

# **Příprava bílkovinných produktů z drůbežích tkání bohatých na kolagen**

Bc. Aneta Polaščíková

---

Diplomová práce  
2019

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Aneta Polaščíková**  
Osobní číslo: **T17299**  
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Příprava bílkovinných produktů z drůbežích tkání bohatých na kolagen**

Zásady pro vypracování:

1. V teoretické části se zaměřte na zpracování a využití (zejména) tuhých vedlejších produktů jatečného průmyslu.
2. V praktické části navrhnete zpracování vybrané odpadní tkáně ze zpracování drůbeže na kolagenní produkty; studujte vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu a charakterisujte připravené produkty.
3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, proveďte diskusi a konfrontaci s dostupnými literárními zdroji.
4. Pokuste se navrhnout optimální podmínky zpracování vybrané tkáně a zhodnoťte význam práce a výsledků pro praxi.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

**R. Schrieber, H. Gareis: Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2007.**

**H.W. Ockerman, C.L. Hansen: Animal By-Product processing & Utilization. CRC Press: Boca Raton, 2000.**

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.**

Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání diplomové práce:

**2. ledna 2019**

Termín odevzdání diplomové práce:

**14. května 2019**

Ve Zlíně dne 18. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*

doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: .....

Obor: .....

## 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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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 .....

.....

---

<sup>1)</sup> 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 nahlížení 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.

<sup>2)</sup> 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, užije-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 vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> 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). Odpirá-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 užít 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 výtěžku 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 přihlédne k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce pojednává o přípravě bílkovinných produktů z drůbežích tkání bohatých na kolagen, konkrétně z kuřecích žaludků. V teoretické části se práce zaměřuje na popis drůbeží tkáně, na vedlejší produkty z jatek, na kolagen, hydrolyzát a želatinu. V práci je zmíněna roční spotřeba drůbežího masa a vlastní porážka kuřat na jatkách skládající se z několika technologických okruhů. V práci jsou uvedeny vlastnosti, charakteristiky a aplikace hydrolyzátů a želatin. Praktická část se zaměřuje na popis experimentů, v nichž byly použity kuřecí žaludky pro extrakci hydrolyzátů a želatin za pomoci opracování enzymem Protamex. Cílem práce byla studie jednotlivých faktorů na celkovou účinnost extrakce. Sledované faktory byly množství přidaného enzymu, teplota a doba extrakce. V diplomové práci bylo prokázáno, že vhodnou volbou technologických podmínek lze z kuřecích žaludků získat vysoce kvalitní produkty o vysoké pevnosti gelu. Zjištěné hodnoty byly porovnány s údaji publikovanými v odborné literatuře a následně byly navrženy optimální podmínky pro zpracování kuřecích žaludků na výrobu želatiny.

Klíčová slova: drůbež, extrakce, hydrolyzát, kolagen, kuřecí žaludky, vedlejší produkty jatek, želatina

## **ABSTRACT**

The thesis deals with the preparation of protein products from collagen-rich poultry tissues, specifically from chicken stomachs. The thesis consists of a theoretical and practical part. The theoretical part describes poultry tissues, by-products from slaughterhouses, collagen, hydrolysate and gelatine. It explains technological process of poultry slaughtering and cites annual poultry consumption per capita. Properties, characteristics and applications of hydrolysates and gelatines are introduced as well. The practical part focuses on the experimental part applying chicken stomachs in the extraction of hydrolysates and gelatines by treatment with Protamex enzyme. The aim of the work was to study specific factors influencing extraction efficiency. These factors included the amount of added enzyme, temperature and extraction time. Obtained values were compared with the published data. Concerning the results, the optimal conditions for processing chicken stomachs in gelatine production have been proposed.

Keywords: poultry, extraction, hydrolysate, collagen, chicken stomach, slaughter by-products, gelatine

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlovi Mokrejšovi, Ph.D., za ochotný přístup, odborné vedení a velmi cenné rady. Dále děkuji paní laborantce Miroslavě Žaludkové za asistenci a trpělivost v laboratoři.

Práce vznikla za finanční podpory interní grantové agentury Fakulty technologické UTB ve Zlíně IGA/FT/2019/003.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD.....</b>	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>11</b>
<b>1 DRŮBEŽÍ TKÁŇ .....</b>	<b>12</b>
1.1 VÝVOJ CHOVU DRŮBEŽ V ČR .....	12
1.2 SLOŽENÍ MASA DRŮBEŽE .....	13
1.2.1 Maso .....	13
1.2.2 Voda .....	13
1.2.3 Bílkoviny .....	14
1.2.4 Lipidy .....	15
1.2.5 Sacharidy a organické fosfáty .....	15
1.2.6 Vitamíny a minerální látky.....	16
1.3 JATEČNÁ KUŘATA .....	17
1.4 VLASTNÍ PORÁŽKA DRŮBEŽE.....	18
1.4.1 Omračování drůbeže .....	18
1.4.2 Vykrvování drůbeže .....	19
1.4.3 Opracování povrchu těla drůbež .....	19
1.4.4 Eviscerace .....	19
<b>2 VEDLEJŠÍ PRODUKTY Z JATEK.....</b>	<b>21</b>
2.1 ODPADY Z JATEČNÉ VÝROBY .....	21
2.1.1 Pevné odpady z jatek.....	21
2.1.2 Kapalně odpady z jatek .....	22
2.2 MOŽNOSTI VYUŽITÍ VEDLEJŠÍCH JATEČNÝCH ODPADŮ .....	23
2.2.1 Využití v energetice .....	24
2.2.2 Kompostování .....	25
2.2.3 Příprava želatiny a další využití .....	25
<b>3 KOLAGEN, HYDROLYZÁT A ŽELATINA .....</b>	<b>27</b>
3.1 KOLAGEN, KOLAGENNÍ VLÁKNA A VLASTNOSTI KOLAGENU.....	27
3.2 HYDROLYZÁT.....	30
3.3 ŽELATINA.....	32
3.3.1 Vlastnosti a charakteristika želatiny.....	32
3.3.2 Výroba želatiny .....	34
3.3.3 Aplikace želatiny v potravinářském průmyslu.....	35
3.3.4 Aplikace želatiny ve farmaceutickém průmyslu .....	38
3.3.5 Aplikace želatiny ve fotografickém a technickém průmyslu.....	39
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>40</b>
<b>4 CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>41</b>
<b>5 MATERIÁLY A POSTUP PRÁCE.....</b>	<b>42</b>



5.1	KUŘECÍ ŽALUDKY .....	42
5.2	PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE .....	42
5.3	FAKTOROVÁ ANALÝZA .....	43
5.4	METODY ANALÝZY SUROVIN A PRODUKTŮ .....	44
5.5	POSTUP PRÁCE.....	47
5.5.1	Příprava čistého kolagenu .....	47
5.5.2	Extrakce želatiny z čistého kolagenu .....	50
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>52</b>
6.1	HODNOCENÍ HLAVNÍ (PRIMÁRNÍ) ČÁSTI.....	52
6.1.1	Účinnosti extrakce.....	55
6.1.2	Pevnost gelu 1. frakce želatiny.....	59
6.1.3	Obsah popela 1. frakce želatiny .....	62
6.2	HODNOCENÍ OPTIMALIZAČNÍ (SEKUNDÁRNÍ) ČÁSTI.....	65
6.2.1	Účinnosti extrakce.....	67
6.2.2	Pevnost gelu 1. frakce želatiny.....	70
6.2.3	Obsah popela 1. frakce želatiny .....	72
6.2.4	Teplota tání želatinových gelů .....	74
6.3	NAVRŽENÍ OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK PRO ZPRACOVÁNÍ .....	75
6.4	ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ PRO PRAXI.....	77
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>79</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>81</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>88</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>89</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>90</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>91</b>

## ÚVOD

V posledních letech spotřeba drůbežího masa neustále roste. Statistický úřad pro Českou republiku odhaduje spotřebu drůbežího masa pro rok 2019 kolem 25 kg masa na jednoho obyvatele. Drůbeží maso je nejvíce konzumovaným masem na světě díky své rychlé úpravě, nízké ceně a nutriční hodnotě. Maso má poměrně vysoký obsah bílkovin a nízký obsah tuku. Obsah plnohodnotných bílkovin je v mase kolem 20 %. Maso dodává tělu především železo, fosfor a vitamín B. Se zvyšující se spotřebou masa roste i produkce vedlejších požitelných a nepožitelných živočišných produktů, resp. odpadů. Potravinářský odpad představuje obrovské množství nevyužitelného surového materiálu, a proto se pro něj hledá vhodné uplatnění. Nejlepším řešením by byla úplná eliminace vzniku odpadů (produktů), ale jelikož je tato vize nerealizovatelná, musí se hledat alespoň optimální způsob nakládání s odpady. Kůže se využívají v kožedělném průmyslu, tuky k přípravě průmyslových maziv, olejů a mýdel, kosti k výrobě masokostní moučky a ostatní odpady k výrobě biopaliva, ke kompostování, k anaerobní digesci anebo k izolaci hodnotných látek obsažených ve vedlejší živočišné tkáni. Jedná se především o bílkoviny, vitamíny a minerální látky. Mezi nežádoucí nakládání s odpady patří skládkování a spalování.

Z vedlejší živočišné tkáně je nejčastěji získávána želatina, jež je parciální hydrolyzát kolagenu. Kolagen je nejrozšířenější bílkovinou v živém systému. Je součástí kostí, šlach, kůží, chrupavek, cévních stěn a také rohovek. Kolagen udává tkáním specifické mechanické vlastnosti a vytváří v organismu ochrannou a opěrnou funkci díky vysoce organizované struktuře. Běžně se želatina extrahuje z vepřových a hovězích kostí a kůží, ale potenciálním zdrojem želatiny mohou být i odpady obsahující značné množství kolagenu, jako je kuřecí žaludek. Komerční želatina se připravuje přeměnou kolagenu v alkalickém nebo kyselém prostředí. Nejzákladnějšími oblastmi použití želatiny v praxi je v potravinářském, farmaceutickém a fotografickém průmyslu.

Diplomová práce je zaměřena na využití vedlejších bílkovinných odpadů drůbeže, vznikajících na jatkách, na výrobu želatiny, popř. hydrolyzátů a jejich následnou aplikaci v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Jako vedlejší produkt byly použity rozemleté a zhomogenizované kuřecí žaludky, ze kterých byla následně v horké vodě extrahována želatina.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

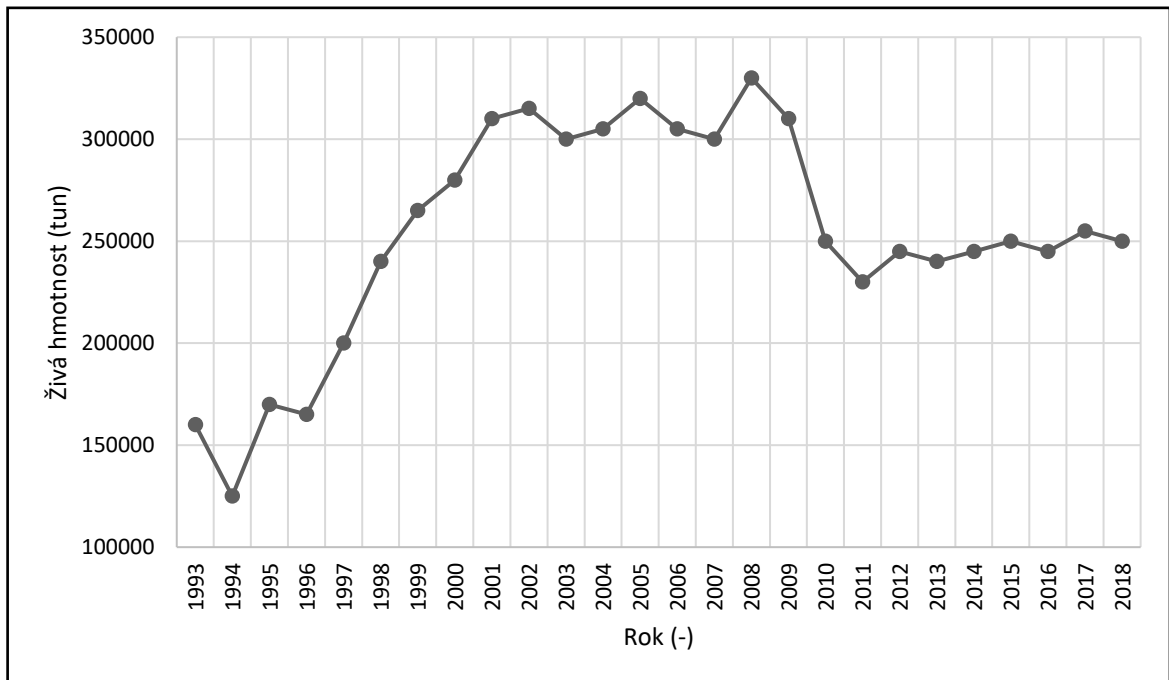
## 1 DRŮBEŽÍ TKÁŇ

Drůbeží maso je velmi ceněná surovina díky svému složení, neboť obsahuje mnoho plnohodnotných bílkovin, vitamínů, minerálních látek a nenasycených mastných kyselin. U drůbeže jsou hlavními ukazateli jakosti jatečná výtěžnost a jatečná hodnota. Jatečná výtěžnost je podíl celkové hmotnosti jatečně opracovaného trupu a použitelných vnitřností k živé hmotnosti drůbeže. Mezi použitelné vnitřnosti patří játra, srdce a svalnatý žaludek. Jatečná hodnota je hodnota podílu hmotnosti jatečně opracovaného trupu k živé hmotnosti drůbeže. Hodnota se uvádí v % a představuje 60 až 80 %, závisí na druhu drůbeže [1]. V České republice se průměrná roční spotřeba masa pohybuje od 80 do 90 kg na osobu za rok. Přičemž drůbeží a vepřové maso tvoří většinu, zhruba 60 kg na osobu za rok. V přesných číslech se jedná o 20 kg drůbežího a 40 kg vepřového masa na osobu za rok. U hovězího masa je roční spotřeba kolem 10 kg na osobu. [2]

### 1.1 Vývoj chovu drůbež v ČR

V České republice rostou spotřebitelské preference drůbežího masa především kvůli příznivé ceně, snadné úpravě a výživové hodnotě. Roku 1998 se chov drůbeže v ČR stal nejrozšířenějším odvětvím živočišné produkce srovnatelným se zeměmi EU [3]. Celková produkce drůbeže v ČR je kolem 180 000 tun a finální spotřeba drůbežího masa je téměř 20 kg na osobu za rok. Produkce jatečného opracování drůbeže na území ČR v posledních 25 letech značně kolísala. Na následujícím obrázku č. 1 můžeme vidět graf celkové produkce na jatkách v letech 1993 až 2018. V roce 1993 byla roční produkce opracované jatečné drůbeže kolem 160 000 tun, avšak v roce 1994 produkce poklesla na zhruba 125 000 tun. Od roku 1994 do roku 2002 produkce na jatkách vzrostla ze 125 000 tun na 320 000 tun a poté po dobu 7 let téměř stagnovala. V roce 2011 produkce opět klesla na 230 000 tun a od roku 2012 produkce stagnuje v intervalu od 240 000 tun do 250 000 tun. V roce 2019 se očekává nárůst produkce drůbeže na jatkách o 2 až 3 %. [4]

Vzhledem k roční produkci zpracování drůbeže na jatkách vzniká velké množství odpadů. Mezi odpady patří běháky, hlavy, kůže, peří, kosti, vnitřnosti a také žaludky. Odpady způsobují velkou zátěž pro životní prostředí vzhledem k jejich likvidaci. Odpady však představují alternativní zdroj kolagenu a keratinu. [5]



Obrázek 1 Produkce jatečné drůbeže v ČR v letech 1993 až 2018 [4]

## 1.2 Složení masa drůbeže

### 1.2.1 Maso

Jako maso jsou definovány všechny části těla živočichů včetně ryb a bezobratlých tvorů, které se konzumují [6]. Drůbeží maso je převážně tvořeno svalovou a tukovou tkání. Mezi tkání se nachází různé vazivové části a jednou ze základních složek masa jsou i kosti. Při vlastní porážce drůbeže se kosti většinou odstraňují [7]. Svalovou tkáň můžeme dle anatomického hlediska rozdělit na svalovinu hladkou, příčně pruhovanou a srdeční. Hladká svalovina vytváří kostru vnitřních orgánů a krevního oběhového systému. Svalovina je tvořena jednojadernými úseky a není ovládána vůlí. Svalovina není vhodná pro výrobu masných výrobků, protože špatně váže vodu. Příčně pruhované svalstvo neboli žíhané je stavební částí kosterních svalů a je tvořeno vícejadernými buněčnými úseky [8]. Svalovina srdeční vytváří jediný sval, a to srdce. Maso je dále tvořeno epitelovou, nervovou a pojivovou tkání. [6]

### 1.2.2 Voda

Voda je důležitou součástí drůbežního organismu a je hlavní složkou masa. Voda je součástí buněk a tkání těla drůbeže. V buňkách probíhají všechny fyzikálně chemické procesy [9]. V těle drůbeže se nachází od 50 do 80 % vody, v závislosti na stáří, druhu, pohlaví a způsobu výživy zvířete [10]. Díky vodě je možné zásobování tkání a orgánů důležitými živinami.

Voda umožňuje také vyměšování zplodin a toxických látek z organismu [11]. Voda vytváří prostředí pro biochemické a chemické procesy. Ve svalovině se nachází tři typy vody, a to voda vázaná, voda imobilizovaná a voda volná. Vázaná voda je voda, která je vázána na bílkoviny masa pevně, imobilizovaná voda je na bílkoviny masa vázaná slaběji a volná voda se z masa uvolňuje proplachováním, popř. odkapáváním. [12]

### 1.2.3 Bílkoviny

Bílkoviny patří mezi dusíkaté složky masa. Bílkoviny jsou pro drůbež nejdůležitější živinou. Vytváří stavební materiál všech živých buněk a podílí se na celkové životní funkci organismu [11]. Bílkoviny masa mají vysoký procentuální zastoupení, a díky tomu mají i vysokou biologickou hodnotu. V bílkovinách drůbeže je přítomno 22 aminokyselin a obsah bílkovin v mase je okolo 16 až 20 %. [13]

Aminokyseliny rozdělujeme na esenciální a neesenciální. V rozšířeném spektru poté ještě na poloesenciální a limitující. Esenciální aminokyseliny jsou pro organismus nepostradatelné, a jelikož si je organismus nedokáže vytvořit a ani syntetizovat, musí se tyto AMK přijímat v potravě. Neesenciální aminokyseliny se vytváří z jiných esenciálních, popř. neesenciálních aminokyselin. Avšak zisk neesenciálních AMK z esenciálních je velmi nevýhodný z hlediska ekonomiky, protože tím by měly živé systémy větší nároky na příjem esenciálních aminokyselin [14, 15]. Limitující AMK jsou takové esenciální AMK, které jsou v krmivu zastoupeny v minimálním množství, a tedy limitují použitelnost ostatních AMK. [16]

V těle drůbeže se nachází tři typy bílkovin, jedná se o myofibrilární, sarkoplazmatické a stromatické bílkoviny. Myofibrilární bílkoviny tvoří více jak polovinu bílkovin v mase drůbeže a jsou rozpustné v roztocích solí. Bílkoviny mají vláknité molekuly, které tvoří myofibrily. V podstatě tyto molekuly vytváří konstrukci svalů a jedná se především o aktin a myozin. Sarkoplazmatické bílkoviny jsou oproti myofibrilárním bílkovinám rozpustné ve vodě a ve slabých roztocích solí. Mezi sarkoplazmatické bílkoviny patří bílkoviny hemoglobinu a myoglobinu. Stromatické bílkoviny se vyskytují v pojivových tkáních. Mezi pojivové tkáně patří především vazy, šlachy, kůže, kosti a membrány ve svalové tkáni. Bílkoviny mají vláknitý tvar a jsou stejně jako myofibrilární bílkoviny nerozpustné ve vodě. Bílkoviny se podílejí na mechanické ochraně a slouží jako podpůrné funkce k upínání svalů. Patří mezi neplnohodnotné bílkoviny, protože zde nejsou přítomny všechny esenciální mastné aminokyseliny, a nejdůležitějším zástupcem je kolagen. [8, 12]

Jakost masa charakterizujeme součtem obsahu myofibrilárních a sarkoplazmatických bílkovin [7]. Elastin je bílkovina, která zajišťuje soudržnost vláken v termicky zpracovaném

mase. Jedná se o svalová vlákna, která jsou stabilní i při varu [17]. Keratin je bílkovina, která je chemicky i mechanicky velmi odolná a nerozpustná v horké vodě. Výhodou keratinu je jeho pružnost. [7]

#### 1.2.4 Lipidy

Lipidy patří mezi nedusíkaté složky masa. V mase jsou lipidy zastoupeny jako tzv. tuky neboli triacylglyceroly. V menším procentuální zastoupení jsou v mase tuky přítomny i jako volné mastné kyseliny, cholesterol, fosfolipidy a různé doprovodné látky [18]. Zhruba 90 % z celkové hmotnosti tuku připadá na vázané mastné kyseliny, které jsou bohaté na energii. Tyto kyseliny rozdělujeme podle počtu a typu jejich vazeb v řetězci na nasycené a nenasyčené, popř. na mononasyčené a polynasyčené. Nasycené kyseliny mají jednoduché vazby, mononasyčené kyseliny jedinou dvojnou vazbu a polynasyčené kyseliny dvě a více dvojných vazeb. Některé mastné kyseliny si drůbež dokáže syntetizovat z přijatých sacharidů, ale esenciální mastnou kyselinu linolovou a alfa-linolenovou musejí přijímat v potravě. [14]

V drůbežím mase je průměrný obsah mastné kyseliny linolové okolo 1,6 % [19]. Tuk v drůbežím mase představuje pro spotřebitele zdroj energie a podílí se na sensorickém vnímání chuti masa. V těle drůbeže je tuk buď jako intracelulární nebo intramuskulární. Intracelulární tuk je tuk obsažen přímo uvnitř svalových buněk a intramuskulární tuk je tuk obsažen přímo ve svalovině a tvoří základ samotné tukové tkáně [17]. U drůbeže krk obsahuje kolem 3,5 % nenasyčených mastných kyselin, prsa zhruba 0,2 % a stehna 1,3 % mastných kyselin. [19]

#### 1.2.5 Sacharidy a organické fosfáty

**Sacharidy** patří mezi nedusíkaté složky masa a jsou v živočišné tkáni obsaženy v malém množství. Sacharidy jsou pro drůbeží organismus významným zdrojem energie a regulátorem metabolismu [16]. Sacharidy dělíme především na jednoduché a složité. Jednoduché sacharidy se vstřebávají přímo, ale složité sacharidy je potřeba enzymaticky rozštěpit. Pro drůbež je také důležitý příjem škrobu, glykogenu a vlákniny. [20]

**Organické fosfáty.** Mezi organické fosfáty patří nukleové kyseliny, nukleotidy a rozkladné produkty nukleových kyselin. Nejdůležitější jsou nukleotidy na bázi adeninu. Ve svalové tkáni je obsaženo jen velmi malé množství nukleotidů. Zhruba v kilu svalové tkáni se nachází jen desetina gramu nukleotidu [19]. Důležitý je zde adenosintrifosfát neboli ATP, jež je hlavním článkem přenosu energie v živém systému. ATP se při posmrtných procesech přeměňuje na adenosindifosfát neboli ADP a na adenosinmonofosfát neboli AMP. Tyto produkty, které se postupně přeměňují a uvolňují, mají vliv na sensorické vnímání masa. [17]

### 1.2.6 Vitamíny a minerální látky

**Vitamíny** patří mezi dusíkaté i nedusíkaté složky masa. Vitamíny rozpustné ve vodě patří mezi dusíkaté složky a vitamíny rozpustné v tucích patří mezi nedusíkaté složky. Jedná se o skupinu organických sloučenin, které jsou pro drůbež potřebné, ale jen v nepatrném množství. Vitamíny se podílí na celkové činnosti organismu, enzymové aktivitě a jsou též důležité při prevenci proti nemocem [15, 20]. Vitamíny dělíme na liposolubilní a hydrosolubilní. První skupina představuje vitamíny rozpustné v tucích a v organismu se vstřebávají společně s tuky. Jedná se o vitamín A, D, E a K. Druhá skupina představuje vitamíny rozpustné ve vodě a z organismu jsou vylučovány. Jedná se především o vitamín B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> a vitamín C [11]. Největší zastoupení má v maso vitamín A, zhruba 7 mg.kg<sup>-1</sup>, naopak nejmenší má vitamín B<sub>1</sub>, zhruba 0,9 mg.kg<sup>-1</sup>. [17]

**Minerální látky** patří mezi nedusíkaté složky masa a tvoří 1 % hmotnosti masa. Minerální látky jsou pro drůbež nenahraditelné a nepostradatelné. Látky mají řadu specifických funkcí z hlediska metabolismu a podílí se na tvorbě tkání a buněk v živém systému. Drůbeží maso je zdrojem vápníku, draslíku, hořčíku, železa a zinku [8]. Dále také ovlivňují koloidní stav bílkovin, působí na enzymy, hormony a vitamíny, regulují i osmotický tlak [9]. Minerální látky jsou důležité pro vývin, růst, dobrý zdravotní stav a fyziologickou rovnováhu [16]. Základní podmínkou minerálních látek je rozpustnost ve vhodném vodním prostředí [20]. Největší zastoupení má draslík, a to 4700 mg.kg<sup>-1</sup>, naopak nejmenší má vápník, a to pouze 150 mg.kg<sup>-1</sup>. [17]

Velmi důležitým kritériem v hodnocení složení drůbežího masa je poměr vody a bílkovin, tzv. Federovo číslo. U syrového masa je poměr vody a bílkovin v maso konstantní a má hodnotu 3,50. Pokud je maso tučnější může být poměr o něco vyšší, a to až 3,65. Naopak u méně tučného masa bývá poměr menší. Kuře má Federovo číslo kolem 3,32. Kritérium se vypočítá podle následujícího vzorce. [21]

$$\text{Federovo číslo} = \frac{\text{voda (\%)}}{\text{organické látky bez tuku (\%)}}$$

$$\text{Organické látky bez tuku (\%)} = 100 - [\text{tuk (\%)} + \text{minerální látky (\%)} + \text{voda (\%)}]$$



### 1.3 Jatečná kuřata

Jatečná kuřata jsou hlavním zdrojem drůbežího masa. Kuřata společně se slepicemi, krůtami, pštrosy, perličkami a pávy spadají pod tzv. hrabavou drůbež. Kachny a husy poté pod vodní drůbež. Pro produkci kuřecího masa se využívají hybridy, kteří se vyznačují vysokou masnou užitkovostí. Hybrid poté představuje vyšlechtěný typ drůbeže. Kuřata byla šlechtěna kvůli zvyšování intenzity růstu, jenž je hlavním selekčním kritériem [22]. Všeobecně drůbeží maso patří do základního sortimentu výživy lidské populace, protože obsahuje kvalitní bílkoviny. Bílkoviny jsou velmi lehce stravitelné a maso obsahuje všechny potřebné esenciální mastné aminokyseliny. Obsah bílkovin je kolem 20 % a maso je také bohaté na fosfor, draslík, železo a vitamíny, především na vitamíny skupiny B. [10]

Při jatečném opracování drůbeže získáváme jako hlavní produkt maso, kdy hodnota masa bývá považována za nejdůležitější součást jatečného těla. Faktory, které ovlivňují konečnou produkci, jsou dány jak pohlavím, tak typem plemene, zdravotním stavem, stářím a selekčními tlaky [23]. Nejvíce ovlivňuje intenzitu růstu pohlaví daného plemene. Samci rostou oproti samicím o 20 % intenzivněji. S rostoucím věkem drůbeže se především mění jeho chemické složení. Čím je drůbež starší, tím obsahuje více tuku a méně vody. U mladší drůbeže je maso světlejší a chuť je nevýrazná díky nízkému obsahu extraktivních látek, ale vlivem tukové tkáni, která prostupuje svalovinu, je maso šťavnatější a křehčí [24]. Karoteny neboli prekurzory vitamínu A jsou získávány ze zeleného krmiva a v organismu jsou přeměněny na vitamín A, který se ukládá v játrech. Vitamín A je důležitý pro správnou funkci reprodukce, pro správný růst drůbeže, a hlavně pro správnou funkci zraku. I ostatní vitamíny jsou velmi důležité, např. vitamín K je důležitý při srážení krve a vitamín E pro zachování integrity membrán [25]. Fosfor a vápník je důležitý pro vývoj kostí. Také výživa má vliv na kvalitu i kvantitu masa. Pro optimální hodnoty je potřebný vyvážený energetický obsah dusíkatých látek [24]. Pokud bude docházet k zvyšování energie v krmné dávce a snižování bílkovin budou mít tyto faktory za následek zvýšení zásobního tuku v těle drůbeže [26].

