁST..... | 11 |
| 1 VÝROBA ŽELATIN Z TRADIČNÍCH SUROVINOVÝCH ZDROJŮ | 12 |
| 1.1 ŽELATINA..... | 12 |
| 1.2 TRADIČNÍ SUROVINOVÉ ZDROJE PRO VÝROBU ŽELATINY..... | 12 |
| 1.3 SUROVINY PRO VÝROBU ŽELATINY | 13 |
| 1.3.1 Vepřové kůže | 13 |
| 1.3.2 Hovězí kůže..... | 13 |
| 1.3.3 Kostí | 14 |
| 1.4 PŘEDÚPRAVA SUROVIN | 14 |
| 1.4.1 Alkalická předúprava (želatina typu B) | 14 |
| 1.4.2 Kyselá předúprava (želatina typu A)..... | 15 |
| 1.4.3 Srovnání želatiny typu A a želatiny typu B | 15 |
| 1.5 EXTRAKCE | 16 |
| 1.6 ČIŠTĚNÍ A ÚPRAVA ŽELATINOVÉHO ROZTOKU | 17 |
| 2 MOŽNOSTI VYUŽITÍ KOLAGENNÍCH VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ JATEČNÉHO PRŮMYSLU NA VÝROBU ŽELATIN | 20 |
| 2.1 DRŮBEŽ..... | 20 |
| 2.1.1 Kuřata..... | 21 |
| 2.1.1.1 Kůže kuřat..... | 21 |
| 2.1.1.2 Kuřecí běháky | 22 |
| 2.1.2 Kachní běháky..... | 23 |
| 2.2 RYBY..... | 24 |
| 2.2.1 Kůže ryb | 25 |
| 3 APLIKACE ŽELATIN | 28 |
| 3.1 POTRAVINÁŘSKÝ PRŮMYSL | 28 |
| 3.1.1 Cukrářské výrobky | 28 |
| 3.1.2 Masné výrobky..... | 29 |
| 3.1.3 Mléčné výrobky | 29 |
| 3.1.4 Další možnosti využití želatin | 30 |
| 3.2 FARMACEUTICKÝ PRŮMYSL | 30 |
| II PRAKTICKÁ ČÁST | 32 |
| 4 CÍLE PRÁCE | 33 |
| 5 MATERIÁLY A METODY | 34 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5.1 | KUŘECÍ BĚHÁKY..... | 34 |
| 5.2 | PŘÍSTROJE, POMŮCKY, CHEMIKÁLIE | 34 |
| 5.3 | METODIKA PRÁCE | 35 |
| 5.4 | POSTUP PRÁCE..... | 36 |
| 5.5 | ANALÝZY MEZIPRODUKTŮ A KONEČNÝCH PRODUKTŮ | 39 |
| 6 | VÝSLEDKY A DISKUZE | 44 |
| 6.1 | VLIV TECHNOLOGICKÝCH PARAMETRŮ NA ÚČINNOST EXTRAKCE ŽELATIN | 46 |
| 6.1.1 | Teplota extrakce 60 °C | 46 |
| 6.1.2 | Teplota extrakce 75 °C | 48 |
| 6.1.3 | Teplota extrakce 90 °C | 50 |
| 6.2 | VLIV TECHNOLOGICKÝCH PARAMETRŮ NA PEVNOST ŽELATINOVÉHO GELU | 52 |
| 6.2.1 | Teplota extrakce 60 °C | 52 |
| 6.2.2 | Teplota extrakce 75 °C | 54 |
| 6.2.3 | Teplota extrakce 90 °C | 56 |
| 6.3 | VLIV TECHNOLOGICKÝCH PARAMETRŮ NA OBSAH POPELA VE VÝSLEDNÉM PRODUKTU..... | 58 |
| 6.3.1 | Teplota extrakce 60 °C | 58 |
| 6.3.2 | Teplota extrakce 75 °C | 60 |
| 6.3.3 | Teplota extrakce 90 °C | 62 |
| 6.4 | VLIV TECHNOLOGICKÝCH PARAMETRŮ NA OSTATNÍ PARAMETRY VÝSLEDNÉHO PRODUKTU..... | 64 |
| 7 | CELKOVÉ ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ | 66 |
| 7.1 | NÁVRH OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK | 68 |
| 7.2 | MOŽNOSTI APLIKACE ŽELATIN ZÍSKANÝCH Z VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ | 69 |
| | ZÁVĚR | 71 |
| | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY..... | 72 |
| | SEZNAM OBRÁZKŮ | 77 |
| | SEZNAM TABULEK..... | 79 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK..... | 80 |
| | SEZNAM PŘÍLOH | 81 |

ÚVOD

Postupem času roste množství spotřebovaného kuřecího masa na obyvatele, a s ním i množství vyprodukovaných odpadů (vedlejších produktů) souvisejících se zpracováním masa na jatkách. Při nesprávném zpracování těchto odpadů může docházet k silnému znečištění životního prostředí, souvisejícího s degradací půdy, znečištění povrchových a podzemních vod a může souviset až se šířením patogenních organismů a se vznikem zdravotních problémů. Vznikající vedlejší produkty lze rozdělit na požitelné a nepožitelné, přičemž ty požitelné se běžně využívají pro lidskou spotřebu (patří sem např. játra, žaludky a krky) a nepožitelné (např. šlachy, žlázy s vnitřní sekrecí, končetiny, plíce a peří) Nepožitelné se naopak nesmějí používat pro lidskou spotřebu, a proto se většinou likvidují v kafilériích nebo se používají jako surovina pro další výrobu v jiném než potravinářském odvětví. Vzhledem k chemickému složení těchto vedlejších produktů se stávají ceněnou surovinou hlavně pro krmivářský průmysl, při výrobě hnojiv, masokostní moučky, ale hledají se i další možnosti zpracování těchto vedlejších produktů. Velký potenciál mají vedlejší produkty obsahující velké množství kolagenu a existuje zde možnost zpracování těchto produktů na želatiny a kolagenní hydrolyzáty. Želatiny jsou velmi ceněnou surovinou pro její vlastnosti téměř v každé oblasti potravinářského průmyslu a to především v masném, mlékařském a také cukrářském průmyslu. Důležitou surovinou jsou také pro farmaceutický průmysl a navíc existují možnosti modifikace želatin, a tudíž existuje možnost dalšího rozšíření využitelnosti do dalších odvětví průmyslu. Kolagenní suroviny, jako jsou kuřecí běháky se pro výrobu želatin zatím moc nevyužívají. V porovnání s celosvětovou produkcí tvoří želatiny z těchto netradičních surovin pouze 1,6 % produkce. Tato hodnota je velmi malá a do budoucna by se určitě mohla zvyšovat, vzhledem k nízké ceně surových kuřecích běháků. Již existuje mnoho studií, které se zabývají výrobou želatin z kuřecích běháků nebo jiných kolagenních materiálů (např. kůže ryb) a dokazují, že tyto želatiny mají srovnatelné vlastnosti s komerčně dostupnými želatinami, navíc u nich nehrozí riziko BSE a mohou být konzumovány téměř všemi náboženskými skupinami.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VÝROBA ŽELATIN Z TRADIČNÍCH SUROVINOVÝCH ZDROJŮ

1.1 Želatina

Želatina je bílkovina, kterou je možné izolovat parciální hydrolyzou téměř z jakéhokoliv zdroje obsahujícího kolagenní strukturu. Suroviny pro výrobu želatiny, požadavky na výrobu želatiny a některé požadavky na konečný produkt popisuje Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Podle tohoto nařízení mohou být pro výrobu potravinářské želatiny použity kosti, kůže a kožky farmových přežvýkavců, kůže prasat, kůže drůbeže, šlachy a vaziva, kůže a kožky volně žijící zvěře a kůže a kosti ryb, přičemž suroviny musí být získány na jatkách a byly na základě prohlídek shledány jako vhodné k lidské spotřebě. Postup ošetření suroviny při výrobě želatiny musí zajišťovat, kromě kostního materiálu, ošetření kyselinou nebo hydroxidem s jedním nebo vícenásobným oplachem vodou, dále musí hodnota pH být upravena odpovídajícím způsobem a želatina musí být extrahována jedním nebo několikanásobným po sobě jdoucím zahříváním. Po extrakci musí následovat čištění filtrací a sterilizace. [1,2]

Pokud se jedná o parametry želatiny určené pro potravinářské účely, tak by želatina ze sensorického hlediska měla být lehce nažloutlá, sklovitá, pevná, křehká, bez chuti a cizích pachů. Z hlediska fyzikálních a chemických vlastností by potravinářská želatina měla splňovat parametry na viskozitu a sílu gelu, které jsou jedny z nejdůležitějších parametrů při hodnocení kvality želatiny. Pevnost gelu se pohybuje běžně v rozmezí od 50 – 300 g a viskozita v rozmezí 2 – 80 mPa.s.. Dále by měla splňovat vlhkost v rozmezí 8-13 %, relativní hustotu 1,3 – 1,4 a důležitý je také obsah popela, který by měl být maximálně 2 %. [2,7]

1.2 Tradiční surovinové zdroje pro výrobu želatiny

Mezi tradiční surovinové zdroje, které se využívají pro výrobu želatiny, patří kůže a kosti, šlachy a chrupavky savců především prasat a hovězího dobytka. Dalšími netradičními surovinami vznikajícími jako vedlejší produkty při technologickém zpracování mohou být kůže ryb, ze kterých můžeme získat želatinu buď studenou, nebo teplou cestou, anebo zde můžeme zařadit kolagenní části těl drůbeže. Želatiny získávané z ryb a drůbeže se řadí mezi ty méně produkované, avšak jejich vlastnosti je možné srovnat s vlastnostmi želatin zís-

kaných z tradičních surovinových zdrojů. Jak již bylo zmíněno, mezi tradiční surovinové zdroje patří:

- vepřové kůže, které zaujímají asi 46 % surovin z celosvětové produkce,
- hovězí kůže, které zaujímají asi 28 % surovin z celosvětové produkce
- kosti, které zaujímají asi 24 % surovin z celosvětové produkce
- ostatní suroviny (kolagenní části těl drůbeže a ryb), které zaujímají asi jen 1,6 % celosvětové produkce [1]

1.3 Suroviny pro výrobu želatiny

1.3.1 Vepřové kůže

Vepřové kůže patří ve srovnání s ostatními tradičními surovinami mezi nejvíce využívanou surovinou k výrobě želatiny. Z každého poraženého prasete se získá asi 3-4 kg zpracovatelné kůže. Na jatkách se kůže oddělí od vrstvy podkožního tuku, a pokud kůže není určena k výrobě masných výrobků, putuje buďto chlazená nebo zmrazená do výroby želatiny, kde je surovina podrobena procesu nazvanému kondicionování. [3]

Kondicionování se provádí z důvodu rozrušení křížových vazeb v kolagenní struktuře pojivové tkáně. Rozrušením křížových vazeb dochází k pomalému rozpouštění kolagenu i ve vařící vodě, což je kvůli dalšímu technologickému kroku – extrakci nežádoucí a to hlavně z důvodu negativního ovlivnění výsledných parametrů želatiny a také možných ztrát. Proto jsou před extrakcí kůže opračovány pomocí velmi zředěné kyseliny nebo zásady, přičemž dojde k rozštěpení křížových vazeb, ale řetězce kolagenu zůstanou neporušeny. Použití chemické látky se volí podle stáří zvířete, u starších jedinců je preferováno alkalické opračování, zatímco u mladších jedinců je preferováno opračování velmi zředěnou kyselinou. Vzhledem k vysokému obsahu tuku je lepší použít opračování zředěným roztokem kyseliny, protože interakce zásady s tukem by vedla k nežádoucímu zmýdelnění, a takový materiál by byl dále nepoužitelný. [3]

1.3.2 Hovězí kůže

Druhým nejvyužívanějším zdrojem pro výrobu želatin jsou hovězí kůže. Hovězí kůže se vyznačují svou tloušťkou a velikostí. Tloušťka kůže je závislá na klimatu, kde je skot chován. Lze říci, že v čím teplejším klimatu je skot chován, tím tenčí má kůži a naopak. Vnější

strana kůže obsahuje méně kolagenu, avšak její centrální vrstva je prakticky čistý kolagen a proto je výborným zdrojem pro výrobu želatin. Kůže je od mastné části oddělena a rozřezána na tři oddělené vrstvy pomocí vodorovných řezaček, tyto vrstvy se dále ručně řezou na kusy o dané velikosti a jsou ihned kondicionovány kyselinou nebo zásadou. [3]

1.3.3 Kostí

Mezi poslední nejčastěji využívanou surovinou pro výrobu želatiny jsou kosti. Malá část kostí je dodávána do řeznictví na přímý prodej zákazníkovi, ale větší část vyprodukovaných kostí je využívána na výrobu želatiny. Kostní materiál se jemně štěpí na velikosti krychle (asi 0,5 cm) a odmašťuje se promytím horkou vodou o teplotě 85 – 90 °C po dobu 30 minut za stálého míchání. Následně se štěpené kosti suší suchým vzduchem v kontinuálních sušičkách. Kosti se poté prosévají a třídí podle velikosti částic. Různě velké částice se poté zpracovávají samostatně. Mezi důležitý krok patřící do opracování této suroviny patří macerace neboli demineralizace. Při maceraci jsou kostní štěpy ošetřeny zředěnou kyselinou chlorovodíkovou v protiproudém procesu při teplotě 10 – 20 °C asi týden. Během tohoto procesu dochází k přeměně nerozpustného fosforečnanu vápenatého a uhličitanu vápenatého obsaženého v kostech na jejich rozpustnou formu, ta je poté oddělena vysrážením. Po maceraci získáme pouze proteinovou strukturu kostního materiálu, která je dále ošetřena v solném roztoku a následně kyselinou. [3]

1.4 Předúprava surovin

Po prvotním opracování se surovina buďto přímo zpracovává nebo se může dále sušit a skladovat. Pokud je zvoleno přímé opracování surovina je dále podrobena kyselé nebo alkalické předúpravě a to v závislosti na zdroji kolagenu a na konečném použití, k jakému bude želatina určena. [3,4] Je také možné využít i kombinovanou předúpravu což je kombinace alkalické a kyselé předúpravy. Tato předúprava se používá u hovězích kůží, kdy jsou kůže nejprve ponořeny do kyselé lázně a poté do alkalické lázně. Nejčastěji je však využívána předúprava kyselá. [5]

1.4.1 Alkalická předúprava (želatina typu B)

Prvotně upravená surovina se zpracovává v kombinaci s alkalickými látkami. Nejčastěji se jedná o roztok nasyceného hydroxidu vápenatého, kdy se surovina ponoří do nádrže (s mícháním nebo bez míchání) s hydroxidem vápenatým a to při pH \approx 12, teplotě nižší než

24 °C a po dobu 1 – 6 měsíců. Určení doby závisí na tloušťce a druhu suroviny, nejčastěji se však používá doba 4 měsíců. Během tak dlouhého procesu dochází k žádoucímu rozpuštění nekolagenních látek (například mukopolysacharidy, sloučeniny síry, albuminy a globuliny, které se v surovině vyskytují vždy). Získáme tak účinně vyčištěný roztok, ten se poté několikrát promyje vodou, aby se odstranil přebytek vápna, a dále se neutralizuje nejčastěji zředěnou kyselinou chlorovodíkovou. Mytí vodou se provádí, dokud není pH roztoku neutrální. [3,4]

Kombinace teploty, času a koncentrace hydroxidu má dopad na hodnotu pevnosti gelu a viskozitu. Větší koncentrace roztoku hydroxidu vede k získání želatiny o vyšší viskozitě, získaná želatina je obvykle rozpustná i ve studené vodě. [3]

1.4.2 Kyselá předúprava (želatina typu A)

Jedná se o předúpravu, která je více využívána. Kyselá předúprava se využívá především u vepřových kůží. Při kyselém opracování se surovina nejprve namáčí ve vodě, aby došlo k její hydrataci, čímž získáme 2-3 krát větší objem. Po hydrataci je surovina ponořena v roztoku minerální kyseliny. Nejčastěji se používají slabé roztoky kyseliny sírové nebo kyseliny chlorovodíkové a to při pH roztoku asi 1,5 – 3,0 a při pokojové teplotě. Surovina je v tomto roztoku ponořena po dobu 8 – 30 hodin (většinou 24 hodin) v závislosti na tloušťce a stupni rozmělnění suroviny. Po kyselém opracování se zbytky kyseliny odstraní promytím vodou, vodou se promývá tak dlouho, dokud není pH roztoku neutrální. Pokud se provede kyselé opracování, musí být materiál dále extrahován také v kyselině. [3,4]

1.4.3 Srovnání želatiny typu A a želatiny typu B

Tyto dva typy želatin se od sebe liší nejen způsobem opracování (kyselé/zásadité), použitou surovinou, ale i chemickým složením. Zásadní rozdíly v chemickém složení jsou především v hodnotě izoelektrického bodu, pH a obsahu popela. Naopak hodnota vlhkosti, pevnost gelu, a viskozita jsou téměř stejné. [6]. Rozdíly ve vlastnostech u želatiny typu A a želatiny typu B jsou uvedeny v tabulce 1.

| | Želatina typu A | Želatina typu B |
|-------------------|--|---|
| Vlhkost | 8 – 12 % | 8 – 12 % |
| Viskozita | 2 – 7 mPa.s | 2 – 7,5 mPa.s |
| Pevnost gelu | 50 – 300g | 50 – 275g |
| izoelektrický bod | 7,0 – 9,0 | 4,7 – 5,1 |
| pH | 3,8 – 5,5 | 5,0 – 7,5 |
| obsah popela | 0,3 % (zejm. Na ⁺ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻) | 0,5 – 2,0 % (zejm. Ca ²⁺ , PO ₄ ²⁻ , Cl ⁻) |

Tabulka 1 Rozdíly mezi želatinou typu A a želatinou typu B [5]

Kromě kyselé a alkalické předúpravy lze použít k rozštěpení křížových vazeb i opracování enzymem, nebo kombinací enzymu a chemikálií. Kombinací různých druhů opracování lze získat želatiny různých typů a požadovaných vlastností. Je tedy možné vyrobit želatinu se specifickými vlastnostmi, kterou lze využít ke specifické aplikaci. [3]

1.5 Extrakce

Tradiční (diskontinuální) metoda

Tradiční metoda probíhá v extraktorech, kde je želatina extrahována vodou a to ve více stupních. K extrakci se používá pitná voda v rozmezí teplot 50 až 100 °C po dobu 4 – 7 hodin pro každý ze stupňů extrakce, kdy při každém dalším stupni se teplota zvyšuje. Každou extrakcí se získá 2 - 4% roztok želatiny, který se před přidavkem další vody o vyšší teplotě odstraní z extraktoru. Se zvyšující se dobou a teplotou extrakce se získávají méně kvalitní želatiny, protože při vyšších teplotách dochází k rozsáhlejší hydrolyze peptidových řetězců. Vzniklé želatiny mají sníženou schopnost tvorby gelu, nebo tvoří velmi slabé gely a v mnoha případech vznikají až hydrolyzáty. Doba a teplota extrakce má vliv i na zbarvení želatiny, kdy déle extrahované želatiny mají vyšší zbarvení v důsledku Maillardových reakcí mezi aminokyselinou a zbytky redukujících sacharidů v surovině. V některých případech se může použít bělení želatin pomocí peroxidu vodíku nebo oxidu siřičitého. [3]

Kontinuální metoda

Kontinuální metoda probíhá skoro stejně jako u tradiční metody v extraktoru. Na rozdíl od tradiční metody je surovina přiváděna do extraktoru v protiproudu s extrakční vodou

v pravidelných intervalech, přičemž je rychlost extrakce postupně zvyšována. Při této metodě se želatina extrahuje při nízkém pH ($\text{pH} \approx 2-3$) a během procesu se extrahují různé druhy želatiny. Na začátku získáváme želatiny vysoké kvality a na konci želatiny o kvalitě nižší. Výsledná želatina má vysokou pevnost gelu, nízkou viskozitu a nízkou barevnost. Při kontinuální metodě musí být spodní část extraktoru pravidelně čištěna, lze tak pravidelně odstraňovat nerozpustné části ze suroviny. [3]

Polokontinuální proces

Dalším možným extrakčním procesem je polokontinuální proces, kdy je do extraktoru přidávána surovina v dávkách a je extrahována vodou. Teplota vody se postupně zvyšuje, což umožňuje získat želatinu i ze středu suroviny. Během extrakce jsou želatiny o různé kvalitě odstraňovány z extraktoru, kdy se zvyšujícím se stupněm extrakce získáváme jako v předchozím způsobu nižší hodnoty pevností gelu želatiny a zároveň se zvyšuje barevnost želatiny. [3]

Tlaková hydrolýza

Jedná se o optimalizovanou kontinuální extrakci, která je modifikována snížením velikosti částic suroviny, tlakem, snížením pH a zvýšením teploty. Želatina tak může být extrahována během několika minut. Teoreticky lze získat tímto způsobem všechnu želatinu ve vysoké kvalitě a to při teplotě 50 °C. Aby bylo dosaženo takového výtěžku, musely by být hydrolyzované částice co možná nejvíce homogenní. [3]

1.6 Čištění a úprava želatinového roztoku

Získaný želatinový roztok se nejprve čistí odstředivou silou a poté se filtruje. **Filtrace** se nejčastěji provádí pomocí křemeliny, perlitu nebo pomocí celulózových filtrů. U želatin s nižší molekulovou hmotností se používá moderní metoda filtrace - mikrofiltrace. Při mikrofiltraci jsou používány filtry s velikostí pórů asi 1 mikrometr. Membránou s touto velikostí pórů mohou procházet pouze lineární řetězce želatiny a nemohou projít tukové kulovité nebo pevné částice. [3]

Deionizace se u želatinových roztoků aplikuje kvůli snížení obsahu popela v získané želatině. I po zpracování jako je neutralizace roztok stále obsahuje takové množství popela, které často přesahuje legislativní limit, nebo limit daný pro potravinářské nebo lékařské využití, kde je limit daný 2 %. Ve farmaceutickém průmyslu vyžadují obsah popela max. 1 %. Ve fotografickém průmyslu je požadovaná želatina prakticky bez obsahu popela. Vys-

ký obsah popela může způsobovat zákal, ovlivnit většinu fyzikálních vlastností a zhoršovat i senzorické vlastnosti. Deionizace se provádí na iontoměničích nebo ultrafiltraci. [3]

Zahuštění želatinového roztoku Cílem zahuštění želatinového roztoku je hlavně zajistit mikrobiologickou stabilitu produktu snížením obsahu vody z 90 % na 10 – 12 %, usnadnění přepravy a skladování produktu. Zahuštění se může provádět buďto jednostupňovým způsobem nebo vícestupňovým způsobem na výparnicích. Při jednostupňovém způsobu se želatinový roztok odpařuje při teplotě 52 °C a při vícestupňovém při 50°C a 100°C. Dále může být k odstranění vysokého podílu vody využita ultrafiltrace. Ultrafiltrace se řadí také k jedné z moderních membránových metod, kde se používají membrány o velikosti pórů 0,05 mikronů. Membránou prochází voda, minerální látky, ale také malé molekuly želatiny, což by mohlo být nežádoucí z důvodu snížení výtěžku během zpracování. Tento krok je opakován několikrát, podle toho jaká je požadována výsledná koncentrace roztoku. Vzhledem k tomu, že jsou při zahuštění použity vyšší teploty, může dojít k vysrážení albuminu a globulinu obsažených v želatinovém roztoku, a proto se zahuštěný želatinový roztok před sterilací ještě filtruje. Zahuštění želatinového roztoku je důležitou operací pro jeho následné sušení.[3]

Sterilace Konečná sterilace želatinového roztoku se provádí z důvodu zajištění mikrobiální stability produktu. Sterilace se provádí buďto přímým nebo nepřímým způsobem. U přímého způsobu sterilace je želatinový roztok vystaven přímému kontaktu s parou, metoda je ale energeticky i finančně náročná. Proto je až na výjimky upřednostňována nepřímá sterilace, která se provádí v deskovém výměníku tepla. [3]

Sušení Zahuštěný želatinový roztok se po sterilaci rychle ochladí ve výměníku tepla a v zahuštěné formě je vytlačován ve formě „nudlí“ na dopravníkový pás sušičky. Želatinové „nudle“ jsou nejprve sušeny při teplotě 30 °C, přičemž teplota sušícího vzduchu se postupně zvyšuje až na 60 °C. Vysušené „nudle“ jsou po vysušení zchlazeny, rozdrceny a mlety. [3]

Získané produkty jsou poté podrobeny chemickým, fyzikálním a mikrobiologickým rozborům. Přičemž mezi nejdůležitější fyzikální analýzy patří samotná tvorba gelu, což je jedna z nejdůležitějších vlastností želatiny, jeho pevnost gelu a v neposlední řadě viskozita. Mezi chemické patří vlhkost, obsah popelovin, a obsah některých prvků jako jsou – arzen, měď, olovo, zinek a železo. Aby byl produkt mikrobiologicky nezávadný měl by splňovat požadavky na celkový počet mikroorganismů, koliformní bakterie, anaerobní bakterie,

Clostridium perfringens, *Staphylococcus aureus* a r. *Salmonella*. Po získání jednotlivých údajů následuje **standardizace**. Standardizace se provádí před dodávkou a to většinou smícháním šarží o různých fyzikálních a chemických vlastnostech podle požadavků zákazníka. Želatiny se dále mohou prosévat a brousit na požadovanou konečnou velikost částic (komerčně dostupné želatiny se vyskytují o velikosti částic v rozmezí od 0,1 mm do 10 mm). Po nastandardizování směsi je směs **balena**. Obaly jsou většinou z papíru dostupné v hmotnosti 10 – 15 g pro maloobchodní prodej do domácnosti, a o hmotnosti 20 – 25 kg pro menší průmyslové zákazníky nebo velké pytle o hmotnosti od 500 do 1000 kg pro velkovýrobce. [3,4]

2 MOŽNOSTI VYUŽITÍ KOLAGENNÍCH VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ JATEČNÉHO PRŮMYSLU NA VÝROBU ŽELATIN

Při jatečném zpracování zvířat na maso vznikají vedlejší produkty, které mohou být dále přepracovány a konzumovány lidmi, nebo jsou využity jako suroviny pro zemědělské a průmyslové účely. Popis a klasifikace těchto produktů se může lišit v různých zemích, mohou být děleny na požitelné a nepožitelné, orgánové nebo neorgánové; bílé, červené a tmavé droby. Mezi požitelné se řadí například srdce, ledviny, játra a konzumují se především ve formě smažené, vařené, grilované a podávané s různými přílohami. Spotřeba požitelných živočišných produktů postupně stoupá a to především kvůli obsahu živin důležitých pro správný chod lidského organismu, jedná se především o vysoký obsah bílkovin, tuků, železa, mědi a vitaminů. Do skupiny nepožitelných živočišných produktů se řadí především suroviny, které jsou nevhodné k lidské spotřebě a jsou brány jako odpady, které je nutno likvidovat v kafilerích nebo slouží jako suroviny pro další výrobu v jiném průmyslovém odvětví např. krmiv, želatiny, keratinu nebo léků (hormony, enzymy). Do této skupiny se řadí kůže, štětiny a vlasy, kosti, vazy a chrupavky, končetiny, a další. [16]

Netradičními zdroji pro výrobu želatin mohou být např. vedlejší produkty vznikající při výrobě drůbežího masa, jako jsou suroviny bohaté na kolagen kachní nebo kuřecí běháky a kůže nebo vedlejší produkty vznikající při zpracování ryb, kde je vhodnou surovinou na výrobu želatiny rybí kůže, která může obsahovat až 50 % kolagenu. Tyto netradiční zdroje pro výrobu želatin zatím zaujímají asi 1,6 % celosvětové produkce a vzhledem k výborným vlastnostem želatin, které jsou téměř srovnatelné s želatinami vyrobenými z tradičních surovin, by se procento celosvětové produkce mohlo postupně zvyšovat. [16]

2.1 Drůbež

Nárůst produkce drůbežího masa prudce roste a s ním i množství vyprodukovaných vedlejších produktů. Během zpracování drůbeže na jatkách vznikají vedlejší produkty ve formě pevné a kapalné. Mezi pevné vedlejší produkty lze zařadit hlavy, běháky, droby, peří, kosti, chrupavky a šlachy a mezi kapalné vedlejší produkty krev. Podrobnější využití vedlejších produktů bylo popsáno v bakalářské práci. [33]

2.1.1 Kuřata

2.1.1.1 Kůže kuřat

Přípravou želatin z kuřecích kůží se zabývají následující studie. První studie je studie Norizah Mhd Sarbon a kol. [19], kteří připravili želatinu z kuřecích kůží tak, že získané kůže byly nejprve opláchnuty, nakrájeny na čtverečky a lyofilizovány po dobu 4 dní a následně byly odtučněny metodou dle Soxhleeta. Želatina byla z takto upravených kůží extrahována smícháním 14 g upravených kuřecích kůží s 200 ml 0,15% NaOH. Připravená směs byla řádně promíchána a třepána po dobu 40 minut při pokojové teplotě, postup byl opakován třikrát a to vždy s novým roztokem. Poté byla směs propláchnuta destilovanou vodou a smíchána s 200 ml 15% H₂SO₄, a následně s 200 ml 0,7% kyselinou citronovou. Směs byla řádně promíchána a mírně třepána po dobu 40 minut, přičemž po každých 40 minutách byl kyselý roztok vyměněn. Po kyselém opracování byly kůže propláchnuty destilovanou vodou, odstředěny a extrahovány v destilované vodě při teplotě 45 °C přes noc, bez míchání. Po extrakci byla směs přefiltrována. U získaného želatinového roztoku bylo upraveno pH na 6 a následně byl roztok vysušen mrazem. Výťažnost želatiny byla 16 % a pevnost gelu 355 ± 1,48 g; vlhkost želatinového prášku byla 9,81 % a obsah popela 0,37 %. Na závěr byly hodnoty porovnány s bovinní želatinou, která měla pevnost gelu nižší než želatina z kuřecích kůží a to 229 ± 0,71g, vlhkost 9,68 %, obsah popela 1,06 %. [19]

Další způsob přípravy želatin z kuřecích kůží popisuje studie E. Aykin-Dincer a kol.[25] kteří extrahovali želatinu z kůží broilerů a to tak, že byly kůže nakrájeny na malé kousky, lyofilizovány a odtučněny metodou dle Soxhleeta. Asi 15 g takto upraveného vzorku kůže bylo smícháno s 250 ml 0,15% NaOH a mícháno po dobu 30 minut při teplotě 25 °C, proces byl opakován třikrát. Směs byla centrifugována, opláchnuta destilovanou vodou a smíchána s 250 ml 0,15% H₂SO₄ při teplotě 25 °C a třepána po dobu 30 minut, centrifugována, tento proces byl opakován třikrát. Následoval oplach destilovanou vodou a kůže byly poté smíchány s 250 ml 0,7% kyselinou citronovou po dobu 30 minut při teplotě 25 °C, následovala centrifugace a taktéž byl proces opakován třikrát. Zbytkové soli byly odstraněny promytím destilovanou vodou a směs byla centrifugována, extrakt byl ponechán přes noc v destilované vodě při teplotě 50 °C bez míchání a poté přefiltrován a filtrát byl deionizován pomocí iontoměničů. Výsledný roztok byl upraven na pH 6 s pomocí 0,1 M NaOH objem byl zredukoval na 10 % původního objemu. Konečný roztok byl lyofilizován a rozemlet na prášek. Výtěžek želatiny byl 6,5 %, vlhkost 12,57 ± 0,16 %; obsah popela 2,13 ±

0,07 %; obsah tuku $0,45 \pm 0,06$ % a pH $5,82 \pm 0,08$, pevnost gelu $166,65 \pm 1,63$ g; bod tání $33,65 \pm 0,07$ °C a viskozita $1,35 \pm 0,10$ mPa.s. [25]

2.1.1.2 Kuřecí běháky

Extrakcí želatiny z kuřecích běháků se zabývaly následující studie. Studie Damodar Dhakal a kol. [21] extrahovali želatinu z kuřecích běháků následujícím způsobem. Kuřecí běháky byly ručně zbaveny drápů a opláchnuty vodou z vodovodu, kvůli odstranění nečistot. Poté byly kuřecí běháky smíchány s 0,8 M NaCl v poměru 1:6 (hmotnost / objem) po dobu 20 minut. Po inaktivaci endogenních proteáz byla směs smíchána s 0,1M NaOH v poměru 1:10 (objem/objem) po dobu 24 hodin. Enzymatická předúprava byla provedena za přídavku papainového enzymu. Extrakce byla provedena při různých teplotách extrakce (4, 30 a 56 °C) a při různých dobách extrakce (20, 24 a 28 hodin). Následovalo odsolení za pomoci přídavku různých objemů 2 M NaCl v různých objemech (150, 200 a 250 ml). Poté byla směs centrifugována a výsledný supernatant byl deionizován po dobu 24 hodin a poté lyofilizován. Optimalizace byla provedena odborným softwarem. Byl hodnocen účinek extrakční doby, teploty extrakce a poměr pevné látky k rozpouštědлу (2M NaCl). Účinnost extrakce se pohybovala v rozmezí od $9,10 \pm 0,48$ – $32,16 \pm 0,25$ %, přičemž největší výtěžek byl při použití kombinace doby extrakce 28 hodin, teplotě extrakce 30 °C a poměru pevné látky k rozpouštědлу 1:25 a nejnižší výtěžek byl při kombinaci doby extrakce 24 hodin při teplotě 56 °C a poměru pevné látky k rozpouštědлу 1:15 a to $9,10 \pm 0,48$ %. [21]

Další studií zabývající se extrakcí želatin z netradičních kolagenních surovin je studie A. K. Chakka a kol. [22], kteří extrahovali želatinu z kuřecích běháků za pomoci potravinářských kyselin: kyseliny octové, kyseliny citronové a kyseliny mléčné. Nejprve byly kuřecí běháky upraveny ručním odstraněním drápů z běháků a byly opláchnuty pitnou vodou z důvodu odstranění nečistot. Očištěné kuřecí běháky byly poté rozemlety na pastu. 100 g této pasty bylo smícháno s 0,5M NaOH na dobu 20 hodin, směs byla poté přefiltrována pomocí tkaniny a zbytek byl promýván destilovanou vodou, dokud nebylo dosaženo neutrálního pH. Přebytečná voda byla odstraněna pomocí filtrace za použití tkaniny. Upravené kuřecí běháky byly smíchány s 1,5; 3,0 nebo 4,5% kyselinou octovou (1:1, hmotnost/objem) nebo kyselinou citronovou (1:1, hmotnost/objem) nebo kyselinou mléčnou (1:1, hmotnost/objem). Po ošetření byl roztok zahřát na teplotu 55 °C na dobu 20 minut ve vodní lázni, směsi byly přefiltrovány přes plátno a byly získány různé želatinové roztoky, které byly dále lyofilizovány. Výtěžnost želatiny byla různá v rozmezí od $6,59 \pm 0,35$ –

14,47 ± 0,4 %, přičemž nejvyšší výtěžnost byla za použití 4,5% kyseliny mléčné a nejnižší výtěžnost byla získána za použití 1,5% kyseliny octové. Pevnost gelu se pohybovala v rozmezí 119,27 ± 5,78 – 204,30 ± 3,20 g, přičemž nejvyšší hodnota pevnosti gelu byla právě u želatiny s nejnižší výtěžností. Dále byl vyhodnocen obsah popela, ten se pohyboval v rozmezí 2,42 ± 0,18 – 4,80 ± 0,20 %; množství tuku, které bylo v rozmezí 1,33 ± 0,16 – 3,48 ± 0,39 %, obsah bílkovin, které byly v rozmezí 80,12 ± 1 – 90,20 ± 0,58 %; a pH, které bylo v rozmezí 3,43 ± 0,15 – 5,23 ± 0,25. Získané výsledky byly také porovnány s bovinní želatinou. [22]

2.1.2 Kachní běháky

Kachní běháky se svým složením od kuřecích běháků moc neliší a mohly by být taktéž vhodnou netradiční surovinou pro výrobu želatin. Možnosti zpracování kachních běháků popisují následující studie. Studie Ahmadreza Abedinia a kol. [20] připravili želatiny z kachních běháků alkalickou, kyselou a enzymatickou předúpravou s použitím pepsinu a následně porovnávaly jejich vlastnosti s želatinou typu B získanou z kůže skotu. Kachní běháky byly nejprve upraveny odstraněním povrchového tuku, rozřezáním na malé kousky a namlety na velikost 12 mm. Poté byly ponořeny do vody z vodovodu v poměru 1:6 (hmotnost /objem), při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Směs byla poté přefiltrována přes šátek a vymačkána ručně. Po předúpravě kyselé, alkalické a enzymatické následovala extrakce. Vyčištěné kachní běháky byly smíchány s 0,05M kyselinou octovou a 0,1M NaOH v poměru 1:6 (hmotnost/ objem) a to při teplotě místnosti po dobu 3 hodin. Poté byly kachní běháky promývány vodou z vodovodu a to dokud nebylo pH neutrální. Pro enzymatickou extrakci byly kachní běháky ponořeny do 0,2M kyseliny octové v poměru 1:10 (hmotnost/ objem) a poté byl přidán enzym a to smícháním s 15 jednotkami enzymu pepsinu/ g běháků. Směs byla třepána po dobu 3 hodin při teplotě 4 °C. Po uplynutí třepací doby bylo upraveno pH směsi a to na 7,5 kvůli ukončení enzymatické aktivity pepsinu. Směs byla propláchnuta vodou z vodovodu a poté byly ponořeny do destilované vody v poměru 1:2 při teplotě 65 °C po dobu 12 hodin za stálého míchání. Směsi byly přefiltrovány za vakua a získaný filtrát byl lyofilizován. Výtěžek u kyselé předúpravy byl 4,09 %, vlhkost želatiny byla 10,08 ± 0,06 %, obsah popela 1,07 ± 0,01 % a teplota tání 34,4 ± 0,02 °C. U alkalické předúpravy byl výtěžek 3,65 ± 0,03 %, vlhkost 10,43 ± 0,15 % a obsah popela 1,95 ± 0,007 % a teplota tání 33,6 ± 0,06 °C a u enzymatické předúpravy byla výtěžnost 5,75 ± 0,07 %, vlhkost želatiny 11,65 ± 0,09 %, obsah popela 2,1 ± 0,04 % a teplota tání

$36,4 \pm 0,03$ °C. Vlhkost bovinní želatiny byla $9,76 \pm 0,07$ % a obsah popela $1,95 \pm 0,05$ % a teplota tání $29,32 \pm 0,19$ °C. [20] Byly tedy připraveny želatiny s přijatelnými hodnotami v daném rozmezí a byly srovnatelné s komerčně dostupnou želatinou. Nejvyšší účinnosti extrakce bylo dosaženo enzymatickou předúpravou. Následující studie se zabývá taktéž přípravou želatin z kachních běháků. Studie Yau-Hoong Kuan a kol.[23] připravili želatinu z kachních běháků a poté ji srovnal s vlastnostmi komerčně dostupné želatiny získané z hovězí kůže. Kachní běháky byly nejprve omyty, aby byly odstraněny nečistoty, poté byly namlety a promyty vodou z vodovodu. Běháky byly namočený do 4% kyseliny octové v poměru 1:3 (hmotnost/objem) na dobu 16 hodin, následoval oplach tekoucí vodou, dokud nebylo pH běháků 5,5. Poté byly kachní běháky smíchány s destilovanou vodou v poměru 1:2 na dobu 12 hodin a při teplotě 55 °C. Směs byla přefiltrována přes filtrační papír, získaný roztok byl vylit na plastové podnosy a sušen při teplotě 50 °C po dobu 12 hodin, po vysušení byly želatiny namlety a uzavřeny v nádobě. Výtěžek želatiny byl $7,01 \pm 0,31$ %, vlhkost želatiny $3,77 \pm 0,47$ % a obsah popela $2,47 \pm 0,02$ %. [23]

2.2 Ryby

Jedná se o průmyslové odvětví, ve kterém se zpracovává velké množství druhů mořských živočichů, jako jsou ryby, korýši, měkkýši, řasy a mořští živočichové.[10] Během opracování ryb se získává rybí maso, které představuje pouze kolem 30 – 40 % z jejich celkové hmotnosti, zbytek 60 – 70 % představují vedlejší produkty (kůže, hlavy, vnitřnosti, kosti, odřezky – ploutve [10, 26, 28], Množství těchto vedlejších produktů závisí na druhu ryby, její velikosti, sezóně a na rybářském revíru, navíc je při průmyslovém zpracování vyřazeno asi 50 % ryb a asi 75 % mořských plodů. [28]

Vedlejší produkty ryb lze rozdělit na:

- snadno rozložitelné – do této skupiny se řadí krev a vnitřnosti, které mají vysoký obsah proteolytických a lipolytických enzymů, které se během opracování uvolňují a interagují s volně přístupným kyslíkem. Vznikají reakce, které mohou způsobit snížení molekulové hmotnosti proteinů (proteolytické enzymy) nebo k tvorbě volných mastných kyselin, které mají vliv na sensorickou kvalitu a oxidační stabilitu tuků.
- relativně stabilní – hlavy, kůže a kosti [28]

Vzhledem ke vznikajícímu vysokému množství vedlejších produktů, které navíc obsahují velké množství kolagenu, se tyto produkty jeví jako výborná alternativa pro výrobu želati-

ny. Jejich využití má navíc několik výhod. Jedna z výhod je ta, že zde neexistuje riziko vzniku BSE, je přijatelná z náboženského a ekonomického pohledu a i z důvodu snížení znečištění životního prostředí spojeného s jejich nesprávnou likvidací [10, 26]. Některé z vedlejších produktů se mohou použít přímo k lidské spotřebě, patří sem jikry nebo játra, které se konzervují. Dále se získává krev, která se používá například pro získání krevní plazmy; rybí olej, který je důležitým zdrojem $\omega - 3$ mastných kyselin, dále fosfolipidů a vitaminů rozpustných v tucích a cholesterolu; proteinové frakce, které jsou snadno stravitelné a mohou být použity při výrobě hydrolyzátů, surimi, peptidů a aminokyselin, nukleových kyselin, vápníku, fosforu, dalších bioaktivních sloučenin a v neposlední řadě pro výrobu želatiny a kolagenu. [28]

Rybí želatina se většinou získává pomocí zředěných kyselin a zásad a při teplotě extrakce 45 °C. [28] Extrakční výtěžek činí 6 – 19 %. Vlastnosti rybí želatiny jsou dány především vlastnostmi počátečního kolagenu, které jsou dány také druhem ryby, a procesem extrakce. [26] Rybí želatina nevytváří gel při pokojové teplotě, ale při teplotách 8 – 10 °C, nižší teplota tání podporuje rychlejší uvolňování ovocných příchutí a vůní [11], je výborná pro tvorbu filmů, které jsou ve srovnání s bovinní želatinou sice méně pevné, ale jsou více deformovatelné. [27] Pevnost filmů však lze ovlivnit přidáním zlepšujících látek

Rybí želatiny pak nachází uplatnění ve farmaceutickém průmyslu při enkapsulaci barviv a vitaminů, výživových doplňků, produktů s nízkým obsahem tuku, a výroby měkkých kapslí. [10, 11] V potravinářském průmyslu může rybí želatina sloužit jako náhrada bovinní želatiny, může být použita u výrobků, které se skladují při chladírenských až mrazírenských teplotách, podporuje texturu a zabraňuje synerezi. [11]