#### **Jatečná zralost a hodnota, jatečná výtěžnost jednotlivých druhů drůbeže**

**Jatečná zralost** představuje údaje drůbeže v době před porážkou. Jatečná drůbež, aby mohla být jatečně opracována, musí mít potřebný věk, hmotnost, musí být zdravá a bez tělesných defektů. Jedná se o stádium vývoje, kdy je drůbež připravena k porážce na jatkách [24].

**Jatečná hodnota** drůbeže je pojem, který vyjadřuje kvalitativní hodnotu jatečně opracova-

ného zvířete. V podstatě tato hodnota vyjadřuje podíl jatečně opracovaného těla k živé hmotnosti drůbeže. **Jatečná výtěžnost** je podíl hmotnosti jatečně opracované drůbeže, nebo taky vykuchané drůbeže s vloženými drobky, k živé hmotnosti drůbeže. Výtěžnost je vyjádřena v procentech. Hodnota výtěžnosti závisí na druhu drůbeže, pohlaví a stáří [27]. V následující tabulce č. 1 můžeme pozorovat hodnoty jatečné výtěžnosti, množství tuku a požitelných orgánů u jednotlivých druhů drůbeže. Krůta patří mezi drůbež, která má nejvyšší jatečnou výtěžnost, a to až 81 %, ale naopak má nejnižší množství požitelných orgánů, pouze 4 %. Oproti tomu husa má jatečnou výtěžnost nejnižší, zhruba 65 %, ale množství požitelných orgánů nejvyšší, až 9 %. Kachna má velmi podobné hodnoty jako husa, ale kuře se slepicí vykazují hodnoty jatečné výtěžnosti kolem 70 až 76 % a množství požitelných orgánů je v intervalu od 5 do 6 %. Množství tuku je u drůbeže od 2 do 4 %. [26]

Tabulka 1 Hodnoty jatečné výtěžnosti, živé hmotnosti, množství tuku a požitelných orgánů [26]

Parametr	Krůta	Husa	Kachna	Kuře a slepice
Jatečná výtěžnost [%]	79-81	65-71	70-77	70-76
Živá hmotnost [%]	6	5	3	2
Množství tuku [%]	4	3	3	2
Poživatelné orgány [%]	4	9	8	5-6

## 1.4 Vlastní porážka drůbeže

Každá porážka jatečného zvířete začíná tzv. předporážkovou operací. Jedná se o přepravu zvířat na jatka a o předporážkové ošetření zvířat. Doba cesty, při které je zvíře přepravováno k porážce, nesmí překročit 8 hodin a dopravce musí splnit řadu kritérií. Především dopravní prostředky musí být upraveny tak, aby zajišťovaly bezpečnost a pohodlí pro jatečná zvířata, tedy zvířata nesmí být během jízdy zraněna nebo usmrcena. Vlastní porážka se provádí ve čtyřech krocích – omračování, vykrvování, opracování povrchu těl a eviscerace. [28]

### 1.4.1 Omračování drůbeže

Při technologii omračování se drůbež nejprve navěšuje za oba běháky na speciálně vydesinifikované háky. Drůbež je zavěšena a do 35 až 60 sekund omráčena. Při omračování se zvíře uvede do stavu, kdy necítí bolest a je možno zvíře bezpečně a bez týraní usmrtit [28]. Zvíře musí být vystaveno co nejmenšímu psychickému, ale i fyzickému stresu. Omračování je buď mechanické, elektrické nebo chemické. Při elektrickém typu omračování se používá napětí

od 50 do 150 V v závislosti na velikosti, hmotnosti a druhu drůbeže. Používá se střídavý proud o frekvenci 50 Hz a tento proud působí na drůbež po dobu 4 sekund. Omračování pomocí plynů je metoda, při které se používá především směs plynů oxidu uhličitého, dusíku a argonu. Zvíře je umístěno do tunelu, ve kterém po dobu až 2,5 minut setrvává, a za působení plynu je omráčeno. Závisí na postupu omráčení, typu plynu a velikosti drůbeže. Při omračování je potřeba zachovat činnost srdce pro kvalitní vykrvovací operaci. [17]

#### 1.4.2 Vykrvování drůbeže

Cílem vykrvování je pomocí vykrvovacího vpichu nebo řezu na krční tepně usmrtit zvíře a zbavit maso vedlejšího jatečného produktu, tedy krve [29]. Vykrvovací cyklus trvá u drůbeže 2 až 3 minut v závislosti na typu a velikosti poráženého zvířete. Doba vykrvování u slepic a kuřat je kolem 2,5 minut. Nejprve vytéká tzv. pulzující krev, která vytéká pod tlakem a používá se především v potravinářském průmyslu. Poté vytéká tzv. odkapávající krev, která vytéká pomaleji, je kontaminována mikroorganismy a musí být odstraněna. Představuje až 90 % z celkového množství krve a je likvidována v asanačním zařízení. [17]

#### 1.4.3 Opracování povrchu těla drůbež

Opracování povrchu těla drůbeže představuje proces, při němž se odstraňuje peří pomocí škubání. Drůbež se nejprve napaří vodou nebo vodní párou a ihned poté je povrch kůže oškubán. Kuřata se napařují buď teplotou okolo 50 °C po dobu 150 sekund anebo teplotou kolem 65 °C po dobu 60 sekund. Následuje dočišťování, ke kterému se používá voskování. Na kůži se aplikuje roztavený vosk a po ochlazení se odtrhne i se zbytky peří. [18]

#### 1.4.4 Eviscerace

Eviscerace neboli kuchání se provádí na kuchacím okruhu porážecí linky. Jedná se o vyjímání vnitřních orgánů z těla jatečného zvířete. Mechanismus eviscerace je dán otevřením tělní dutiny, vyjmutím vnitřních orgánů, následnou veterinární prohlídkou a oddělením požitelných od nepožitelných vnitřností [18]. Na konci tohoto okruhu zůstávají ve zpracovatelském procesu pouze opracovaná těla drůbeže a jeho požitelné části. [29]

**Kuchání drůbeže.** Nejprve je nařezána kůže na krku, a to v oblasti pod hlavou a na hřbetní straně. Následuje odříznutí, popř. odtržení hlavy a vytrhnutí jícnu s průdušnicemi. Hlava se od těla odděluje mezi druhým a třetím krčním obratlem. Samotný proces kuchání začíná

otevřením tělní dutiny. Ořízne se kloaka a společně s trávicí a vylučovací soustavou je vyjmuta z těla drůbeže. Dále se vyjmou všechny orgány kromě plic a ledvin a jednotlivé orgány se podrobí veterinární prohlídce. [18]

Svalnatý žaludek se oddělí od střevního balu. Žaludek se rozřízne, vyprázdní a důkladně několikrát vypláchne. Pomocí žaludkovače se stahuje výstelka žaludku. Konečný proces je charakterizován praním suroviny v dostatečném množství vody. Je stanoveno minimální množství vody v závislosti na hmotnosti. Pokud je kus s hmotností vážící do 2,5 kg je potřeba na propláchnutí zhruba 1,5 litru vody, ale u kusů s hmotností více než 2,5 kg je voda potřebná k opláchnutí až 5 litrů. Hlavními produkty okruhu jsou opracované trupy drůbeže, játra, srdce, svalnatý žaludek a zbylé nepoživatelné orgány. [18]

**Chladicí okruh.** Po kuchacím cyklu následuje okruh chladicí. Ochlazením teploty se zpomaluje množení mikroorganismů a různé enzymatické pochody v drůbežím masě, které vyvolávají řadu biochemických změn. Důležitým parametrem je vysoká rychlost zchlazení a dodržení předepsaných hygienických podmínek. Nejčastěji se chlazení provádí ledovou vodou nebo vzduchem, popř. kombinací těchto procesů. Při chlazení drůbeže vodou je vykuchané tělo a jeho části ponořeny do nádrže s ledovou vodou, avšak chlazení vzduchem je častější a kvalitnější způsob. Odpadá zde totiž možnost kontaminace vlivem vzájemného kontaktu více chlazených kusů. Postup začíná osprchováním vykuchaného těla, které putuje do chladicí komory. V chladicí komoře je tělo po dobu zhruba 1 hodiny, závisí na typu a velikosti jatečně opracovaného těla a rychlosti prouděného vzduchu. Vzduch proudí rychlostí 2 až 3 metry za sekundu. [18]

**Proces třídění, balení a označování drůbeže.** Jako poslední je proces třídění, balení a označování drůbeže. Konečná fáze dělí produkty při jatečném opracování drůbeže na požitelné, požitelné po úpravě a nepoživatelné. Při označení požitelné produkty se drůbež dále rozděluje na dvě jakostní třídy, a to A a B. Při rozdělování se sleduje tvar, stav svalové soustavy, opracování, vzhled kůže a podle toho se rozdělí do příslušné třídy jakosti [26]. Drůbež I. a II. jakosti je balena především do plastické hmoty. Plast musí být zdravotně schválen jako nezávadný pro aplikaci v potravinářském průmyslu. Balení plní funkci ochrany produktu před vnějšími vlivy, ale také formuje drůbež do požadovaného tvaru. Plast musí být tedy vodotěsný, na přebal čistý, pevný, většinou průhledný a schválený hygienickými orgány. Na obalu každé dodávky musí být zřetelně označen živočišný druh produktu a často se uvádí i datum jatečného opracování drůbeže. Dále se uvádí i datum minimální trvanlivosti, forma úpravy, adresa výrobce, doporučené podmínky skladování a jakostní třída. [18]

## 2 VEDLEJŠÍ PRODUKTY Z JATEK

### 2.1 Odpady z jatečné výroby

Vedlejší produkty, někdy zvané vedlejší odpady, vznikají při porážení zvířete na jatkách a při výrobě mléčných výrobků. Produkty jatečného průmyslu představují potenciální riziko nejen pro zdraví lidí a zvířat, ale také pro životní prostředí. Při jatečném opracování zvířete vzniká hlavní požitelný produkt maso a vedlejší požitelný produkt, játra, srdce, svalnatý žaludek a další. Poté vznikají vedlejší nepoživatelné produkty, jako jsou kosti, odřezky kůže, zbytky krve, kopyt, rohů, končetin, tuku, plíce, mozek, slezina, které nejsou určeny k přímé konzumaci, ale jelikož obsahují vysokou nutriční hodnotu, je výhodné s nimi patřičně naložit. Nejčastěji se z nich vyrábí krmné směsi pro domácí a hospodářská zvířata, hnojivo nebo palivo. Odpady tvoří až 35 % z celkové hmotnosti drůbeže [30, 31]. Jelikož tyto odpady obsahují velké množství kolagenu, je v dnešní době snaha zužitkovat tyto odpady na výrobu hydrolyzátů a želatin, které mají široké uplatnění téměř ve všech odvětvích průmyslu. Produkty jsou z nutričního hlediska velmi potřebné, jsou totiž zdrojem plnohodnotných bílkovin, vitamínů, minerálních látek a nenasycených kyselin [18]. Vedlejší živočišné odpady obsahují řadu biologicky odbouratelných látek, jako je uhlík, dusík, vodík a kyslík. Biologicky odbouratelné látky mohou být využívány ve farmacii, medicíně, kosmetice, lékařství a v mikrobiologii. [32]

#### 2.1.1 Pevné odpady z jatek

Mezi pevné odpady, které vznikají na jatkách, řadíme kosti, chrupavky, šlachy, kůže, droby (kde spadá i žaludek) a ostatní části, jako jsou hlavy, běháky, rohy, sádlo, olej a peří. Peří představuje až 6 % z živé hmotnosti drůbeže, běháky až 5 %, střeva kolem 6 % a hlava 3 % vždy vztaženo k živé hmotnosti drůbeže. Běháky a hlavy naleznou uplatnění na výrobu želatiny a peří, paznehty a rohy na výrobu keratinového hydrolyzátu. [30, 33]

**Kosti, šlachy a chrupavky.** Kosti vytváří značný podíl pevných odpadů, které vznikají při jatečném opracování drůbeže. Nejčastěji se z odpadních kostí připravuje masokostní moučka, technická želatina, kostní kliš nebo kostní uhlí. Z těchto produktů se poté vyrábějí krmné směsi pro hospodářská zvířata a hnojiva. Dále se kosti využívají v masném průmyslu na výrobu želatiny. Surovina se opracovává při teplotě okolo 130 °C po dobu 20 minut a při tlaku 300 kPa. Výchozí surovina je před samotným spálením v kafilériích rozmělněna na části menší než 50 mm. Kosti vytváří až 12 % z živé hmotnosti drůbeže. Kosti mají vysoký

podíl vápníku, fosforu, tuku a také bílkovin, a proto je výhodné používat je na extrakci želatiny. Šlachy a chrupavky obsahují vysoký podíl elastinu, proto odpady naleznou uplatnění v kosmetickém průmyslu, a při výrobě želatin a hydrolyzátů. [30, 31]

**Kůže** je využívá především k produkci usní, ale často je společně s kostmi využívává na extrakci želatiny. Kůže patří mezi požitelné produkty a její tloušťka závisí na mnoha faktorech. Mezi hlavní faktory patří věk, pohlaví, druh drůbeže a místo, kde se daná kůže nachází. Kůže je na většině místě pokryta peřím, které vyrůstá z papil a vykonává především ochrannou funkci [18, 33]. Kůže se skládá z kůže vlastní a podkožní. Pokožka a škára jsou části vlastní kůže, které obsahují značnou část kolagenu, protože se vlastní kůže skládá z kolagenního vaziva. Ve vlastní kůži jsou i nervová zakončení a krevní cévy. Kůže kuřete je tvořena především kolagen typu I a III. [18, 30, 31]

**Droby** neboli vnitřnosti jsou orgány spadající do trávicí, dýchací, oběhové, vylučovací a nervové soustavy. Srdce, játra a svalnatý žaludek jsou využívány k přímé konzumaci, ale zbytek odpadů musí být patřičně zlikvidován nebo se použije na výrobu krmné směsi pro hospodářská zvířata [34]. Srdce je důležitý sval kuželovitého tvaru představující zhruba 1 % z živé hmotnosti drůbeže. Je uložen v dutině hrudní. Játra představují nejmohutnější žlázu v těle drůbeže, která je uložena ve vnitřní dutině a vytváří až 2 % z živé hmotnosti drůbeže. Tvar a velikost jater je ovlivněna věkem, pohlavím a druhem jatečné drůbeže. Dále se mezi droby řadí plíce a ledviny, které nejsou většinou určeny k přímé konzumaci a využívají se k výrobě krmných směsí. [18, 30, 31]

Mezi vnitřnosti z trávicí soustavy patří i **kuřecí žaludek**. V žaludku probíhá trávení potravy pomocí působení enzymů, jako je například pepsin, a kyseliny chlorovodíkové. Žaludek představuje vak tvořený hladkým svalstvem a je rozdělen na část žláznatou a část svalnatou. Pouze část svalnatá je požitelná a celkově žaludek představuje 3 % z celkové hmotnosti drůbeže. Jelikož žaludky obsahují velké množství kolagenu, hledá se výhodná metoda možnosti extrakce želatiny z těchto odpadů. V dnešní době jsou kuřecí žaludky, jakožto odpady z jatečného opracování drůbeže, spíše kompostovány nebo spalovány, nežli využívány na extrakci želatiny. [34]

### 2.1.2 Kapalné odpady z jatek

**Krev** vytváří značný podíl kapalných odpadů při jatečném opracování drůbeže. Krev patří mezi vedlejší požitelné produkty. Zhruba polovina krve poraženého zvířete zůstává v těle, neboť je obsažena v mase a vnitřních orgánech, ale druhá polovina krve je získána při jatečném vykrvování drůbeže. Krev se v praxi používá na výrobu krevní moučky, která se poté

aplikuje do krmiv. Krev nalezne uplatnění i v masném průmyslu do kulinářsky upravených konzerv a masných výrobků. Z hlediska využití tedy dělíme krev na krev pro potravinářské a pro technické účely. Krev představuje až 10 % z živé hmotnosti drůbeže [35]. Obsah krevních destiček a plazmy je v poměru 4:6. Krev je z 90 % tvořena vodou a zbytek tvoří rozpustné bílkoviny, minerální látky a lipidy. Mezi ve vodě rozpustné bílkoviny patří především kolagen. [36]

**Odpadní voda** vzniká při jatečném opracování drůbeže. Voda obsahuje relativně vysoký obsah proteinů, tuků a mikroorganismů. Voda se spotřebovává při oplachování, proplachování drůbeže a čištění strojů. Zhruba na jeden kus drůbeže je zapotřebí až 30 litrů vody. Závisí na velikost a typu porážené drůbeže. [37]

## 2.2 Možnosti využití vedlejších jatečných odpadů

Vedlejší jatečné odpady vznikající na jatkách musí být efektivně zužitkovány. Tím je potřeba splnit několik kritérií. Kritéria jsou:

- 1) Musí existovat takový proces, při kterém se z dané suroviny vyrobí nový produkt.
- 2) Musí existovat i potenciální trh, na kterém by se nově vyrobený produkt uchytíl.
- 3) V lokalitě, kde se vyrábí nový produkt, musí být i dostatečně velké množství daného jatečného odpadu.
- 4) V posledním bodě je také důležitá nejen přítomnost vhodných technologických, ale také ekonomických podmínek v dané problematice.

Odpady se především využívají v energetice, v kompostování, k výrobě želatiny a hydrolyzátů, ve spalování a v řadě dalších odvětvích [38, 39]. Při jatečném opracování zvířete vznikají vedlejší produkty živočišného původu, které by měly být v souladu s právními předpisy z oblasti životního prostředí, týkající se spalování a skládek odpadů, vhodně odstraněny neboli zlikvidovány. Vedlejší produkty živočišného původu lze využívat i jako palivo ve spalovacím procesu. V tomto případě poté mluvíme o tzv. biopalivu ve spalovacím procesu. Samozřejmě spalování musí být prováděno za podmínek, které stanoví normy pro ochranu životního prostředí. Existuje řada nových technologií, které nabízejí vhodné způsoby výroby energií na základě spalování vedlejších produktů vznikajících při porážení jatečné drůbeže na jatkách. [40]

### 2.2.1 Využití v energetice

V dnešní době je svět závislý na fosilních zdrojích energie, jako je energie z uhlí, ropy a zemního plynu. Nejen že se těmito zdroji vytápí, ale především fungují jako pohonná hmota pro dopravní a letecké prostředky. Avšak je důležité si uvědomit, že tyto zdroje nejsou nevyčerpatelné, a proto bychom měli hledat jiné alternativní metody výroby energie. Právě biomasa, vznikající při zpracování na jatkách, by mohla snížit spotřebu fosilních zdrojů energie. V energetice se odpady využívají buď v anaerobní digesci, nebo ve spalování a na výrobu biopaliva. [39]

**Anaerobní digesce** představuje metodu, při které dochází k odstraňování velkého množství odpadu vznikajících na jatkách bez přítomnosti kyslíku. Při procesu dochází k zneškodňování odpadu. Odpad se přeměňuje na energii ve formě metanu. Výhodou procesu je, že vzniklý tzv. digestát je možné využít v zemědělském průmyslu jako hnojivo. Proces digesce lze popsat čtyřmi po sobě jdoucími procesy. Jedná se o: hydrolýzu, acidogenezi, acetogenezi a metanogenezi [39]. Jelikož jatečný odpad obsahuje velké množství bílkovin a dlouhých mastných kyselin, není vhodným materiálem pro proces anaerobní digesce. Právě zmiňované dlouhé mastné kyseliny inhibují anaerobní digesci v důsledku toxicity. Bílkoviny při štěpení způsobují nadměrnou produkci dusíku, který celý proces opět inhibuje. Dochází zde k inhibici anaerobních mikroorganismů [40]. Než se jatečný odpad začne podrobovat anaerobní digesci, je potřeba materiál smíchat s jiným substrátem, který zvýší celkový poměr uhlíku a dusíku v konečné směsi. Často se jatečné odpady smíchávají s odpadem z ovoce a zeleniny. [39]

**Spalování** je nejjednodušší a nejúčinnější tepelná metoda pro likvidaci odpadů vznikajících na jatkách. Materiál určený ke spalování se musí nejprve vysušit, aby bylo spalování co nejeфекtivnější. Drůbeží odpad má dokonce i velkou výhřevnost, a to  $13,5 \text{ GJ}\cdot\text{t}^{-1}$  [41]. Masokostní moučka, která se dříve používala na výrobu krmné směsi se v dnešní době již spaluje. Jelikož je potřeba vyšších teplot při spalování masokostní moučky, je možné moučku spalovat v cementárnách, protože zde teploty dosahují až  $1450 \text{ }^\circ\text{C}$ . Vysoká teplota způsobuje destrukci organického materiálu a tím ničí i nebezpečné priony. Výhřevnost masokostní moučky může být až dvojnásobná v porovnání se spalováním výše uvedených vysušených drůbežích odpadů. Výhřevnost představuje až  $30 \text{ GJ}\cdot\text{t}^{-1}$ , pro srovnání černé uhlí má výhřevnost okolo  $33 \text{ GJ}\cdot\text{t}^{-1}$ . [42]



**Biopalivo** jako je bioethanol nebo biodiesel mohou snížit množství využívaných fosilních zdrojů ve světě. Biopalivo je chápáno jako pevné, tekuté nebo plynné palivo, které je vyrobeno z obnovitelných zdrojů, tedy je vyrobeno z biomasy. Metylester neboli biodiesel je palivo, které je svými vlastnostmi a využitím podobné ropnému dieslu. Biodiesel je vyroben nejčastěji z rostlinného oleje, zvířecího tuku nebo z kuchyňského oleje [43]. Sice se nejčastěji vyrábí biodiesel z rostlinného oleje, ale tato surovina není ekonomicky výhodná, proto se přistupuje v dnešní době spíše k výrobě biodieslu ze zvířecího odpadního tuku. Menší překážkou jsou zde dlouhé mastné kyseliny, které s běžnými katalyzátory reagují za vzniku mýdel. Proto se musí používat speciální katalyzátory, které zabrání vzniku zmýdelňování, a to jsou především silné kyseliny. [40]

### 2.2.2 Kompostování

Jedná se o biotechnologický proces, při kterém se působením mikroorganismů organický odpad převede do stabilizované formy. V substrátu můžeme pozorovat díky biologické aktivitě zahřívání. Tím dochází k inhibici nežádoucích patogenů, které jsou obsaženy v kompostu. Jedná se o aerobní proces, je zde tedy potřebný přísun kyslíku a udržování optimální vlhkosti. Samozřejmě je důležitý i poměr uhlíku a dusíku v kompostovaném materiálu. U živočišného produktu je poměr okolo 30 až 33 jednotek uhlíku k 1 jednotce dusíku. Hnací silou celého procesu je zvýšená teplota a proces trvá několik dní, závisí na typu a velikosti substrátu [44]. Zbylý tuhý materiál, který se nerozloží vlivem kompostování, může být využíván především jako hnojivo v zemědělském průmyslu. [41]

### 2.2.3 Příprava želatiny a další využití odpadů

**Další využití odpadů** je dáno konečnou aplikací. Střeva je možné aplikovat v masném průmyslu k balení uzenin a salámů. Další způsob zpracování odpadů je možnost izolace kolagenní bílkoviny s následnou aplikací v kosmetickém a medicínském průmyslu. Asi nejméně efektivní zpracování odpadů je formou skládkování. Zde totiž nedochází k zisku energie a ani využití konečného produktu. [41, 45]

Především kůže a kosti, ale také drůbeží hlavy a nožky, jsou ve velké míře využívány **k produkci želatiny**, kterou lze využít v širokém spektru aplikací. [32, 45]

*Drůbeží hlavy* obsahují vysoký podíl dusíku, a jsou tedy vhodnou surovinou pro výrobu želatiny. Duem a kol. provedli extrakci želatiny z kuřecích a krocaních hlav dle metodiky Gelatin Manufacturers of Europe (GME). Kuřecí a krocaní hlavy byly odděleně rozmělněny v demineralizované vodě v poměru 1:4. Mixování probíhalo po dobu 15 min při teplotě