2.2.1 Kůže ryb

Zpracováním rybích kolagenních surovin na želatiny se zabývají následující studie. První studie je N. Ktari a kol [15], kteří extrahovali želatinu z kůže ryby za pomoci komerčně dostupného pepsinu s alkalickou předúpravou. Kůže byly promyty a namočeny v NaOH o koncentraci 0,05 mol/l v poměru 1:5 (hmotnost/ objem) při 4 °C po dobu 1 hodiny, poté byly promývány vodou z vodovodu dokud pH prací vody nebylo neutrální. Kůže byly namočeny v 0,1 mol/l glycin – HCl pufru o pH 2,0 v poměru 1:10 (hmotnost/objem). Následovalo enzymatické ošetření vepřovým pepsinem a to 15 jednotkami na g kůže. Směs byla třepána 18 hodin při teplotě 4 °C. Hodnota pH směsi byla poté zvýšena na 7,0 za použití NaOH o koncentraci 10 mol/l a dále míchána po dobu 1 hodiny při 4 °C. Následovala ex-

trakce při teplotě 50 °C po dobu 8 hodin za stálého míchání. Směs byla centrifugována, vysušena, zmrazena a skladována při – 20 °C až do dalšího použití. Byl proveden také slepý pokus bez enzymu, kde byl zisk želatiny 14,8 g/100 g rybích kůží. Účinnost extrakce s použitím enzymu byla 18 g /100g rybích kůží kůže, pevnost gelu 170,2 g; viskozita 5,95 mPa.s. Želatina byla vyzkoušena na čiření jablečných šťáv, kde se ukázala jako výborné přírodní čiridlo. [15] Z této studie tedy vyplývá, že použitím enzymu lze dosáhnout vyšší účinnosti extrakce. Další studií zabývající se přípravou želatin z kolagenních surovin je studie J. Wang a kol. [24], kteří také extrahovali želatinu z kůže ryby pomocí kyselých i enzymatických předúprav. Pro extrakci bylo použito 15 – 20 g rybí kůže. Kůže byly nejprve máčeny v 10% NaCl v poměru 1:5 (hmotnost/objem) po dobu 1 hodiny při teplotě 4 °C, kvůli odstranění sliznaté vrstvy na kůži. Poté byly kůže rozřezány na malé kousky a smíchány s NaOH o koncentraci 0,1 mol/l při teplotě 4 °C v poměru 1:10 (hmotnost/objem) na dobu 24 hodin, poté byly promyty destilovanou vodou a odtučněny pomocí hexanu v poměru 1:10 (hmotnost/ objem) po dobu 24 hodin při teplotě 4 °C a nakonec promyty destilovanou vodou a lyofilizovány. Lyofilizovaný vzorek kůže byl smíchán s 0,5 mol/l kyselinou octovou v poměru 1:30 (hmotnost/objem) při teplotě 4°C po dobu 24 hodin, poté byl přeceděn přes plátno. Kůže, které zůstaly na plátnu, byly znovu extrahovány a to kyselinou octovou o koncentraci 0,5 mol/l v poměru 1:20 (hmotnost/objem) po dobu 24 hodin při teplotě 4 °C a následně přefiltrovány. Supernatanty byly smíchány a odsoleny přídavkem NaCl. Získaná sraženina byla označena jako kolagen rozpustný v kyselině a byla odebrána po centrifugaci a následně znovu rozpuštěna v kyselině octové o koncentraci 0,5 mol/l, bylo opakováno 3x. Následně byla sraženina deionizována a lyofilizována. Kolagen rozpustný v pepsinu byl získán extrakcí v kyselině octové o koncentraci 0,5 mol/l a to smícháním s 20 objemovými díly za přídavku 5 % pepsinu (1200 U/g) na dobu 24 hodin při teplotě 4 °C, následovala centrifugace a úpravy jako u kolagenu rozpustném v kyselině. Výtěžek kolagenu rozpustném v kyselině byl 22,42 % a kolagenu rozpustném v pepsinu 27,32 % vztaženém na sušinu. [24] Poslední studií je studie P. Kittiphattanabawon a kol. [17] kteří extrahovali želatinu z kůže ryby při různých kombinacích extrakčních teplot 45,65 a 85 °C a době extrakce 6 a 12 hodin. Kůže byly smíseny s NaOH o koncentraci 0,1 mol/l v poměru 1:10 (hmotnost/objem) a směs byla třepána po dobu 2 hodin při teplotě 15 °C až 20 °C za účelem odstranění nekolagenních bílkovin. Alkalický roztok byl měněn každých 40 minut. Pokožka byla promývána vodou z vodovodu, dokud nebylo pH promývací vody neutrální. Kůže byly dále smíchány s kyselinou octovou o koncentraci 0,05

mol/l v poměru 1:10 (hmotnost/objem) a míchaly se 30 minut při pokojové teplotě (26-28 °C). poté byla surovina smíchána s destilovanou vodou v poměru 1:2 (hmotnost /objem) a extrahován při teplotě 45 °C, 65 °C a 85 °C po dobu 6 nebo 12 hodin. Poté následovala filtrace přes dvě vrstvy plátna. Následovala filtrace a lyofilizace. Získali želatinu v rozmezí 73,99-95,85 g / 100 g suroviny. [17]

Z načerpaných znalostí z této kapitoly lze říci, že želatiny připravené z netradičních kolagenních surovin mají téměř srovnatelné vlastnosti s komerčně dostupnými želatinami. Nutno zmínit, že účinnost extrakce želatin z těchto surovin je vysoká a použitím enzymatické předúpravy se účinnost extrakce ještě zvyšuje, což i některé studie potvrdily. Vznikající želatiny mají optimální hodnoty pevnosti gelu, viskozity, teploty tání i optimální hodnoty ostatních parametrů. Připravené želatiny by tedy mohly být levnější alternativou komerčně dostupných želatin. Výroba želatin z netradičních surovin je zatím v počátcích a množství těchto želatin bude do budoucna určitě stoupat.

3 APLIKACE ŽELATIN

Želatina je díky svým vlastnostem výbornou a téměř nepostradatelnou surovinou jak v potravinářském průmyslu, tak i ve farmaceutickém průmyslu, kosmetickém, fotografickém průmyslu, metalurgii, výrobě plastů, papíru a také kosmetiky.[4,8,9]

3.1 Potravinářský průmysl

Nejvyužívanějšími vlastnostmi želatiny v tomto odvětví je tvorba gelu, stabilizátor pěny, pojivo, využívá se kvůli zabránění tvorby krystalů, jako zahušťovadlo, čířidlo, podpora žvýkatelnosti, pružnosti a plnosti v ústech, a pro možnost snížení energetické hodnoty výrobku nahrazením tuku želatinou. [4,8,9]

3.1.1 Cukrářské výrobky

Základními surovinami při výrobě většiny cukrovinek je cukr, kukuřičný sirup a voda. K těmto základním surovinám se mohou přidávat ochucovadla, barviva, emulgátory, stabilizátory, atd. Při výrobě některých cukrovinek je želatina prakticky nepostradatelnou surovinou, využívá se při výrobě želé, žvýkacích bonbónů, ovocných žvýkaček, toffe, lékořicových pendreků, marshmallow a želatinových dortů. V cukrářských výrobcích želatina zajišťuje pružnost, žvýkatelnost, stabilizuje pěnu, má emulgační vlastnosti, schopnost řídit krystalizaci cukerného roztoku a zajišťuje delší skladovatelnost. [3,7,8] Dále jsou uvedeny příklady některých aplikací želatin:

- Marshmallow – v tomto výrobku se želatina používá kvůli snížení povrchového napětí sirupu, dokáže stabilizovat rozhraní mezi vzduchem a kapalnou fází při výrobě a zabraňuje krystalizaci cukru. Při výrobě marshmallow se používá želatina typu A v množství 2 – 7 % a pevnosti gelu 175 – 250 g.
- Želatinové dezerty – želatina se přidává, protože vytváří plnou chuť, snižuje kalorickou hodnotu dezertu, používá se želatina typu A i B v množství 7 – 9 % a pevnosti gelu 175 – 275 g.
- Želatinové bonbony – v ústech absorbují rychle vodu a díky tělesné teplotě se rozpouští, gel se taví a dochází k uvolnění chutí a vůní. Želatina se používá v množství 7 – 9% a pevnosti gelu 200 – 250 g

3.1.2 Masné výrobky

Maso je bohatým zdrojem bílkovin, železa, vitaminů a má pozitivní nutriční vlastnosti. Želatina se v masné výrobě používá kvůli schopnosti absorpci masové šťávy, podporuje tvar a strukturu výrobků. Používá se hlavně k výrobě aspiků, konzervovaných masných výrobků, šunek a k výrobě obalových materiálů využívajících se k výrobě salámů, šunek, klobás, špekáčků nebo párků. U masových výrobků se želatina používá v množství 1 – 5 % o pevnosti gelu 175 – 275 g, záleží však na typu výrobku, druhu masa a množství vývaru. [3,7,8]

Kolagenové (klihovkové) obaly – kolagenové (klihovkové) obaly se používají především při výrobě uzenin, kterým propůjčují tvar. Výhody oproti přírodním střevům jsou jednotnost tvaru výrobku, jsou silnější, propouštějí snadno složky udícího kouře, ale i vodní páru (což může být v některých případech nežádoucí). Avšak lépe odolávají technologickým postupům (narážení, vaření, chlazení, balení, uzení). Kolagenové obaly mohou být čiré nebo barevné - tyto obaly však musí obsahovat barviva schválené Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv. Na trh jsou uváděny červené, hnědé, mající vzhled podobný použití udícího kouře. Barvené obaly se používají z důvodu přitažlivosti výrobku, rovnoměrné vybarvenosti výrobku a tím celkového zlepšení vnějšího vzhledu výrobku. Hnědé – předvařené klobásy, obaly mající hnědnoucí účinek takže výsledkem je vařený produkt s atraktivní barvou, mohou se používat i kouřové kolagenové obaly, které mohou nahradit nebo vylepšit kouřový/udící proces, tento obal poskytuje bohatší, rovnoměrně zbarvený povrch výrobku [12,13]

3.1.3 Mléčné výrobky

Z chemického hlediska je mléko složeno především z vody, bílkovin, tuku, laktózy, vitaminů a minerálních látek. Jedná se o komplex emulze olej ve vodě. Želatina se používá zejména kvůli svým stabilizačním schopnostem, prodloužení trvanlivost, vytváří texturu u nízkotučných jogurtů, ke stabilizaci šlehačky a při výrobě zmrzlin. V tomto odvětví se želatina používá zejména při výrobě **fermentovaných mléčných výrobků** – jogurty a jogurtové nápoje, vyráběné technologickým postupem stirred type, kdy mícháním dochází k narušení kaseinového gelu a nežádoucí synerezi, přičemž dochází k uvolnění syrovátky a proto se ke stabilizaci používá želatina, která snižuje povrchové napětí vodné fáze a obaluje tukové kuličky mléka tenkým hydrofilním filmem, vzhledem k tomu že se vytvoří stejný elektrický náboj, navzájem se odpuzují a emulze se stabilizuje. [3,4,14] U jogurtů se žela-

tina používá v množství 0,2 – 0,8 % a to typu A i B, u fermentovaných mléčných nápojů se používá v množství 0,1 – 0,3 %. Dále se využívá u **zmrzlin a mraženého jogurtu**, kde se používá želatina v množství od 0,25 – 0,5 % a o pevnosti gelu 250 g.. Želatina se zde používá kvůli schopnosti zabránit krystalizaci ledu a cukru, kde ovlivní velikost a rozložení krystalků a stabilizuje tak pěnu. Dále navozuje efekt krémové konzistence při rozpouštění želatiny v ústech. [3,4]

3.1.4 Další možnosti využití želatin

Výroba müsli tyčinek a obilných tyčinek – želatina se zde přidává kvůli schopnosti vázat suché přísady, v tomto případě výborně nahrazuje „lepící“ vlastnost cukru, který aby měl tuto vlastnost, musí tvořit až 50 % hmotnosti konečného výrobku. Použitím želatiny se množství použitého cukru sníží. U tohoto typu výrobku není žádoucí tvorba gelu, a proto se zde používají želatiny s nízkou hodnotou pevnosti gelu, anebo zde mohou být použity kolagenové hydrolyzáty. [3]

3.2 Farmaceutický průmysl

Ve farmaceutickém průmyslu se želatina využívá především k výrobě želatinových kapslí a jako pojivo při výrobě tablet, při potahování tablet, zapouzdření a mikroenkapsulaci. V zubním lékařství se želatina používá jako pomocná látka při výrobě mastí s ochrannými vlastnostmi pro sliznice a ústa nebo při výrobě tablet a granulí. Při využití želatiny ve farmaceutickém průmyslu musí želatina splňovat parametry kvality na původ želatiny, pH, vlhkost, obsah arsenu a peroxidu, obsah popela, vodivost, obsah těžkých kovů a mikrobiologický stav. [3,12]

Želatinové kapsle

Představují asi 90 % veškeré produkce využití želatiny ve farmaceutickém průmyslu. Obal kapsle je vyroben z želatiny a chrání její obsah vůči okolním vlivům, jako je sluneční záření, kyslík a mikrobiální kontaminace. Želatinové kapsle se dělí na měkké a tvrdé, ty se mezi sebou liší složením obalu kapsle, druhem účinné látky a způsobem výroby kapsle. Pokud je želatina použita na výrobu kapslí musí splňovat požadavky na schopnost tvorby mechanicky stabilního filmu se snadno nastavitelnou tloušťkou (viskozita), nesmí se poškodit během technologického procesu, musí být schopen tvořit stabilní „šev“ u měkkých kapslí při požadované teplotě a musí udržet tvar. [3,12]

Tvrdé kapsle se skládají z horní části – víčka, které má větší průměr než dolní část – tělo. Při spojení dolní a vrchní části dochází k vytvoření hermeticky uzavřené kapsle. Tyto kapsle se vyrábí na vysoce výkonném stroji a to tak, že se nerezový kolík ponoří do 28 – 35% želatinového roztoku, který může navíc obsahovat barviva a jiné přísady, po vyjmutí kolíku z želatinového roztoku se vzniklé prázdné tobolky suší za definovaných podmínek. Takto vyrobené tobolky se dodávají farmaceutickým producentům prázdné a ti si je naplní účinnou látkou ve formě prášku. Díky vlastnostem želatinového roztoku lze vyrobit kapsle různých velikostí, tvaru a barvy. Pro výrobu tvrdých kapslí lze použít želatinu typu A i B splňující parametry na pevnost gelu 240 – 300 g, pH 4,5 – 5,5 u želatiny typu A a pevnost gelu 200 – 250 g a pH 5,3 – 6,5 u želatiny typu B. Oba typy lze kombinovat v závislosti na účinné látce v plnidle výsledné kapsle. [3,12]

Měkké kapsle na rozdíl od tvrdých kapslí, jsou měkké kapsle tvořeny z jedné hermeticky uzavřené části, obsahující kapalinu, suspenzi nebo polotuhou látku, u které se při výrobě používají plastifikátory (např. propylenglykol, sorbitol, glycerol), které změkčují strukturu kapsle. Jsou hladké nebo mohou na podélné straně mít „šev“ vzniklý při rotačním lisování. Měkké kapsle jsou vyrobeny, naplněny a uzavřeny v jednom kroku. Výhodou měkkých kapslí je přesnost dávkování a také možnost vytvořit kapsli o neslučitelné disperzi použitím olejové fáze. Do měkkých kapslí mohou být použity různé účinné látky, změkčovadla, plastifikátory, barviva a podobně. Přidané látky většinou zajišťují elasticitu, ochranu vůči slunečnímu záření a delší skladovatelnost. [3]

Tablety

Jedná se o pevnou formu, která obsahuje přesnou dávku lékové látky, která je s nebo bez ředidel, připravena lisováním nebo tvarováním. Tablety navíc obsahují zmíněná ředidla, pojidla, kluzké látky a maziva, želatina je zde využita pro přípravu účinné látky a jako pojivo v tabletě. Proces přípravy zahrnuje granulaci aktivní složky a všech přídatných látek. Vzniklý granulát se poté lisuje do požadovaného tvaru a velikosti pomocí tabletového lisu. Mohou se používat želatiny typu A i B a to u želatiny typu A s pevností gelu 75 – 150g a pH 4,5 – 5,5, u typu B s pevností gelu 75 – 150g a pH 5,3 – 6,5. [3]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Želatina je surovina, kterou lze aplikovat v širokém rozmezí průmyslového odvětví a to od potravinářského průmyslu, přes farmaceutický průmysl až například k fotografickému průmyslu. V potravinářském průmyslu je želatina nepostradatelnou surovinou a nachází uplatnění téměř ve všech jeho odvětvích a to v široké škále produktů. Želatinu lze vyrobit tradiční cestou s alkalickou a kyselou předúpravou z tradičních surovin. Nachází se zde, ale i možnost kolagenní suroviny předupravit pomocí enzymů z netradičních surovin. Vznikající želatiny mají vlastnosti komerčně dostupných želatin, širokou škálu využití, navíc zde nehrozí riziko BSE a může být konzumována všemi náboženskými skupinami.

Cílem diplomové práce bylo zpracovat teoretickou část na danou problematiku a na základě získaných znalostí posoudit možnost přípravy želatin diskontinuální extrakcí ve více stupních z netradičních kolagenních surovin. Mezi dílčí cíle patří:

- Sledovat vliv vybraných technologických podmínek při zpracování vybrané kolagenní tkáně (teplota extrakce a přídavek enzymu) na účinnost extrakce, pevnost gelu a obsahu popela
- Charakterizovat připravené produkty stanovením pevnosti gelu, viskozity, teploty tání, pH, čirosti, obsahu popelovin a sušiny.
- Navrhnout optimální podmínky zpracování kolagenních tkání na jakostní želatiny

5 MATERIÁLY A METODY

5.1 Kuřecí běháky

V této diplomové práci byly jako kolagenní surovina zvoleny kuřecí běháky, které byly poskytnuty z firmy Raciola s.r.o. Uherský Brod. Surové zmražené kuřecí běháky byly rozmrazeny v chladicím zařízení po dobu 12 hodin. Po rozmražení byly kuřecí běháky homogenizovány pomocí řezačky na maso SPAR Mixer SP – 100 AD – B za použití řezací desky s velkými otvory ve tvaru ledviny. Poté byla suroviny opět homogenizována přes řezací desku o velikosti děr 3 mm. Následně byly kuřecí běháky vakuově baleny a šokově zmrazeny. Šokové zmrazení probíhalo při teplotě $-35 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$

Složení kuřecích běháků bylo: sušina $35,5 \pm 3,0 \%$, obsah bílkovin $48,3 \pm 0,4 \%$, kolagen $82,8 \pm 0,7 \%$, tuk $34,8 \pm 0,8 \%$, minerální látky $16,1 \pm 0,2 \%$.

5.2 Přístroje, pomůcky, chemikálie

Přístroje - Řezačka na maso SPAR Mixer SP – 100 AD – B; sušárna Memmert ULP 400; sušárna WTB Binder Německo; třepací inkubátor; pH metr WTW 526; elektronické analytické váhy KERN 770; elektronické laboratorní váhy 440 – 47; magnetické míchadlo a magnetická míchadélka; elektrický vařič SCHOTT GERATE GMBH Německo; elektrický vařič IKA C – MAG HS7; muflová pec LABotherm L9/11; lednička, exsikátor; plynový kahan; Ubbelohdeho viskozimetr, Bloom metr, DSC, spektrofotometr

Pomůcky - PE lahve; plastové kuchyňské sítko a nerezové kuchyňské sítko s velikostí ok 1 mm; kuchyňský plech; Erlenmayerovy baňky; odměrný válec; odměrná baňka; PA tkanina; kádinky; pipety a balónky; tyčinky; lžičky; koželužské misky; Petriho misky; kleště; LDPE samouzavíratelné sáčky; žíhací kelímky; patrony; kyvety; destilační aparatura

Chemikálie - 0,1% NaOH; petrolether; ethanol; 20% HCl; enzym Polarzyme 6.0T (viz. Příloha –I : materiálový list enzymu); destilovaná voda.

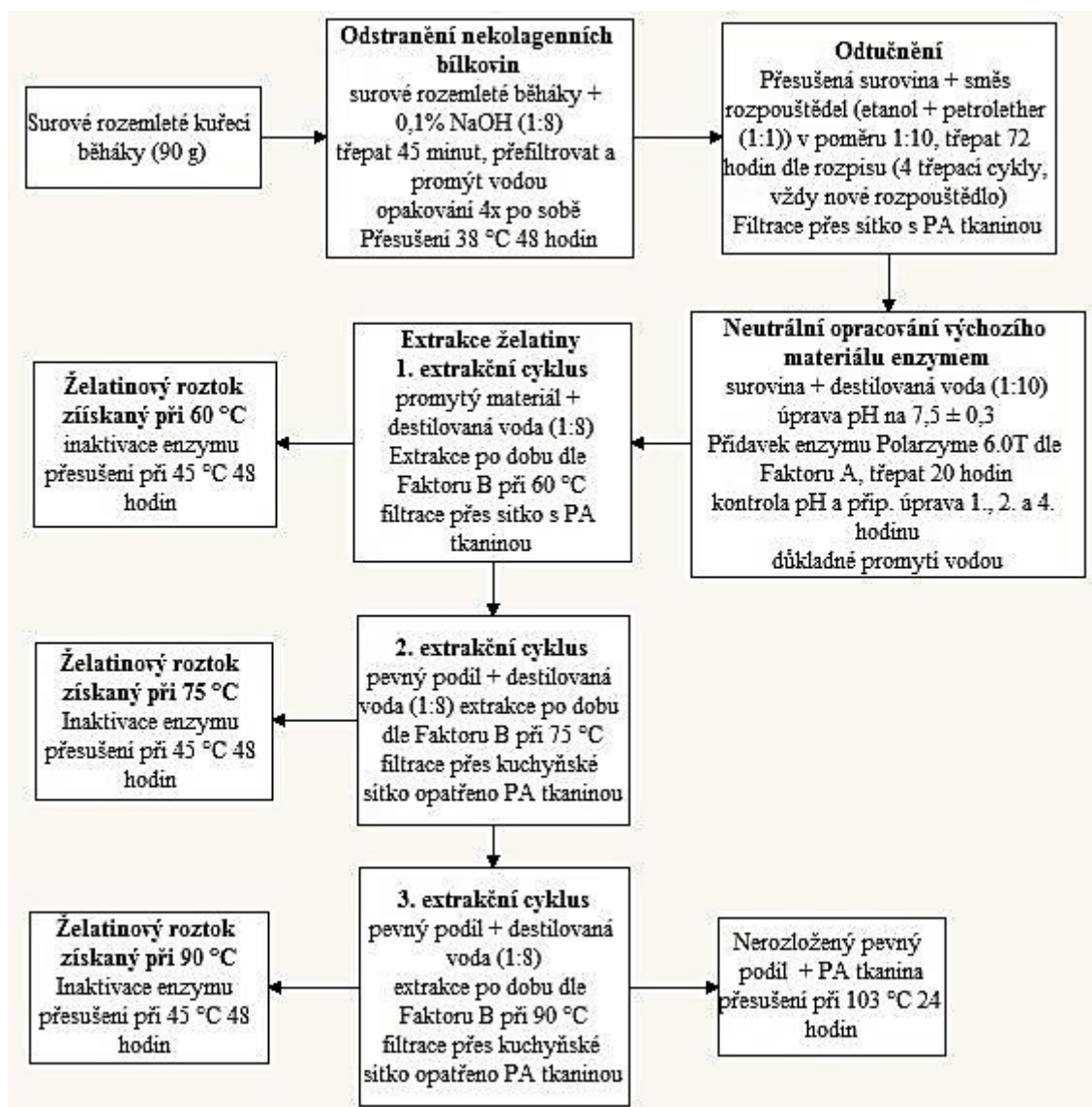
5.3 Metodika práce

Faktorové pokusy

Metodikou práce byly faktorové pokusy, jejichž principem je současné prozkoumání několika veličin tedy faktorů, působících na vlastnosti výsledného produktu, s tím, že se provádějí jejich všechny možné kombinace. Faktorové pokusy umožňují snížení nákladů a to tak, že minimalizují počet potřebných měření na takové množství, abychom byly schopni ze získaných výsledků popsat vlivy zkoumaných faktorů. [29] V této diplomové práci byly sledovány dva limitní faktory, středový experiment a slepý pokus. Faktor A – přídavek enzymu, který byl zvolen 0,2 % a 0,6 % a faktor B – doba extrakce a to 1 nebo 4 hodiny. Středovým experimentem byla kombinace faktoru A a B, přídavek enzymu 0,4 % a doba extrakce 2,5 hodiny. Navíc byl proveden slepý pokus, u kterého nebyl při předúpravě kuřecích běháků použit enzym. U každé kombinace z uvedených faktorů byly provedeny 3 extrakční cykly při postupně se zvyšující teplotě 60 °C, 75 °C a 90 °C.

5.4 Postup práce

Schéma postupu práce zpracování kuřecích běháků na želatiny je znázorněno na obrázku č. 1



Obrázek 1: Schéma postupu zpracování kuřecích běháků na želatiny

I. Příprava odtučněných a přečištěných kuřecích běháků

1. Odstranění nekolagenních bílkovin

- Na analytických vahách bylo naváženo do PE lahví 100 g surových rozemletých běháků
- Surové rozemleté běháky byly smíchány s 0,1% NaOH v poměru 1:8 a byly třepány v třepacím inkubátoru po dobu 45 minut při pokojové teplotě

- c) Opracovaný materiál byl přefiltrován na kuchyňském sítku a byl promyt vodou
 - d) Tento postup byl opakován 4x
2. Přesušení – přefiltrovaný a opracovaný materiál byl rozprostřen na kuchyňský plech a byl přesušen v sušárně s cirkulací vzduchu při teplotě 35 °C po dobu 48 hodin
 3. Odtučnění
 - a) Přesušená surovina byla v Erlenmayerově baňce smíšena se směsí rozpouštědel v poměru 1:10 (hmotnost přesušené suroviny:objemu směsi rozpouštědel); směs rozpouštědel byla připravena smícháním petroletheru a etanolu v poměru 1:1
 - b) Erlenmayerova baňka byla uzavřena, a umístěna na třepací inkubátor, kde byla třepána po dobu 72 hodin (4 třepací cykly)
 - c) Během 72 hodin bylo 3x vyměněno rozpouštědlo a to v následujícím časovém třepacím cyklu
 - 1. třepání – směs se třepala po dobu 6 hodin na třepacím inkubátoru, po ukončení této doby byla směs přefiltrována přes kuchyňské sítko a smíšena s novou směsí rozpouštědel
 - 2. třepání – směs se třepala po dobu 18 hodin na třepacím inkubátoru, po ukončení této doby byla směs přefiltrována přes kuchyňské sítko a smíšena s novou směsí rozpouštědel
 - 3. třepání – směs se třepala po dobu 24 hodin na třepacím inkubátoru, po ukončení této doby byla směs přefiltrována na kuchyňském sítku a smíšena s novou směsí rozpouštědel
 - 4. třepání – směs se třepala po dobu 24 hodin na třepacím inkubátoru, po ukončení této doby byla směs přefiltrována na kuchyňském sítku a smíšena s novou směsí rozpouštědel
 - d) Po ukončení třepacích cyklů se směs přefiltrovala a odtučněná surovina byla rozprostřena na kuchyňský plech, kde se odtučněná surovina nechala v zapnuté digestoři volně ležet z důvodu odpaření zbytků rozpouštědla
 4. U přečištěných a odtučněných kuřecích běháků bylo provedeno stanovení sušiny, což byl důležitý údaj pro výpočet přídatku enzymu při neutrálním opracování suroviny a pro bilanční výpočty; dále bylo také stanoveno zbytkové množství tuku

II. Předúprava odtučněných a přečištěných kuřecích běháků

1. Neutrální opracování výchozího materiálu enzymem

- a) Přečištěné kuřecí běháky byly zváženy (s přesností na 1 desetinné místo) a smíseny v Erlenmayerově baňce s destilovanou vodou v poměru 1:10, dále byly umístěny na třepací inkubátor, kde byly třepány po dobu 15 minut
 - b) U vzniklé směsi bylo upraveno pH na $7,5 \pm 0,3$
 - c) K této upravené směsi byl přidán enzym Polarzyme 6.0 T v množství podle faktoru A (tj. 0,2 % nebo 0,4 % nebo 0,6 %), které bylo vztaženo na sušinu přečištěných kuřecích běháků
 - d) Během prvních 4 hodin (po 1., 2.; a 4. hodině) byla provedena kontrola pH a případně její hodnota do-upravena
 - e) Směs byla třepána v třepacím inkubátoru po dobu 20 hodin při pokojové teplotě
 - f) Po ukončení třepací doby byla směs přefiltrována přes kuchyňské sítko, které bylo opatřeno zváženými 3 vrstvami PA tkaniny
 - g) Získaná kapalina („hydrolyzát“) byla nalita do 1000 ml odměrné baňky, která byla doplněna po rysku a promíchána, poté bylo z tohoto připraveného roztoku 3x odebráno 40 ml a vysušeno v koželužských miskách při teplotě 103 °C do konstantní hmotnosti – získané údaje sloužily pro bilanční výpočty
2. Promytí neutrálně opracovaného výchozího materiálu – materiál, který byl zachycen na kuchyňském sítku, byl důkladně promyt vodou, aby se odstranil veškerý enzym

III. Extrakce želatiny

1. Promytý materiál byl v kádince smísen s destilovanou vodou v poměru 1:8 (asi 90g promytého materiálu + 720 ml destilované vody)
2. Následně byla provedena extrakce ve 3 extrakčních cyklech:
 - a) 1. extrakční cyklus
 - systém byl zahřát na teplotu 60 °C, na topné desce, která se rychle vyhřeje, a po dosažení teploty byla extrahována želatina podle faktoru B (tj. 1 nebo 2,5 nebo 4 hodiny)
 - po uplynutí doby byla směs přefiltrována přes kuchyňské sítko opatřené zváženými 3 vrstvami PA tkaniny
 - želatinový roztok byl ihned zpracován podle bodu IV. postupu

b) 2. extrakční cyklus

- pevný podíl na PA tkanině byl převeden do kádinky
- PA tkanina byla umístěna do jiné kádinky, kde byl z ní postupně přidavkem destilované vody (720 ml) vymačkán zbylý pevný podíl, destilovaná voda byla poté přidána do kádinky s pevným podílem
- systém se zahřeje na teplotu 75 °C na topné desce, a po dosažení teploty byla extrahována želatina podle faktoru B (tj. 1 nebo 2,5 nebo 4 hodiny)
- po uplynutí doby byla směs přefiltrována přes kuchyňské sítko opatřené 3 vrstvami PA tkaniny použité z 1. extrakčního cyklu
- želatinový roztok byl ihned zpracován podle bodu IV. postupu

c) 3. extrakční cyklus

- pevný podíl na PA tkanině byl převeden do kádinky
- PA tkanina byla umístěna do jiné kádinky, kde z ní byl postupně přidavkem destilované vody (asi 720 ml) vymačkán zbylý pevný podíl, destilovaná voda byla poté přidána do kádinky s pevným podílem
- systém se zahřeje na teplotu 95 °C na topné desce, po dosažení teploty byla extrahována želatina podle faktoru B (tj. 1 nebo 2,5 nebo 4 hodiny)
- po uplynutí doby byla směs přefiltrována přes kuchyňské sítko opatřené 3 vrstvami PA tkaniny použité z 1. extrakčního cyklu
- želatinový roztok byl ihned zpracován podle bodu IV. postupu

IV. Zpracování želatinového roztoku

1. Inaktivace enzymu - po filtraci byl roztok zahřát k varu a udržován po dobu 10 minut z důvodu inaktivace zbytků enzymu
2. Želatinový roztok byl poté nalit na plech s nepřilnavou fólií a vysušen při teplotě 45 °C po dobu 48 hodin, poté byla vysušená želatina zvážena

V. Zpracování nerozloženého podílu

- nerozložený podíl byl vysušen při teplotě 103 °C po dobu 24 hodin a zvážen, současně byla také vysušena a zvážena PA tkanina

5.5 Analýzy meziproductů a konečných produktů**A. Analýzy meziproductů**

U přečištěných a odtučněných pařátů bylo provedeno stanovení obsahu sušiny a stanovení zbytkového množství tuku dle Soxhleta a to podle následujícího postupu

1. Stanovení obsahu sušiny

Do zvážené koželužské misky bylo naváženo 1,5g vzorku. Koželužská miska se zvažila se vzorkem před i po vysušení. Následně se koželužská miska se vzorkem sušila v sušárně při teplotě $103 \pm 1^\circ\text{C}$ a to do konstantní hmotnosti. Stanovení bylo provedeno 2x. [30]

Výpočet obsahu sušiny:

$$S = \frac{m_2}{m_1} \cdot 100 [\%]$$

Kde: m_1 – hmotnost vzorku před vysušením

m_2 – hmotnost vzorku po vysušení

2. Stanovení zbytkového množství tuku dle Soxhleta

Do zvážené patrony se s přesností na 4 desetinná místa navážilo asi 10 g vzorku. Následovala extrakce 8 -14 hodin v chloroformu, poté bylo rozpouštědlo oddestilováno a vzorek byl extrahován v etanolu po dobu 6 – 8 hodin. Množství vyextrahovaného tuku bylo zjištěno gravimetricky a přepočítáno na procentuální množství zbylého tuku ve vzorku. [30]

B. Analýzy konečných produktů

Analýzy konečných produktů byly provedeny dle standardních metod pro jedlé želatiny dle GMIA (Gelatine Manufacturers Institute of America, Inc) [7]

1. Stanovení pevnosti gelu želatiny/hydrolyzátů

Principem metody je měření odporu, který vyvine želatinový gel vůči válečku gelometru o průměru 4 mm, při proniknutí do hloubky 12,7 mm. Nejprve se připraví roztok želatiny o koncentraci 6,67 %. Dle standardní metody A se roztok o koncentraci 6,67 % připraví smícháním 7,5 g želatiny se 105 ml vody ve standardní nádobě. Takto připravená směs se nechá 2 hodiny bobtnat při pokojové teplotě. Po uplynutí doby se vzorek zahřeje ve vodní lázni a to maximálně na teplotu 60°C , po dosažení této teploty je teplota snížena na 10°C a vzorek je chlazen při této teplotě po dobu 16 – 18 hodin. Poté se pevnost gelu měří na přístroji zvaném Bloomův gelometr. Z důvodu nedostatku množství u některých vzorků byly použity menší hodnoty navážky na vytvoření roztoku o koncentraci 6,67 %. U některých vzorků byla použita standardizovaná metoda B nebo C. U metody B je želatinový roztok o takové koncentraci připraven smícháním 3,0 g želatiny s 42 ml vody a u metody C

to je smícháním 1,5 g želatiny s 21 ml vody. Na závěr se získané hodnoty pevnosti gelu vynásobí přepočetním faktorem: u metody B je přepočetní faktor 1,26 a u metody C 1,64.

2. Stanovení pH želatinového roztoku

Stanovení pH želatinového roztoku bylo provedeno pomocí pH metru a to tak, že se připravil 1,5% želatinový roztok smícháním úměrného množství želatiny s destilovanou vodou, pH bylo měřeno při teplotě roztoku 35 ± 1 °C.

3. Stanovení kinematické viskozity želatinového roztoku

Stanovení kinematické viskozity bylo provedeno ihned po změření pevnosti gelu a to tak, že byl želatinový gel zahřát na teplotu 60 °C, po rozpuštění gelu byl v temperační lázni umístěn Ubbelohdeho viskozimetr a byla změřena doba průtoku.

Výpočet kinematické viskozity:

$$v = k \cdot t - \frac{B}{t}$$

Kde: v – kinematická viskozita [mm^2/s]

B – konstanta ke korekci na kinetickou energii určená z rozměru viskozimetru = 2,8

k – konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou = 0,5

t – aritmetický průměr změřených průtokových dob [s]

Přepočet kinematické viskozity na dynamickou viskozitu :

$$\eta = v \cdot \rho$$

Kde: η – dynamická viskozita [mPa.s]

ρ – hustota želatinového roztoku

$$[\rho = 1,005 \text{ kg/m}^3]$$

4. Stanovení čirosti želatinového roztoku

Čirost želatinového roztoku byla provedena na spektrofotometru, a to tak, že se do kyvety nalil vzorek 1,5% želatinového roztoku a byla měřena transmitance při vlnové délce 650 nm.

5. Stanovení teploty tání gelu

Teplota tání byla provedena na přístroji DSC při rychlosti 5 °C / minutu. Nejprve bylo do hliníkové DSC misky o objemu 100 µl naváženo 15 – 30 mg vzorku gelu získaného po stanovení pevnosti gelu. Miska byla hermeticky uzavřena a změřena na přístroji DSC. Teplota tání byla odečtena z endotermního píku z výsledné křivky.

6. Stanovení obsahu popela

Principem metody je navážení alespoň 1 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa do vyžíhaného žíhacího kelímku a jeho spálení. Žíhací kelímek se nejprve umístí na 10 minut do muflové pece, vzorek se po vychlazení žíhacího kelímku do něj naváže a spálí se nad plynovým kahanem a poté se žíhá v muflové peci při teplotě 650 °C. Po spálení vzorku se žíhací kelímky nechají vychladnout a zvaží se.

Výpočet obsahu popela v hmotnostních %:

$$P = \frac{m_1}{m_z} \cdot 100 [\%]$$

Kde: m_1 – hmotnost popela [g]

m_z – hmotnost vzorku (želatiny) [g]

Výpočet pro obsah popela vztaženého na sušinu kuřecích běháků po opracování:

$$P' = P \cdot f [\%]$$

Kde: f – přepočtení faktor

Vzorec pro výpočet přepočteního faktoru

$$f = \frac{100}{100 - v}$$

Kde: v – obsah vody [%]

7. Stanovení molární hmotnosti pomocí SDS - PAGE

U některých vzorků byla stanovena molární hmotnost pomocí SDS – PAGE. Principem této metody je stanovení molární hmotnosti elektroforézou v polyakrylamidovém gelu

v přítomnosti dodecylsíranu sodného. Jedná se o biochemickou metodu, kterou je možné separovat proteiny podle délky jejich polypeptidového řetězce a molekulární hmotnosti.

Stanovení SDS – PAGE bylo provedeno na Ústavu inženýrství polymerů.

8. Stanovení účinnosti extrakce

U všech vzorků byla stanovena účinnost extrakce, která byla vypočítána dle následujícího vzorce:

$$\eta = \frac{m_z}{m_s} \cdot 100 [\%]$$

Kde: m_z ...hmotnost vysušeného želatinového roztoku

m_s ...hmotnost sušiny vztažené na hmotnost opracovaných kuřecích běháků

9. Stanovení bilanční chyby

Bilanční chyba byla stanovena u všech vzorků podle následujících vzorců:

Stanovení bilance:

$$VSTUP = VÝSTUP$$

$$VÝSTUP = \check{Z} + H + P$$

VSTUP – množství sušiny vztažené na přečištěné kuřecí běháky

VÝSTUP – součet získaných produktů ($\check{Z} + H + P$)

\check{Z} – vysušený želatinový roztok

H – hydrolyzát

P – nerozložený podíl

$$Balance = \frac{VÝSTUP}{VSTUP} \cdot 100 [\%]$$

Stanovení bilanční chyby (vztaženo na sušinu):

$$Bilanční\ chyba = 100 - Balance [\%]$$

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Rozpis experimentů a jejich výsledků jsou uvedeny v tabulce 2 a 3

| Experiment č. | | I | | | II | | | III | | |
|-------------------------------|--------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Pořadové č. | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Technologické podmínky | Faktor A - přídavek enzymu [%] | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,6 | 0,6 | 0,6 |
| | Faktor B – doba extrakce [h] | 1 | 1 | 1 | 4 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| | Teplota extrakce [°C] | 60 | 75 | 90 | 60 | 75 | 90 | 60 | 75 | 90 |
| Účinnost extrakce | Extrakční stupeň [%] | 27,4 | 11,8 | 4,6 | 39,7 | 9,3 | 4,8 | 36,5 | 10,5 | 3,5 |
| | Výtěžek hydrolyzátu [%] | 0,40 | | | 0,42 | | | 0,52 | | |
| Celková účinnost extrakce [%] | | 44,2 | | | 54,1 | | | 51,0 | | |
| Bilanční chyba [%] | | 5,7 | | | 3,6 | | | 6,1 | | |
| Charakterizace produktu | Stand. metoda | A | A | C | A | B | C | A | A | C |
| | Pevnost gelu [g] | - | - | - | 259 | 194 | 231 | - | 55 | - |
| | Viskozita [mPa.s] | - | - | - | 3,6 | 3,1 | 7,3 | - | 1,9 | - |
| | Čiřost [%] | 7,8 | 10,3 | 9,4 | 2,3 | 0,9 | 1,3 | 2,6 | 1,5 | 1,1 |
| | Teplota tání gelu [°C] | - | - | - | 37 | 36 | 35,5 | - | 36 | - |
| | pH | 7,2 | 7,16 | 7,28 | 7,60 | 7,78 | 7,45 | 6,69 | 7,11 | 7,13 |
| | Sušina [%] | 93,8 | 93,1 | 93,6 | 91,6 | 93,1 | 95,0 | 93,0 | 91,3 | 93,4 |
| | Obsah popela [%] | 1,99 | 2,68 | 2,39 | 5,07 | 2,43 | 2,09 | 1,53 | 2,44 | 2,65 |

Tabulka 2 Rozpis experimentů a výsledků experimentů – 1. část

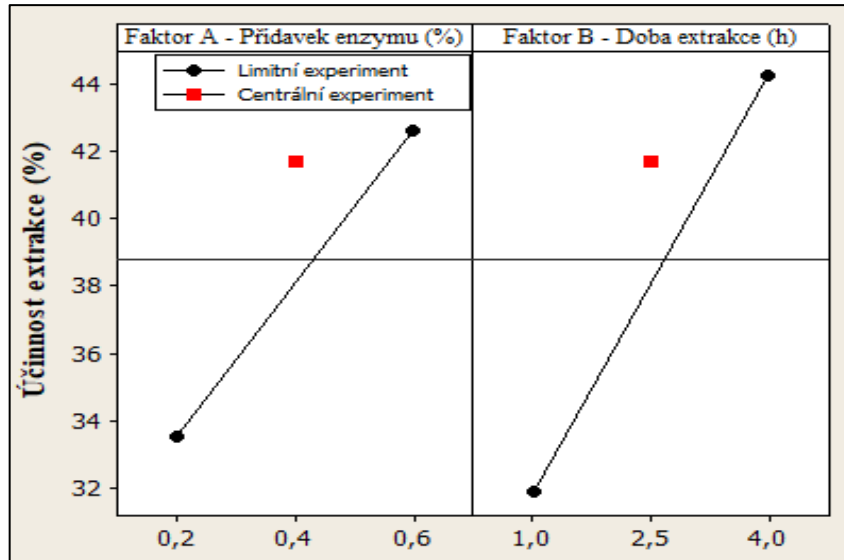
| Experiment č. | | IV | | | V (středový exp.) | | | VI (slepý pokus) | | |
|-------------------------------|--------------------------------|------|------|------|----------------------|------|------|---------------------|------|------|
| Pořadové č. | | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| Technologické podmínky | Faktor A - přidavek enzymu [%] | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0 | 0 | 0 |
| | Faktor B – doba extrakce [h] | 4 | 4 | 4 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| | Teplota extrakce [°C] | 60 | 75 | 90 | 60 | 75 | 90 | 60 | 75 | 90 |
| Účinnost extrakce | Extrakční stupeň [%] | 48,1 | 4,3 | 1,6 | 41,7 | 7,9 | 3,0 | 6,7 | 8,2 | 8,7 |
| | Výtěžek hydrolyzátu [%] | 0,45 | | | 0,53 | | | 0,13 | | |
| Celková účinnost extrakce [%] | | 54,4 | | | 53,1 | | | 23,7 | | |
| Bilanční chyba [%] | | 12,8 | | | 14,6 | | | 8,6 | | |
| Charakterizace produktu | Stand. metoda | A | C | C | A | B | C | B | B | B |
| | Pevnost gelu [g] | - | - | - | 55 | 39 | 154 | 407 | 375 | 380 |
| | Viskozita [mPa.s] | - | - | - | 1,9 | 1,9 | 3,1 | 6,8 | 15,9 | 12,4 |
| | Čírost [%] | 2,4 | 0,4 | 0,5 | 2,5 | 1,4 | 1,4 | 45,2 | 34,6 | 54,1 |
| | Teplota tání gelu [°C] | - | - | - | 36 | 36 | 36 | 38,5 | 39 | 38 |
| | pH | 6,80 | 6,52 | - | 7,11 | 7,16 | 7,59 | 9,53 | 9,34 | 8,24 |
| | Sušina [%] | 91,2 | 94,1 | 93,5 | 94,4 | 95,5 | 94,5 | 92,3 | 92,8 | 92,3 |
| | Obsah popela [%] | 2,54 | 5,40 | 8,90 | 2,23 | 2,73 | 2,82 | 2,94 | 1,31 | 0,52 |

Tabulka 3 Rozpis experimentů a výsledků experimentů - 2. část

6.1 Vliv technologických parametrů na účinnost extrakce želatin

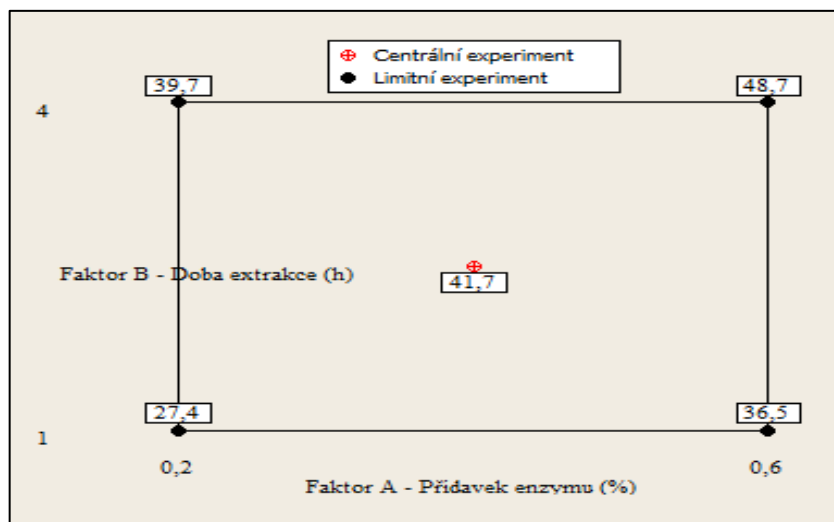
6.1.1 Teplota extrakce 60 °C

V následujících obrázcích 2 a 3 jsou znázorněny vlivy faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce při teplotě extrakce 60 °C. Z obrázku 2 je zřejmé, že účinnost extrakce se zvyšuje s rostoucím se přidavkem enzymu a zvyšující se dobou extrakce zvyšuje.