4,0±0,5 °C. Následně byla tkáň přefiltrována a odtučněna. Na odtučnění suroviny byl použit 0,015 M roztok NaHCO<sub>3</sub> v poměru 1:4. Surovina se smíchala s roztokem NaHCO<sub>3</sub> a po dobu 1 h byla míchána. Poté se směs po dobu 4 min odstředovala a tento proces se opakoval ještě třikrát. Cílem bylo odstranit veškerý tuk přítomný v tkáni. Doprovodné nekolagenní bílkoviny a nežádoucí pigmenty byly odstraněny pomocí 0,1 M NaOH v poměru 1:10. Odstraňování bílkovin a pigmentů probíhalo celkem 6 h při teplotě 4,0±0,5 °C a každé 2 h se měnil roztok NaOH. Po procesu odstraňování albuminů, globulinů a glutelinů byla surovina smíchána s 0,05 M roztokem kyseliny octové v poměru 1:10 a míchána po dobu 18 h opět při teplotě 4,0±0,5 °C. Mezi jednotlivými kroky byla vždy surovina intenzivně proplachována v destilované vodě. Extrakce želatiny proběhla ve dvou stupních. Surovina se smíchala s demineralizovanou vodou v poměru 1:10, poté se upravilo pH na hodnotu 7,0±0,1 a následovala první extrakce při teplotě 50 °C po dobu 18 h. Druhá extrakce byla provedena při vyšší teplotě, a to 60 °C, ale při nižší době, 6 h. Želatina byla vždy odfiltrována, deionizována a vysušena ve sprejové sušárně. Výsledkem byly 2x2 želatiny. Krocaní a kuřecí želatina extrahovaná při 50 °C a při 60 °C. Celkový výtěžek byl nejvyšší u krocaní želatiny extrahované při teplotě 50 °C (38,0 %) a nejnižší výtěžek byl u kuřecí želatiny extrahované při teplotě extrakce 60 °C (21,1 %). Pevnost gelu neboli Bloom hodnota, byla též nejvyšší u krocaní želatiny extrahované při teplotě 50 °C (367 Bloom) a nejnižší pevnost gelu byla opět u kuřecí želatiny extrahované při teplotě 60 °C (200 Bloom). Vlhkost výsledných želatin byla v intervalu od 8,6 do 9,7 %, obsah popelovin byl průměrně 0,04 % a množství tuku v tkáni bylo od 0,2 do 0,6 %. Krocaní želatina má vyšší počet sesíťovaných molekul, vytváří hustší síť, a tím i vyšší pevnost gelu. Hodnoty pevnosti gelu jsou srovnatelné s běžně dostupnými potravinářskými želatinami. [81]

*Drůbeží nožky* tvoří až 4 % z živé hmotnosti drůbeže a patří mezi nepoživatelné vedlejší produkty. Stejně jako drůbeží hlavy obsahují nožky vysoký podíl kolagenu, a jsou tedy vhodnou surovinou pro výrobu želatiny. Huda a kol. opracovávali kachní nožky v 5% kyselině mléčné při teplotě od 4 do 7 °C. Výtěžnost želatiny byla téměř 29 %, ale získaná želatina obsahovala velké procento popelovin, kolem 28 %. Almeida a kol. provedli podobnou studii. Na kyselé opracování suroviny použili 4% kyselinu octovou. Výtěžek želatiny byl pouhých 6 %, ale množství popelovin značně klesl, zhruba na 2 %. Získané želatiny měly maximální pevnost gelu 295 Bloom. [82, 83]

### 3 KOLAGEN, HYDROLYZÁT A ŽELATINA

#### 3.1 Kolagen, kolagenní vlákna a vlastnosti kolagenu

**Kolagen** se nachází v celé říši živých organismů, s výjimkou jednobuněčných systémů. Kolagen patří mezi nejdůležitější vláknité bílkoviny pojivové tkáně a je zodpovědný za pevnost a pružnost. Tvoří hlavní stavební část většiny pojivových tkání a představuje 25 % všech bílkovin v živém organismu. Kolagen vytváří hlavní stavební organickou složku kůže, chrupavek, kostí, vaziva, šlach, cév, membrán a rohovek. Základní funkce je ochranná a opěrná a základní stavební jednotka kolagenu je vlákno [46]. Výhodou kolagenu je obnovitelná schopnost. Zdroje kolagenu jsou téměř neomezené a nevyčerpatelné. Funkce kolagenu jsou dány rozmanitostí vztahů mezi strukturou. Kolagen šlach vytváří vysoce asymetrické struktury vyznačující se pevností. Kolagen kůže vytváří volně spojená vlákna vyznačující ohebností. Kostí a zuby se skládají z kolagenu, který ve své struktuře obsahuje polymer fosforečnanu vápenatého a díky tomu se zuby a kosti vyznačují vysokou pevností. [47, 48]

**Kolagenní vlákna** jsou někdy označována jako tzv. pevná vlákna. Obsahují četné kolagenní fibrily. Kolagen je tvořen bílkovinami, které se skládají z aminokyselin. Jedná se o nejvíce zastoupená vlákna v živém systému. Vlákna jsou velmi ohebná a odolná vůči tahu, avšak nevýhodou je, že jsou méně elastická [49]. Základ kolagenních vláken tvoří kolagen, nejbohatěji zastoupený protein v organismu. Existuje více než 28 druhů kolagenu [50]. Kolagen je v organismu syntetizován na polyribosomech, kde se vytváří molekuly kolagenu. Molekuly jsou glykosylovány a hydroxylovány v Golgiho aparátu a k povrchu buněk jsou molekuly dopravovány vezikulami a následně uvolňovány exocytózou. Vlákna kolagenu jsou dlouhá od 1 do 20  $\mu\text{m}$ . Mezi nejznámější typy kolagenů patří kolagen typu I, II, III a IV. Kolagen typu I je nejvíce zastoupený v organismu a vyskytuje se především ve vazivové chrupavce. Kolagen typu II je součástí hyalinních a elastických buněk [46]. Kolagenní vlákna jsou tvořena molekulami tropokolagenu, který má molekulovou hmotnost 30 kDa. Skládají se ze tří vzájemně stočených pravotočivých trojšroubovic, především se zde vyskytují  $\alpha$ -helixy. Následně se tropokolagen spontánně seskupuje za vzniku kolagenních vláken. Sekvence AMK v kolagenních vláknech se skládá z opakujících se jednotek Gly-X-Y, kde Gly je glycin, X je většinou prolin a Y hydroxyprolin nebo hydroxylysin. Vlákna obsahují i volné hydroxylové skupiny peptidového řetězce a na tyto volné skupiny je pomocí glykosidové vazby navázána glukosa, popř. galaktosa. Zjednodušeně lze říci, že kolagenní vlákna jsou v podstatě glykoproteiny [48]. Nejvíce je zde zastoupená AMK zvaná glycin, která tvoří

každou třetí aminokyselinu v řetězci. Uspořádání umožňuje spojení peptidů do trojšroubovice výsledného kolagenu. Prolin a hydroxyprolin způsobují neohebnost řetězce [51, 52]. Stočená vlákna kolagenu samovolně agregují za vzniku kolagenních vláken. Jedno kolagenní vlákno obsahuje až 1000 AMK zbytků. Vlákno má délku 300 nm a průměr 1,5 nm. Jak již bylo řečeno, v kolagenu jsou nejvíce zastoupené aminokyseliny glycinu a prolinu, a to zhruba 33 %, resp. 12 %. [53]

### **Mechanické a fyzikálně chemické vlastnosti kolagenu**

Veškeré **mechanické vlastnosti kolagenu** jsou dány jeho specifickou strukturou a charakteristickým vysokým stupněm orientace molekul, tedy primárním složením a uspořádáním molekul v řetězci vlákna. Celková ohebnost se zvyšuje s rostoucím počtem kolagenních vláken. Ohebnost je též nepřímě úměrná čtvrté mocnině poloměru kolagenního vlákna. Jelikož kolagenní vlákna vykazují specifické uspořádání, jsou kolagenní fibrily ideálně přizpůsobené k tomu, aby vydržely vysoké hodnoty napětí v tahu [54]. Při snižování počtu kolagenních vláken, především při stárnutí, klesá mez pevnosti v tahu a maximální hodnota protažení vláken [55]. Kolagenní vlákna se nachází především na vnější straně cév, elastická vlákna poté ve střední vrstvě cév a při nízkém tlaku mají zvlněný charakter. K narovnání elastických vláken dochází při zvyšování krevního tlaku. [56]

**Fyzikálně chemické vlastnosti kolagenu** jsou ovlivněny uspořádáním molekul v kolagenu. *Proteolytický charakter kolagenu.* Kolagen má vlastnosti amfoterního polyelektrolytu, tedy jeho iontové reakce probíhají v závislosti na pH prostředí, ve kterém se nachází. Část funkčních skupin se ionizuje v kyselém prostředí a část v alkalickém prostředí. Celkový náboj kolagenové molekuly se mění vlivem pH prostředí. V silně kyselém prostředí má molekula kladný náboj a v silně alkalickém prostředí má molekula záporný náboj. Nativní kolagen má izoelektrický bod při pH 7. [46]

*Botnání a hydratace kolagenu.* Základní vlastností kolagenu je schopnost ve vhodném vodním prostředí botnat. Botnání je omezený proces, kdy dochází ke změně délky, objemu a pružnosti vlákna. V kolagenu se po botnání nachází tzv. botnací voda a hydratační voda. Botnací voda se dá z kolagenu odstranit mechanickým procesem, nejčastěji vymačkáním, ale voda hydratační, která je vázána koloidně, se dá z kolagenu odstranit pouze vysušením. Bílkoviny obsahují dva typy hydrofilních center. Centra jsou schopna vázat vodu vodíkovými vazbami a elektrostatickými silami. Jedná se o polární skupiny přítomné v bočních řetězcích u některých typů AMK zbytků a peptidické vazby dusíku a kyslíku. [46]

*Denaturace kolagenu.* Kolagen může vlivem nežádoucích jevů denaturovat. Nejčastější nežádoucí jevy jsou způsobené vlivem chemikálií nebo vysokých teplot. Při denuraci kolagenu dochází ke změně prostorového uspořádání molekuly a následně ke ztrátě biologických funkcí. Za určitých specifických podmínek může být denaturace vratná. Podmínek dosáhneme po odstranění působícího denaturačního vlivu, např. snížením teploty, zneutralizováním vzorku. Tím biopolymer opět přejde do své nativní podoby [57]. Bílkoviny vlivem působení tepla nebo chemikálií ztrácejí své původní vlastnosti, tedy denaturují neboli bílkoviny kolagenu přechází v želatinu. Denaturace probíhá při teplotě okolo 39 °C. [46]

*Přeměna kolagenu na želatinu.* Při zahřívání kolagenu ve vodném prostředí vzniká želatina. Přejít z kolagenu na želatinu nastává při určité teplotě, kdy dochází ke strukturní změně a změně fyzikálně chemických vlastností. Přeměna nastává obvykle při teplotě okolo 60 °C. Teplota závisí na iontové síle, pH, složení roztoku a zesíťování kolagenu [58, 59]. Přeměna kolagenu na želatinu je charakteristická třemi pochody:

- 1) Dochází k štěpení příčných kovalentních vazeb na úrovni kvartérní struktury.
- 2) Následuje denaturace na terciální strukturu.
- 3) Dochází k hydrolytickému štěpení peptidických vazeb v polypeptidovém řetězci na molekulární neboli primární úrovni.

V užším slova smyslu se v podstatě jedná o depolymeraci a platí, že čím méně je rozštěpeno vazeb, tím má výsledná želatina lepší fyzikálně chemické vlastnosti. Přeměna kolagenu na želatinu je většinou nevratný proces, protože po ochlazení se již nevytváří krystalická kolagenní konformace. Makroskopicky se tepelná změna projevuje zkrácením osové délky kolagenního vlákna na třetinu až čtvrtinu své původní délky. Jedná se tedy o smrštění, které je charakterizováno tzv. teplotou smrštění a pohybuje se okolo 50 °C. Základní vlastností je přechod želatiny ve vodném prostředí v sol – gel. Při 34 °C přechází gel v sol. Při 28 °C přechází sol v gel. Díky svému AMK složení lze želatinu brát jako velmi čistou formu kolagenu, z které jsou odstraněny nevláknité bílkoviny, tuky a mukopolysacharidy [46]. Vlivem transformace molekuly se původně uspořádaná kolagenní struktura mění na statické neuspořádané klubko. Molekula přechází do neuspořádaného stavu, protože kolagenový stav je stabilizován jen slabými nekovalentními, většinou vodíkovými, vazbami. Vazby jsou citlivé na teplo a při zvyšování teploty snižují svoji vazebnou energii, ale naopak roste vnitřní energie celého systému. Tedy zvyšování teploty vede ke stavu, kdy je vazebná energie a vnitřní energie v rovnováze. [58]

## 3.2 Hydrolyzát

**Kolagenní hydrolyzát** se vyrábí z tkáně živočichů, která obsahuje značné množství kolagenu ve své struktuře. Jedná se především o kosti a kůže, které se podrobují technickým procesům, jako jsou: enzymatická hydrolyza, extrakce, zahušťování, sterilizace a sušení. Hydrolyzáty se poté práškují a vlivem působení peroxidu vodíků se získávají produkty světlé až bílé barvy bez zápachu. Jedná se v podstatě o speciální typ želatiny, který je rozpustný i ve studené vodě a netvoří po ochlazení gely, ale stejně jako želatina má aktivní povrch. Výhodou hydrolyzátů je jejich vlastnost v pH hodnotě, která je neutrální. Hydrolyzáty se používají při degenerativních kloubních onemocněních. Hydrolyzáty najdou své uplatnění především v potravinářském průmyslu anebo jako růstové stimulanty [60]. Hydrolyzáty kolagenu je možno také vyrábět z běháků, z jatečných odpadů, z klišů a z želatiny [61]. Peptidové řetězce kolagenu jsou pomocí hydrolytické metody štěpeny na menší řetězce s nižší molekulovou hmotností okolo 500 až 25 000 Da. Metoda závisí na druhu použitého enzymu, na podmínkách prostředí a rozsahu hydrolyzy. Hydrolyzát se extrahuje ze zvířecího kolagenu, ale může být vyrobený i z již připravené želatiny. Jelikož při extrakci hydrolyzátu ze zvířecí tkáně musí být použity speciální kolagenázy, které jsou poměrně finančně nákladné, je častější způsob výroby hydrolyzátu z připravené želatiny. [62]

### Výroba, vlastnosti a použití kolagenního hydrolyzátu

**Výroba** spočívá v řízených hydrolytických procesech. Před hydrolyzou se výchozí surovina musí dobře promýt, homogenizovat a demineralizovat zředěnou minerální kyselinou, popř. zásadou. Opracovaný výchozí materiál se v několika etapách extrahuje teplou vodou, čímž dochází k degradaci želatiny. Tím se získá požadovaný kolagenní hydrolyzát. Molekulová hmotnost hydrolyzátu se pohybuje od 2000 do 6000 Da. Následuje vysušení hydrolyzátu, při kterém dochází k regulaci velikosti molekul. Výsledný kolagenní hydrolyzát se podrobuje analýzám na zjištění jeho konečných vlastností. Analýzy jsou: osmolarita, distribuce molekulových hmotností, analýza stupně hydrolyzy, obsah dusíku, přítomnost toxických látek, přítomnost patogenů a aminokyselinové složení hydrolyzátu. [62]

Kolagenní hydrolyzáty vykazují velmi dobré biologické **vlastnosti**. Je třeba brát na zřetel, že neobsahují všech 10 esenciálních mastných kyselin, ale pouze 9. Chybí zde esenciální aminokyselina zvaná tryptofan. Často se používají jako nutriční složka jiných proteinů, protože hydrolyzáty jsou dobře stravitelné a spotřebiteli jsou dobře přijímány. Kolagenní hydrolyzáty jsou dobře rozpustné jak ve studené, tak teplé vodě, jsou tepelně stabilní a jsou relativně

vysoce odolné vůči srážení. Dobře vážou vodu, a proto jsou často použity jako základní složka produktů s nízkým obsahem sacharidů do tzv. nízkotučných potravin. Hydrolyzáty se vstřebávají ve střevě a následně se usazují v chrupavce [63]. Výhodou je, že jsou netoxické a dermatologicky přípustné. To je důležité pro aplikaci v péči o vlasy a pleť. [62]

Kolagenní hydrolyzáty se **využívají** nejen v potravinářství, ve farmacii, ale také v kosmetice, mikrobiologii a v medicínském průmyslu. [62]

*V potravinářském průmyslu* se hydrolyzáty dodávají jako tzv. natrávené bílkoviny. Natrávené bílkoviny obsahují štěpné produkty bílkovin. Hydrolyzát kolagenu se používá zejména jako koření směs do polévek, salátů, omáček a dalších pokrmů, protože hlavní složkou hydrolyzátu kolagenu je kyselina glutamová, neboli kyselý glutaman amonný, který zvýrazňuje chuť pokrmů. Další vlastností hydrolyzátu kolagenu je, že snižuje povrchové napětí a umožňuje tvorbu pěny a její následnou stabilizaci. To se využívá k výrobě desertů, k změkčení textury a zvýšení objemu. Deserty jsou více krémovější. Hydrolyzát želatiny se přidává do ovocných nápojů k zvýraznění sladké a ovocné chuti a také k číření piva a vína. Číření je proces, při kterém hydrolyzát želatiny reaguje s negativně nabitými tříslovinami a pektiny za vzniku sloučenin, které jsou schopny síťovat. Po vysrážení síťovaných sloučenin dochází k jejich vyloučení. [64]

*Ve farmacii* se kolagenní hydrolyzáty používají především k výrobě kapslí a implantátů. *V lékařství* se hydrolyzáty využívají k výrobě energetických, dietních a léčivých doplňků, protože kolagenní hydrolyzáty jsou produkty s vysokým zdrojem aminokyselin pro jedince trpící anorexií a anémií, ale také pro vegetariány, kterým ve stravě chybí maso. Doplňky stavby posilují šlachy a regenerují klouby. Hydrolyzáty se podílejí na syntéze a částečné obnově chrupavky. [65]

*Růstové stimulatory* neboli hnojiva se prodávají buď jako kapalné koncentráty nebo v podobě pevných substrátů, nejčastěji v podobě tyčinek. Jedná se o kolagenní hydrolyzáty. Vyrábějí se především z chromočiněných postružin, což je odpad, který vzniká při opracování usně. Přidávají se zde mikroelementy aktivující výživu a růst rostlin. Důležitý je také dusík, který napomáhá růstu rostlin. [65]

### 3.3 Želatina

#### 3.3.1 Vlastnosti a charakteristika želatiny

Základní stavební jednotkou želatiny jsou aminokyseliny. Želatina obsahuje 18 AMK. Jedná se o směs peptidů s vysokým zastoupením aminokyseliny argininu, hydroxyprolinu, hydroxylysinu a glycinu. Chybí zde esenciální AMK zvaná tryptofan a neesenciální AMK cystein. Želatina je látka, která se řadí mezi tzv. rosolotvorné látky, tedy látky, které jsou schopny za určitých podmínek vytvářet pevné gely. Mezi rosolotvorné látky, popř. želírující látky, řadíme nejen želatinu, ale také agar, pektin a modifikované škroby. Agar představuje rostlinnou želatinu, která se získává z mořských řas ruduch. Želatina představuje velmi čistý a jemný kliš. Želatina je téměř bez zápachu a bez chuti a jedná se o čištěnou přírodní rozpustnou bílkovinu získanou z živočišného kolagenu (kosti, kůže) buď kyselou nebo alkalickou hydrolýzou. Další vlastností je její pevnost a výhodou želatiny je, že je prakticky neškodná pro lidský organismus z hlediska alergií. [64]

Jedná se o pevnou, ale křehkou látku, která má slabě nažloutlou barvu a je schopna tvorby gelu. Další vlastností želatiny je, že je transparentní. Želatina obsahuje okolo 10 % vlhkosti a relativní hustota je zhruba 1,35. Výhodou želatiny je, že je rozpustná ve vodě, ve vodném roztoku glycerolu nebo propylenglykolu. Avšak je nerozpustná ve většině organických rozpouštědel, jako je např. petroléter, aceton, alkohol, benzen a řada dalších. Želatina má velkou hydroskopičnost, proto se želatina skladuje v suchu. Želatinové roztoky se využívají i v biologii na přípravu biologických roztoků pro růst bakterií. [65]

Želatina je bílkovina, v podstatě glutin, který se získává nejčastěji z kostního oseinu nebo kožního kolagenu. Kolagenní bílkovina je citlivá především na vyšší teplotu. Hlavní parametr želatiny je Bloom hodnota. Hodnota vyjadřuje želírující sílu, která se měří na vychlazeném želatinovém roztoku o definované koncentraci, a to 6,67 % [66, 67]. Relativní molekulová hmotnost želatiny je obvykle okolo 20 000 až 250 000 [68]. Želatina se v přírodě volně nevyskytuje, ale můžeme ji získávat nabouráváním struktury kolagenu. Kolagen je u savců nejrozšířenější bílkovinou. Potenciálním zdrojem želatiny jsou veškeré materiály obsahující bílkovinu kolagenu. Může se jednat o chrupavky, šlachy, svalové a pojivové tkáně, ale nejvíce se používají kůže a kosti. V dnešní době jsou i různé alternativní zdroje kolagenu např. z ryb, žaludků a ptáků. [69, 70]

Želatina je hydrolyzovaný kolagen získaný především z hovězích a vepřových kostí a kůží. Po chemické stránce jsou to bílkoviny, které se skládají z aminokyselin. Dle výroby želatiny



rozdělujeme želatiny na dva typy. Želatinu typu A a typu B. Želatina typu A je extrahována kyselým způsobem, jedná se tedy o kyselou želatinu, která má pH izoelektrického bodu kolem 7 až 9. Želatina typu B je extrahována zásaditým způsobem, tedy zásaditá želatina s hodnotou pH izoelektrického bodu kolem 4,7 až 5,1 [70]. V následující tabulce č. 2 můžeme vidět množství AMK v g ve 100 g želatiny jak v želatině typu A, tak v želatině typu B. [71]

Tabulka 2 Obsah AMK v g ve 100 g želatině typu A a B [71]

Aminokyselina	Obsah aminokyselin v želatině [g AMK ve 100g želatiny]		Aminokyselina	Obsah aminokyselin v želatině [g AMK ve 100g želatiny]	
	Typ A	Typ B		Typ A	Typ B
Glycin*	26,4-30,5	26,9-27,5	Arginin <sup>1</sup>	8,3-9,1	8,6-8,8
Alanin	8,6-10,7	9,3-11,0	Lysin <sup>1</sup>	4,1-5,2	4,5-4,6
Valin <sup>1</sup>	2,5-2,8	2,6-3,4	Fenylalanin <sup>1</sup>	2,1-2,6	2,2-2,5
Leucin <sup>1</sup>	3,1-3,3	3,1-3,4	Threonin <sup>1</sup>	2,2	2,2
Izoleucin <sup>1</sup>	1,4	1,7-1,8	Hydroxylysin	1,04	0,9-1,2
Methionin <sup>1</sup>	0,8-0,9	0,8-0,9	Kys. glutamová	11,3-11,7	11,1-11,4
Prolin*	16,2-18,0	14,8-16,4	Kys. asparagová	6,2-6,7	6,6-6,9
Hydroxyprolin*	13,5	14,0-14,5	Tyroxin	0,4-0,9	0,2-1,0
Histidin <sup>1</sup>	0,9-1,0	0,7-0,8	Cystein	0,1	---

„1“ – esenciální aminokyseliny; chybí zde AMK tryptofan

„\*“ – nejvíce zastoupené AMK v želatině

**Glycin** je nejzákladnější aminokyselinou. Jelikož je v želatině vysoký obsah této AMK, glycin nejvíce ovlivňuje vlastnosti a celkové chování želatiny. Glycin je nejjednodušší aminokyselina, s krátkým postranním řetězcem, což jí umožňuje vázat se na místa, na která jiné aminokyseliny z prostorových důvodů nedosedají. V želatině typu A je množství glycinu 26,4 až 30,5 g AMK ve 100 g želatiny. V želatině typu B je množství glycinu menší, a to 26,9 až 27,5 g AMK ve 100 g želatiny. [53, 71]

**Prolin** je aminokyselina, která na  $\alpha$ -uhlíku nemá primární skupinu  $-NH_2$ -, ale sekundární aminoskupinu  $-NH$ -. V kolagenu je vázáno velké množství prolinu, což zapříčiňuje sekundární trojšroubovicovou strukturu tropokolagenu. **Hydroxyprolin** je derivát pyrrolu. Jde o přírodní aminokyselinu, která je součástí kolagenu. Hydroxyprolin vzniká hydroxylací prolinu a při rozpadu kolagenu se hydroxyprolin dostává do krve. Prolin a hydroxyprolin vytváří čtvrtinu všech aminokyselin v kolagenu. V želatině A je množství prolinu 16,2 až 18,0 g

AMK ve 100 g želatiny a hydroxyprolinu 13,5 g AMK ve 100 g želatiny. V želatině typu B je množství prolinu menší, a to 14,8 až 16,4 g AMK ve 100 g želatiny a hydroxyprolinu je kolem 14,0 až 14,5 g AMK ve 100 g želatiny. [53, 71]

### 3.3.2 Výroba želatiny

Želatina se z kolagenu získává extrakcí v horké vodě. Před extrakcí se výchozí surovina opracovává v kyselém nebo zásaditém prostředí. V praxi se na výrobu želatiny nejvíce používají hovězí a vepřové kůže. Pro některé speciální aplikace jsou používány i hovězí a vepřové kosti. Hovězí kůže se dodávají nasolené a povápněné a vepřové kůže se dodávají hluboce zamražené. Hovězí kůže většinou pocházejí z jatek, koželužen a speciálních sběrem a vepřové kůže ze zpracoven masa, jatek a konzervářenských podniků. Podle opracování suroviny buď kyselým nebo alkalickým způsobem se dělí želatina na typ A a B. Výrobní postup extrakce želatiny se skládá z následujících operací: předpírání a řezání výchozí suroviny, předúprava suroviny (působením kyselin nebo zásad), praní a následné vaření, filtrace, zahuštění želatinových vod, formování a sušení želatiny [58]. Stupeň přechodu kolagenu v želatinu je dán mírou opracování suroviny a samotnou extrakcí v horké vodě. Extrakce je závislá především na teplotě a délce extrakce, ale také na pH a intenzitě opracování. [72]