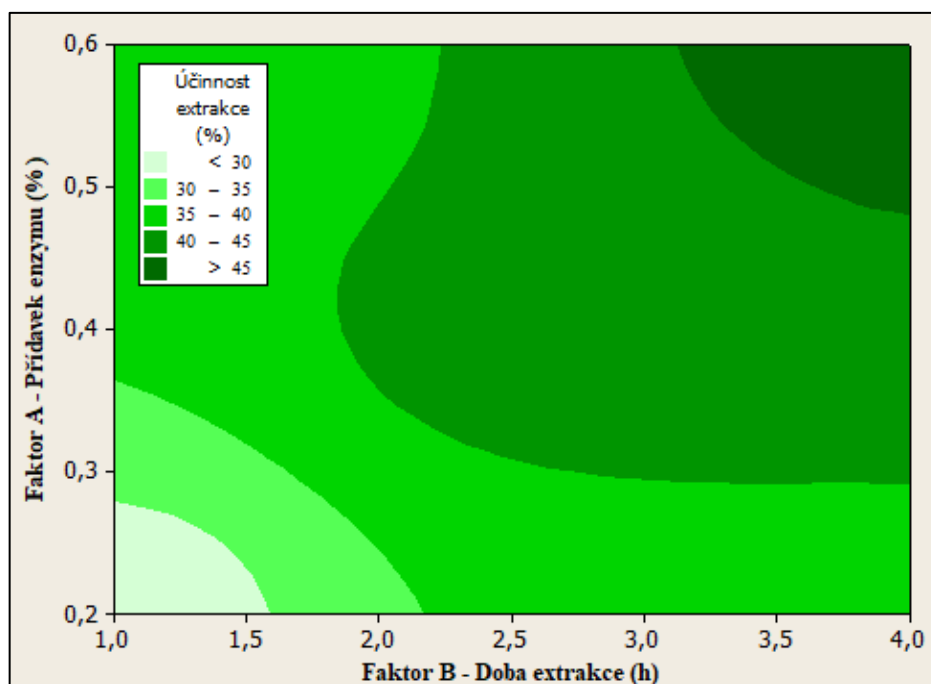
Obrázek 2 Vliv faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce

Na dalším obrázku 3 je znázorněno kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce. Lze říci, že nejvyšší účinnost extrakce byla při přidavku enzymu 0,6 % po dobu extrakce 4 hodiny, naopak nejnižší účinnost extrakce byla při přidavku enzymu 0,2 % a po dobu extrakce 1 hodinu.



Obrázek 3 Kubické vyjádření vlivu faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce

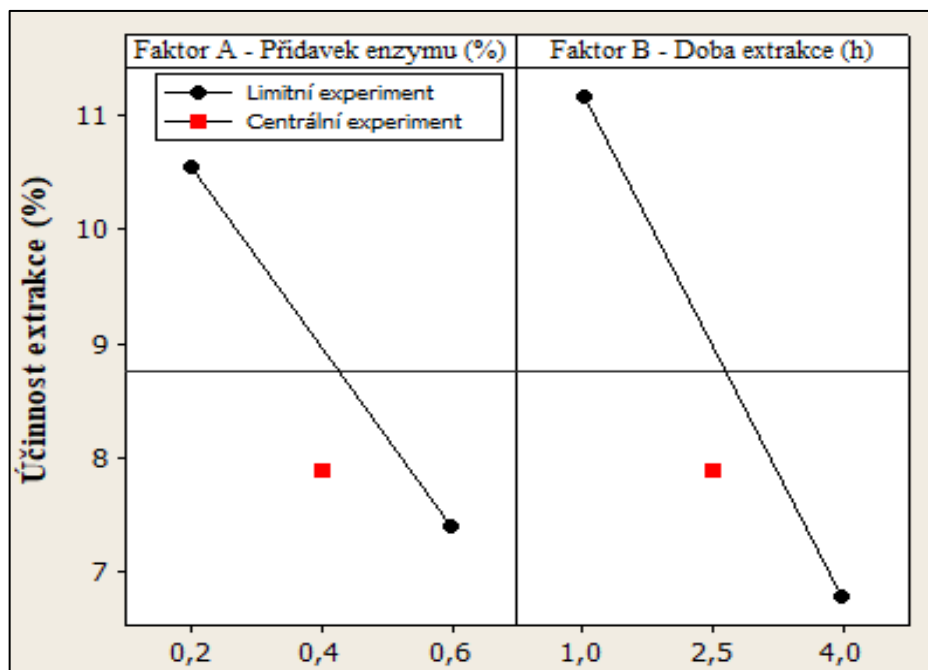
Na následujícím obrázku 4 je na vrstevnicovém grafu znázorněn vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce. Z obrázku je patrné, že se zvyšující se dobou extrakce a přidavkem enzymu se účinnost extrakce zvyšuje a naopak se snižující se dobou extrakce a přidavku enzymu účinnost extrakce klesá. Nejvyšší účinnost extrakce byla za přidavku enzymu 0,6 % a po dobu extrakce 4 hodiny.



Obrázek 4 Vrstevnicový graf znázorňující vliv faktoru A a B na účinnost extrakce

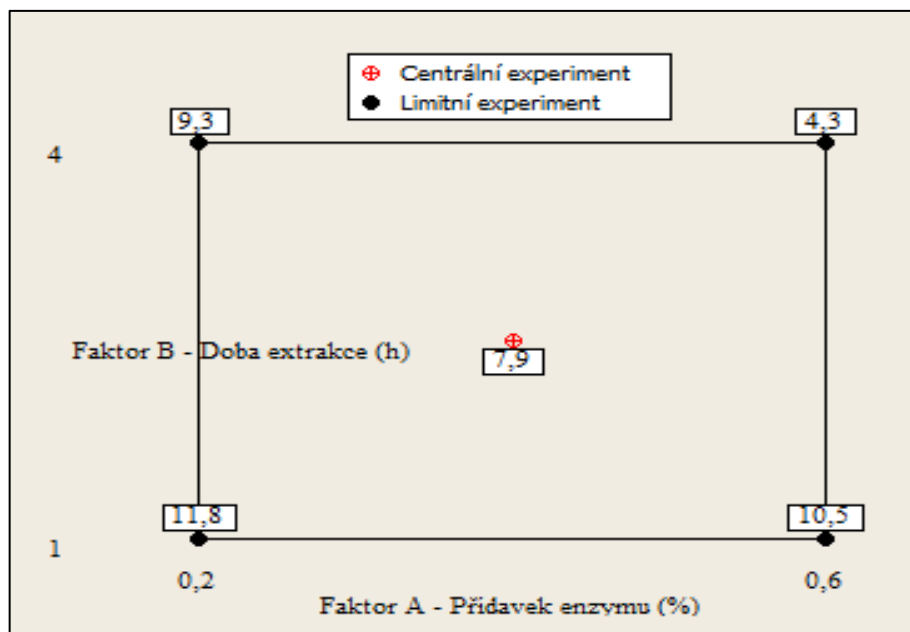
6.1.2 Teplota extrakce 75 °C

Následující obrázky 5, 6 a 7 znázorňují vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce při teplotě extrakce 75 °C. Z obrázku 5 je patrné, že při zvyšujícím se přidavkem enzymu byla účinnost extrakce nižší, totéž platilo i u doby extrakce, kdy se zvyšující se dobou extrakce se účinnost extrakce snižovala.



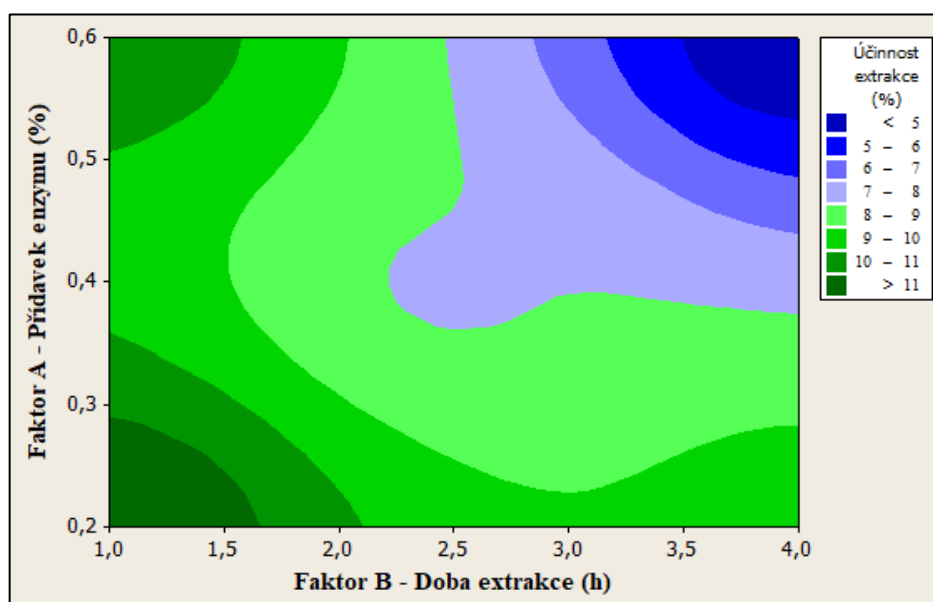
Obrázek 5 Vliv faktoru A a B na účinnost extrakce při teplotě extrakce 75 °C

Z obrázku 6 lze říci, že nejvyšší účinnost extrakce při teplotě 75 °C byla při kombinaci faktorů přidavku enzymu 0,2 % a po dobu extrakce 1 hodiny. Naopak nejnižší účinnost extrakce byla při kombinaci faktorů přidavku enzymu 0,6 % po dobu extrakce 4 hodin.



Obrázek 6 Kubické vyjádření vlivu faktorů A a B na účinnost extrakce

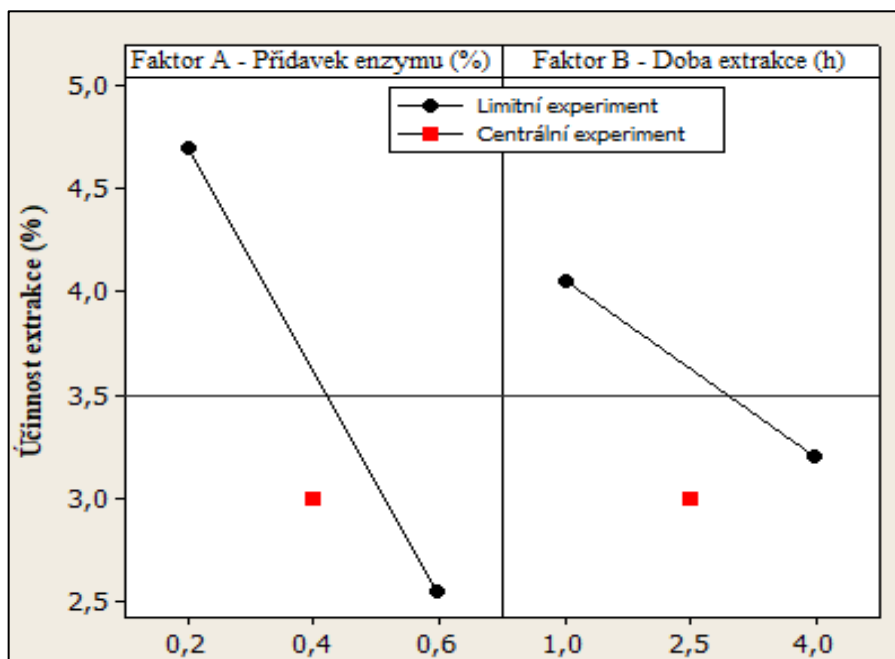
Z obrázku 7 vrstevnicového grafu lze říci, že se zvyšujícím se přídavkem enzymu a dobou extrakce se účinnost extrakce snižovala naopak při nižším přídavku enzymu a při kratší době extrakce se účinnost extrakce zvyšovala.



Obrázek 7 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce

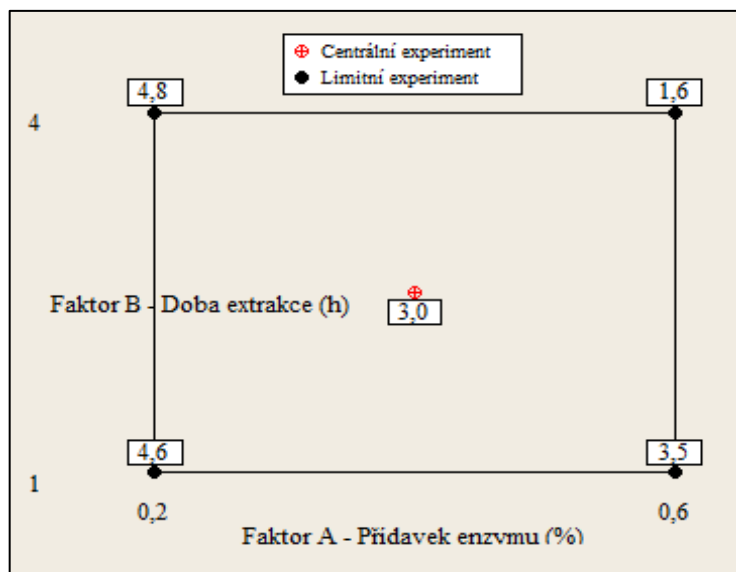
6.1.3 Teplota extrakce 90 °C

Následující obrázky 8, 9 a 10 znázorňují vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce při teplotě extrakce 90 °C. Z obrázku 8 lze říci, že při nižším přidavku enzymu je účinnost extrakce vyšší než při vyšším přidavku enzymu. Podobný trend vykazuje vliv doby extrakce, kde účinnost extrakce byla vyšší u kratší doby extrakce než při delší době extrakce. Zde je nutno zmínit, že účinnost extrakce byla u centrálního experimentu nižší než použité hodnoty doby extrakce limitních experimentů.



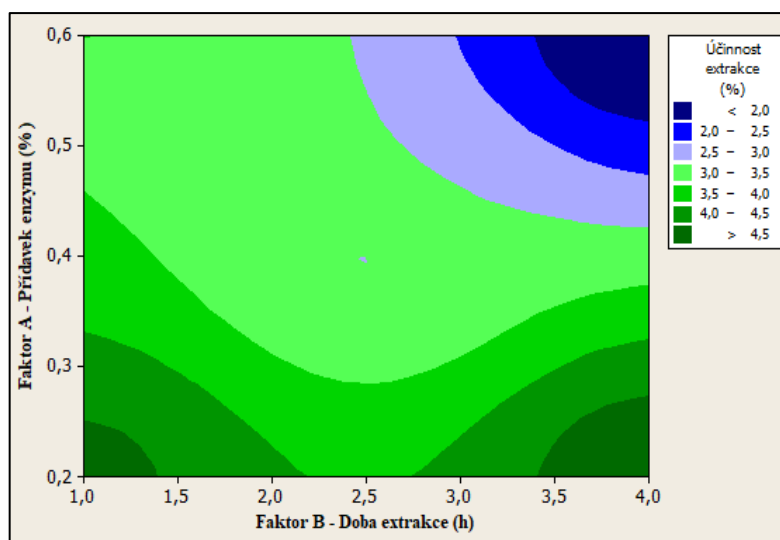
Obrázek 8 Vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce

Z obrázku 9 je patrné, že nejnižší účinnost extrakce při extrakční teplotě 90 °C byla při přidavku enzymu 0,6 % a po dobu extrakce 4 hodin. Nevyšší účinnost extrakce byla při přidavku enzymu 0,2 % a po dobu extrakce 4 hodin.



Obrázek 9 Kubické vyjádření vlivu faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce

Následující obrázek 10 znázorňuje vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce ve vrstevnicovém grafu, ze kterého je zřejmé, že se zvyšujícím se přídavkem enzymu se účinnost extrakce snižovala. Přičemž doba extrakce neměla na účinnost extrakce výrazný vliv až na centrální experiment, kde byla účinnost extrakce nižší než při kratší nebo delší době extrakce.

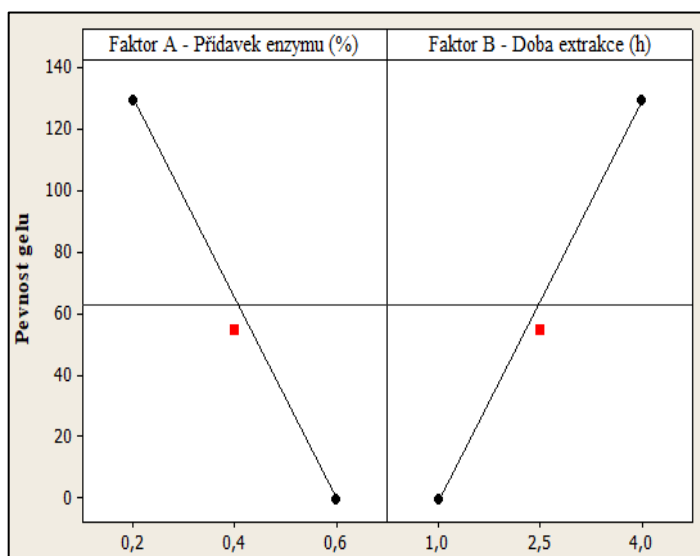


Obrázek 10 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na účinnost extrakce při teplotě extrakce 90 °C

6.2 Vliv technologických parametrů na pevnost želatinového gelu

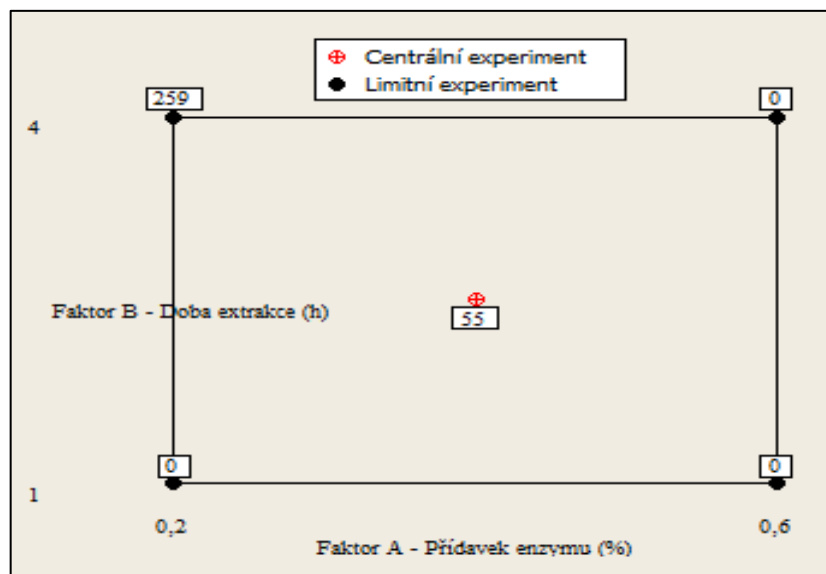
6.2.1 Teplota extrakce 60 °C

V následujících obrázcích 11, 12 a 13 je znázorněn vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 60 °C. Z obrázku 11 lze říci, že se zvyšujícím se přidavkem enzymu se pevnost gelu snižovala. Naopak při zvyšující se době extrakce se pevnost gelu zvyšovala. Lze tedy říci, že při této teplotě extrakce byla pevnost gelu nejvyšší při nižším přidavku enzymu a při delší době extrakce.



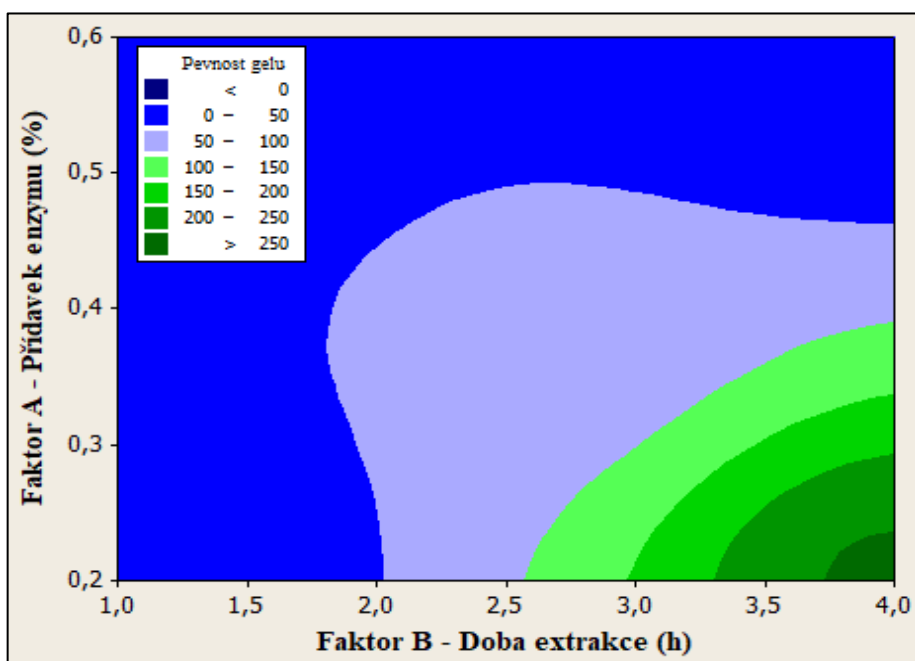
Obrázek 11 Vliv faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 60 °C

Na obrázku 12 je znázorněno kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu. Lze říci, že pevnost gelu byla nejvyšší při přidavku enzymu 0,2 % a po dobu extrakce 4 hodiny a nejnižší pevnost gelu vykazoval centrální experiment. Při ostatních kombinacích přidavku enzymu a doby extrakce vzorek netvořil gel o měřitelné síle.



Obrázek 12 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu výsledného produktu při teplotě extrakce 60 °C

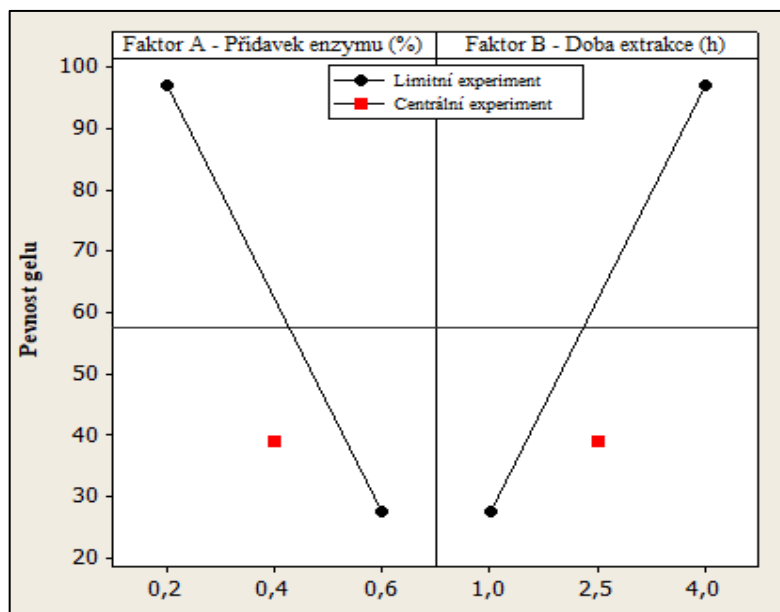
Následující obrázek 13 znázorňuje vrstevnicový graf, z kterého je patrné, že se snižujícím se přidavkem enzymu a zvyšující se dobou extrakce byly hodnoty pevnosti gelu vyšší než při opačné kombinaci.



Obrázek 13 Vrstevnicový graf č. znázorňující vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 60 °C

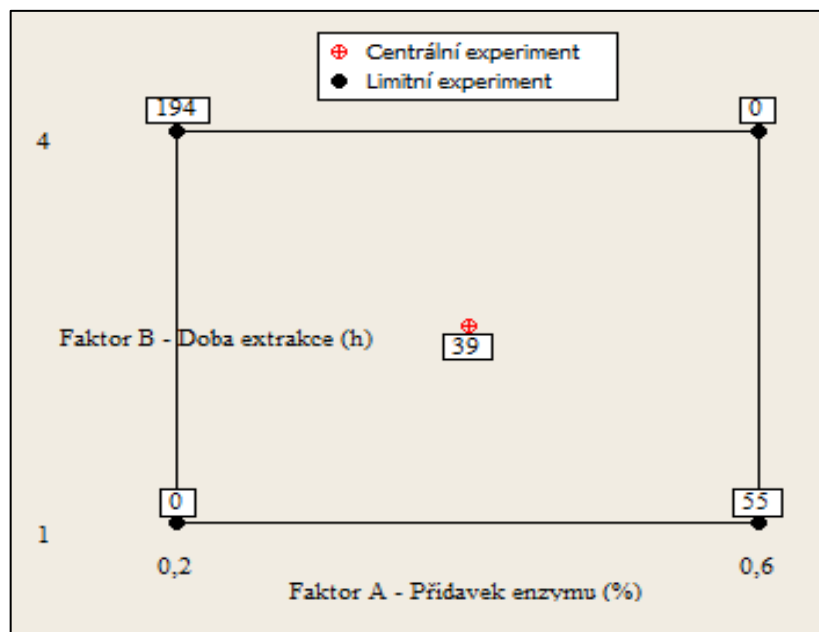
6.2.2 Teplota extrakce 75 °C

Obrázky 14, 15 a 16 znázorňují vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 75 °C. Z obrázku 14 lze říci, že při vyšším přidavku enzymu byla pevnost gelu nižší než při nižším přidavku enzymu, kdy byla pevnost gelu vyšší. Naopak při delší době extrakce byla pevnost gelu vyšší než při kratší době extrakce.



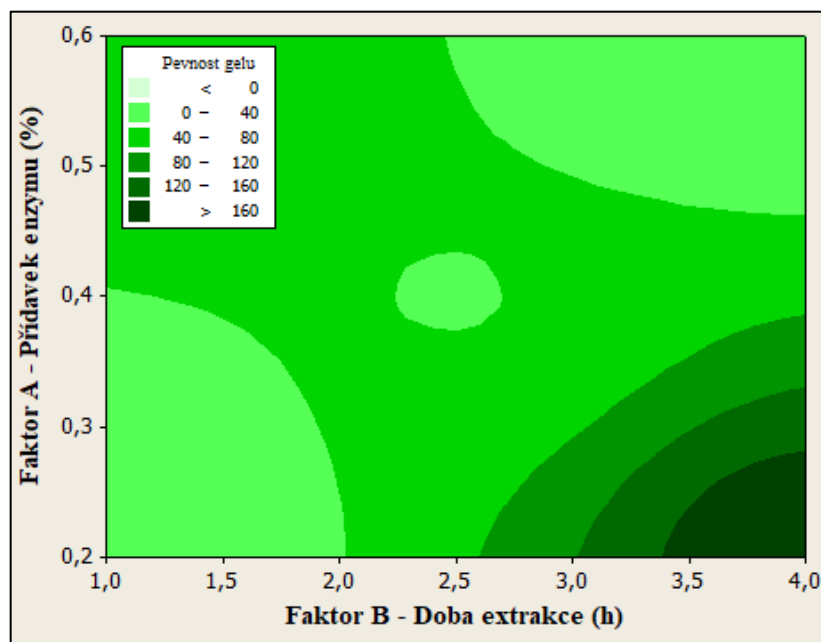
Obrázek 14 Vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 75 °C

Z obrázku 15 je patrné, že nejvyšší hodnoty pevnosti gelu želatiny byly při přidavku enzymu 0,2 % a době extrakce 4 hodin. Nejnižší hodnoty pevnosti gelu byly při přidavku enzymu 0,4 % a po dobu extrakce 2,5 hodiny. Při kombinaci přidavku enzymu 0,2 % a době extrakce 1 hodinu a při kombinaci přidavku enzymu 0,6 % a po dobu extrakce 4 hodin gel výsledný produkt netvořil.



Obrázek 15 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 75 °C

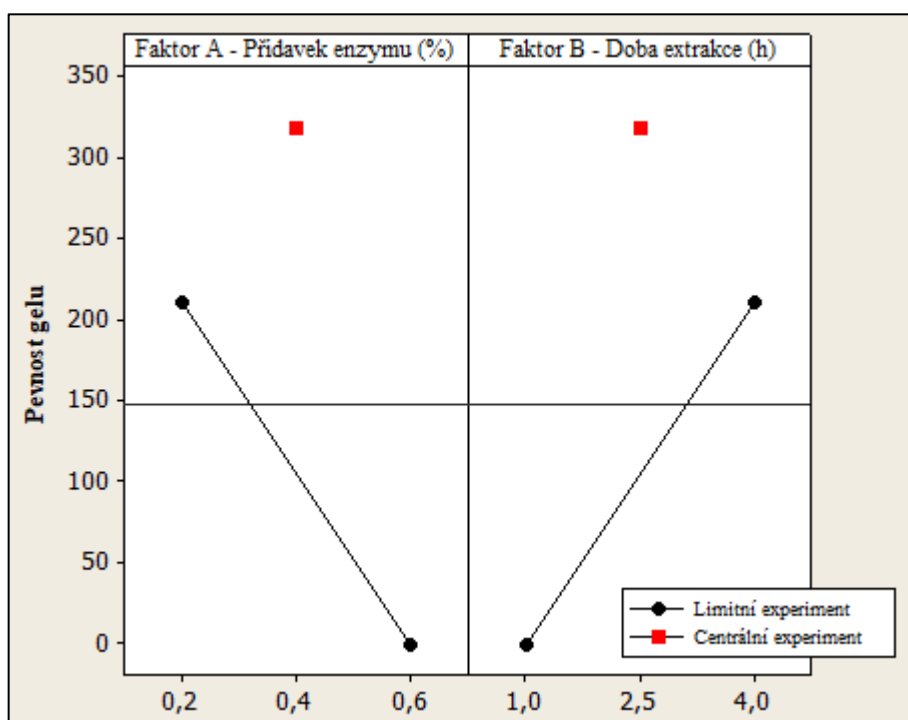
Následující obrázek 16 znázorňuje vrstevnicový graf vlivu jednotlivých faktorů na pevnost gelu, je patrné, že při použití nižšího přídávku enzymu a vyšší doby extrakce byly hodnoty pevnosti gelu výsledného produkty vyšší než při kombinaci vyššího přídávku enzymu a kratší doby extrakce.



Obrázek 16 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na pevnost gelu při extrakční teplotě 75 °C

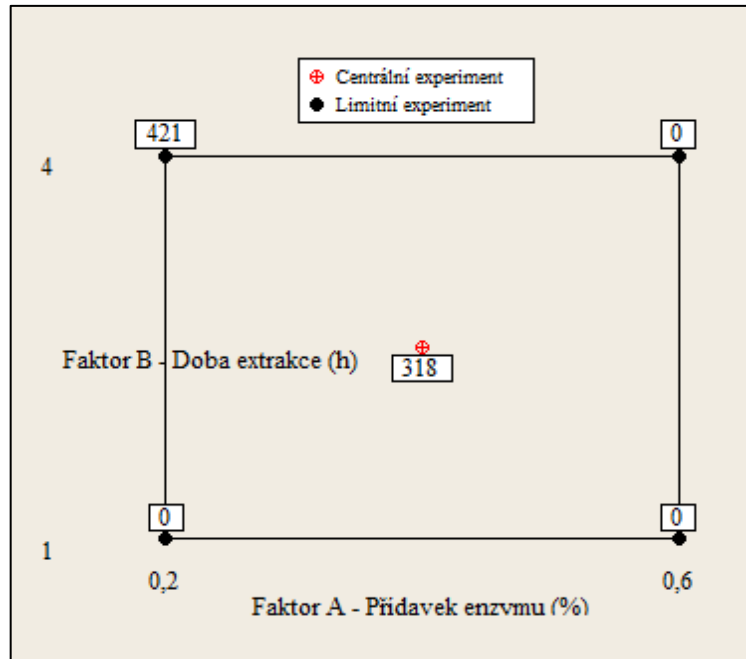
6.2.3 Teplota extrakce 90 °C

Následující obrázky 17, 18 a 19 znázorňují vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 90 °C. Z obrázku 17 je patrné, že se zvyšující se hodnotou přidavku enzymu se hodnota pevnosti gelu snižovala, naopak při zvyšující se době extrakce se hodnota pevnosti gelu zvyšovala. Taktéž je patrné, že při této extrakční teplotě byly nejvyšší hodnoty pevnosti gelu želatiny připraveny kombinací přidavku enzymu 0,4 % a doby extrakce 2,5 hodiny tedy za podmínek středového experimentu.



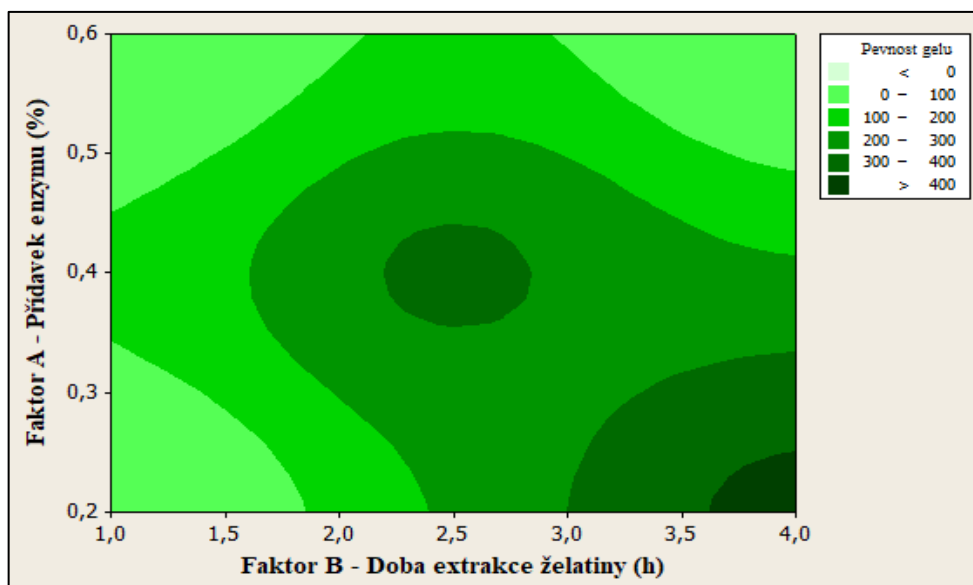
Obrázek 17 Vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 90 °C

Z následujícího obrázku 18 je patrné, že nejvyšší hodnoty pevnosti gelu želatiny byly při přidavku enzymu 0,2 % a době extrakce 4 hodin. Nejnižší pevnost gelu vykazoval středový experiment. Za použití ostatních kombinací přidavku enzymu a doby extrakce u výsledného produktu gel netvořily o takové síle, aby jej bylo možné změřit, ale tvořily viskózní kapaliny.



Obrázek 18 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na pevnost gelu výsledného produktu

Následující obrázek 19 znázorňuje vrstevnicový graf, ze kterého lze říci, že se zvyšující se dobou extrakce želatiny se pevnost gelu zvyšuje. Lze také říci, že přidavek enzymu v tomto ohledu neměl měřitelný vliv na pevnost gelu, ovšem je důležité zdůraznit, že při těchto podmínkách vznikaly viskózní kapaliny a velmi slabé gely, které většinou nebylo možné změřit.

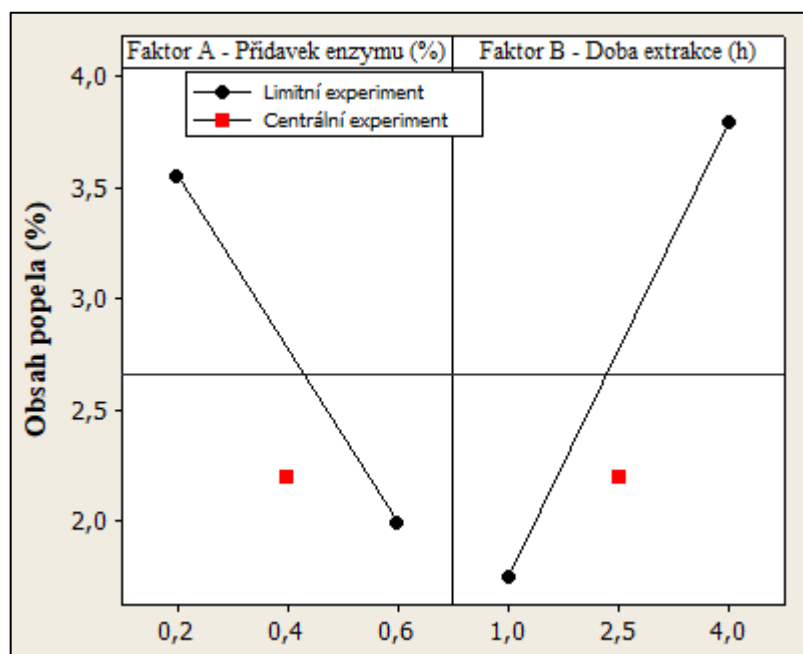


Obrázek 19 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na pevnost gelu při teplotě extrakce 90 °C

6.3 Vliv technologických parametrů na obsah popela ve výsledném produktu

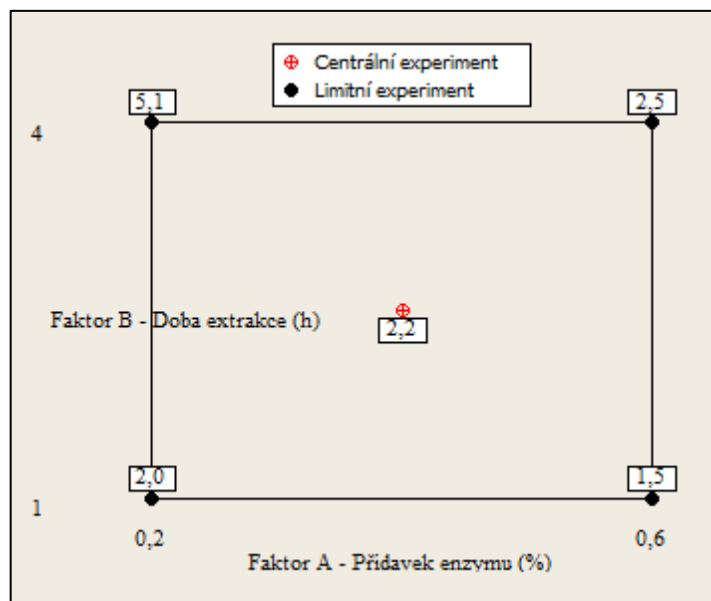
6.3.1 Teplota extrakce 60 °C

Následující obrázky 20, 21 a 22 znázorňují vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 60 °C. Z obrázku 20 je patrné, že při nižším přídavku enzymu je obsah popelovin vyšší než při vyšším přídavku enzymu. Také lze říci, že se zvyšující se dobou extrakce se obsah popela ve výsledném produktu zvyšuje.



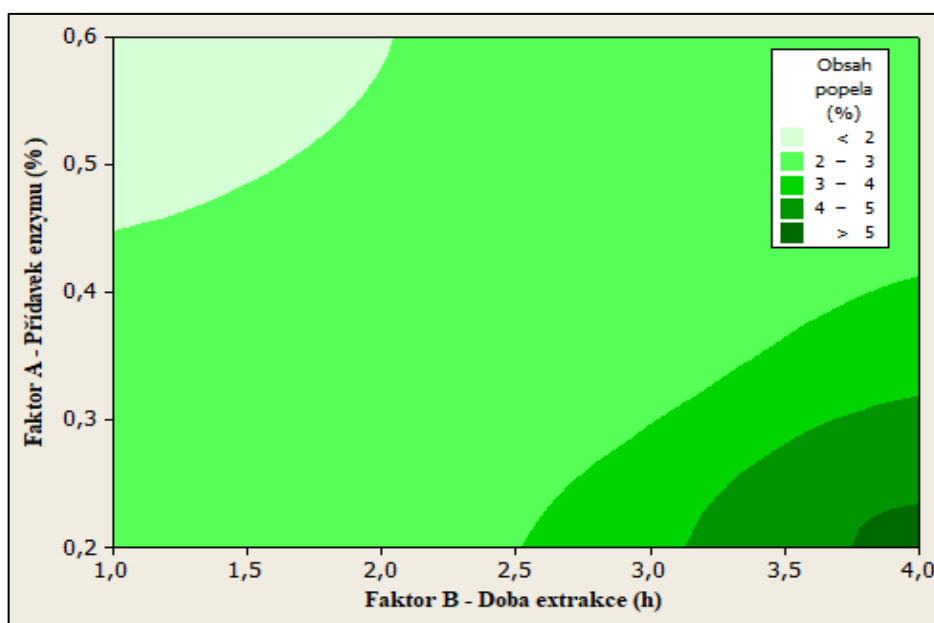
Obrázek 20 Vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 60 °C

Z obrázku 21 je patrné, že nejnižší obsah popela byl ve výsledném produktu, kde byla při přípravě želatin použita kombinace přídavku enzymu 0,6 % a doba extrakce 1 hodinu. Nejvyšší obsah popela byl u výsledného produktu, kde byla použita kombinace přídavku enzymu 0,2 % a doby extrakce 4 hodin.



Obrázek 21 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 60 °C

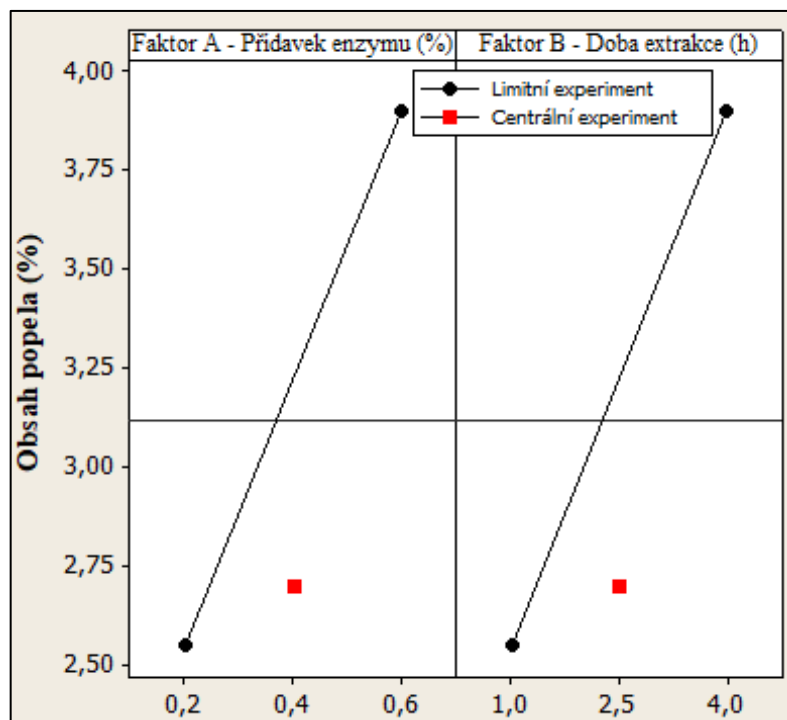
Obrázek 22 znázorňuje vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu a to vrstevnicovým grafem. Je zde patrné, že se zvyšující se dobou extrakce se obsah popela ve výsledném produktu zvyšuje, a se zvyšujícím se přídavkem enzymu se obsah popela ve výsledném produktu snižuje.



Obrázek 22 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na obsah popela při teplotě extrakce 60 °C

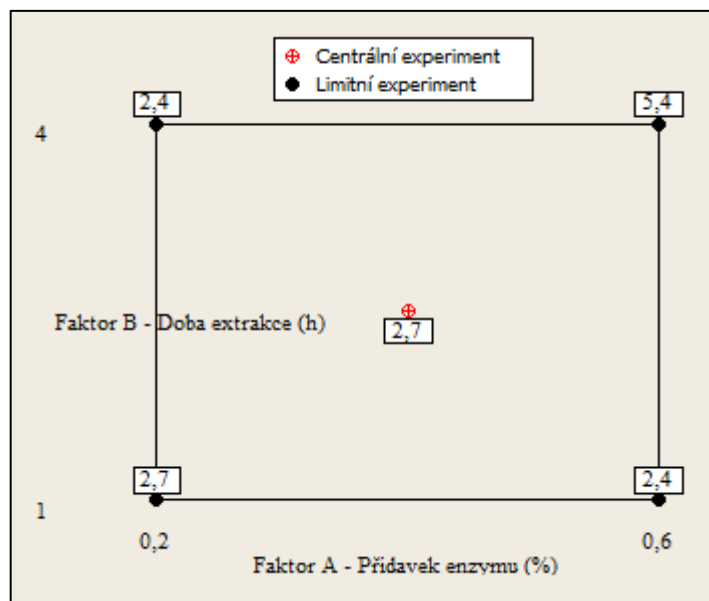
6.3.2 Teplota extrakce 75 °C

Obrázky 23, 24 a 25 znázorňují vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C. Z obrázku 23 je patrné, že při nižším přidavku enzymu byl obsah popelovin nižší než při vyšším přidavku enzymu, také lze říci, že se zvyšující se dobou extrakce se obsah popela ve výsledném produktu zvyšoval.



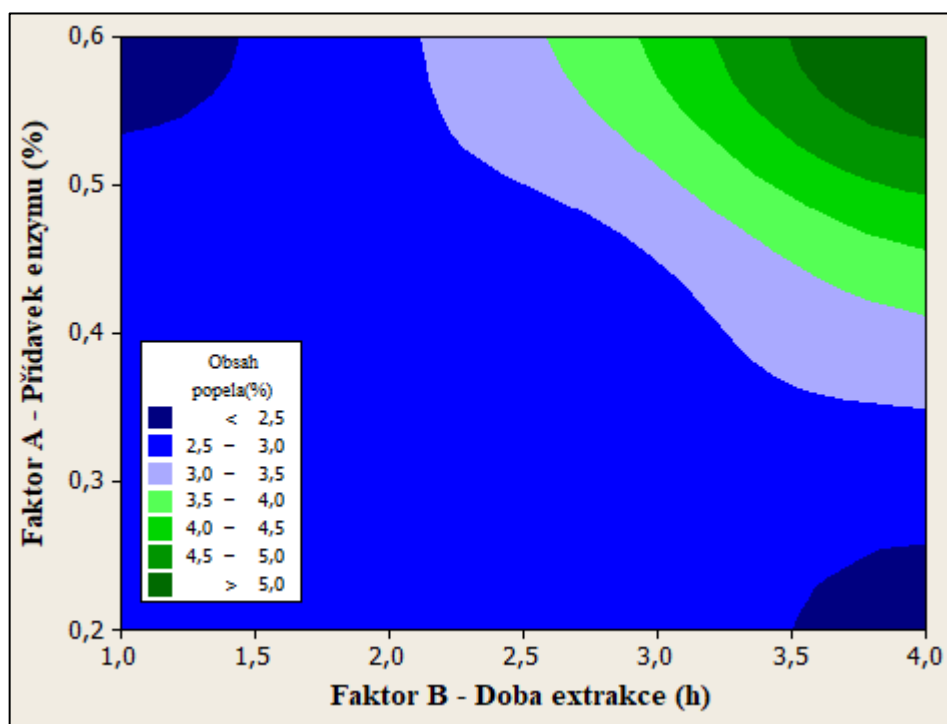
Obrázek 23 Vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C

Z obrázku 24 je patrné, že nejvyšší obsah popela ve výsledném produktu byla kombinace přidavku enzymu 0,6 % a doby extrakce 4 hodiny. Nejnižší obsah popela ve výsledném produktu byla kombinace přidavku enzymu 0,6 % a doba extrakce 1 hodina a kombinace přidavku enzymu 0,2 % a doby extrakce 4 hodiny.