**Kyselým způsobem** se opracovávají především vepřové kůže, hovězí a vepřové kosti. Surovina se nejprve pere a po opraní a nařezání se louží po dobu 24 až 48 hodiny v kyselé lázni. pH kyselé lázně se pohybuje okolo hodnoty 1,5. Nesmí však přesáhnout pH rovno 3. Doba loužení závisí na typu a velikosti tkáně. Nejvíce se používá zředěná minerální kyselina. Po loužení v kyselé lázni jsou vepřové kůže prány v dostatečném přebytku čisté vody a následně se vloží do varné kádě z nerezové oceli a po dosažení určité teploty se provádí tzv. horkovodní extrakce želatiny. Surovina se nejprve zahřívá na teplotu kolem 50 °C a následně se teplota zvyšuje až k bodu varu. Tím dojde k denaturaci kolagenu. Díky nízkému pH dochází i ke konzervaci želatiny. Pokud získáváme komerční želatinu po předchozím opracování výchozí suroviny kyselinou, je označována jako želatina typu A [72]. Kyselým způsobem se extrahují i želatiny z rybích kůží. [73]

**Alkalickým způsobem** se opracovávají především hovězí kůže. Při procesu se nasolené a povápněné hovězí kůže nařezají na požadovanou menší velikost. Kůže jsou proprány a pravidelně máčeny ve vápenném mléce. Podle staří kůže je surovina ve vápenné kádi uložena po dobu jednoho až šesti měsíců. Nejběžněji po dobu dvou až čtyř měsíců. pH vápenného mléka je udržováno na hodnotě 12 až 13. Vápenné mléko představuje roztok hydroxidu vápenatého. Roztok je udržován při laboratorní teplotě, tedy okolo 22 až 24 °C. Při alkalickém

způsobu opracování hovězích kůží se zmýdelní tukové látky a zničí se rohovinná vrstva kůže. Cílem je dosáhnout co nejvyššího stupně alkalického zbotnění kůže. Botnění silně rozrušuje strukturu kolagenu, a to umožňuje snadné proniknutí alkalického roztoku dovnitř suroviny a následné převedení kolagenu do roztoku při působení horké vody. Díky vysokému pH dochází i ke konzervaci. Většinou se kůže okyselují, aby se dosáhlo požadované hodnoty konečného pH, protože pH hodnota výrazně ovlivňuje vlastnosti výsledné želatiny. Kůže se stejně jako u předchozího typu vaří a do vody se extrahuje želatina, která se nakonec vysuší. Pokud získáváme komerční želatinu po předchozím opracování výchozí suroviny zásadou, je označována jako želatina typu B. [72, 74]

Jelikož je pH u obou způsobů extrakce buď velmi nízké nebo naopak velmi vysoké, umožňuje to tak dokonalé zlikvidování veškerých mikroorganismů a živých zárodků [72, 74]. Želatiny typu A a B vykazují především rozdílné fyzikální vlastnosti a také rozdílné hodnoty pH. U želatiny typu A je pH izoelektrického bodu kolem 7 až 9, ale u želatin typu B je pH izoelektrického bodu kolem 4,9 až 5,1. Při zisku želatiny alkalickým způsobem je dosaženo malého rozmezí pH izoelektrického bodu. To je dáno stupněm přeměny bočních amidových skupiny kyseliny asparagové a glutaminu na konečnou karboxylovou kyselinu. U alkalického způsobu dochází prakticky k úplné přeměně aminokyselin na karboxylovou kyselinu. Další možný způsob extrakce želatiny je s využitím enzymů. Tato forma želatiny je nejlépe stravitelná v trávicím ústrojí a také je velmi dobře resorbována. [69, 72]

### 3.3.3 Aplikace želatiny v potravinářském průmyslu

Významnou vlastností želatiny je maximální stupeň rozpustnosti s následným zchlazením a vytvořením rosolu. Dochází k vytvoření trojrozměrné struktury. Pokud se rosol opět zahřeje, želatiny ztekutí [75]. Želatina má bod tání vyšší než 30 °C a bod tuhnutí menší než 20 °C. Mezi nejhlavnější ukazatele fyzikálních vlastností patří pevnost gelu a viskozita. Pevnost gelu vyjadřuje Bloom-hodnota. Pevnost gelu se měří na vychlazeném roztoku o stanovené koncentraci 6,67 %. K měření se používá tzv. Bloom-gelometr. V potravinářství se používají želatiny od 80 do 300 Bloom, závisí na konečné aplikaci. Viskozita se zjišťuje viskozimetrickou metodou pomocí pipety a pohybuje se okolo 1,5 až 7,5 mPa.s<sup>-1</sup> [76]. Želatina je polypeptid, který má molekulovou hmotnost od 15 000 až do 65 000 Da, ale v některých případech může mít molekulovou hmotnost až 250 000 Da. Čím má želatina menší molekulovou hmotnost, tím je méně kvalitní a želatiny s nízkou molekulovou hmotností se v praxi označují jako klihy. Hranice mezi želatinou a klihem neexistuje, ale zjednodušeně se uvádí,

že klišy jsou želatiny, které mají horší mechanické vlastnosti a barva je zde už spíše nažltlá. Název želatina je odvozené z latinského slova *gelata*, což je schopnost materiálu ve vodě vytvářet gel. Produkce želatiny se rok od roku zvyšuje a v dnešní době se jedná o roční produkci přes 330 000 tun. Želatiny mají uplatnění především v potravinářském průmyslu, ale také ve farmaceutickém, medicínském a fotografickém průmyslu. Želatiny podobné klišům označujeme jako technické želatiny. Jedná se o želatiny s horšími mechanickými a fyzikálními vlastnosti [45, 77]. Potravinářský průmysl využívá tzv. jedlou želatinu. Jelikož má želatina výborné chemické vlastnosti a je schopna tvořit gel, může mít řadu aplikací v potravinářském průmyslu. Jedlá želatina je velmi kvalitní výrobek, ale je důležité při její výrobě klást velký důraz na čistotu. Pokud nejsou splněny požadované podmínky, bývá jedlá želatina přerazena do želatin technických. Želatina se aplikuje jak do masných výrobků, tak do cukrovinek, mražených dortů, zmrzlin, do mléčných výrobků, krémů a různých desertů a zákusků. Je-li želatina použita jako funkční nebo výživová složka potravin, musí být uvedeny na obalu údaje o složení. Želatina se nepovažuje za aditivum, nemá přiřazené E-číslo. Běžně se používá želatina od 50 až do 350 Bloom. [64, 78]

**Želatina v masném průmyslu.** Želatina se v masném průmyslu používá při výrobě aspiku, konzerv, sekaných, rolek, šunek atd. Hlavní funkcí je absorbování masových šťáv. Želatina udržuje i požadovaný tvar a strukturu výrobku [64]. Typ použití želatiny závisí na Bloom hodnotě. Využívá se želatina s nízkou i vysokou Bloom hodnotou. Želatina, která má nízkou Bloom hodnotu od 50 do 100, se využívá spíše jako pojivo do sekaných, do konzerv a sýrů. Želatina, která má vysokou Bloom hodnotu od 250 do 275 Bloom, se využívá na výrobu aspiků. Množství použité želatiny je v intervalu od 1 do 5 % vztaženo na hmotnost masa. Množství želatiny závisí i na zpracovatelských podmínkách. [64, 76]

**Želatina v cukrovinkách.** V cukrovinkách se želatina využívá na výrobu různých želatinových bonbónů, jako jsou např. gumoví medvídci a marshmallows. Využívá se proto, že dokáže želírovat nebo zhutňovat tekuté látky na požadovanou hmotu. Na gumové medvídky se obvykle používají želatiny s nižší pevností gelu, okolo 50 až 100 Bloom. Čím má želatina nižší pevnost gelu, tím se rychleji rozpouští v ústech. Avšak u šlehaných bonbónů je potřeba vyšších hodnot pevnosti gelu. Pokud vyrábíme gumovité cukroviny používá se jako základ cukerná složka společně se sacharózou, ke které se přidává škrobový sirup a želatina. Vytváří se 50% roztok želatiny. Postup spočívá v rozpuštění cukru při teplotě 120 až 140 °C a poté přimíchání želatiny a ostatních surovin, jako jsou barviva a příchutě. Pokud vyrábíme šlehané cukroviny, používají se želatiny s pevností gelu 240 až 280 Bloom, jelikož mají dobré

pěnové vlastnosti. Šlehané cukrovinky se skládají ze čtyř hlavních složek, roztoku želatiny, vody, sacharózy a glukozového sirupu. Kontinuálním šleháním dochází k vyšlehání roztoku želatiny a stabilizaci pěny. Marshmallows se obalují vrstvičkou cukru, aby se zabránilo jejich slepení. [64]

**Želatina ve zmrzlíně a mražených výrobcích.** V mražených výrobcích funguje želatina jako stabilizátor nášlehu a pojivo [65]. Uplatňuje se zde i jako ochranný koloidní prostředek. Je to dáno tím, že váže vodu a zvyšuje celkovou viskozitu směsi. Želatina zabraňuje tvorbě velkých a hrubých krystalů ledu nebo laktózy. Většinou se do zmrzliny přidává okolo 0,5 % želatiny o vyšší hodnotě pevnosti gelu, zhruba 250 Bloom. U mražených výrobků a krémů se používá menší množství želatiny, zhruba 0,25 % o stejné pevnosti gelu. Výrobek si tak díky želatině udržuje jemnou texturu. [64]

**Želatina v mléčných výrobcích** funguje jako zahušťovadlo a stabilizátor. Želatina zabraňuje nasakování vody a dodává jogurtu jemnou strukturu. Želatina se přidává do kysané smetany, tvarohu, podmáslí a do mléka. V mléce se díky želatině sníží srážlivost a tím je mléko jednodušeji stravitelné. Proto dětské mléčné výrobky obsahují malé % želatiny. [64]

**Želatina v želatinových desertech.** Želatina zde funguje opět jako zahušťovadlo a stabilizátor. Želatina může být v řadě různých barvách, příchutích, ale také v různých formách a podává se jak k snídani, tak jako desert k odpolední kávě. Želatinové deserty se skládají z želatiny, která je většinou v práškové podobě, z cukru, barviva, aroma, kyseliny a okysličovací složky. Většinou se setkáváme s želatinou v podobě prášku zabalenou v krabičce nebo sáčku. Příprava je velmi jednoduchá, postačí prášek rozpustit v horké vodě a následně nechat vychladnout. Používá se želatina s pevností gelu 175 až 275 Bloom a množství želatiny v desertu se pohybuje v intervalu od 1,5 do 2,5 %. [64]

**Želatinové filmy.** Jak již bylo zmíněno, želatina může mít řadu forem, jako je prášek, granuly, a také film. Schopnost želatiny vytvořit film se využívá při výrobě různých povlaků, jako jedlých obalů na ovoce, zeleninu, oříšky, chlazené a mražené výrobky. Pokud filmy obsahují glycerol, popř sorbitol, jsou pružné a průzračné. Přídavkem změkčovadel se snižuje i teplota tání a skelného přechodu filmu. Plastifikátory se přidávají do 25 %. Želatina se používá i jako nosič vitamínů nebo barviv. Mechanické vlastnosti filmů závisí na přípravě. Filmy získané odpařováním při vyšších teplotách, kolem 60 °C, měly výrazně nižší pevnost v tahu a procentuální protažení než filmy připravené odpařováním při nižších teplotách [67]. Energetický obsah želatiny je okolo 14,7 kJ v 1 g komerční želatiny. Jelikož při výrobě 2%

roztoku želatiny má výsledný želatinový gel pouze 30 kJ na 100 g využívá k výrobě nízkokalorických cukrovinek, nápojů a pokrmů. To se také využívá ve stravě určené pro diabetiky jako náhrada nezdravých sacharidů. Vlhkost potravinářské želatiny se běžně pohybuje v intervalu od 9 od 13 % a obsah popelovin nesmí překročit 2 %. Avšak u velmi kvalitních želin musí být obsah popelovin maximálně 0,5 %. [64]

### 3.3.4 Aplikace želatiny ve farmaceutickém průmyslu

Farmaceutický průmysl využívá tzv. farmaceutickou želatinu. Želatina používaná ve farmaceutickém průmyslu se vyrábí především z hovězích a vepřových kůží, jelikož takto získaná želatina má své aminokyselinové složení nejpodobnější s lidským AMK složením. Želatina je lehce nažloutlá až bílá a vzniklý roztok želatiny je čirý. Používá se především v podobě granulí a vyznačuje se velkou rozpustností. Aby se mohla želatina používat ve farmaceutickém průmyslu, musí splňovat řadu náročných kritériích. Především zde nesmí být přítomny žádné patogenní a nepatogenní mikroby, musí mít požadovanou strukturu, viskozitu a pevnost gelu, musí mít požadovanou hodnotu pH a nesmí v ní být přítomny žádné těžké kovy. Želatina se nejvíce používá na výrobu tvrdých a měkkých želatinových kapslí. [46, 64]

**Tvrde želatinové kapsle.** Skládají se ze dvou válcovitých částí, které do sebe zapadají. Označují se jako tělo a uzávěr, popř. víčko. Do tobolek se plní léčiva v podobě prášků a granulátů. Výroba spočívá v rozpuštění želatiny v kotlích z nerezové oceli při teplotě okolo 60 až 70 °C. Jako rozpouštědlo želatiny se používá voda, která musí být demineralizovaná a sterilizována. Do suspenze se často přidávají barviva rozpustná ve vodě a to proto, aby se jednotlivá léčiva v tobolce oddělila barevně. Následně se voda odpařuje až do té doby, dokud želatina neobsahuje 12 až 15 % vody. Tím je zajištěná pevná, ale tvárná tobolka. Pokud bude obsah vody větší, tak se budou tobolky k sobě lepit, a naopak pokud bude menší, tak budou moc křehké a nebude se s nimi dít manipulovat. [46, 47]

**Měkké želatinové tobolky.** Oproti tvrdým želatinovým kapslím se měkké želatinové tobolky vyrábí a plní v jedné operaci. Tobolky se nejčastěji plní léčivy v podobě olejů. Tobolka se vyrábí z želatiny, glycerolu a vody, kdy želatiny je okolo 45 %, glycerolu 25 % a zbytek tvoří demineralizovaná voda. Nejprve se želatina nechá nabotnat ve vodě, přidají se barviva a konzervační látky a systém se zahřeje na požadovanou teplotu. Zahřátá želatinová hmota se formuje na dva pásy, které se namotávají na válce. Vyrobí se tedy vždy polovina měkké želatinové kapsle. Tlakem se z želatinových pásů vysekají budoucí měkké tobolky, které se na okrajích svaří a čerpadlo, které dávkuje léčivo, vpraví do tobolky kapalinu. Výhodou je,

že léčivo nemusí být obsaženo jen uvnitř tobolky, ale může být rozpuštěno i v roztoku želatiny. Tím se většinou maskuje i nežádoucí nahořklá chuť. [46, 47]

### 3.3.5 Aplikace želatiny ve fotografickém a technickém průmyslu

**Fotografický průmysl** využívá fotografickou želatinu. Želatina se využívá ve fotografickém průmyslu díky svým vlastnostem, jako je ochranná koloidní vlastnost, filmotvorná vlastnost a botnání při zpracování fólií. Zde se želatina extrahuje především z kostí a musí mít neutrální pH a minimální zákal. Proto se využívá spíše želatina typu B. Želatina je součástí fotografické emulze obsahující halogenidy stříbra. Hlavní funkcí želatiny ve fotografické emulzi je umožnit a kontrolovat růst krystalů halogenidů stříbra. Fotografická želatina zabraňuje i nežádoucímu vysrážení. Používaná želatina je spíše vyšší pevnosti gelu. [75, 76]

**Technický průmysl** využívá technickou želatinu. Mezi technické želatiny patří želatiny s horšími mechanickými vlastnosti anebo želatiny, které nesplnily kritéria pro využití v potravinářském nebo farmaceutickém průmyslu. Jedná se tedy spíše o tzv. technické klihy. Často se používají při výrobě toaletního papíru, vlhčených ručníků a ubrousků. V praxi se dále klihy používají na výrobu překližek, krabic a různých papírových trubek. [75, 76]

Další uplatnění má želatina v kosmetickém průmyslu, kde se využívá adhezivních vlastností želatiny. Aplikace želatiny do krémů zvýší stabilizaci a zjemní texturu krému. Využívají se spíše hydrolyzáty želatiny, protože obsahují vysoké procento kolagenů, které podporují živu pokožky a vlasů a jsou rozpustné i ve studené vodě. [75, 76]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 4 CÍLE PRÁCE

Žaludky představují pevné vedlejší produkty drůbežáren. Žaludky obsahují velké množství kolagenu, a proto se hledá výhodná metoda možnosti extrakce kolagenních produktů z těchto odpadů. V dnešní době jsou kuřecí žaludky, jakožto odpady z jatečného opracování drůbeže, spíše kompostovány nebo spalovány, nežli využívány na extrakci želatiny. Extrakci a aplikaci želatiny z kuřecích žaludků pomocí enzymového opracování výchozí suroviny žádná literatura doposud nezmiňuje. Cílem experimentální části diplomové práce bylo posoudit možnosti extrakce želatin a hydrolyzátů z kuřecích žaludků. Extrakce produktů biotechnologickým postupem s využitím opracování výchozí suroviny pomocí enzymu Protamex. Hlavním cílem diplomové práce byl návrh optimálních technologických podmínek zpracování kuřecích žaludků na kolagenní produkty a dále navrhnout finální podmínky pro zpracování kuřecích žaludků s maximální výtěžností.

Dílčí cíle práce:

- 1) Sledovat vliv vybraných technologických podmínek na celkovou účinnost procesu a konečnou kvalitu vyextrahovaných hydrolyzátů/želatin.
  - a. Množství přidaného enzymu (faktor A)
  - b. Teplota extrakce (faktor B)
  - c. Doba extrakce (faktor C)
- 2) Charakterizovat připravené hydrolyzáty/želatiny.
  - a. Stanovení pevnosti gelu
  - b. Stanovení obsahu sušiny a popelovin
  - c. Stanovení viskozity, čirosti a pH hodnoty
- 3) Zhodnotit výsledky pro praxi.

## 5 MATERIÁLY A POSTUP PRÁCE

### 5.1 Kuřecí žaludky

Pro experimenty byly surové kuřecí žaludky poskytnuty firmou Raciola, s.r.o., Uherský Brod. Žaludky byly rozemlety a zhomogenizovány na částice o velikosti 3 mm. Surovina byla zamrazena a před začátkem měření vytažena z mrazničky a pozvolna po dobu 24 h v ledničce rozmrazena. V tabulce č. 3 je znázorněno složení vstupní suroviny v sušině.

Tabulka 3 Složení vstupní suroviny v sušině

Obsah sušiny [%]	Obsah bílkovin [%]	Obsah tuku [%]	Minerální látky [%]
19,10±0,05	75,6±0,8	21,70±0,01	3,900±0,005

### 5.2 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Řezačka masa SPAR Mixer SP-100AD-B, třepací přístroj LT2 firmy Kavalier, elektronické analytické laboratorní váhy Kern 770, elektronické laboratorní váhy Kern 440-47, pH metr WTW 526 Německo, topné hnízdo LTHS 250 a 500, sušárna WTB Binder E-28-TB1 Německo, sušárna Memmert UPL 400, topná deska (elektrický vaříč) Schott Garate GMBH Německo s magnetickým míchadlem, Sevens-LFRA analyzátor na stanovení pevnosti gelu, magnetické míchadlo IKA Labortechnik PCT Basic s topením a s magnetickým míchadlem, diferenční skenovací kalorimetr DSC1 Mettler Toledo, horkovzdušná trouba Mora, muflová pec Labothem L9/11 Německo, plynový kahan, exikátor, odstředivka EBA 20 včetně rotoru, vertikální mixér ETA 0010 Nová Linie, KRUPS mlýnek a lednička Samsung.

Erlenmayerova baňka 2 l a 0,5 l pro odtučnění a pro enzymatické opracování výchozí suroviny, PET láhve se šroubovacím uzávěrem o objemu 2 l pro odstranění nekolagenních bílkovin, odměrný válec 25 ml, 200 ml, 250 ml a 1000 ml, Petriho misky, pipety, váženky, filtrační papíry nízké hustoty, kovová síta, stříčky s destilovanou vodou, nůžky, baňky pro stanovení pevnosti gelu, nepřilnavé podložky na sušení, PA tkanina, křemíkový kelímek, koželužské misky a víčka, kovová síta o velikosti ok 1 mm a 2 mm, laboratorní lžičky a tyčinky, kádinky, laboratorní kleště, samouzavíratelné PE sáčky, balónek, plastový cedník, hrnce, nálevky, plech, zapalovač, odstředivé nádoby a lepicí páska.

Enzym PROTAMEX [příloha PI], destilovaná voda, 0,03 M a 0,06 M NaOH, 0,2 M HCl, aceton, chloroform, etanol, enzym Lipolase [příloha PII].

Protamex je enzym, který vyrábí dánská společnost Novozymes a se kterým se pracovalo v praktické části této diplomové práce. Enzym představuje komplex *Bacillus* proteázy, jenž byl vyvinut pro hydrolyzu proteinů určených pro potravinářský průmysl. Protamex tedy splňuje požadavky na čistotu potravinářských enzymů. [Příloha PI]

Lipolase je enzym, který je vyrobený pro průmyslové používání rekombinačními DNA technikami, tedy genovým inženýrstvím. Lipolase vyrábí dánská společnost Novo-Nordisk. Enzym je efektivní při silně zásaditých podmínkách, přibližně pH kolem 12. Je funkční i při široké škále teplot. Enzym dobře funguje i při nízkých teplotách a je dobře vymýván obyčejnou studenou vodou. Jelikož tento enzym nedráždí pokožku a organismus, je možné jej aplikovat v potravinářském průmyslu. [Příloha PII]

### 5.3 Faktorová analýza

Metodika práce (faktorová analýza) označuje metodu pokusů, která co nejlépe vystihuje vliv jednotlivých faktorů na celkovou výtěžnost. Jedná se o optimalizační metodu, jež je časově náročnější a citlivá na chybu měření. Metoda poskytuje rozsáhlé množství informací. Sleduje se působení více vlivů, faktorů, na zkoumaný vzorek. Faktorová analýza umožňuje vyhodnotit jeden faktor, ale také komplexní analýzu faktorů působících na studovaný vzorek. Nejběžněji se využívají faktorové plány  $2^2$  nebo  $2^3$ . Analýza představuje matici, která vytváří vzájemnou kombinaci vstupujících hodnot. Počet pokusů závisí na proměnných. V experimentální části diplomové práce byl použit faktorový plán  $2^3$ , tedy 2 úrovně a 3 studované veličiny. Pro optimalizaci byl poté použit faktorový plán  $2^2$ , tedy 2 úrovně a 2 studované veličiny [79]. Faktory jsou:

- 1) Množství přidaného enzymu (faktor A)
- 2) Teplota extrakce (faktor B)
- 3) Doba extrakce (faktor C)

Doba enzymatického opracování výchozí suroviny byla pro všechny experimenty konstantní, a to 30 h. Množství přidaného enzymu (faktor A) bylo 0,3 %, 0,6 % a 0,9 %. Teplota extrakce (faktor B) byla 63 °C, 66 °C a 69 °C a doba extrakce (faktor C) byla 1 h, 2 h a 3 h. Středový experiment obsahoval 0,6 % přidaného enzymu po dobu opracování 30 h. Teplota a doba extrakce byla 66 °C, resp. 2 h. Zmiňované faktory mají významný vliv na extrakci hydrolyzátů/želatin z kuřecích žaludků.

## 5.4 Metody analýzy sušiny a produktů

Pro analýzy hydrolyzátů/želatin byly použity postupy podle Standardní testovací metody pro jedlé želatiny – Standard testing methods for edible gelatin. [80]

**Stanovení obsahu sušiny** se provádělo nepřímou metodou u odtučněných a vysušených kuřecích žaludků, a také u žaludků po odtučnění NaOH. Výsledek bylo třeba stanovit, protože množství přidaného enzymu bylo vztaženo na množství sušiny a obsah sušiny sloužil pro bilanční výpočty. Do dvou předsušených koželužských misek se na elektrických analytických vahách navážila hmotnost kolem 1 g odtučněných a vysušených kuřecích žaludků, popř. žaludků po odtučnění NaOH. Ze dvou stanovení se následně vypočítal průměr. Koželužské misky se vložily do sušárny s cirkulací vzduchu o teplotě  $103 \pm 1$  °C po dobu 12 h. Žaludky se sušily do konstantní hmotnosti. Po uplynulém čase byly misky vytaženy ze sušárny a vloženy do exikátoru. Po ochladnutí na laboratorní teplotu byly opět zváženy na stejných elektrických analytických vahách. Výpočet obsahu sušiny byl proveden dle vztahu:

$$S = \frac{m}{m_0} \cdot 100 (\%)$$

S ... obsah sušiny ve vzorku (%); m ... hmotnost vzorku po vysušení (g);  $m_0$  ... hmotnost vzorku před vysušení (g)

**Stanovení obsahu popelovin.** Množství popelovin udává počet anorganických látek ve zkoumaném vzorku. Stanovení obsahu popela se provádělo u vyextrahovaných hydrolyzátů a želatin. Do dvou vyžíhaných kelímků byly na elektrických analytických laboratorních vahách naváženy připravené hydrolyzáty/želatiny o hmotnosti 1 g. Ze dvou stanovení se následně vypočítal průměr. Kelímky byly nejprve 0,5 až 1 h, popř. tak dlouho, dokud nebyl vzorek zuhelnatěný, spalovány nad plynovým kahanem v digestoři a následně byly kelímky umístěny do muflové pece po dobu 3 h. Muflová pec byla předem vyhřáta na  $650 \pm 4$  °C. Kelímky se žíhaly do konstantní hmotnosti. Po vyjmutí a ochlazení kelímků v digestoři, poté v exikátoru, na laboratorní teplotu se kelímky opět zvážíly na stejných elektrických vahách. Obsah popelovin byl zjištěn gravimetricky podle následující vztahu:

$$P = \frac{m_p}{m_0} \cdot 100 (\%)$$

P ... obsah popela ve vzorku (%);  $m_p$  ... hmotnost zpopelněného vzorku (g);  $m_0$  ... hmotnost navážky vzorku (g)

**Stanovení pevnosti gelu – Bloom hodnota.** Želatina je schopna ve vodném roztoku vytvořit gel, jednu z nejdůležitějších vlastností želatiny. Tuhost gelu závisí na pH hodnotě, teplotě, ale také na koncentraci želatiny, vnitřní pevnosti želatiny a přítomnosti různých přísad. Vnitřní síla studovaného vzorku závisí na molekulové hmotnosti a struktuře. Metoda stanovení pevnosti gelu se provádí na analyzátoru Sevens – LFRA. Stanovení pevnosti gelu představuje fyzikální metodu, jež je založena na principu vtlačování válečku o průměru 12,7 mm za přesně definovaných podmínek do připraveného gelu o koncentraci 6,67 %. Želatinový roztok o koncentraci 6,67 % se připraví rozpuštěním 7,5 g vyextrahované želatiny ve 104,5±0,2 g destilované vody, resp. ve 105 ml demineralizované vody. Při vyextrahování nižšího množství želatiny činila vážka jak vzorku, tak vody méně. Navážky a k nim příslušné přepočítávací koeficienty jsou uvedeny v tabulce č. 4. Gel byl připraven následovně. Želatina byla umístěna do nádob, určených k měření pevnosti gelu, a po dobu 20 min vzorek bobtnal. Následně byla želatina rozpuštěna při 35±2 °C ve vodní lázni. Misky se skladovaly do druhého dne v ledničce při teplotě 5 °C. Poté byl připravený želatinový gel podroben zkoušce, kdy výsledkem je hodnota Bloom, která určuje potřebnou sílu k protlačení válečku do hloubky 4 mm. Čím je vyšší hodnota Bloom, tím je připravený želatinový gel kvalitnější.