Obrázek 24 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C

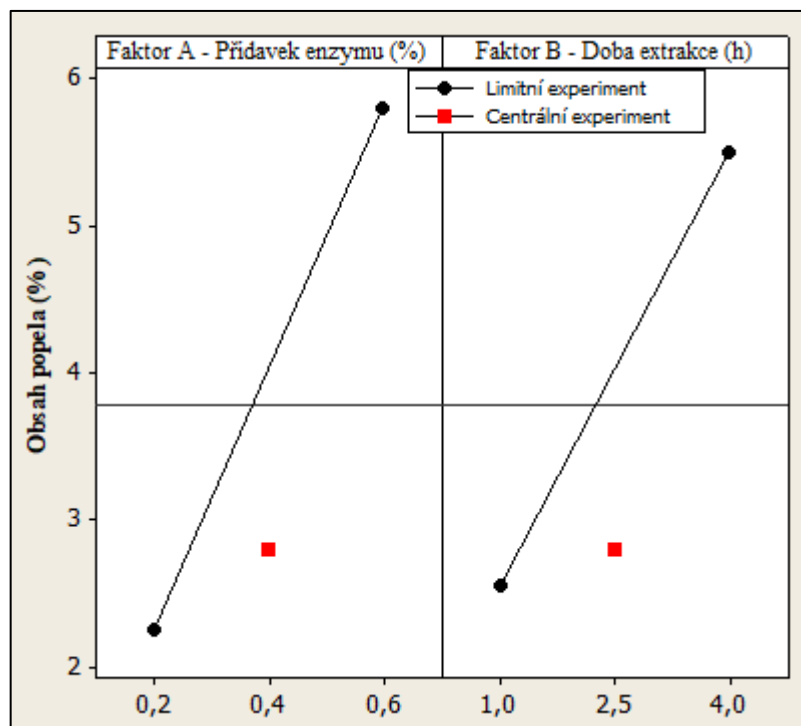
Obrázek 25 znázorňuje vrstevnicový graf, ze kterého je patrné, že se zvyšujícím se přidavkem enzymu a zvyšující se dobou extrakce je obsah popela ve výsledném produktu vyšší, než při použití nižšího přidavku enzymu a nižší doby extrakce.



Obrázek 25 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C

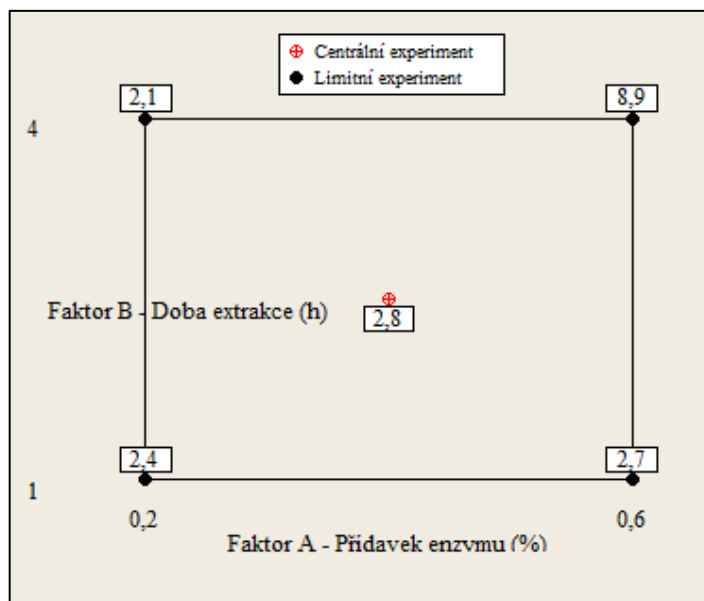
6.3.3 Teplota extrakce 90 °C

Na následujících obrázcích 26, 27 a 28 je znázorněn vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C. Na obrázku 26 je obsah popela vyšší se zvyšujícím se přidavkem enzymu a se zvyšující se dobou extrakce. Při snižující se době extrakce a snižujícím se přidavku enzymu se obsah popela snižuje.



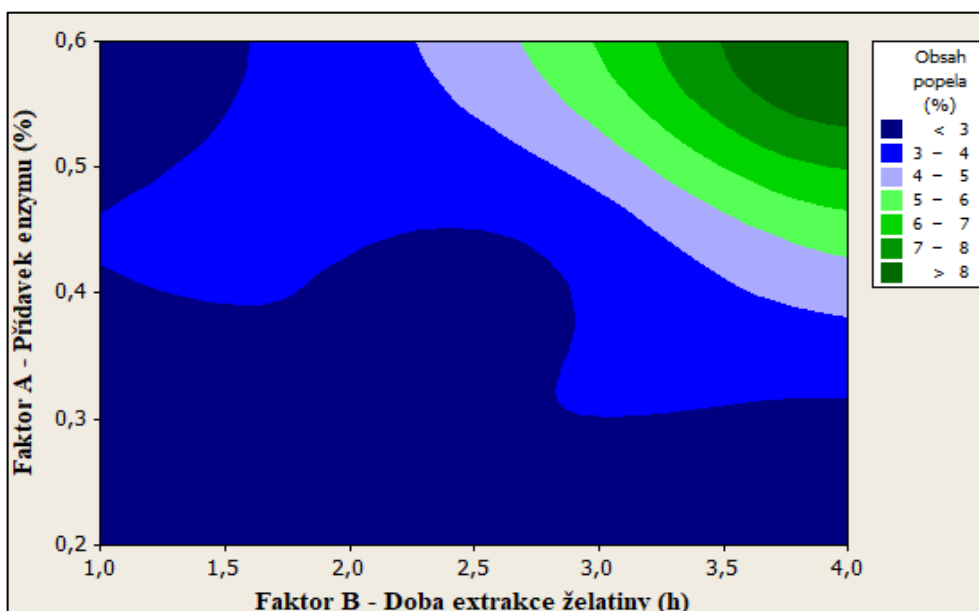
Obrázek 26 Vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C

Z následujícího obrázku 27 je patrné, že nejnižší obsah popela ve výsledném produktu byl u použité kombinace přidavku enzymu 0,2 % a doby extrakce 4 hodiny. Nejvyšší obsah popela ve výsledném produktu byl u použité kombinace přidavku enzymu 0,6 % a doby extrakce 4 hodin.



Obrázek 27 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C

Na obrázku 28 je znázorněn vrstevnicový graf, ze kterého lze říci, že se zvyšujícím se přídavkem enzymu se obsah popela ve výsledném produktu zvyšoval. Doba extrakce neměla na obsah popela ve výsledném produktu při této extrakční teplotě sledovatelný vliv.



Obrázek 28 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C

6.4 Vliv technologických parametrů na ostatní parametry výsledného produktu

a) Viskozita

Viskozita želatinových gelů se po rozpuštění pohybovala v rozmezí od 1,9 – 15,9 mPa.s. Viskozita byla měřena pouze u vzorků, které vykazovaly měřitelnou pevnost gelu. Z naměřených výsledků je zřejmé, že hodnoty viskozity se pohybovaly v souvislosti s pevností gelu. Se zvyšující se pevností gelu se zvyšovala i viskozita. Nejvyšší hodnoty viskozity dosahoval experiment č. VI, tedy slepý pokus. Viskozita je po pevnosti gelu druhý nejdůležitější parametr u potravinářských želatin.

b) Teplota tání gelu

Teplota tání gelu se pohybovala v rozmezí od 35,5 – 39 °C a byla změřena pouze u experimentů, které měly měřitelnou pevnost gelu. Teplota tání gelu je důležitý parametr například u želatinových bonbónů, kde je důležitá rozpustnost v ústech při teplotě organismu. Rozpuštěním želatinového gelu dochází k uvolnění aromatických látek.

c) pH

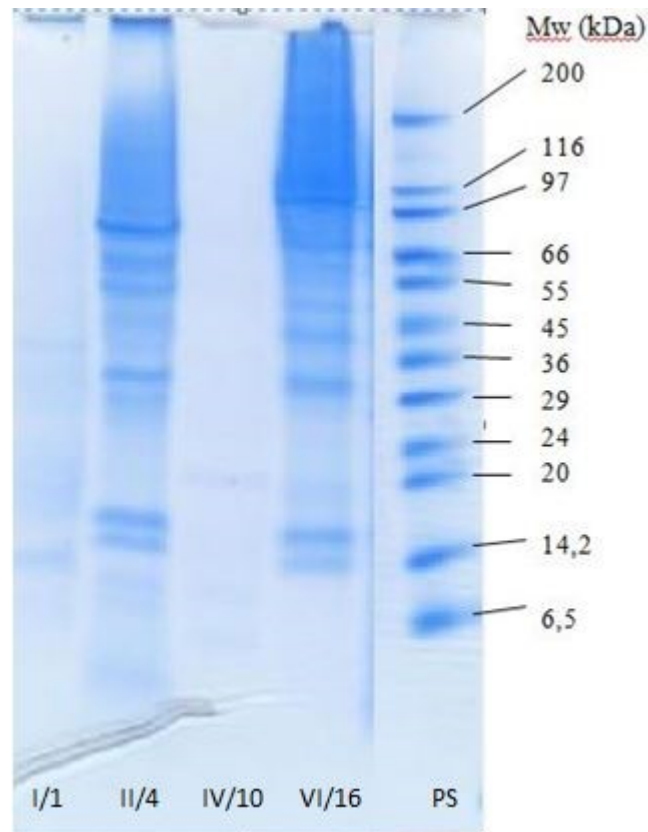
Hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí od 6,52 – 9,53. Přičemž hodnota pH se může u potravinářských želatin pohybovat do hodnoty pH = 8. Pokud bychom nebraly v úvahu slepý pokus, při kterém byly hodnoty pH nejvyšší, připravené želatiny by tuto podmínku splňovaly. U experimentu IV s pořadovým číslem 12 nebyla hodnota pH změřena z důvodu malého množství vzorku.

d) Čírost

Čírost se pohybovala v rozmezí od 0,4 – 54,1 %. Pokud bychom nebraly v úvahu slepý pokus, kde byly hodnoty čírosti nejvyšší, pohybovaly by se hodnoty čírosti v rozmezí od 0,4 – 10,3 %. Vysoké hodnoty čírosti lze snížit filtrací želatinového roztoku. Čírost je důležitá např. u výrobků typu želatinových dortů. Se zvyšující se hodnotou čírosti je želatina více zakalenější a na spotřebitele by to mohlo působit negativně, proto jsou nízké hodnoty čírosti, v tomto typu výrobků, více žádané.

e) SDS – PAGE

Stanovení molární hmotnosti želatin byly provedeny pouze u 4 vzorků a to u experimentů č: I s pořadovým č. 1 (I/1), č. II s pořadovým č. 4 (II/4), č. IV s pořadovým č. 10 (IV/10) a č. VI s pořadovým č 16 (VI/16). Naměřené výsledky jsou znázorněny na obr. č. 29



Obrázek 29 Výsledek SDS – PAGE

I/1; II/4; IV/10; VI/16 – analyzované vzorky želatin

PS – proteinový standard s širokou distribucí molekulových hmotností (6,5 – 200 kDa)

Z obrázku 29 lze říci, že vzorky označené jako I/1 a IV/10 neobsahovaly bílkovinné řetězce o velké molekulové hmotnosti, z toho důvodu želatiny připravené za daných podmínek netvořily gel o měřitelné síle, ale pouze hustou viskózní kapalinu, byly tedy za daných podmínek připraveny kolagenní hydrolyzáty. U vzorků označených jako II/4 a VI/16 lze pozorovat obsah bílkovinných řetězců s vysokou molekulovou hmotností, proto byly tvořeny gely. U vzorku II/4 byla pevnost želatinového gelu slabší než pevnost gelu u vzorku VI/16..

7 CELKOVÉ ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Účinnost extrakce u experimentů I – VI se pohybovala v rozmezí 23,7 – 54,4 %. Přičemž nejnižší účinnost extrakce byla u slepého pokusu, kde nebyl použit enzym při neutrálním opracování kuřecích běháků. Pokud nebereme v úvahu slepý pokus, hodnoty účinnosti extrakce se pohybovaly v úzkém rozmezí od 44,2 – 54,4 %. Přičemž nejnižší hodnota účinnosti extrakce zmíněného rozmezí byla při kombinaci přídatku enzymu 0,2 % a doby extrakce 1 hodinu, naopak nejvyšší hodnota účinnosti extrakce byla při kombinaci přídatku enzymu 0,6 % a doby extrakce 4 hodiny, důležité je ale zmínit, že při této kombinaci podmínek vzniklý produkt netvořil gel, tudíž je nutné zvážit poměr důležitosti účinnosti extrakce ku tvorbě gelu. Přijatelnou alternativou pro přijatelnou hodnotu účinnosti extrakce a tvorbu gelu, byly podmínky experimentu č. II, kde byla účinnost extrakce 54,1 %, a to při kombinaci přídatku enzymu 0,2 % a doby extrakce 4 hodiny. Ve srovnání s jinými studiemi například studií D. Dhakalu a kol.[21], kteří extrahovali želatinu z kuřecích běháků taktéž metodou faktorových pokusů, kde byly faktory teplota extrakce (4, 30 a 56 °C), doba extrakce (20, 24 a 28 hodin) a navíc byl sledován vliv poměru NaCl ku množství kuřecích běháků (150, 200 a 250 ml). Bylo zjištěno, že nejvyšší účinnosti lze dosáhnout kombinací teploty 30 ° C a doby extrakce 28 hodin, a to účinku $32,16 \pm 0,25$ % [21]. Další vhodnou studií by mohla být studie A. Abedenia a kol. [20], kteří studovali možnosti získávání želatiny z kachních běháků a to pro srovnání enzymatickou, kyselou a alkalickou předúpravou. Došli k závěru, že díky enzymatické předúpravě byla účinnost extrakce vyšší než při použití alkalické nebo kyselé předúpravy. Enzymatickou předúpravou získaly $5,75 \pm 0,07$ %, u alkalické $3,65 \pm 0,03$ % a u kyselé $4,09 \pm$ %. [20] Lze tedy říci, že pokud bychom chtěly dosáhnout co nejvyššího účinku extrakce želatiny z kolagenních surovin, je enzymatická předúprava nejlepší cestou.

Pevnost gelu nebylo možné změřit u všech vzorků, protože buď daný vzorek gel nevytvořil vůbec, nebo pevnost gelu nebyla silná natolik, aby ji bylo možné změřit, v těchto případech gel tvořil spíše hustou viskózní kapalinu, byly tedy získány kolagenní hydrolyzáty. Gel netvořily experimenty č. I, III a IV. Pokud bychom porovnávaly vliv přídatku enzymu u experimentů, u kterých byla připravena želatina, která vykazovala měřitelnou pevnost gelu, tak u experimentu I (přídavek enzymu 0,2 %) a III (přídavek enzymu 0,6 %), kdy byla doba extrakce stejná a to 1 hodinu, mohly bychom říci, že přídavek vyššího množství enzymu má vliv na pevnost gelu, u experimentu I nebyl vytvořen gelu o takové síle, aby ho bylo možné změřit, ale u experimentu III byla vytvořena hustá viskózní kapalina a

v jednom případě velmi slabý gel (poř. č. 8), který bylo možné změřit. Lze tedy říci, že u experimentu č. I byla extrakční doba příliš krátká a přídavek enzymu příliš malý na to, aby došlo k extrakci řetězců o takové molekulové hmotnosti, aby byly gely tvořeny. U experimentu č. III lze úvahu potvrdit, tím, že v jednom případě bylo gel možné změřit, ale pevnost gelu byla malá, vyšší přídavek enzymu tedy měl vliv na extrakci dostatečně dlouhých molekul, ale doba extrakce byla příliš krátká. Pokud bychom tedy braly v úvahu, že delší doba extrakce bude mít vliv na vyšší pevnost gelu želatin, bylo by vhodné srovnat experiment č. II (přídavek enzymu 0,2 %) a experiment č. IV (přídavek enzymu 0,6 %), kde byla doba extrakce 4 hodiny v obou případech, ale přídavek enzymu byl odlišný. U experimentu IV nedocházelo k tvorbě gelu ani viskózní kapaliny a to asi z toho důvodu, že kombinací nejvyšší doby extrakce a nejvyššího přídavku enzymu dochází vlivem působení enzymu k rozštěpení molekul kolagenu až na aminokyseliny. Díky naměření molekulové hmotnosti bylo zjištěno, že molekuly připraveného produktu z experimentu č. IV měly opravdu malou molekulovou hmotnost, tudíž nedocházelo k tvorbě gelu o takové síle, aby jej bylo možné změřit, a úvahu lze potvrdit. Naopak u experimentu č. II vznikaly bílkovinné štěpy o takové molekulové hmotnosti, že želatiny tvořily gel s optimálními hodnotami pevnosti gelu při všech extrakčních teplotách a navíc byla i v tomto případě optimální účinnost extrakce želatin. Lze tedy říci, že ideálními podmínkami, jak z hlediska účinnosti a pevnosti gelu želatin, by byly pro extrakci želatin podmínky experimentu č. II, tedy přídavek enzymu 0,2 % a doba extrakce 4 hodiny, kdy byla účinnost extrakce a pevnost gelu v přijatelných hodnotách. Hodnoty pevnosti gelu se u experimentu II pohybovaly v rozmezí od 194 – 259 g, u experimentu č. V od 39 – 154 g a u experimentu č. VI, kde nebyl použit enzym při předúpravě kuřecích běháků, v rozmezí od 375 – 407 g. Pokud bychom porovnávaly pevnost gelu u experimentu, kde nebyl použit enzym při neutrálním opracování kuřecích běháků, byla by vhodnými studiemi studie Norizah Mhd Sarbon a kol. [19] a studie E.Aykin – Dincera a kol. [25], kteří ve své studii extrahovali želatinu z kuřecích kůží, a to téměř shodným postupem, s malými změnami, a to tak, že kuřecí kůže zbavily nekolagenních bílkovin pomocí NaOH, a následně je podrobily kyselé předúpravě za pomoci 0,15% nebo 15% kyseliny sírové a 0,7% kyseliny citrónové. Norizah Mhd Sarbon a kol. použili k předúpravě 15% kyselinu sírovou a získal želatinu o pevnosti gelu $355 \pm 1,48$ g [19]. E. Aykin – Dincera a kol., použili k předúpravě 0,15% kyselinu sírovou a získal želatinu o pevnosti gelu $166,65 \pm 1,63$ g [25]. Lze tedy říci, že použitím silnější kyseliny (v tomto případě kyseliny sírové), lze vyrobit želatiny s vyšší pevností gelu. A. K.

Chakka a kol. [22], kteří extrahovali želatinu z kuřecích běháků pomocí kyselé předúpravy a to potravinářskými kyselinami, a to kyselinou octovou, mléčnou a citronovou a to o koncentracích 1,5; 3,0 nebo 4,5 %. Zjistil, že u kyseliny mléčné a octové byla pevnost gelu nejvyšší u nejnižší koncentrace kyselin (1,5%) a to s pevností gelu u kyseliny mléčné $163,97 \pm 4,51$ g a u kyseliny octové $204,30 \pm 3,20$ g, až na kyselinu citronovou, u které byla pevnost gelu nejvyšší u nejvyšší použité koncentrace (4,5%), kde byla pevnost gelu $165,83 \pm 2,52$ g [22]. Je zde ale, stejná otázka jako u účinnosti extrakce želatin, musíme zde zvážit důležitost účinnosti extrakce ku pevnosti gelu získané želatiny.

Obsah popela se pohyboval v rozmezí od 0,52 – 8,9 %. Pokud bychom nebraly v úvahu slepý pokus, bylo by rozmezí obsahu popela od 1,53 – 8,9 %. Nejvyšší hodnoty obsahu popela byly při použití dlouhé extrakční doby, v tomto případě 4 hodiny. Naopak nejnižší hodnoty byly při použití extrakční doby 1 hodinu. Obsah popela by se měl dle legislativních požadavků pohybovat do 2 %, což ve většině případů připravené želatiny splňovaly. U želatin s vyšší hodnoty obsahu popela lze tyto hodnoty snížit deionizací použitím iontoměníčů ve finálních úpravách želatinové roztoku ve výrobním procesu.

7.1 Návrh optimálních podmínek

Optimální podmínky zpracování kuřecích běháků na želatiny, by byly takové, kdyby účinnost extrakce byla co nejvyšší a parametry vyrobené želatiny by byly v takovém rozmezí hodnot, aby splňovaly jak legislativní požadavky na jedlé želatiny tak i požadavky potravinářských producentů. Účinnost extrakce a pevnost gelu lze ovlivnit správnou kombinací přídatku enzymu a doby extrakce, a navíc teplotou extrakce. Z hlediska účinnosti extrakce, by byly nejvhodnější optimální podmínky takové, kdyby byla účinnost extrakce co nejvyšší. Jak již bylo zmíněno výše, účinnost extrakce při použití enzymatické předúpravy byla v úzkém rozmezí 44,2 – 54,4 %. V tomto případě se dosáhlo nejvyšší účinnosti extrakce (54,4 %) za použití kombinace vysokého přídatku enzymu (0,6 %) a nejdelší doby extrakce (4 hodiny), důležité je ale zmínit, že nedocházelo k tvorbě gelu o takové síle, aby jej bylo možné změřit, takže by v tomto případě bylo vhodnějšími podmínkami, kdyby účinnost extrakce byla vysoká a docházelo by k tvorbě gelu. V tomto případě se jedná o kombinaci nižšího přídatku enzymu (0,2 %) a stejné doby extrakce (4 hodiny), kdy byla účinnost extrakce 54,1 %. Použitím této kombinace podmínek docházelo k tvorbě gelu v rozmezí hodnot pevnosti gelu 194 – 259 g, v tomto případě byly také přijatelné jak hodnoty obsahu popela, tak i sledované parametry výsledného produktu.

7.2 Možnosti aplikace želatin získaných z vedlejších produktů v potravinářství

Pro připravené želatiny a kolagenní hydrolyzáty lze nalézt uplatnění jak v potravinářském průmyslu, tak ve farmaceutickém průmyslu. Produkty, které netvořily gel, ale hustou viskózní kapalinu, nebo ty, které tvořily velmi slabý gel, by mohly být použity při výrobě müsli tyčinek a cereálních tyčinek, u kterých se používají želatiny s nízkou pevností gelu, nebo hydrolyzáty, kde slouží jako náhrada cukru a jeho lepící vlastnosti. Produkty s vyššími hodnotami pevnosti gelu by mohli být aplikovány téměř ve všech výše zmíněných případech. Například u experimentu č. II, který tvořil želatiny s pevností gelu v rozmezí 194 – 259 g, by mohly být použity téměř ve všech odvětvích potravinářského průmyslu a to jak masného, mlékařského tak cukrářského. V masném průmyslu by želatiny mohly být použity při výrobě paštik, konzervovaných masných výrobků, šunek nebo kolagenních obalů. V cukrářském průmyslu by to mohly být želatinové dezerty, želatinové bonbony nebo marshmallow a v mlékárenském průmyslu by mohly být použity například při výrobě jogurtů nebo zmrzlin. Již jsou známy studie, které se zabývají možnostmi aplikací želatin připravených z netradičních surovin v potravinářském průmyslu, například P. F. Almeida a kol. [34] připravili želatinové bonbony s grepovou a ananasovou příchutí, z želatiny získané z kuřecích běháků a nechaly je sensoricky testovat v porovnání s komerčně dostupnou želatinou a stejné příchuti 30 nekvalifikovanými hodnotiteli obou pohlaví. Došli k závěru, že komerčně dostupné želatiny se od želatin vyrobených z kuřecích běháků významně neliší a 80 % hodnotitelů by v nich neshledali zásadní rozdíl [34]. Potvrzuje to i jejich další studie z roku 2012 [35], kdy připravily želatinu s příchutí ananasu a bílé čokolády a taktéž ji nechaly sensoricky zhodnotit 30 nekvalifikovanými hodnotiteli obou pohlaví. Zjistily, že oba výrobky měly dobré chuťové vlastnosti a 74 % by konzumovalo výrobek s ananasovou příchutí a u výrobku s čokoládovou příchutí až 85 % hodnotitelů [35]. Takže želatina získaná z netradičních surovin je téměř srovnatelná s komerčně dostupnou želatinou, má stejné vlastnosti a navíc je i její levnější variantou. Dalším příkladem využití želatiny z kuřecích kolagenních surovin vzhledem ke zvyšujícímu se zájmu o zdravé výrobky s nízkým obsahem tuku by mohla být studie P. F. Almeida a kol. [32], kteří použili želatinu získanou z kuřecích běháků jako náhradu rostlinného tuku v čokoládových pomazánkách, a to z důvodu zdravotního hlediska s cílem snížit energetický příjem z čokoládových výrobků, ale zároveň s cílem zachovat jejich texturní vlastnosti. Cílem studie bylo 100 % nahradit rostlinný tuk za kuřecí želatinu. Rostlinný tuk byl nahra-

zen z 15, 25, 50, 75 a 100 % želatinou a použily želatinu o koncentraci 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 a 1,2%. Vyrobené pomazánky měly uspokojivou roztíratelnost při 10 °C a 20 °C, a při 30 °C měly čokoládové pomazánky s vyšší náhradou tuku a želatinou s nižší koncentrací až tekutou povahu. Nicméně uspokojivě byl nahrazen tuk z 50 % a 75 % a to želatinou o koncentraci 0,5 a 1,0 %. [32] Želatina může být dále použita jako prostředek pro prodloužení čerstvosti výrobku. Tuto možnost popisuje studie M.N. Antoniewski a kol.[36], kteří aplikovali želatinu na povrch čerstvého masa a to hovězí svíčkové, vepřové panenky kuřecích prsou a filetů z lososa. Hovězí svíčkovou, vepřovou panenku a filety z lososa nakrájeli na plátky a kuřecí prsa ponechaly v celku. Poté si připravili 20% roztok želatiny, který nastříkali na povrch masa pomocí pistole bez trysky. Přičemž polovina ze vzorků byla ponechána bez želatinového nástřiku a poté byly vzorky vakuově baleny. Vzorky se skladovaly při 4 °C a to 1, 7 nebo 14 dní za světla nebo tmy. Bylo zjištěno, že želatinový potah opravdu zvýší trvanlivost výrobku, zabrání přístupu kyslíku, mikroorganismům a neovlivní chuť masa. Želatinový potah by tedy mohl být vhodnou alternativou pro zvýšení trvanlivosti čerstvého masa a snížilo by se také plýtvání potravinami. Želatinový nástřik je také téměř neviditelný na rozdíl od vložky obohacené želatinou a mohlo by to působit na spotřebitele pozitivněji. [36]

Dále by bylo možné vzhledem ke zvyšujícímu se množství vznikajících odpadů použít želatinu při výrobě jedlých lehce odbouratelné povlaky – jedlé filmy. Například ve studii P. Y. Soo a kol.[31] použili želatinu, kterou extrahovali z kuřecích kůží na výrobu právě tohoto jedlého povlaku. Jedlé filmy vytvořili smícháním získané želatiny s rýžovou moukou v různých poměrech, 30% glycerolem jako plastifikátorem, a destilovanou vodou. V této studii byly vytvořeny želatinové filmy, které by mohly být aplikované v potravinářském průmyslu. Správnou kombinací množství rýžové mouky a želatiny lze vyrobit želatinové filmy se širokou škálou použitelnosti [31]. Ovšem návrhy a použití želatin extrahovaných z kuřecích běháků nebo jakýchkoliv kolagenních surovin netradičních pro výrobu želatin by mohly být předmětem dalších studií spojených i s aplikacemi v potravinářském průmyslu.

ZÁVĚR

V teoretické části diplomové práce byly popsány možnosti výroby želatin z tradičních surovinových zdrojů, možnosti využití kolagenních vedlejších produktů jatečného průmyslu na výrobu želatin a možnosti aplikace těchto želatin v praxi.

V praktické části byly zpracovány kuřecí běháky biotechnologickým procesem na želatiny, byl studován vliv vybraných technologických podmínek (na účinnost extrakce, pevnost gelu želatin a obsahu popela). Dále byly charakterizovány připravené želatiny stanovením viskozity, čirosti, teplotou tání gelu, pH, sušiny a u některých experimentů i molekulové hmotnosti.

Účinnost extrakce se pohybovala v rozmezí od 23,7 – 54,4 %. Z naměřených výsledků vyplývá, že největší vliv na účinnost extrakce želatin měla enzymatická předúprava kuřecích běháků. Bylo zjištěno, že se zvyšujícím se přídatkem enzymu a zvyšující se dobou extrakce se zvyšovala i účinnost extrakce. V tomto případě bylo dosaženo nejvyšší účinnosti extrakce želatin za podmínek přídatku enzymu 0,6 % a době extrakce 4 hodiny. Optimálními podmínkami pro co nejvyšší účinnost extrakce by byly kombinace přídatku enzymu 0,6 % a doby extrakce 4 hodiny. Je ale nutné říci, že při těchto podmínkách nebyl tvořen gel o měřitelné síle, ale hustá viskózní kapalina, tedy kolagenní hydrolyzát, a proto by bylo vhodnější zvolit kombinaci přídatku enzymu 0,2 % a doby extrakce 4 hodiny, kdy i při těchto podmínkách byl tvořen gel v optimálních hodnotách. Pevnost gelu se pohybovala v rozmezí od 55 – 407 g a z naměřených výsledků vyplývá, že na pevnost gelu měl vliv jak přídatek enzymu, tak doba extrakce. Jejich vhodnou kombinací lze docílit získání želatiny o pevnosti gelu v daném rozmezí. Obsah popela se pohyboval v rozmezí od 0,52 – 8,90 % a jeho hodnoty se zvyšovaly s vyššími kombinacemi přídatku enzymu a doby extrakce. Tedy čím vyšší byla doba extrakce a přídatek enzymu, tím vyšší byly hodnoty obsahu popela. Obsah popela se také zvyšoval se zvyšující se teplotou extrakce želatin. Obsah popela se dá ovšem snížit zařazením iontoměníčů do technologického procesu. Připravené produkty byly charakterizovány jako želatiny a v některých případech kolagenní hydrolyzáty a mohly by být aplikovány jak v potravinářském tak farmaceutickém průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PHILLIPS a G.O. *Handbook of Hydrocolloids (2nd Edition)*. 2nd ed. S.l.: Woodhead Pub, 2009. ISBN 9781845694142.
- [2] *Narižení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu*. In: . Brno: Ediční středisko MZLU v Brně, 1999, ročník 2004, číslo 853. Dostupné také z: <http://data.europa.eu/eli/reg/2004/853/oj>
- [3] SCHRIEBER, R. a DR. GAREIS, H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2007. ISBN 978-3-527-31548-2.
- [4] PHILLIPS, Glyn O. a Peter A. WILLIAMS. *Handbook of hydrocolloids*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000. ISBN 9780849308505.
- [5] *Želatina*. Hages [online]. Praha: Hages, 2005. Dostupné z: <http://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>
- [6] NUSSINOVITCH, Amos a Madoka HIRASHIMA. *Cooking innovations: using hydrocolloids for thickening, gelling, and emulsification*. Online-Ausg. Hoboken: Taylor and Francis, 2014. ISBN 9781439875896.
- [7] HANDBOOK, Gelatin. Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012. Dostupné z: www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf.
- [8] Applications. *Gelatine manufacturers of Europe* [online]. [cit. 2018-03-26]. Dostupné z: <http://www.gelatine.org/applications/food-industry.html>
- [9] Gelatin. *PB LEINER PG GELATINS* [online]. Dostupné z: <http://www.gelatin.com/en/gelatin/applications/food-industry/food>
- [10] Food application of by products from the sea Kim, S. (Ed.). (2014). *Seafood Science*. Boca Raton: CRC Press.
- [11] KARIM, A.A. a Rajeev BHAT. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* [online]. 2009, 23(3), 563-576. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002. ISSN 0268005X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X08001446>

- [12] GENNADIOS, A. Protein-based films and coating, CRC Press, 2002, ISBN 15-871-6107-9, 650 s.
- [13] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 300 s. ISBN 80-7080-509-9.
- [14] BUŇKA, František. *Mlékárenská technologie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 258 s. ISBN 978-80-7454-254-1.
- [15] KTARI, Naourez, Mourad JRIDI, Rim NASRI, Imen LASSOUED, Hanen BEN AYED, Ahmed BARKIA a Moncef NASRI. *Characteristics and functional properties of gelatin from zebra blenny (*Salaria basilisca*) skin*. LWT - Food Science and Technology [online]. 2014, 58(2), 602-608 . DOI: 10.1016/j.lwt.2014.03.036. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643814001868>
- [16] ALAO, Babatunde, Andrew FALOWO, Amanda CHULAYO a Voster MUCHENJE. *The Potential of Animal By-Products in Food Systems: Production, Prospects and Challenges*. Sustainability [online]. 2017, 9(7). DOI: 10.3390/su9071089. ISSN 2071-1050. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2071-1050/9/7/1089>
- [17] KITTIPHATTANABAWON, Phanat, Soottawat BENJAKUL, Sittichoke SINTHUSAMRAN a Hideki KISHIMURA. *Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions*. LWT - Food Science and Technology [online]. 2016, 66, 186-192. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.10.029. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643815302474>
- [18] LASEKAN, Adeseye, Fatimah ABU BAKAR a Dzulkifly HASHIM. *Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources*. Waste Management [online]. 2013, 33(3), 552-565. DOI: 10.1016/j.wasman.2012.08.001. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X12003674>
- [19] MHD SARBON, Norizah, Farah BADI a Nazlin K. HOWELL. *Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin*. Food Hydrocolloids [online]. 2013, 30(1), 143-151. DOI:

- 10.1016/j.foodhyd.2012.05.009. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X12001099>
- [20] ABEDINIA, Ahmadreza, Fazilah ARIFFIN, Nurul HUDA a Abdorreza Mohammadi NAFCHI. *Extraction and characterization of gelatin from the feet of Pekin duck (*Anas platyrhynchos domestica*) as affected by acid, alkaline, and enzyme pretreatment*. International Journal of Biological Macromolecules [online]. 2017, 98, 586-594. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.139. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813017300120>
- [21] DHAKAL, Damodar, Pisut KOOMSAP, Anita LAMICHHANE, Muhammad Bilal SADIQ a Anil Kumar ANAL. *Optimization of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres*. Food Bioscience [online]. 2018, 23, 23-30. DOI: 10.1016/j.fbio.2018.03.003. ISSN 22124292. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212429217302523>
- [22] CHAKKA, Ashok Kumar, Ali MUHAMMED, P. Z. SAKHARE a Narayan BHASKAR. *Poultry Processing Waste as an Alternative Source for Mammalian Gelatin: Extraction and Characterization of Gelatin from Chicken Feet Using Food Grade Acids*. Waste and Biomass Valorization [online]. 2017, 8(8), 2583-2593. DOI: 10.1007/s12649-016-9756-1. ISSN 1877-2641. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12649-016-9756-1>
- [23] KUAN, Yau-Hoong, Abdorreza Mohammadi NAFCHI, Nurul HUDA, Fazilah ARIFFIN a Alias A KARIM. *Comparison of physicochemical and functional properties of duck feet and bovine gelatins*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2017, 97(5), 1663-1671. DOI: 10.1002/jsfa.7970. ISSN 00225142. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.7970>
- [24] WANG, Jing, Xinli PEI, Haiying LIU a Dan ZHOU. *Extraction and characterization of acid-soluble and pepsin-soluble collagen from skin of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)*. International Journal of Biological Macromolecules [online]. 2018, 106, 544-550. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.046. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813017319566>

- [25] AYKIN-DINÇER, E, A KOÇ a M ERBAŞ. *Extraction and physicochemical characterization of broiler (Gallus gallus domesticus) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin*. Poultry Science [online]. 2017, 96(11), 4124-4131 DOI: 10.3382/ps/pex237. ISSN 0032-5791. Dostupné z: <http://academic.oup.com/ps/article/96/11/4124/4111293>
- [26] ALFARO, Alexandre da Trindade, Evellin BALBINOT, Cleusa I. WEBER, Ivane B. TONIAL a Alessandra MACHADO-LUNKES. *Fish Gelatin: Characteristics, Functional Properties, Applications and Future Potentials*. Food Engineering Reviews [online]. 2015, 7(1), 33-44. DOI: 10.1007/s12393-014-9096-5. ISSN 1866-7910. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12393-014-9096-5>
- [27] GÓMEZ-GUILLÉN, M.C., M. PÉREZ-MATEOS, J. GÓMEZ-ESTACA, E. LÓPEZ-CABALLERO, B. GIMÉNEZ a P. MONTERO. *Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films*. Trends in Food Science & Technology [online]. 2009, 20(1), 3-16. DOI: 10.1016/j.tifs.2008.10.002. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224408002471>
- [28] RUSTAD, Turid, Ivar STORRØ a Rasa SLIZYTE. *Possibilities for the utilisation of marine by-products*. International Journal of Food Science & Technology [online]. 2011, 46(10), 2001-2014. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x. ISSN 09505423. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x>
- [29] ŠTRAUSOVÁ, K., DOLEJŠ, P.: *Faktorové plánování a hodnocení experimentů při úpravě vody*. Sborník konference Pitná voda 2010, s.95-100. W&ET Team, Č. Budějovice 2010. ISBN 978-80-254-6854-8
- [30] HÁLKOVÁ, Jana, Jana RIEGLOVÁ a Marie RUMÍŠKOVÁ. *Analýza potravin*. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2000, ii, 93, iii s. ISBN 80-902775-3-5.
- [31] SOO, P.Y. a N.M. SARBON. *Preparation and characterization of edible chicken skin gelatin film incorporated with rice flour*. Food Packaging and Shelf Life [online]. 2018, 15, 1-8. DOI: 10.1016/j.fpsl.2017.12.009. ISSN 22142894. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214289417302521>

- [32] ALMEIDA, Poliana Fernandes a Suzana Caetano da Silva LANNES. *Effects of chicken by-product gelatin on the physicochemical properties and texture of chocolate spread*. Journal of Texture Studies [online]. 2017, 48(5), 392-402 DOI: 10.1111/jtxs.12242. ISSN 00224901. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jtxs.12242>
- [33] HAVELKOVÁ, Adéla. *Kuřecí běháky jako netradiční surovina pro přípravu želatin a hydrolysátů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2016, 53 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/37586>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Mokrejš, Pavel.
- [34] ALMEIDA, Poliana F. de, Felipe A. CALARGE a José Carlos C. SANTANA. *Production of a product similar to gelatin from chicken feet collagen*. Engenharia Agrícola [online]. 2013, 33(6), 1289-1300 DOI: 10.1590/S0100-69162013000600021. ISSN 0100-6916. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162013000600021&lng=en&tlng=en
- [35] ALMEIDA, Poliana Fernandes de, Marleide Guimarães Oliveira de ARAÚJO a José Carlos Curvelo SANTANA. *Collagen extraction from chicken feet for jelly production*. Acta Scientiarum. Technology [online]. 2012, 34(3), 345-351 DOI: 10.4025/actascitechnol.v34i3.10602. ISSN 1807-8664. Dostupné z: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/view/10602>
- [36] ANTONIEWSKI, M.N., S.A. BARRINGER, C.L. KNIPE a H.N. ZERBY. *Effect of a Gelatin Coating on the Shelf Life of Fresh Meat*. Journal of Food Science [online]. 2007, 72(6), E382-E387. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00430.x. ISSN 0022-1147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2007.00430.x>

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| <i>Obrázek 1: Schéma postupu zpracování kuřecích běháků na želatiny</i> | 36 |
| <i>Obrázek 2 Vliv faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce</i> | 46 |
| <i>Obrázek 3 Kubické vyjádření vlivu faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce</i> | 47 |
| <i>Obrázek 4 Vrstevnicový graf znázorňující vliv faktoru A a B na účinnost extrakce</i> | 47 |
| <i>Obrázek 5 Vliv faktoru A a B na účinnost extrakce při teplotě extrakce 75 °C</i> | 48 |
| <i>Obrázek 6 Kubické vyjádření vlivu faktoru A a B na účinnost extrakce</i> | 49 |
| <i>Obrázek 7 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce</i> | 49 |
| <i>Obrázek 8 Vliv jednotlivých faktorů A a B na účinnost extrakce</i> | 50 |
| <i>Obrázek 9 Kubické vyjádření vlivu faktoru A a faktoru B na účinnost extrakce</i> | 51 |
| <i>Obrázek 10 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na účinnost extrakce při teplotě extrakce 90 °C</i> | 51 |
| <i>Obrázek 11 Vliv faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 60 °C</i> | 52 |
| <i>Obrázek 12 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu výsledného produktu při teplotě extrakce 60 °C</i> | 53 |
| <i>Obrázek 13 Vrstevnicový graf č. znázorňující vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 60 °C</i> | 53 |
| <i>Obrázek 14 Vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 75 °C</i> | 54 |
| <i>Obrázek 15 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 75 °C</i> | 55 |
| <i>Obrázek 16 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na pevnost gelu při extrakční teplotě 75 °C</i> | 55 |
| <i>Obrázek 17 Vliv jednotlivých faktorů A a B na pevnost gelu při teplotě extrakce 90 °C</i> | 56 |
| <i>Obrázek 18 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na pevnost gelu výsledného produktu</i> | 57 |
| <i>Obrázek 19 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na pevnost gelu při teplotě extrakce 90 °C</i> | 57 |
| <i>Obrázek 20 Vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 60 °C</i> | 58 |

| | |
|---|----|
| <i>Obrázek 21 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 60 °C</i> | 59 |
| <i>Obrázek 22 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na obsah popela při teplotě extrakce 60 °C</i> | 59 |
| <i>Obrázek 23 Vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C</i> | 60 |
| <i>Obrázek 24 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C</i> | 61 |
| <i>Obrázek 25 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 75 °C</i> | 61 |
| <i>Obrázek 26 Vliv jednotlivých faktorů A a B na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C</i> | 62 |
| <i>Obrázek 27 Kubické vyjádření vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C</i> | 63 |
| <i>Obrázek 28 Vrstevnicový graf znázorňující vliv jednotlivých faktorů na obsah popela ve výsledném produktu při teplotě extrakce 90 °C</i> | 63 |
| <i>Obrázek 29 Výsledek SDS – PAGE</i> | 65 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|---|----|
| <i>Tabulka 1 Rozdíly mezi želatinou typu A a želatinou typu B [5]</i> | 16 |
| <i>Tabulka 2 Rozpis experimentů a výsledků experimentů – 1. část</i> | 44 |
| <i>Tabulka 3 Rozpis experimentů a výsledků experimentů - 2. část.....</i> | 45 |

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

| | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| NaOH | Hydroxid sodný |
| H ₂ SO ₄ | Kyselina sírová |
| NaCl | Chlorid sodný |
| HCl | Kyselina chlorovodíková |
| BSE | Bovinní spongiformní encefalopatie |

SSEZNAM PŘÍLOH

| | |
|--|----|
| PŘÍLOHA P I: MATERIÁLOVÝ LIST ENZYMU POLARZYME 6.0T..... | 82 |
|--|----|

PŘÍLOHA P I: MATERIÁLOVÝ LIST ENZYMU POLARZYME 6.0T

Product Data Sheet



1 of 1

Valid from 2014-03-19

Polarzyme® 6.0 T

In this product the key enzyme activity is provided by
serine endoprotease that hydrolyzes internal peptide bonds

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

| | |
|-------------------|---|
| Declared enzyme | Protease (Subtilisin) |
| Declared activity | 6 KPPU/g |
| Color | Off-white |
| Physical form | Granulate |
| Properties | Freeflowing |
| Odor | Slight fermentation odor |
| Solubility | Readily soluble in application-relevant solutions at all levels of concentration, temperature and pH which may occur in normal usage. |

SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

COMPLIANCE

Kosher certificate is available from the Customer Center or sales representative.

CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on www.novozymes.com.



PRODUCT SPECIFICATION

| | Lower Limit | Upper Limit | Unit |
|--------------------------------|-------------|-------------|------|
| Polarzyme Protease Unit KPPU | 6 | | /g |
| Bulk density | 1.0 | 1.3 | g/ml |
| Laser diffraction <150 micron | - | 0.5 | % |
| Laser diffraction >1230 micron | - | 3 | % |
| Polarzyme elutriation dust | - | 85 | ng/g |
| Total viable count | - | 10000 | /g |

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION

The granulate contains enzyme concentrate, inorganic salt, binder and coating materials.

GM STATUS

This product is not a GMO.

The enzyme product is manufactured by fermentation of a micro organism that is not present in the final product. The production organism and the enzyme effectiveness are improved by means of modern biotechnology.

STORAGE CONDITION

Recommended storage: 0-25 °C (32-77 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

Best before: You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

When stored as recommended, the product will maintain its declared activity up to its best-before date.

Novozymes guarantees delivery at least 3 months prior to the best-before date.

PACKAGING

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

Novozymes A/S
Krogshøjvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark

Tel. +45 4446 0000
Fax +45 4446 9999

For more information, or for more office addresses, visit www.novozymes.com

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to such effect, this document does not constitute a representation or warranty of any kind and is subject to change without further notice.

© Novozymes A/S