Tabulka 4 Navážky želatiny, vody a příslušné přepočítávací koeficienty

Metoda	Navážka želatiny [g]	Navážka vody [g]	Přepočítávací koeficient
A	7,50	104,50	-
B	3,00	42,00	1,2627
C	1,50	21,00	1,6372

**Stanovení viskozity - Ubbelohdeho viskozimetr.** Viskozimetr představuje velmi přesnou kapilární metodu. Měření viskozity spočívá v měření doby průtoku kapaliny úzkou kapilárou. Ubbelohdeho viskozimetr byl před samotným měřením vložen do vodní lázně, jež byla temperována na teplotu 40±0,5 °C. Kapalina hydrolyzátu/želatiny měla koncentraci 6,67 %. Množství prouděné kapaliny ve viskozimetru bylo 17 ml. Rozpuštěné vzorky byly nality do jedné z kapilár viskozimetru a pomocí balónku nasáty do kapiláry, ve které probíhalo měření. Naměřená doba průtoku kapaliny viskozimetrem byla přepočítána na dynamickou viskozitu podle následujícího vztahu:

$$\eta = k \cdot t - \frac{B}{t} \cdot \rho$$

$\eta$  ... dynamická viskozita (mPa.s);  $k$  ... konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou - 0,5002;  $t$  ... aritmetický průměr průtokových dob (s);  $B$  ... konstanta ke korekci na kinetickou energii - 2,8;  $\rho$  ... hustota - 1,005 (g/cm<sup>3</sup>)

**Stanovení čirosti hydrolyzátu/želatiny** se provede u roztoku po zjištění dynamické viskozity, kdy má vzorek koncentraci 6,67 %. Želatinový roztok se nechá zchladnout na teplotu kolem 45 až 50 °C a změří se hodnota transmitance v % přes kyvetu o tloušťce 1 cm při vlnové délce 640 nm. Před začátkem měření se provede kalibrace na destilovanou vodu.

**Stanovení teploty tání želatinového gelu** se určilo na diferenčním skenovacím kalorimetru neboli DSC. Do DSC hliníkové misky se navážilo 15 až 30 mg studovaného vzorku po stanovení pevnosti gelu. Miska byla pomocí víčka hermeticky uzavřena. Následně se vzorek umístil do měřicí cely spolu se vzorkem referenčním. DSC miska byla nejprve ochlazená na 5 °C a při této teplotě udržována po dobu 5 min. Miska se následně zahřívala rychlostí ohřevu 5 °C/1 min na finální teplotu 50 °C. Poté byla teplota snížena na počáteční hodnotu 5 °C. Rychlost chlazení byla 5 °C/1 min. Teplota tání se projevila endotermním píkem při zahřívání studovaného vzorku. Získaná data byla zpracována a graficky vyjádřena.

**Stanovení účinnosti extrakce**, hmotností bilance, bylo provedeno u všech experimentů. Z výsledků stanovení dílčích účinností extrakce se provedly zjištění celkové účinnosti extrakce, jež charakterizuje celkovou efektivitu opracování výchozí suroviny na konečné produkty. Výpočet účinnosti extrakce se vypočítá podle následující vztahu:

$$\eta = \frac{X}{SUŠINA} \cdot 100 (\%)$$

$\eta$  ... účinnost extrakce (%)

$X$  ... hmotnost vzorku po 1. stupni opravování, hmotnost želatiny (g);  $SUŠINA$  ... hmotnost sušiny (g)

U všech experimentů se zjišťovala **bilanční chyba měření**. Chyba byla zjišťována vždy k celkové účinnosti extrakce. Bilanční schéma je dáno:

$$m_{VSTUP} = m_{VÝSTUP}$$

VSTUP	VÝSTUP
Sušina odtučněných a vysušených kuřecích žaludků	Hmotnost hydrolyzátu + hmotnost 1. a 2. frakce + hmotnost nerozloženého tuhého podílu

Pro celkovou bilanci platí: 
$$Bilance = \frac{VÝSTUP}{VSTUP} \cdot 100 (\%)$$

Pro bilanční chybu platí: 
$$Bilanční\ chyba\ (\%) = 100 - Bilance$$

## 5.5 Postup práce

Kuřecí žaludky byly rozemlety a zhomogenizovány na částice o velikosti 3 mm pomocí speciálně upravené řezačky masa, dvoufázový proces mletí a homogenizace.

### 5.5.1 Příprava čistého kolagenu

Cílem přípravy bylo z výchozí suroviny odstranit doprovodné nekolagenní bílkoviny a tuk. Tím se vytvořil izolovaný kolagen, jenž obsahoval malé procentu tuku a s nímž se dále pracovalo při extrakci želatiny. Surovina se opracovávala podle níže uvedeného postupu a zhruba z 500 g surových žaludků se připravilo 20 g čistého kolagenu.

**Promytí ve studené vodě.** Při promytí materiálu ve studené vodě dojde k odstranění albuminů ze suroviny. Kuřecí žaludky byly rozprostřeny na kovovém kuchyňském sítu a promývány běžnou studenou vodou z kohoutku zhruba 2 min. Pro promytí se surovina umístila do kádinky nebo hrnce se studenou vodou a nechala se 5 min ponořená. Následovalo opět proplachování studenou vodou z kohoutku po dobu 2 min.

**Opracování v 0,2 M NaCl.** Opracováním suroviny v chloridu sodném dojde k odstranění globulinů. Na elektrických digitálních vahách bylo naváženo 170 g kuřecích žaludků do uzavíratelných PET lahví. Surovina se smíchala s 0,2 M NaCl v poměru 1:6, tedy přilil se 1 l destilované vody s 12 g chloridu sodného. Systém se třepal 1,5 h při laboratorní teplotě. Po uplynutí času se přes kovové síto ze směsi odfiltrovala přebytečná voda a 1 min se surovina promývala studenou vodou z kohoutku.

**Opracování v 0,03 M NaOH.** Při opracování v hydroxidu sodném dojde k odstranění glutelinů ze suroviny. Žaludky byly smíchány s 0,03 M NaOH v poměru 1:6. K surovině se

přidal 1 l destilované vody s 1,2 g NaOH. Surovina byla mírně třepána při laboratorní teplotě 6 až 8 h. Po čase se provedla filtrace přes kovové sítko a žaludky se 1 min proplachovaly studenou vodou z kohoutku. Celý proces byl opakován ještě jednou, jen surovina se nechala třepat přes noc. Filtrace byla provedena na kuchyňském sítu opatřeným 1 vrstvou PA tkaniny. Na druhý den ráno, po filtraci, se pokračovalo v opracování žaludků.

**Odtučnění enzymem.** Výchozí tkáň opracovaná pomocí NaCl a NaOH byla smíchána s vodou v poměru 1:10 a byl přidán enzym Lipolase v množství 5 %. Množství bylo vztaženo na hmotnost přesušené suroviny po opracování suroviny v 0,03 M NaOH. Pokud činila navážka žaludků 170 g, bylo přidáno 0,47 g enzymu. Systém se třepal 6 až 8 h. Poté následovala filtrace přes kuchyňské sítko, které bylo opatřeno 1 vrstvou PA tkaniny, a surovina byla promývána vodou. Cyklus se opakoval ještě třikrát a vždy byla vyměněna voda s enzymem a překontrolovalo se pH. Po ukončení se odtučněná tkáň pomocí enzymu rozprostřela na plech a žaludky byly přesušeny při teplotě  $35\pm 1$  °C v troubě po dobu 24 h.

**Rozpouštědlové doodtučnění suroviny.** Vysušená tkáň byla smíchána s acetonem v poměru 1:9 a třepána ve dvou cyklech. Od ranních do odpoledních hodin a od odpoledních do ranních hodin druhého dne. Třepání se provádělo při laboratorní teplotě na třepačce. Mezi cykly bylo vždy měněno rozpouštědlo. Po skončení odtučňování suroviny pomocí acetonu byla tkáň přefiltrována přes kovové sítko a rozprostřena na plech, jenž se umístil do digestoře, a tkáň se nechala volně ležet do druhého dne k doodpaření zbylého rozpouštědla.

Následovalo rozemletí čistého kolagenu na kuchyňském vertikálním mixéru. Doba mletí nesměla překročit 15 s, jinak by došlo k znehodnocení tkáně. Surovina se dále uchovávala v samouzavíratelných PE sáčcích a nádobách.

Na následujícím obrázku č. 2 můžeme pozorovat surovinu v průběhu přípravy čistého kolagenu. a – surové rozemleté kuřecí žaludky; b – promyté surové kuřecí žaludky ve studené vodě; c – surovina po opracování v NaCl; d - surovina po opracování v NaOH; e – surovina po odtučnění enzymem; f – rozemletá surovina na částice o velikosti 1 až 2 mm.





Obrázek 2 Surovina v průběhu přípravy čistého kolagenu

### 5.5.2 Extrakce želatiny z čistého kolagenu

**Neutrální opracování suroviny enzymem** neboli 1. stupeň opracování. Rozemletá surovina byla smíchána s destilovanou vodou v poměru 1:10. Při práci se pracovalo s 20 g žaludků, ke kterým bylo přilito 200 ml demineralizované vody. Systém byl mírně třepán při laboratorní teplotě 45 min a poté bylo upraveno pH na 6,5 – 7,0. Následně byl k tkáni přidán enzym Protamex v množství podle *faktoru A*, tedy 0,3 % nebo 0,6 % nebo 0,9 % enzymu (viz rozpis experimentů v tabulce č. 5). Množství enzymu bylo vztaženo na sušinu suroviny. Po přidání enzymu se surovina opět umístila na třepačku a nechala se opracovávat po dobu kolem 30 h. Doba opracování byla pro všechny experimenty konstantní, tedy 30 h. Během prvních čtyř až šesti hodin se překontrolovalo pH a popřípadě se doupravovalo na hodnotu 6,5 – 7,0. Po uplynutí 30 h se změřilo pH, ale hodnota se již neupravovala. V následujícím kroku se přes kovové kuchyňské síto, jež bylo opatřeno 3 vrstvami PA tkaniny, přefiltrovala surovina a důkladně promyla vodou, aby došlo k částečné inaktivaci enzymu. Proplachování probíhalo ve třech krocích. Jako první byl neutrálně opracovaný výchozí materiál zachycený na sítu důkladně 2 min promýván běžnou studenou vodou. Ve druhé fázi se materiál smíchal s dostatečným přebytkem 0,03 M NaOH a směs se nechala 10 min intenzivně třepat. Materiál se přefiltroval, promyl a proplachování pomocí NaOH se provedlo ještě jednou. Ve třetím kroku byl opláchnutý materiál smíchán s dostatečným množstvím destilované vody a tkáň se nechala intenzivně po dobu 10 min třepat. Poté pokračovala filtrace, promytí a třepání s destilovanou vodou se opakovalo ještě jednou. Materiál byl následně podroben 1. extrakci želatiny. **Hydrolyzát (produkt po 1. stupni opracování)** se v kádince přivedl k varu a při této teplotě varu se udržoval 5 min. Tím došlo k úplné inaktivaci enzymu. Produkt po 1. stupni opracování byl nalit na plech o rozměrech 6x15x22 cm opatřený nepřilnavou folií a kapalina byla sušena při teplotě  $60 \pm 1$  °C po dobu dvou dnů. Vysušený hydrolyzát byl zvážen a seškrabán. Produkt se dal do samouzavíratelného sáčku a skladoval se při laboratorní vlhkosti a teplotě.

**Extrakce první (hlavní) frakce želatiny.** Nejprve byl promytý materiál umístěn do kádinky a smíchán s destilovanou vodou v poměru 1:8. Následně se systém zahřál na teplotu podle *faktoru B*, tedy 63 °C nebo 66 °C nebo 69 °C a po dosažení definované teploty byla želatina extrahována po dobu dle *faktoru C*, tedy 1 h nebo 2 h nebo 3 h (viz. rozpis experimentů v tabulce č. 5). Po dosažení časové hranice bylo provedeno ukončení a přefiltrování suroviny přes kovové síto, jež bylo opatřeno 3 vrstvami PA tkaniny. Želatina 1. frakce se v kádince uvedla k varu a při této teplotě se udržovala po dobu 5 min. Tím došlo k inaktivaci možného

přítomného enzymu. Následně byl roztok želatiny nalit na plech o rozměrech 6x15x22 cm opatřený nepřilnavou fólií a vysušen v sušárně s cirkulací vzduchu při teplotě  $45\pm 1$  °C po dobu 2 dnů. Vysušená želatina 1. frakce byla zvážena a seškrabána. Produkt byl dán do samouzavíratelného sáčku. Na želatině byly provedeny analýzy pevnosti gelu, čirosti a řada dalších měření.



Obrázek 3 Extrakce želatiny u optimalizačního procesu

**Extrakce druhé (vedlejší) frakce želatiny.** Extrakce vedlejší želatinové frakce probíhala stejným způsobem jako u extrakce hlavní želatiny. Nejprve byl nerozložený tuhý podíl smíchán s destilovanou vodou v poměru 1:7. Poté se systém zahřál na požadovanou teplotu podle *faktoru D*, tedy 80 °C nebo 89 °C nebo 98 °C, a po dosažení teploty byla želatina extrahována po dobu dle *faktoru E*, tedy 30 min nebo 60 min nebo 90 min nebo 150 min anebo 270 min. Faktor D a E představuje nám již známý faktor B a C, ale rozšířený do druhého stupně frakce želatiny (viz. rozpis experimentů v tabulce č. 5). Po uplynutí doby extrakce byla provedena poslední fáze. Systém byl přefiltrován přes kuchyňské síto, které bylo opatřeno 3 vrstvami PA tkaniny. Želatina 2. vedlejší frakce se uvedla k varu a při této teplotě se udržovala po dobu 5 min. Při teplotě kolem bodu varu dochází k inaktivaci enzymu. Následně byl roztok vzniklé želatiny nalit na plech o rozměrech 6x15x22 cm opatřený nepřilnavou fólií a vysušen při teplotě  $45\pm 1$  °C po dobu 2 dnů. Vysušená želatina vedlejší frakce byla zvážena a seškrabána a produkt byl dán do samouzavíratelného sáčku. Zbýlý nerozložený tuhý podíl po vedlejší extrakci želatiny byl vysušen při teplotě  $103\pm 1$  °C po dobu jednoho dne.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 6.1 Hodnocení hlavní (primární) části

Bylo provedeno celkem 11 experimentů podle faktorové metodiky  $2^3 + 2$  centrální (středové) experimenty. Pro zjištění účinnosti enzymatického opracování byl proveden ještě 1 pokus bez přídavku enzymu Protamex. Hydrolyzáty a želatiny, které vznikly extrakcí kuřecích žaludků po předchozím opracování proteolytickým enzymem za různých podmínek, jsou v následující kapitole popsány a porovnány. Mezi sledované faktory patří množství přidaného enzymu, faktor A, teplota extrakce, faktor B, a doba extrakce, faktor C. Veškeré zjištěné, naměřené a vypočítané výsledky analýz vzniklých produktů jsou uvedeny v tabulce č. 5 a 6 a následně v obrázcích č. 4 až 16. Výsledky experimentů byly zpracovány v softwaru MiniTab 17 a 18, který slouží pro statické zpracování získaných dat.

V tabulce č. 5 je uveden rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací procesu podle faktorového schématu  $2^3 + 2$  centrální experimenty + 1 experiment bez přídavku enzymu (slepý pokus). Výtěžek hydrolyzátu byl průměrně kolem 13,25 %. Výtěžek želatiny 1. frakce se pohyboval v intervalu od 15,52 do 83,70 %. Nejnižší zjištěná hodnota odpovídá slepému pokusu (přídavek enzymu Protamex 0 %, teplota extrakce 66 °C a doba extrakce 2 h). Nejvyšší hodnota patří středovému experimentu s 0,6 % přídavku enzymu, teplotě extrakce 66 °C a době extrakce 2 h. Je zde patrné, že množství přidaného enzymu mělo vliv na výtěžek želatiny. Bylo zjištěno, že celková účinnost extrakce se pohybovala v intervalu od 38,80 až do 95,90 %.

V tabulce č. 6 jsou zobrazeny rozpisy experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací připravených hydrolyzáatů/želatin. Tvorba gelů je jednou z nejvýznamnějších vlastností želatiny. Z 11 připravených hydrolyzáatů/želatin tvořilo 7 vzorků gel, jedná se tedy o želatiny. Zbylé 4 vzorky spadají pod tzv. hydrolyzáty. Nejvyšší hodnoty pevnosti gelu v Bloomech byly naměřeny u experimentu č. 8 (0,9 % přidaného enzymu, teplota extrakce 69 °C a doba extrakce 3 h) a to  $155 \pm 5$  Bloom. Tato želatina má i nejnižší obsah popelovin ve své struktuře,  $1,71 \pm 0,16$  %. Viskozita se u želatiny pohybovala v intervalu od  $1,37 \pm 0,10$  do  $2,47 \pm 0,03$  mPa.s a pH vyextrahovaných želatin bylo velmi variabilní, od 6,11 až do 10,11. Vysoké pH hodnoty jsou způsobené nedostatečným promýváním suroviny v tekoucí studené vodě. Čirost se pohybovala mezi hodnotami  $1,7 \pm 0,2$  % do  $2,55 \pm 0,06$  %.

Tabulka 5 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací procesu podle faktorového schématu 2<sup>3</sup>

Experiment č.	Technologické podmínky extrakce 1. (hlavní) frakce želatiny			Technologické podmínky extrakce 2. (vedlejší) frakce želatiny		Charakterizace procesu					
	Faktor A Přídavek enzymu [%]	Faktor B Teplota extrakce [°C]	Faktor C Doba extrakce [h]	Faktor D Teplota extrakce [°C]	Faktor E Doba extrakce [min]	Výtěžek hydrolyzátu [%]	Výtěžek 1. želatiny [%]	Výtěžek 2. želatiny [%]	Množství tuhého podílu [%]	Celková účinnost extrakce [%]	Bilanční chyba [%]
1	0,3	63	1	80	30	15,52	24,94	13,30	36,28	53,76	9,96
2	0,3	63	3	80	90	10,53	43,79	14,41	22,20	68,73	9,07
3	0,3	69	1	98	30	15,52	54,88	19,40	0,40	89,80	9,80
4	0,3	69	3	98	90	13,86	74,83	1,66	0,07	90,35	9,58
5	0,9	63	1	80	270	14,41	33,26	45,45	5,71	93,12	1,17
6	0,9	63	3	89	30	12,20	80,93	0,55	0,66	93,68	5,66
7	0,9	69	1	98	270	15,52	30,49	46,56	0,12	92,57	7,31
8	0,9	69	3	98	60	15,52	58,20	12,20	6,23	85,92	7,85
9	0,6	66	2	89	90	11,09	83,70	1,11	1,59	95,90	2,51
10	0,6	66	2	89	90	8,87	80,93	4,43	1,52	94,23	4,25
11 <sup>a</sup>	0,0	66	2	89	150	12,75	15,52	10,53	58,56	38,80	2,64

a – referenční (středový) experiment bez enzymatického opracování výchozí suroviny (slepý pokus)

Tabulka 6 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací připravených hydrolyzátů/želatin

Experiment č.	Technologické podmínky extrakce 1. (hlavní) frakce želatiny			Charakterizace připravených hydrolyzátů/želatin					
	Faktor A Přídavek enzymu [%]	Faktor B Teplota ex- trakce [°C]	Faktor C Doba ex- trakce [h]	Pevnost gelu [Bloom]	Obsah popela <sup>b</sup> [%]	Viskozita [mPa.s]	pH [-]	Sušina [%]	Čiřost [%]
1	0,3	63	1	84±8	3,62±0,11	2,38±0,10	9,41	92,56±0,03	2,09±0,12
2	0,3	63	3	67±2	3,67±0,12	2,47±0,03	9,62	99,69±0,06	1,8±0,5
3	0,3	69	1	9±1	6,6±0,3	1,77±0,01	9,78	97,05±0,12	1,8±0,3
4	0,3	69	3	0±0	6,3±0,3	1,41±0,03	10,05	94,92±0,08	2,3±0,2
5	0,9	63	1	15±0	6,7±0,5	1,56±0,10	10,03	98,1±0,1	1,7±0,2
6	0,9	63	3	0±0	8,50±0,04	1,37±0,10	10,11	99,21±0,17	2,2±0,2
7	0,9	69	1	59±2	6,3±0,7	2,26±0,06	9,98	95,06±0,09	2,07±0,12
8	0,9	69	3	155±5	1,71±0,16	2,20±0,02	9,62	94,54±0,02	2,12±0,15
9	0,6	66	2	0±0	8,8±0,4	1,55±0,10	9,99	92,69±0,02	2,11±0,06
10	0,6	66	2	0±0	7,47±0,06	1,57±0,07	9,56	90,82±0,09	2,1±0,6
11 <sup>a</sup>	0,0	66	2	82±7	1,8±0,1	1,68±0,06	6,11	93,34±0,11	2,55±0,06

a – referenční (středový) experiment bez enzymatického opracování výchozí suroviny

b - % v sušině vyextrahovaného produktu

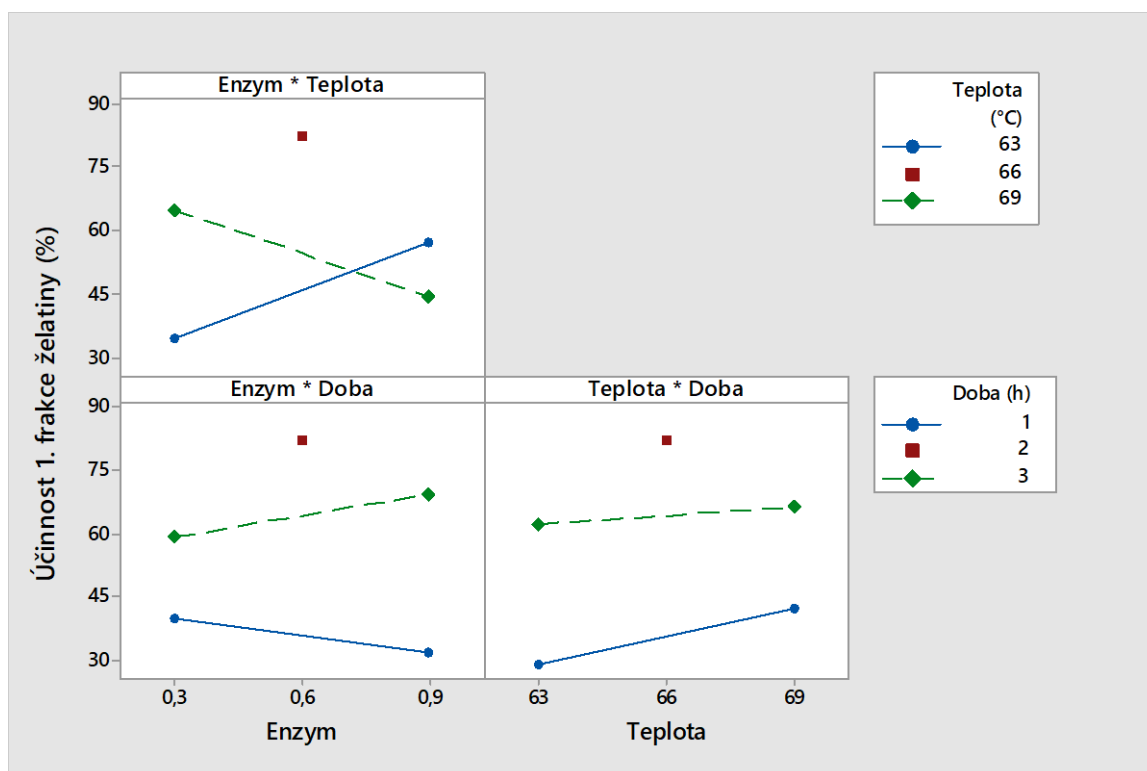
### 6.1.1 Účinnosti extrakce

Rovnice účinnosti extrakce 1. frakce želatiny byla:

$$\text{Účinnost} = -71 + 1,8 \text{ Množství enzymu} + 1,48 \text{ Teplota} + 14,27 \text{ Doba extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo jak množství přidaného enzymu, tak teplota a doba extrakce nevýznamné. Hodnoty činily 0,945, 0,586 a 0,114. Hodnota  $R^2$  se rovnala 38,49 %.

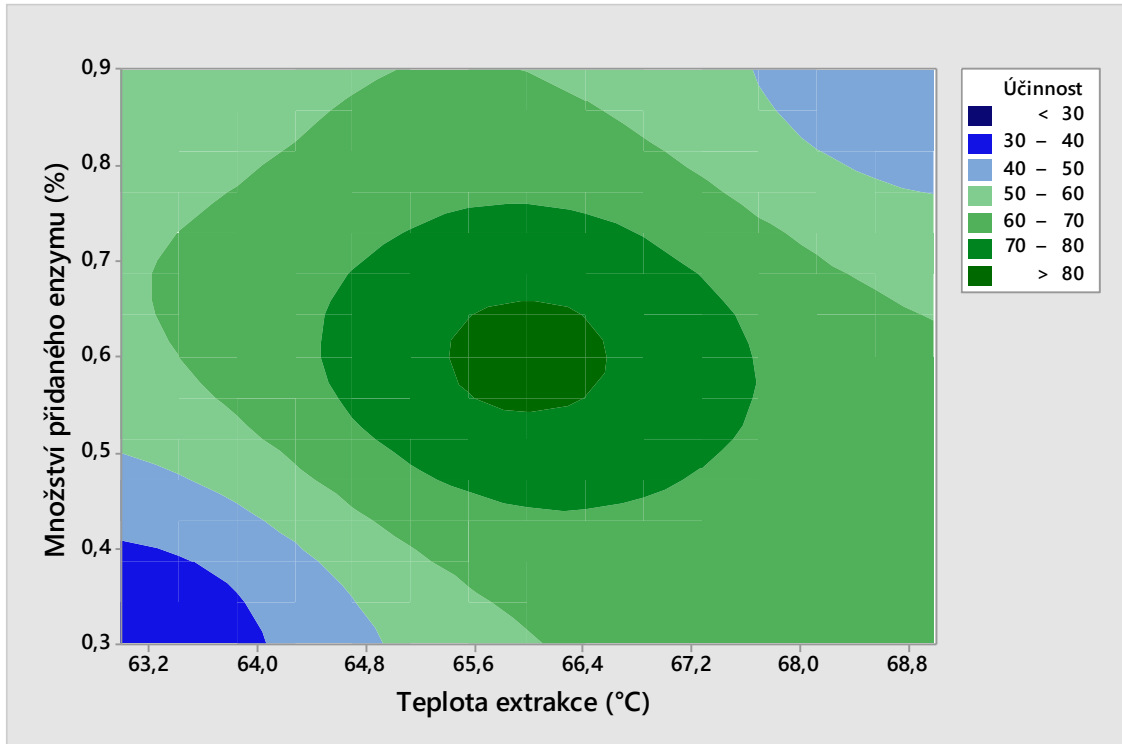
Na následujícím obrázku č. 4 můžeme pozorovat vliv jednotlivých faktorů A, B a C na účinnost 1. frakce želatiny. Z obrázku je patrné, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu se zvyšuje i účinnost extrakce při teplotě 63 °C, avšak při teplotě 69 °C platí, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu klesá účinnost extrakce. Nejvyšší extrakce byla zjištěna u středového experimentu, tedy při teplotě 66 °C a množství přidaného enzymu 0,6 %. Pokud se zaměříme na růst teploty extrakce, tak zjistíme, že se zvyšující se teplotou roste i účinnost 1. frakce želatiny jak pro dobu extrakce 1 h, tak 3 h.



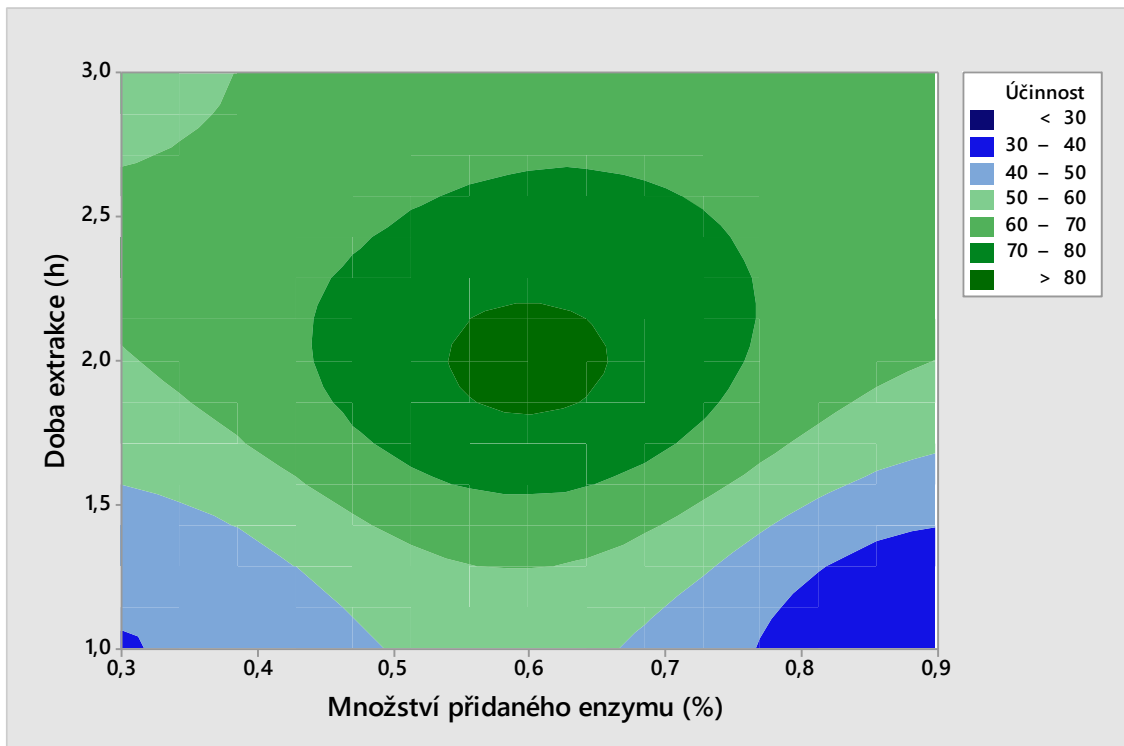
Obrázek 4 Vliv interakcí sledovaných faktorů na účinnost 1. extrakce

Obrázek č. 5 vykresluje vrstvený graf vlivů faktorů A a B na účinnost 1. extrakce. Nejvyšší účinnost, více jak 80 %, byla u středového experimentu, tedy množství přidaného enzymu 0,6 %, teplota extrakce 66 °C a doba extrakce 2 h. Od středového experimentu platí, že se snižující i zvyšující se teplotou extrakce a s klesajícím množstvím přidaného enzymu klesá

i účinnost 1. frakce želatiny. Dále od středového (centrálního) experimentu platí, že se snižující i zvyšující se teplotou extrakce a s rostoucím množstvím přidaného enzymu opět klesá účinnost 1. (hlavní) frakce želatiny.



Obrázek 5 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na účinnost 1. extrakce



Obrázek 6 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na účinnost 1. extrakce

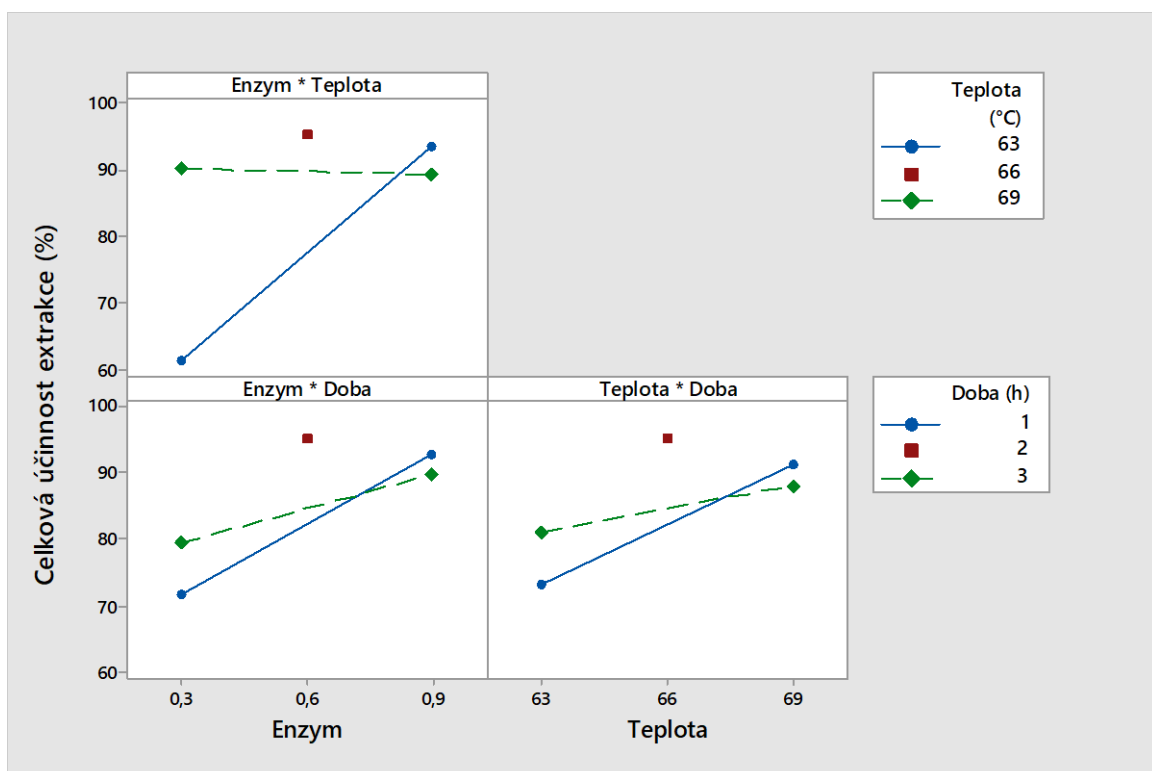


Obrázek č. 6 vykresluje vrstvený graf vlivů faktorů A a C na účinnost 1. extrakce. Účinnost se pohybovala v intervalu zhruba od 30 do 80 %. Nejnižší účinnost byla vypočítána u experimentu s přidavkem enzymu 0,9 % a dobou extrakce 1 h, účinnost byla kolem 30 %. Naopak nejvyšší účinnost byla u přidavku enzymu 0,6 % a době extrakce 2 h.

Rovnice **celkové účinnosti extrakce** byla:

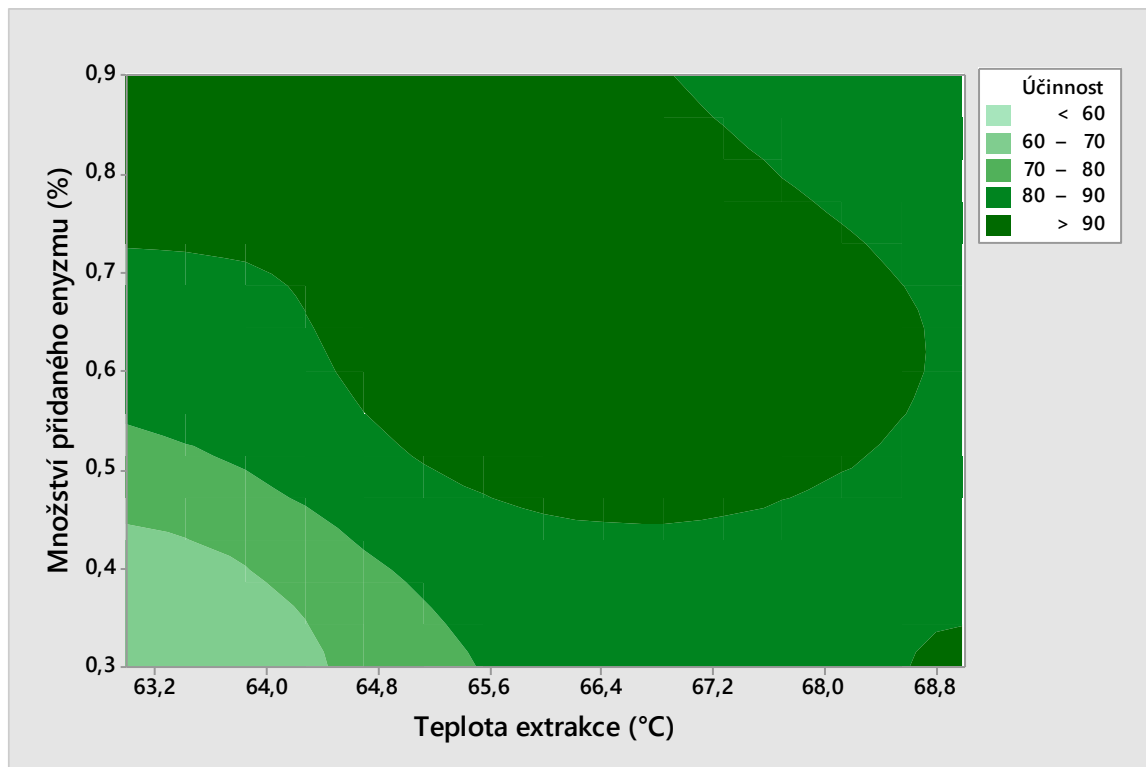
$$\text{Účinnost} = -67,9 + 26,1 \text{ Množství enzymu} + 2,06 \text{ Teplota} + 1,18 \text{ Doba extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo opět jak množství přidaného enzymu, tak teplota a doba extrakce nevýznamné. Hodnoty činily 0,118, 0,200 a 0,793. Hodnota  $R^2$  se rovnala 47,72 %.



Obrázek 7 Vliv interakcí sledovaných faktorů na celkovou účinnost extrakce

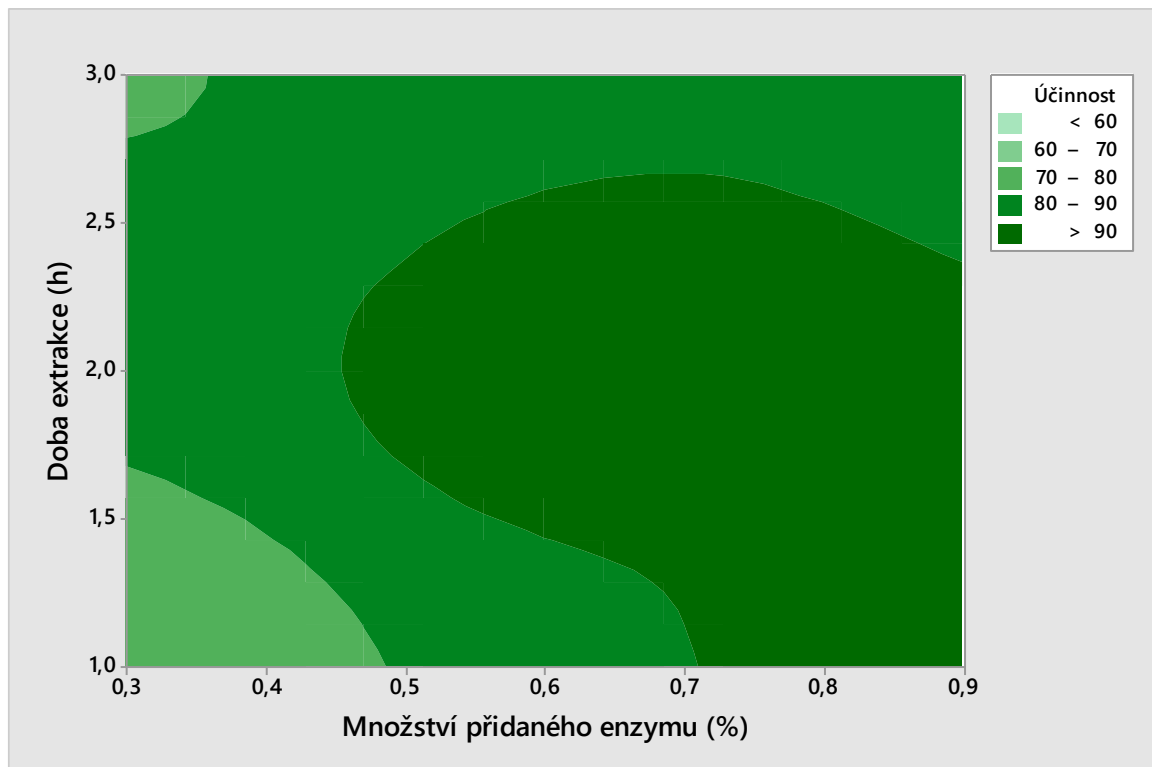
Vliv interakcí sledovaných faktorů A, B a C na celkovou účinnost extrakce je znázorněno na obrázku č. 7. Vzájemná interakce všech faktorů má vliv na účinnost extrakce. Nejvyšší účinnosti bylo vždy dosaženo při středovém experimentu, tedy při přidavku 0,6 % enzymu, teplotě extrakce 66 °C a době extrakce 2 h. Při vzájemném působení faktoru A (množství enzymu) a faktoru B (teplota extrakce) nemá teplota 69 °C téměř žádný vliv na celkovou účinnost, ale při teplotě 63 °C platí, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu roste i celková účinnost extrakce. Při vzájemném působení faktoru A a faktoru C (doba extrakce) celková účinnost extrakce s množstvím přidaného enzymu rostla jak pro extrakci při 1 h, tak pro extrakci při 3 h.



Obrázek 8 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na celkovou účinnost extrakce

Obrázek č. 8 vykresluje vrstvený graf vlivů faktorů A a B na celkovou účinnost extrakce. Se zvyšující se teplotou extrakce při 0,3 % přidaného enzymu celková účinnost extrakce rostla. Při přidavku enzymu 0,9 % naopak celková účinnost klesala. U experimentů s množstvím přidaného enzymu 0,6 % se celková účinnost extrakce měnila. Při nejnižší i nejvyšší teplotě byla účinnost v intervalu od 80 do 90 %, ale při střední teplotě extrakce 66 °C byla účinnost více jak 90 %, zde byla zjištěna i jedna z nejvyšších účinností extrakce, která činila 94,23 % a 95,90 %.

Na následujícím obrázku č. 9 můžeme opět pozorovat vrstvený graf vlivů faktorů A a C na celkovou účinnost extrakce. S rostoucím množstvím přidaného enzymu roste i celková účinnost extrakce při době zpracování 1 h. Totéž platí i při době opracování 2 h a 3 h. Tedy s rostoucím množstvím přidaného enzymu se zvyšuje i celková účinnost extrakce. Nejnižší hodnota celkové výtěžnosti byla zjištěna při množství přidaného enzymu 0,3 % a době extrakce 1 h. Výtěžnost činila necelých 54 %. Nejintenzivnější opracování suroviny bylo zjištěno při středovém experimentu, ale také při experimentu s 0,9 % enzymu a teplotou extrakce 63 °C. Celková účinnost byla 93,12 % a 93,68 %.



Obrázek 9 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na celkovou účinnost extrakce

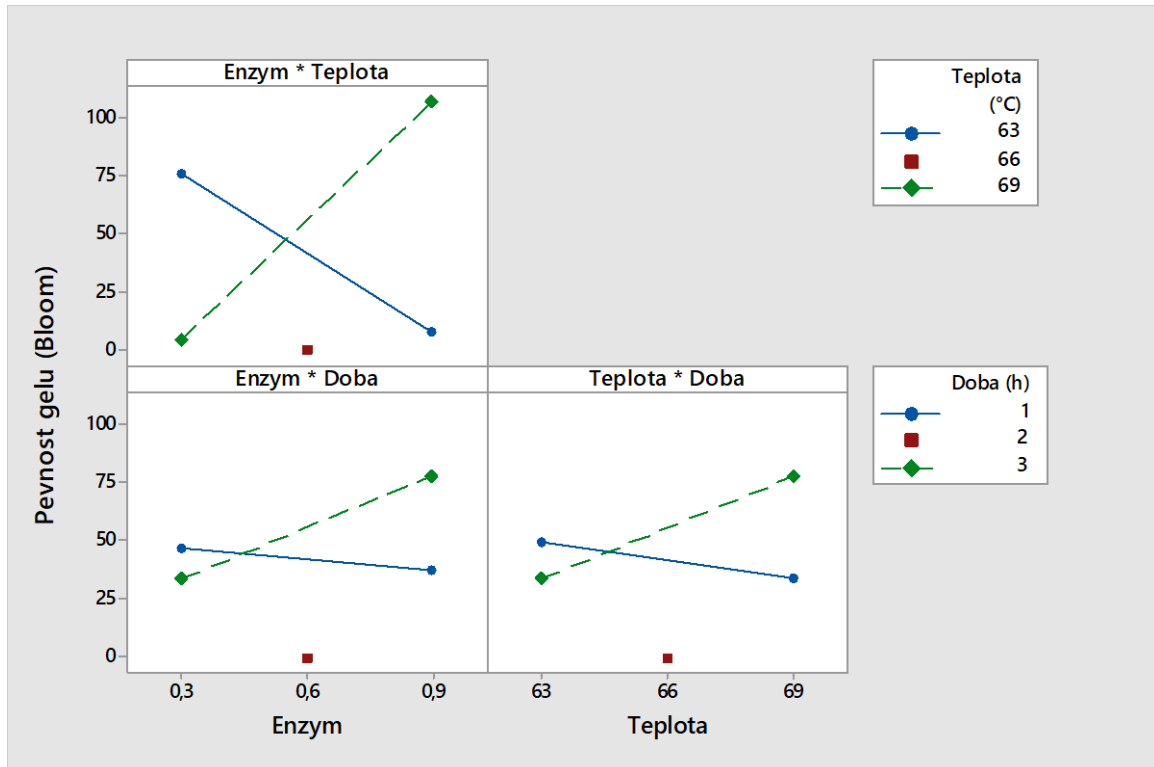
### 6.1.2 Pevnost gelu 1. frakce želatiny

Rovnice **pevnosti gelu 1. frakce želatiny** byla:

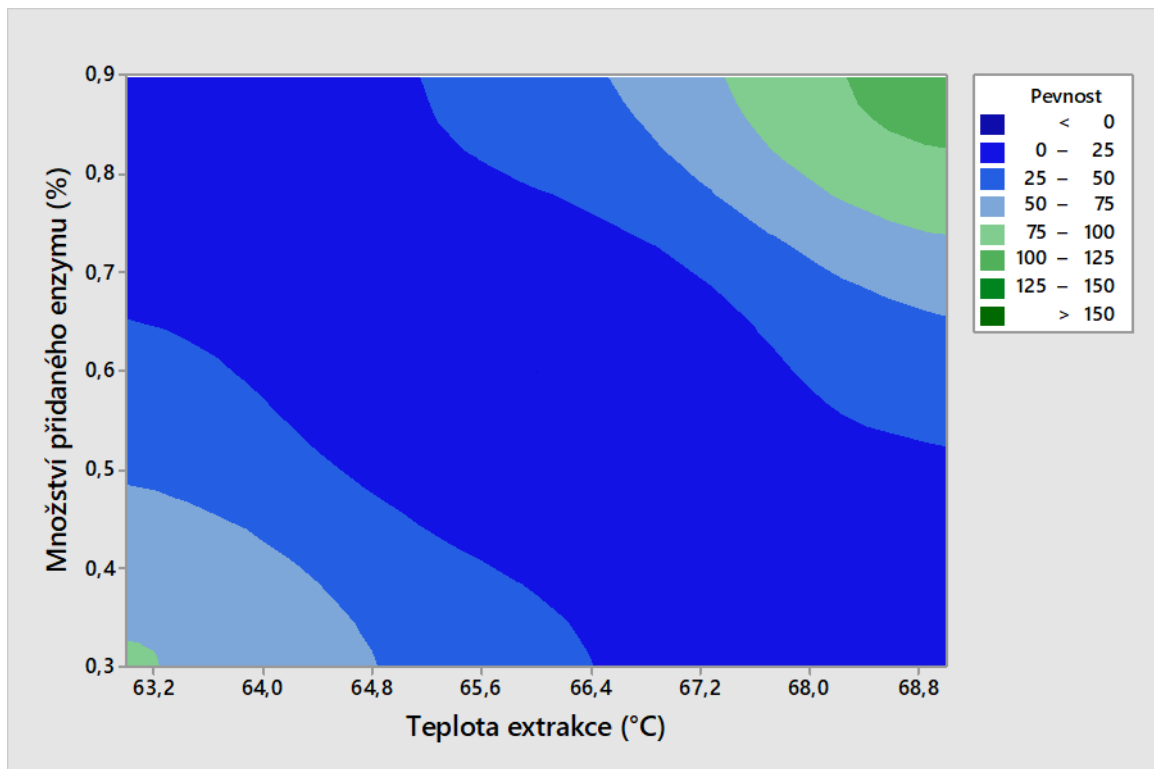
$$Pevnost = -148 + 28,9 \text{ Množství enzymu} + 2,36 \text{ Teplota} + 6,9 \text{ Doba extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo opět jak množství přidaného enzymu, tak teplota a doba extrakce nevýznamné. Hodnoty činily 0,705, 0,756 a 0,762. Hodnota  $R^2$  se rovnala pouhým 5,71 %.

Na níže uvedeném obrázku č. 10 jsou zobrazeny vlivy interakcí sledovaných faktorů A, B a C na pevnost vytvořeného gelu. Při středovém experimentu vyextrahované želatiny nevytvořily gel, jedná se o hydrolyzát. Nulové Bloom hodnoty bylo naměřeno i při 0,3 % enzymu a teplotě extrakce 69 °C a také při přídatku enzymu 0,9 % a teplotě extrakce 63 °C. Doba extrakce u obou experimentů byla vždy 3 h. Při vzájemné kombinaci faktoru A a C s rostoucím množstvím přidaného enzymu a době extrakce 1 h klesá pevnost gelu. U doby extrakce 3 h naopak pevnost gelu se zvyšujícím se množstvím enzymu roste. Vzájemná kombinace faktoru B a C poukazuje na stejnou závislost, tedy s rostoucí teplotou pevnost gelu jak roste (doba extrakce 3 h), tak klesá (doba extrakce 1 h).

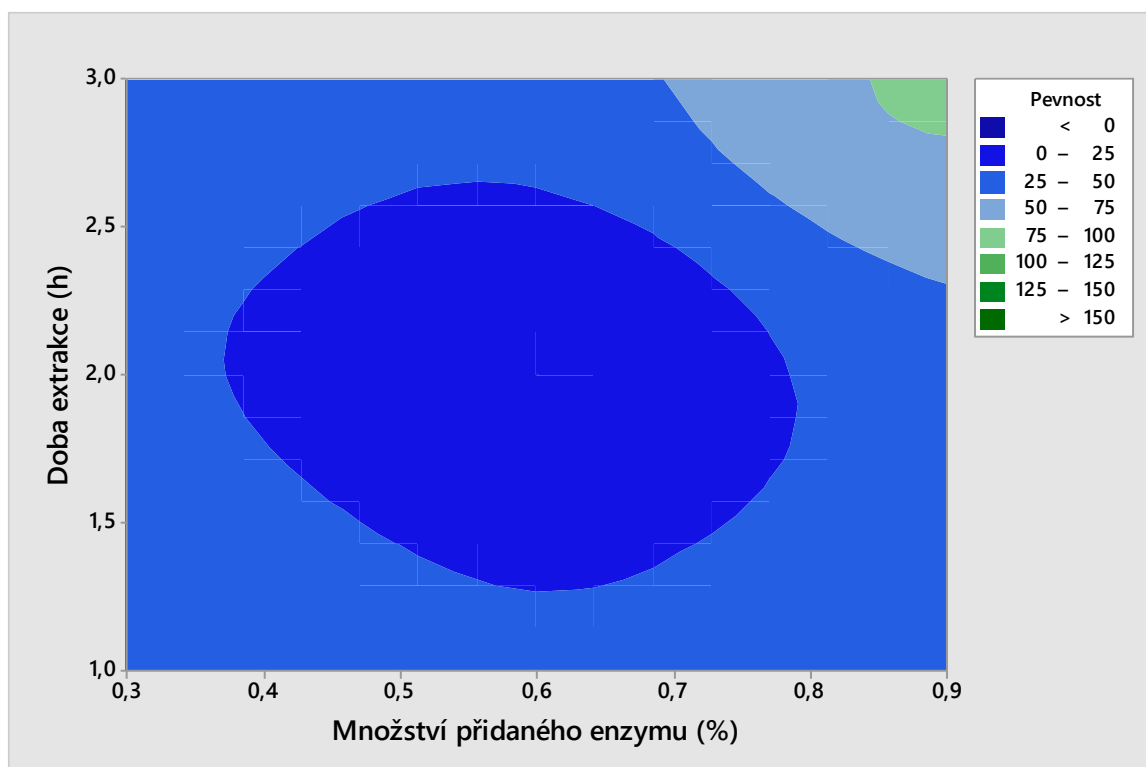


Obrázek 10 Vliv interakcí sledovaných faktorů na pevnost gelu



Obrázek 11 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na pevnost gelu

Z obrázku č. 11 znázorňující vrstvený graf vlivů faktorů A a B na pevnost vytvořeného gelu je zřejmé, že se zvyšujícím se množstvím přidaného enzymu pevnost gelu klesá při teplotě extrakce 63 °C. Avšak při teplotě 69 °C je trend opačný, tedy se zvyšujícím se množstvím přidaného enzymu pevnost gelu roste. Nejnižší hodnota pevnosti gelu byla zjištěna při přídatku 0,3 % enzymu, teplotě extrakce 69 °C a době extrakce 1 h. Pevnost gelu byla pouhých 9 Bloom. Nejvyšší hodnota pevnosti gelu byla naměřena při přídatku 0,9 % enzymu, teplotě extrakce 69 °C a době extrakce 3 h. Pevnost gelu byla rovných 155 Bloom.



Obrázek 12 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na pevnost gelu

Z obrázku č. 12 (vrstvený graf vlivů faktorů A a C na pevnost gelu) je patrné, že nejvyšší pevnosti gelu bylo dosaženo při extrakci s přídatkem enzymu 0,9 % a době extrakce 3 h. Zároveň můžeme v grafu pozorovat, že při střední hodnotě doby extrakce 2 h a při množství enzymu 0,6 % vyextrahované želatiny nevytvořily žádný gel. Hodnota pevnosti gelu je rovna 0 Bloom. Želatiny netvořící gel se označují jako hydrolyzáty. Z grafu dále vyplývá, že při extrakci trvající déle než 2 h a s přídatkem enzymu více jak 0,7 % vyextrahované želatiny vykazují hodnoty pevnosti gelu více jak 50 Bloom.

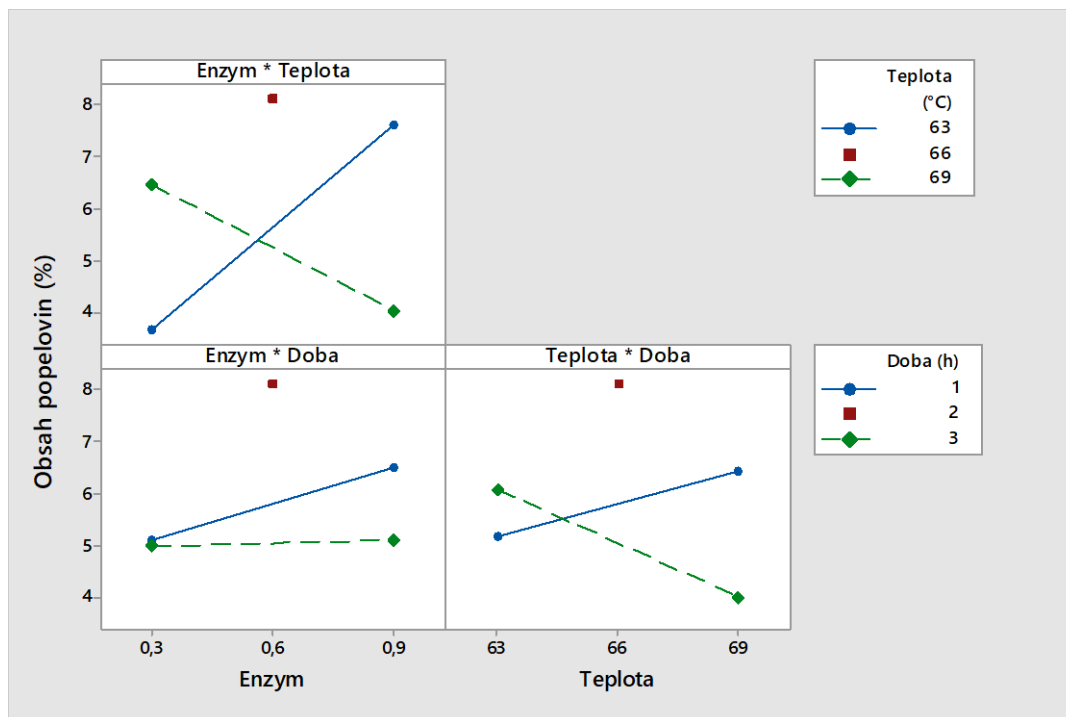
### 6.1.3 Obsah popela 1. frakce želatiny

Rovnice obsahu popelovin 1. frakce želatiny byla:

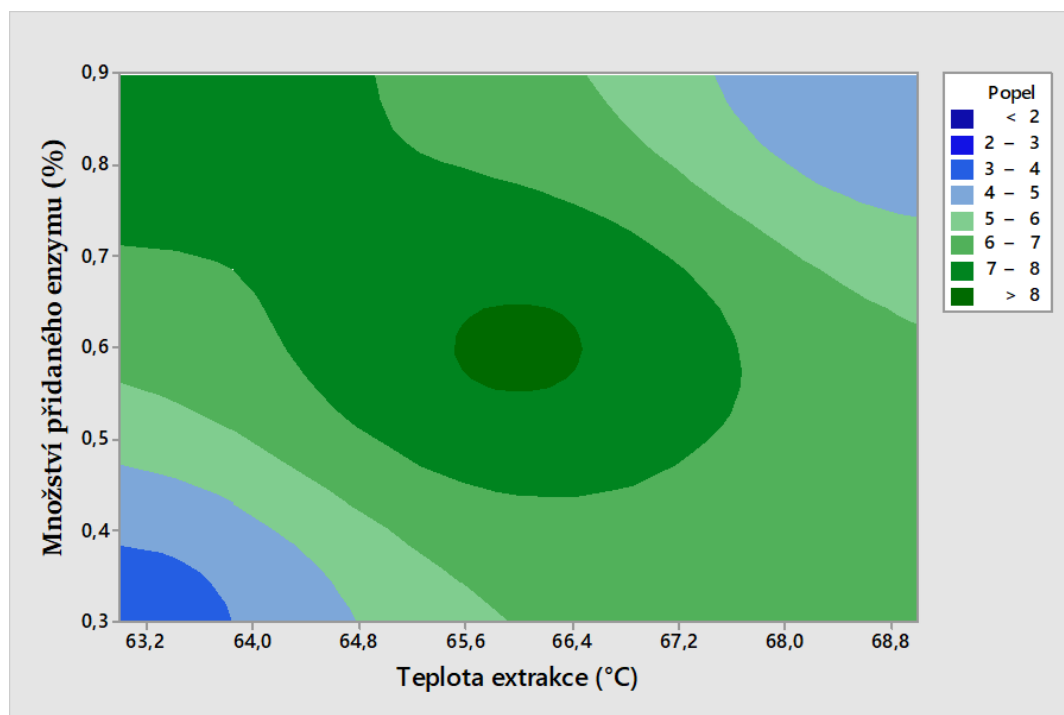
$$\text{Popel} = 10,3 + 1,26 \text{ Množství enzymu} - 0,066 \text{ Teplota} - 0,380 \text{ Doba extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo jak množství přidaného enzymu, tak teplota a doba extrakce nevýznamné. Hodnoty činily 0,708, 0,844 a 0,706. Hodnota  $R^2$  se rovnala pouze 5,58 %.

Obrázek č. 13 zobrazuje vliv interakcí sledovaných faktorů na celkový obsah popelovin ve vyextrahovaných hydrolyzátech a želatinách. Nejvyšší obsah popela byl zjištěn u centrálního experimentu, téměř 9 % (vztaženo na sušinu suroviny). V závislosti na teplotě je obsah popelovin nejvyšší při teplotě 63 °C a množství přidaného enzymu 0,9 % a s rostoucí teplotou obsah popela ve vzorcích lineárně klesá, přičemž doba extrakce má velmi malý vliv na množství popelovin ve vyextrahovaných hydrolyzátech a želatinách. Vzájemná interakce faktorů B a C má taktéž vliv na obsah popela. S rostoucí teplotou při době extrakce 1 h se obsah popelovin zvyšuje, ale při době extrakce 3 h s rostoucí teplotou obsah popelovin klesá. Hodnoty obsahu popela jsou uvedeny v tabulce č. 6 a výsledky se pohybují v intervalu od 1,7 do 8,8 %. Nejnižší hodnota odpovídá experimentu s 0,9 % přidaného enzymu, teplotou extrakce 69 °C a dobou extrakce 3 h. Nejvyšší hodnota patří experimentu s 0,6 % enzymu, při teplotě extrakce 66 °C a době extrakce 2 h.



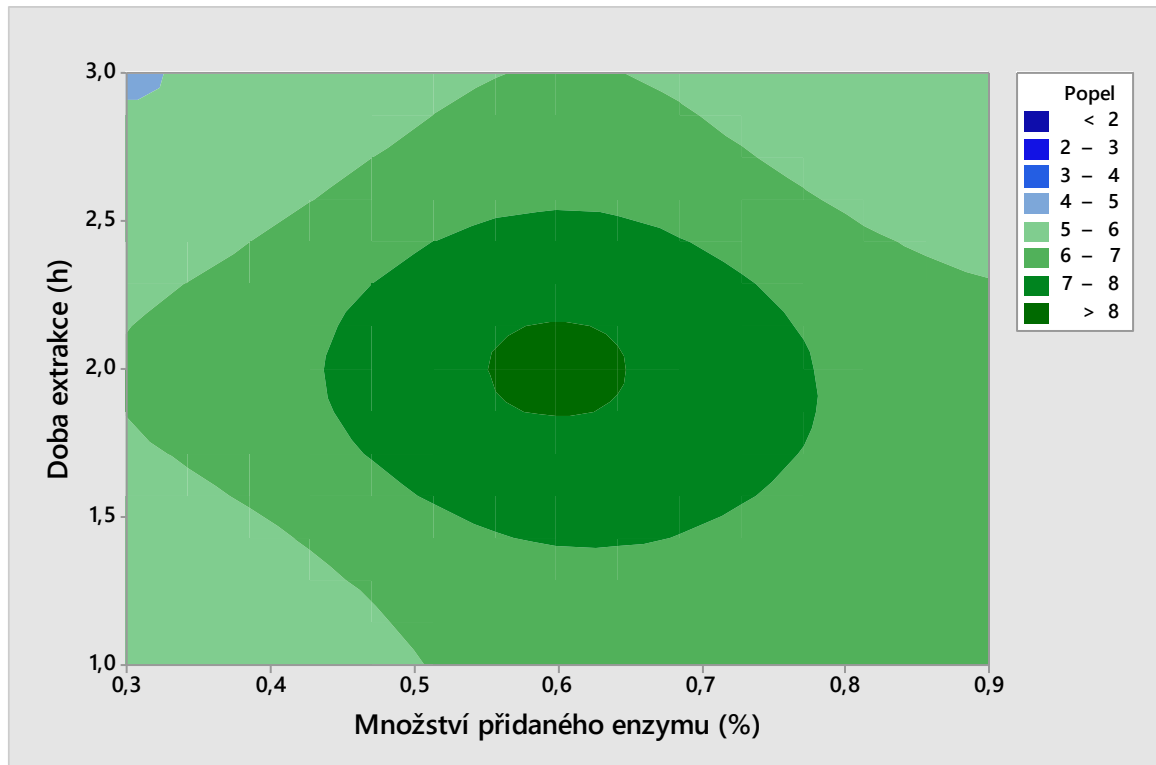
Obrázek 13 Vliv interakcí sledovaných faktorů na obsah popelovin



Obrázek 14 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na obsah popelovin

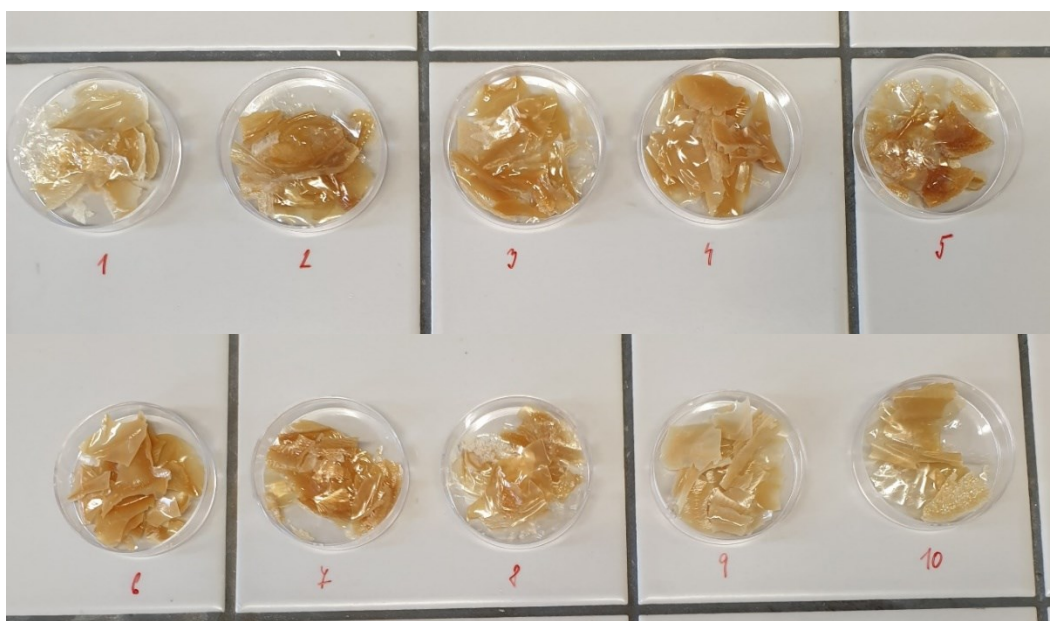
Na výše uvedeném obrázku č. 14 je znázorněn vrstvený graf vlivu faktoru A, množství přidaného enzymu, a faktoru B, teploty extrakce, na obsah popelovin. Oblast s nevyšší hodnotou obsahu popelovin je ve středu grafu a je vyobrazena tmavě zelenou barvou. Jedná se o centrální experiment při teplotě 66 °C, 0,6 % přidaného enzymu a době extrakce 2 h. Obsah popela je více jak 8,5 %. Nejnížší obsah popelovin je vykreslen modrou barvou v oblasti nejnižších hodnot teploty extrakce a nejnižších hodnot množství přidaného enzymu. Zde je obsah popelovin v intervalu od 3 do 4 %.

Na obrázku č. 15 je vyobrazen vrstvený graf vlivů faktorů A a C na obsah popelovin ve vyextrahovaných hydrolyzátech a želatinách. Se zvyšujícím se množstvím enzymu při době extrakce 1 h roste obsah popelovin v získaných vzorcích. Při přidavku enzymu 0,9 % naopak obsah popela ve vzorcích s rostoucí dobou extrakce klesá. U experimentů s množstvím přidaného enzymu 0,6 % se obsah popelovin značně měnil. Při nejnižší i nejvyšší době extrakce byl obsah popelovin v intervalu od 6 do 7 %, ale při střední době extrakce 2 h byl obsah popela v hydrolyzátu více jak 8 %. I při přidavku enzymu 0,3 % byl obsah popela velmi variabilní. Obsah se zde pohyboval v rozmezí od 4 do 7 %. Nejnížší hodnota, kolem 4 %, odpovídá 0,3 % přidaného enzymu a době extrakce 3 h. Nejvyšší hodnota, zhruba 7 %, patří experimentu s 0,3 % případného enzymu a době extrakce 2 h.



Obrázek 15 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na obsah popelovin

Na obrázku č. 16 jsou pozorovány rozdíly mezi vysušenými hydrolyzáty a želatinami. Můžeme zde vidět želatiny/hydrolyzáty pro hlavní (primární) experimenty. U vzorků č. 2 až 8 byla transparentnost téměř stejná, kolem 1,99 %. Pouze želatiny/hydrolyzáty vyextrahované v experimentu č. 1, 9 a 10 vykazují větší (lepší) transparentnost oproti ostatním želatinám/hydrolyzátům. Zde byla transparentnost změřena na průměrnou hodnotu 2,10 %.



Obrázek 16 Porovnání vysušených želatin/hydrolyzátů pro hlavní (primární) experimenty



Následně vždy byla vyextrahována tzv. želatina 2. frakce. Jelikož byl u některých experimentů výtěžek želatiny 2. (vedlejší) frakce velmi malý, nepodařilo se provést výše uvedené hodnocení. Proto bylo provedeno smíchání veškerých želatín z 2. frakce. Na vzniklém želatinovém roztoku se provedlo stanovení pevnosti gelu. Bylo zjištěno, že želatiny mají i v druhé extrakci určitou pevnost gelu, a to průměrně  $56 \pm 4$  Bloom. Obsah popelovin byl zjištěn na hodnotu  $6,63 \pm 0,12$  %.

## 6.2 Hodnocení optimalizační (sekundární) části

Po provedení experimentů podle schématu  $2^3 + 2$  centrální pokusy + 1 středový (slepý) pokus byly realizovány optimalizační extrakce podle schématu  $2^2 + 1$  centrální (středový) experiment. Ze zhodnocení výsledků ze základního procesu bylo zjištěno, že na výtěžnost a kvalitu želatín má vliv především faktor A a B, tedy množství přidaného enzymu a teplota extrakce, a vliv doby extrakce (faktor C) je zanedbatelný. Faktor C je tedy statisticky méně významný než faktor A a B. Proto se při optimalizačním (sekundárním) procesu zaměříme na množství přidaného enzymu a na teplotu extrakce. Hodnoty *faktoru A* (množství přidaného enzymu) jsou 0,1, 0,25 a 0,4 % a *faktoru B* (teplota extrakce) jsou 60, 62,5 a 65 °C. Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací procesu podle faktorového schématu  $2^2$  je uveden v tabulce č. 7. Doba 1. (hlavní) extrakce želatiny byla pro všechny experimenty konstantní, a to 2 h. Pro 2. a 3. (vedlejší) frakci želatiny byl použit *faktor C* a *faktor D*, což je doba extrakce (viz rozpis experimentů v tabulce č. 7). Teplota extrakce byla pro získání želatiny z 2. frakce 80 °C a pro získání želatiny z 3. frakce 95 °C. Požadavkem bylo stanovení vhodných technologických podmínek za cílem získání co největšího množství želatiny a současně co nejlepší pevnosti gelu.

Výtěžek hydrolyzátu byl průměrně 7,5 %. Množství 1. hlavní frakce želatiny bylo v intervalu od 23,84 (0,1 % přidaného enzymu Protamex, teplota extrakce 65 °C a doba extrakce 2 h) do 88,69 % (0,4 % přidaného enzymu, teplota extrakce 65 °C a doba extrakce 2 h). Účinnost 2. a 3. frakce želatiny byla od 0,00 až do 23,28 %. Celková účinnost extrakce byla od 43,80 do 96,45 %. Pevnost gelu, která byla velmi variabilní byla od  $2 \pm 0$  do  $429 \pm 8$  Bloom. Nejnižší pevnost gelu odpovídá 0,4 % přidaného enzymu a 65 °C teploty extrakce. Nejvyšší pevnost byla zjištěna u 0,1 % enzymu a teplotě extrakce 65 °C. Bylo dosaženo obsahu popelovin od  $1,0 \pm 0,3$  do  $1,87 \pm 0,04$  %. Hodnoty odpovídají kvalitě farmaceutických a potravinářských želatín, kde je limit do 2 % obsahu popelovin ve vzorku. [78]

Tabulka 7 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací procesu podle faktorového schématu 2<sup>2</sup>

Experiment č.	Technologické podmínky extrakce 1. (hlavní) frakce želatin		Technologické podmínky extrakce 2. a 3. (vedlejší) frakce želatin		Charakterizace procesu						
	Faktor A Přídavek enzymu [%]	Faktor B Teplota extrakce [°C]	Faktor C Doba extrakce [min]	Faktor D Doba extrakce [min]	Výtěžek hydrolyzátu [%]	Výtěžek 1. želatiny [%]	Výtěžek 2. želatiny [%]	Výtěžek 3. želatiny [%]	Množství tuhého podílu [%]	Celková účinnost extrakce [%]	Bilanční chyba [%]
1	0,1	60	30	30	7,76	24,39	9,42	23,28	33,81	64,85	1,34
2	0,1	65	60	60	6,65	23,84	7,21	6,10	54,88	43,80	1,32
3	0,4	60	90	90	8,87	86,47	1,11	0,00	3,33	96,45	0,22
4	0,4	65	120	120	6,65	88,69	0,55	0,00	3,33	95,89	0,78
5	0,25	62,5	150	150	7,76	63,19	6,11	3,56	15,31	80,62	4,07

Tabulka 8 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací připravených hydrolyzátů/želatin

Experiment č.	Technologické podmínky extrakce 1. (hlavní) frakce hydrolyzátů/želatin		Charakterizace připravených hydrolyzátů/želatin					
	Faktor A Přídavek enzymu [%]	Faktor B Teplota extrakce [°C]	Pevnost gelu [Bloom]	Obsah popela [%]	Viskozita [mPa.s]	pH [-]	Sušina [%]	Čiřost [%]
1	0,1	60	192±10	1,87±0,04	2,89±0,02	8,41	94,42±0,08	2,1±0,6
2	0,1	65	429±8	1,6±0,3	2,369±0,012	8,44	98,6±0,1	1,68±0,08
3	0,4	60	8±0	1,1±0,9	1,528±0,016	8,26	97,19±0,06	2,37±0,03
4	0,4	65	2±0	1,0±0,3	1,41±0,03	7,96	98,92±0,02	2,22±0,02
5	0,25	62,5	96±4	1,4±0,3	2,149±0,014	8,38	98,12±0,06	2,49±0,05

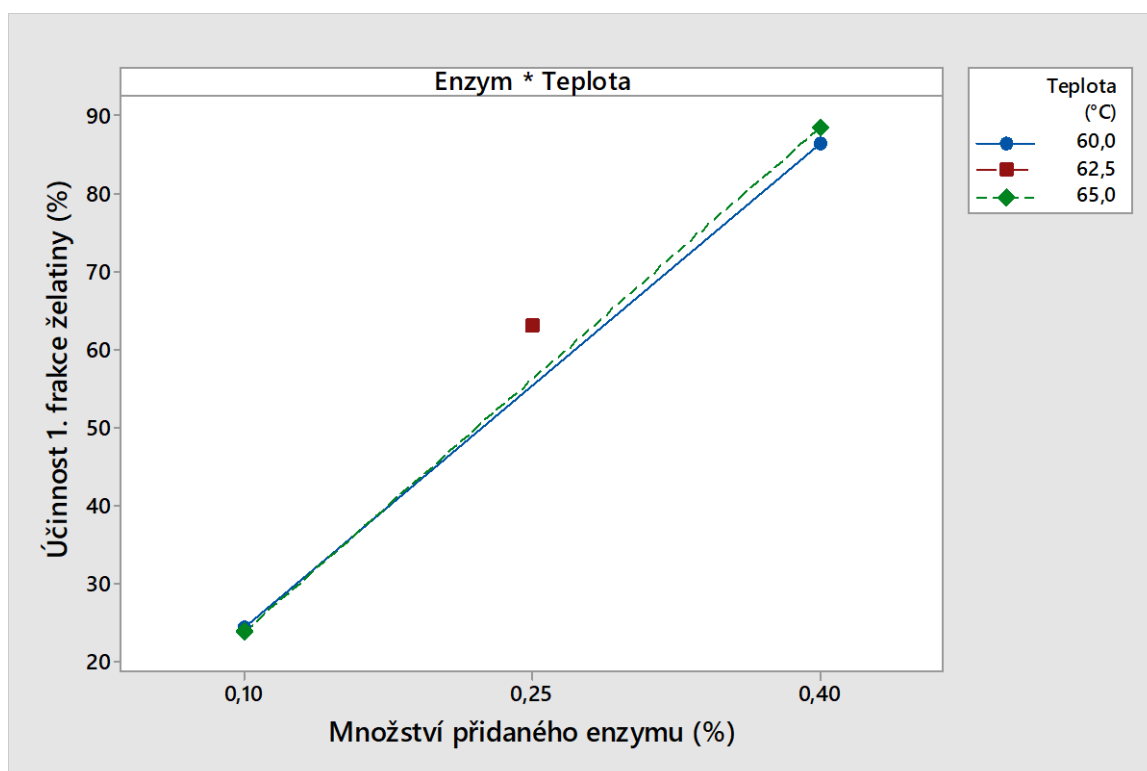
### 6.2.1 Účinnosti extrakce

Rovnice účinnosti 1. hlavní extrakce byla:

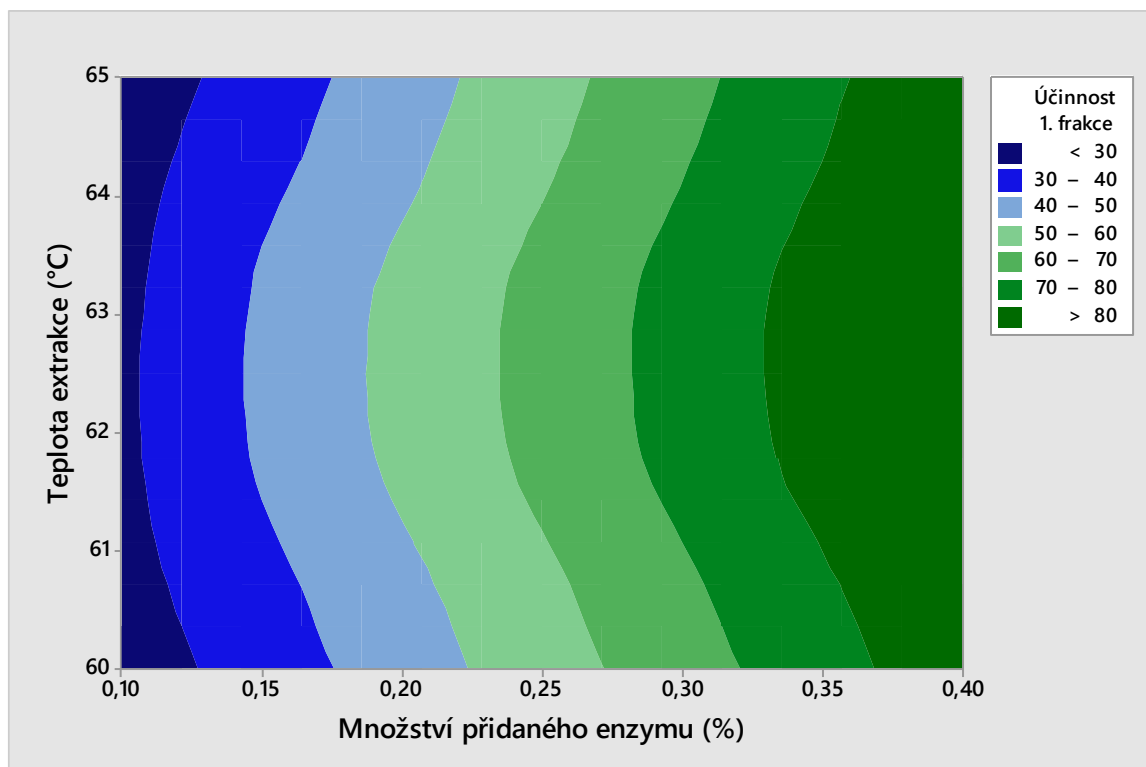
$$\text{Účinnost} = -6,0 + 211,5 \text{ Množství enzymu} + 0,167 \text{ Teplota extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo množství přidaného enzymu významné, činilo 0,006, ale teplota extrakce byla nevýznamná. Hodnota byla 0,877. Hodnota  $R^2$  se rovnala 98,89 %.

Výtěžek želatiny 1. frakce se pohyboval v intervalu od 23,84 (0,1 % přidaného enzymu a teplota extrakce 65 °C) do 88,69 % (0,4 % přidaného enzymu a teplota extrakce 65 °C). Na níže uvedeném obrázku č. 17 můžeme pozorovat vliv faktoru A na účinnost 1. frakce želatiny. Můžeme zde vidět, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu se zvyšuje i účinnosti 1. frakce želatiny jak pro teplotu extrakce 60 °C, tak pro teplotou extrakce 65 °C. Při teplotě extrakce 62,5 °C a množství přidaného enzymu 0,25 % byla účinnost kolem 63 %.



Obrázek 17 Vliv faktoru A na účinnost 1. extrakce při různé teplotě extrakce



Obrázek 18 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na účinnost 1. extrakce

Na obrázku č. 18 je znázorněný vrstvený graf vlivů faktor A a B na účinnost 1. extrakce želatiny. Z grafu je patrné, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu a se zvyšující se teplotou extrakce roste i účinnost 1. frakce extrakce želatiny. Totéž lze říci i při závislosti konstantní teploty extrakce. Tedy se zvyšujícím se množstvím přidaného enzymu při teplotě extrakce 60, 62,5 a 65 °C se zvyšuje i účinnost 1. frakce želatiny.

Rovnice účinnosti 2. vedlejší extrakce byla:

$$\text{Účinnost} = 28,4 - 24,95 \text{ Množství enzymu} - 0,277 \text{ Teplota extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo množství přidaného enzymu významné, činilo 0,022, ale teplota extrakce byla nevýznamná. Hodnota byla 0,346. Hodnota  $R^2$  se rovnala 95,75 %.

Výtěžek želatiny 2. frakce se pohyboval od 0,55 (0,4 % přidaného enzymu a teplota extrakce 65 °C) do 9,42 % (0,1 % přidaného enzymu a teplota extrakce 60 °C).

Rovnice účinnosti 3. vedlejší extrakce byla:

$$\text{Účinnost} = 126,2 - 49,0 \text{ Množství enzymu} - 1,72 \text{ Teplota extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo množství přidaného enzymu i teplota extrakce nevýznamné. Hodnoty byly 0,153 a 0,319. Hodnota  $R^2$  se rovnala 77,26 %.

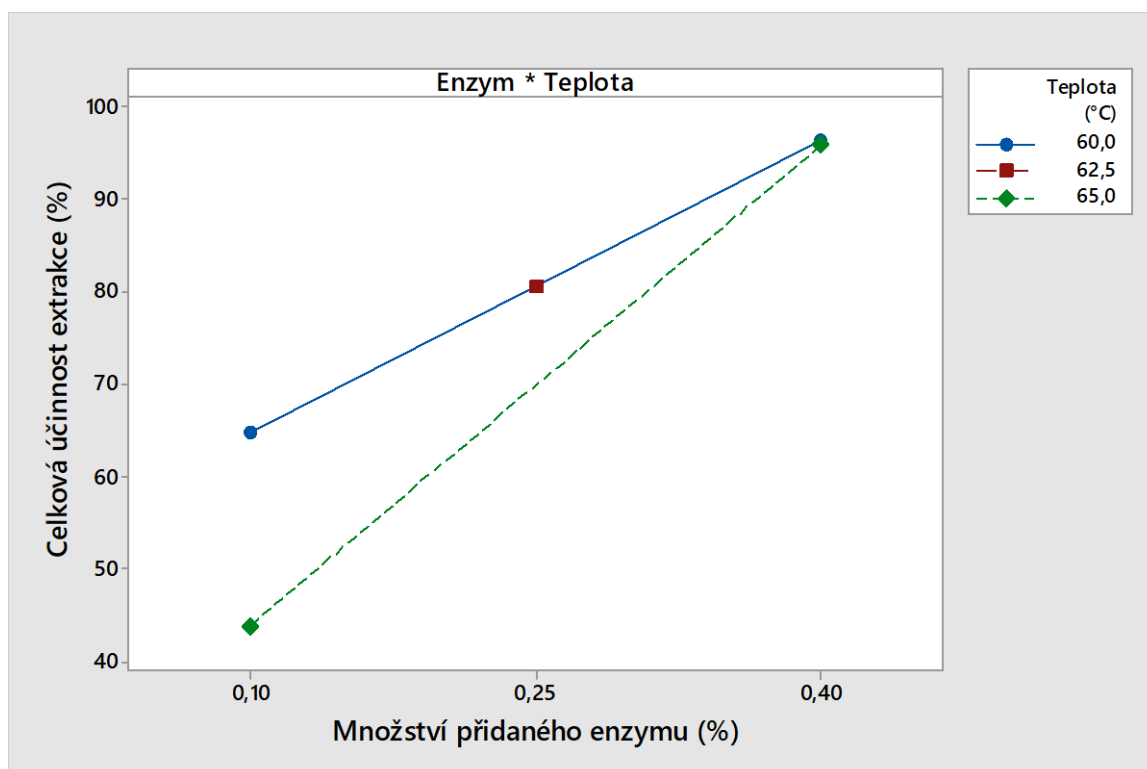
Výtěžek želatiny 3. frakce se pohyboval od 0,00 (0,4 % přidaného enzymu a teplota extrakce 60 °C i 65 °C) do 23,28 % (0,1 % přidaného enzymu a teplota extrakce 60 °C).

Rovnice **celkové účinnosti extrakce** byla:

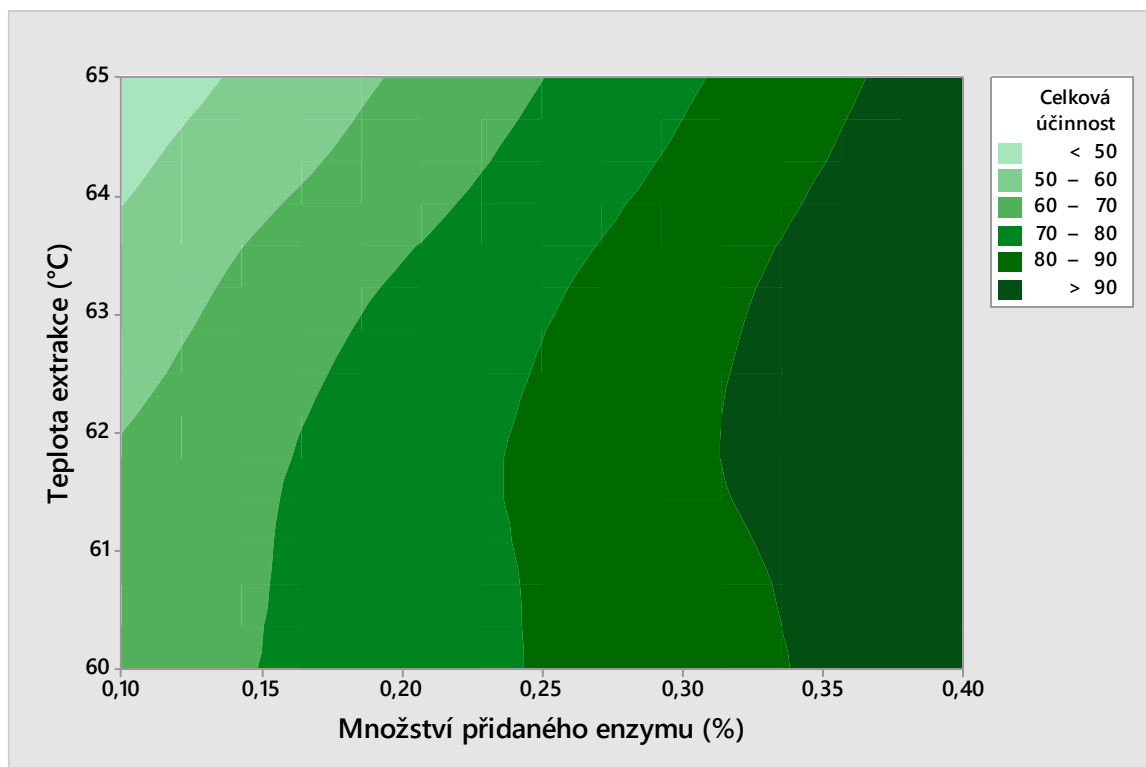
$$\text{Účinnost} = 177 + 139,5 \text{ Množství enzymu} - 2,16 \text{ Teplota extrakce}$$

Podle p-faktoru bylo množství přidaného enzymu významné, činilo 0,035, ale teplota extrakce byla nevýznamná. Hodnota byla 0,309. Hodnota  $R^2$  se rovnala 93,58 %.

Pomocí obrázku č. 19 popisující vliv faktoru A na celkovou účinnost extrakce při různé teplotě extrakce je možné konstatovat, že se zvyšujícím se množstvím přidaného enzymu roste i celková účinnost extrakce jak při teplotě 60 °C, tak při teplotě 65 °C. Nejvyššího výtěžku 96,45 % bylo dosaženo z experimentu č. 3 (množství přidaného enzymu 0,4 % a teplota extrakce 60 °C). Naopak nejnižšího výtěžku 43,80 % se získalo při přidavku enzymu 0,1 % a teplotě extrakce 65 °C.



Obrázek 19 Vliv faktoru A na celkovou účinnost extrakce při různé teplotě extrakce



Obrázek 20 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na celkovou účinnost extrakce

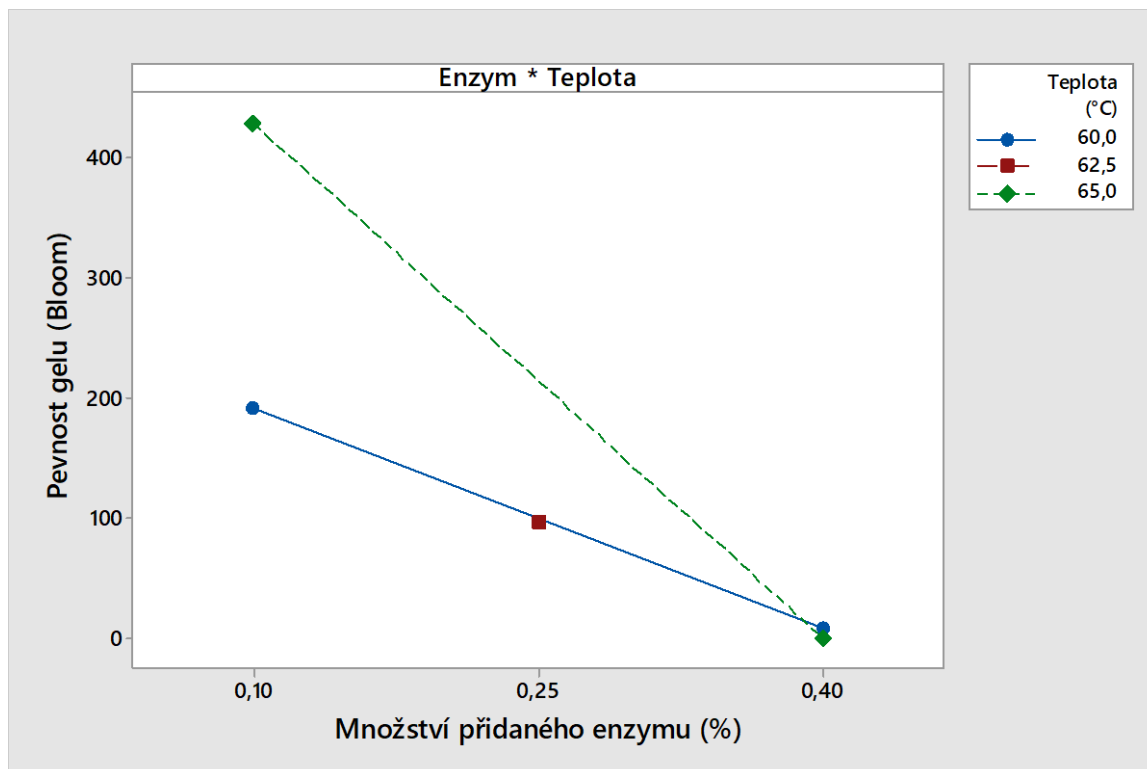
Obrázek č. 20 vykresluje vrstvený graf vlivů faktorů A a B na celkovou účinnost extrakce. Z obrázku je patrné, že při přidavku enzymu 0,1 % a teplotě extrakce 65 °C je celková výtěžnost nejmenší (méně než 50 %). Naopak největší celková účinnost je při přidavku enzymu 0,4 % a době extrakce 60 a 65 °C (více jak 90 %). Při teplotě 62,5 °C výtěžnost zase poklesne pod 90 %. Obecně lze říci, že se zvyšujícím se množstvím přidaného enzymu a s rostoucí teplotou extrakce roste i celková účinnost. Nejvyšší účinnost byla 96,45 % (0,4 % přidaného enzymu a teplota extrakce 60 °C) a nejnižší byla 43,80 % (0,1 % přidaného enzymu a teplota extrakce 65 °C).

### 6.2.2 Pevnost gelu 1. frakce želatiny

Rovnice **pevnosti gelu 1. frakce želatiny** byla:

$$Pevnost = -1044 - 1018 \text{ Množství enzymu} + 23,1 \text{ Teplota extrakce}$$

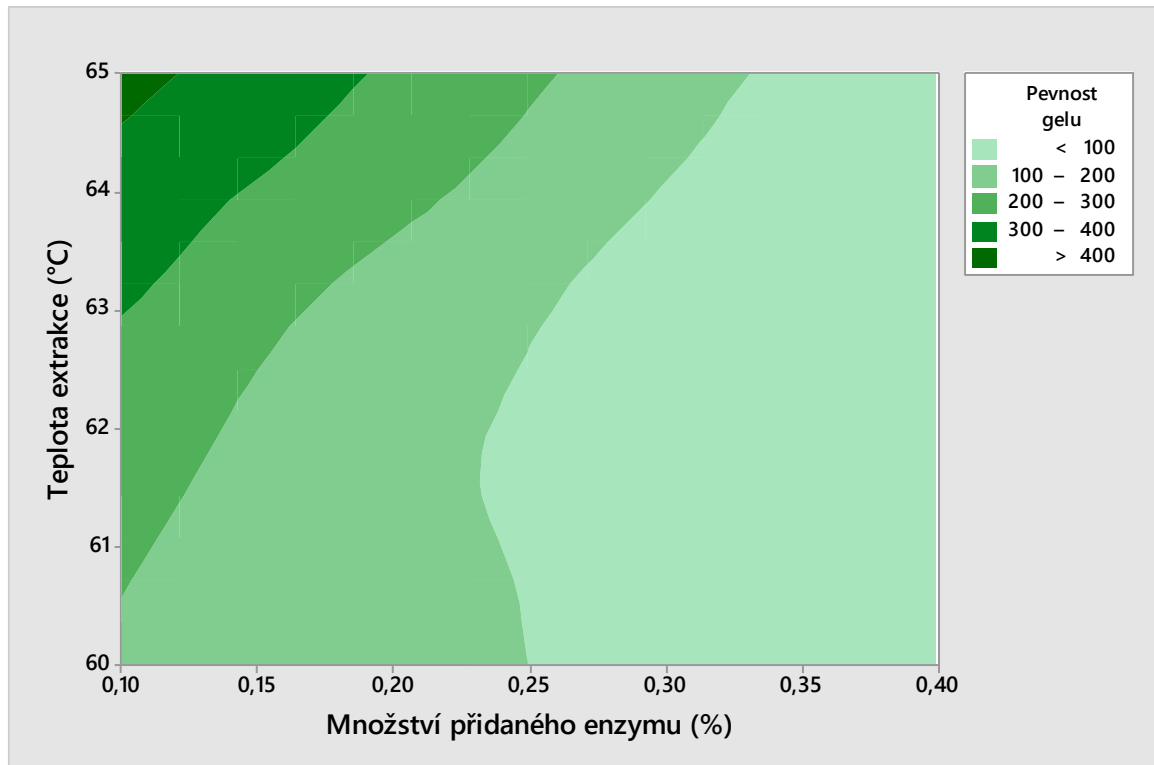
Podle p-faktoru bylo množství přidaného enzymu a teplota extrakce nevýznamné. Hodnoty byly 0,084 a 0,346. Hodnota  $R^2$  se rovnala 85,69 %.



Obrázek 21 Vliv faktoru A na pevnost gelu při různé teplotě extrakce

Z obrázku č. 21 popisující vliv faktoru A na pevnost gelu při různé teplotě extrakce lze vyčíst, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu lineárně klesá pevnost gelu vyextrahovaných želatin jak při teplotě 60 °C, tak při teplotě 65 °C. Nejvyšší pevnost gelu byla naměřena u experimentu č. 2, tedy při přidavku enzymu 0,1 % a teplotě extrakce 65 °C. Doba extrakce byla 2 h. Pevnost gelu má hodnotu  $429 \pm 8$  Bloom. Nejnižší pevnost gelu byla naměřena u experimentu č. 4, tedy při přidavku enzymu 0,4 % a teplotě extrakce 65 °C. Doba extrakce byla 2 h. Pevnost gelu má hodnotu  $2 \pm 0$  Bloom.

Na obrázku č. 22 je vrstvený graf vlivů faktoru A a B na pevnost gelu po optimalizaci zpracování. Z obrázku je patrné, že pro dosažení vysokých hodnot pevnosti gelu v Bloomech je nutné použít vyšší teplotu extrakce, ale nižší množství přidaného enzymu. Při 0,1 % přidaného enzymu Protamex a době extrakce 65 °C (experiment č. 2) se vyextrahuje želatina s pevností gelu více jak 400 Bloom, což řadí získanou želatinu do vysokých hodnot pevnosti gelu. Obecně lze říci, že s klesajícím množstvím přidaného enzymu a se zvyšující se teplotou extrakce roste i pevnost gelu, která byla v intervalu od  $2 \pm 0$  do  $429 \pm 8$  Bloom. Nejnižší hodnota odpovídá 0,4 % přidaného enzymu a teplotě extrakce 65 °C. Nejvyšší pevnost gelu odpovídá již zmiňovanému experimentu č. 2.



Obrázek 22 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na pevnost gelu

### 6.2.3 Obsah popela 1. frakce želatiny

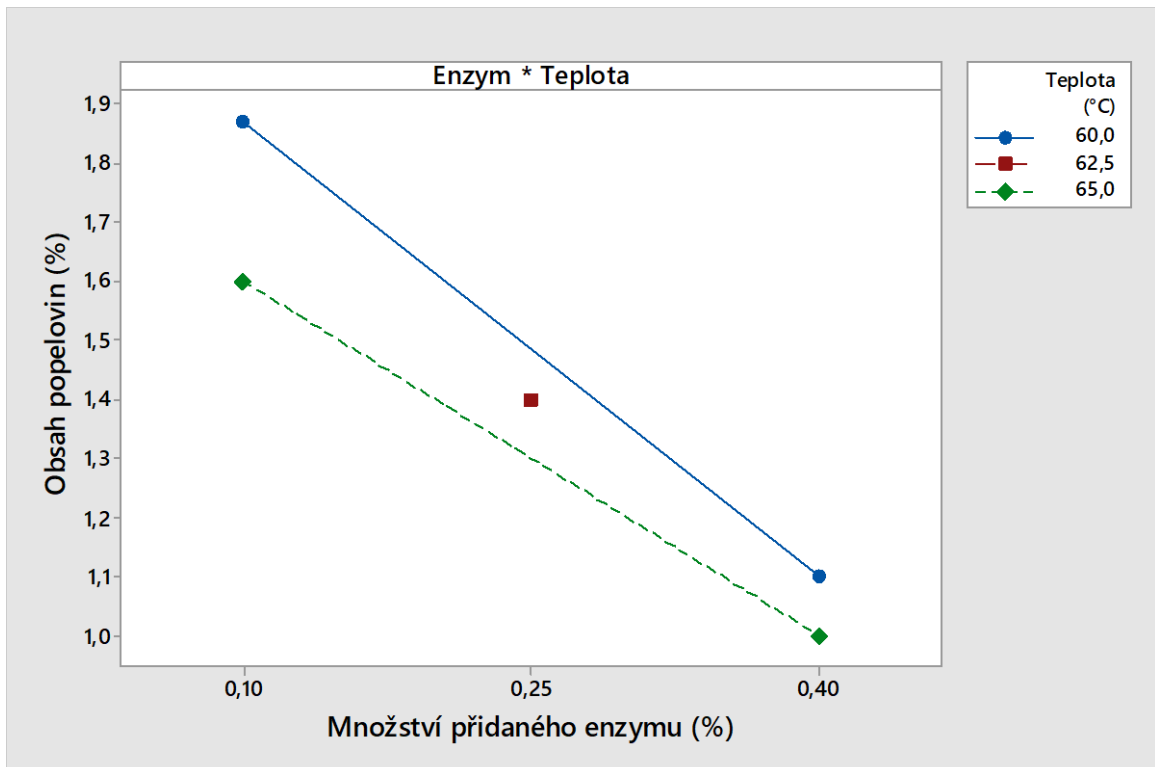
Rovnice obsahu popela 1. frakce želatiny byla:

$$\text{Popel} = -4,277 - 2,283 \text{ Množství enzymu} - 0,0370 \text{ Teplota extrakce}$$

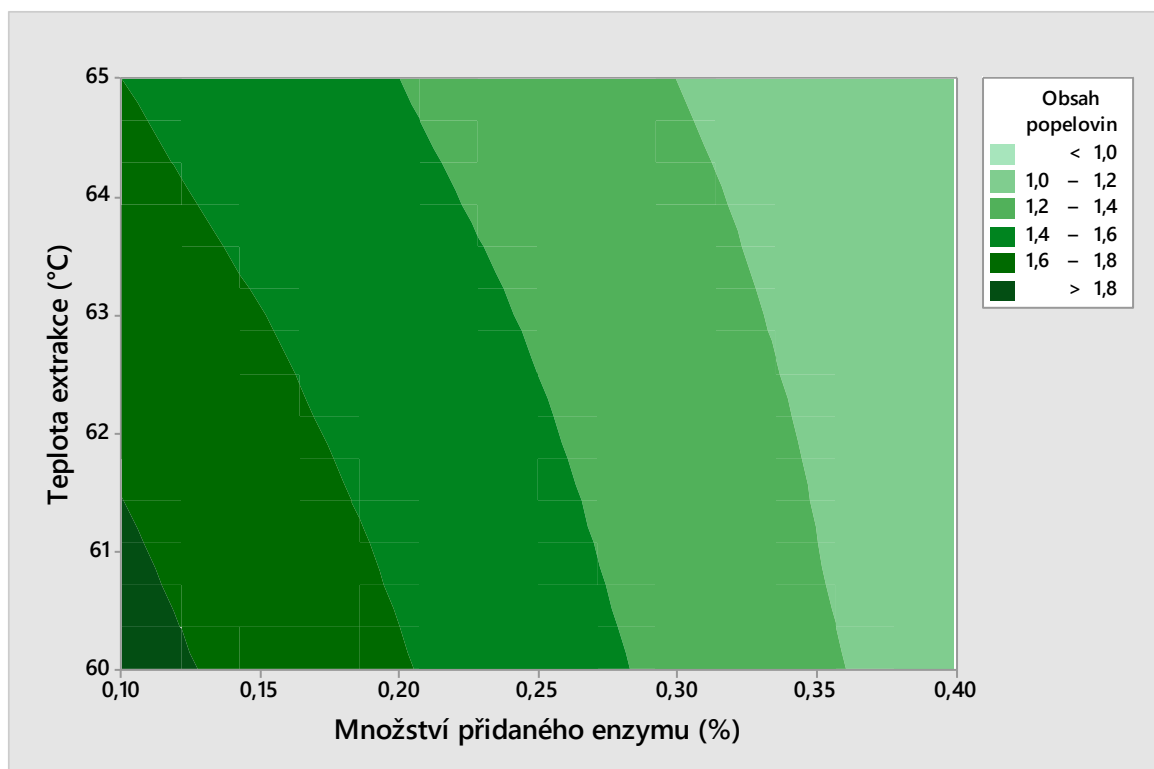
Podle p-faktoru bylo množství přidaného enzymu významné, teplota extrakce byla nevýznamná. Hodnoty byly 0,008 a 0,092. Hodnota  $R^2$  se rovnala 98,58 %.

Na obrázku č. 23 je popsán vliv faktoru A, množství přidaného enzymu, na obsah popelovin vzhledem k měnící se teplotě extrakce. Nejvyšší obsah popela  $1,87 \pm 0,04$  % obsahuje želatina získaná při množství přidaného enzymu 0,1 %, teplotě extrakce 60 °C a době extrakce 2 h (experiment č. 1). Nejnižší obsah popelovin  $1,0 \pm 0,3$  % byl zjištěn u experimentu č. 4 (faktor A 0,4 %, faktor B 65 °C a doba extrakce 2 h). Z grafu lze vyčíst, že s rostoucím množstvím přidaného enzymu při teplotě 60 °C klesal obsah popelovin ve vyextrahovaných želatinách. Stejně tvrzení platí i při teplotě 65 °C.





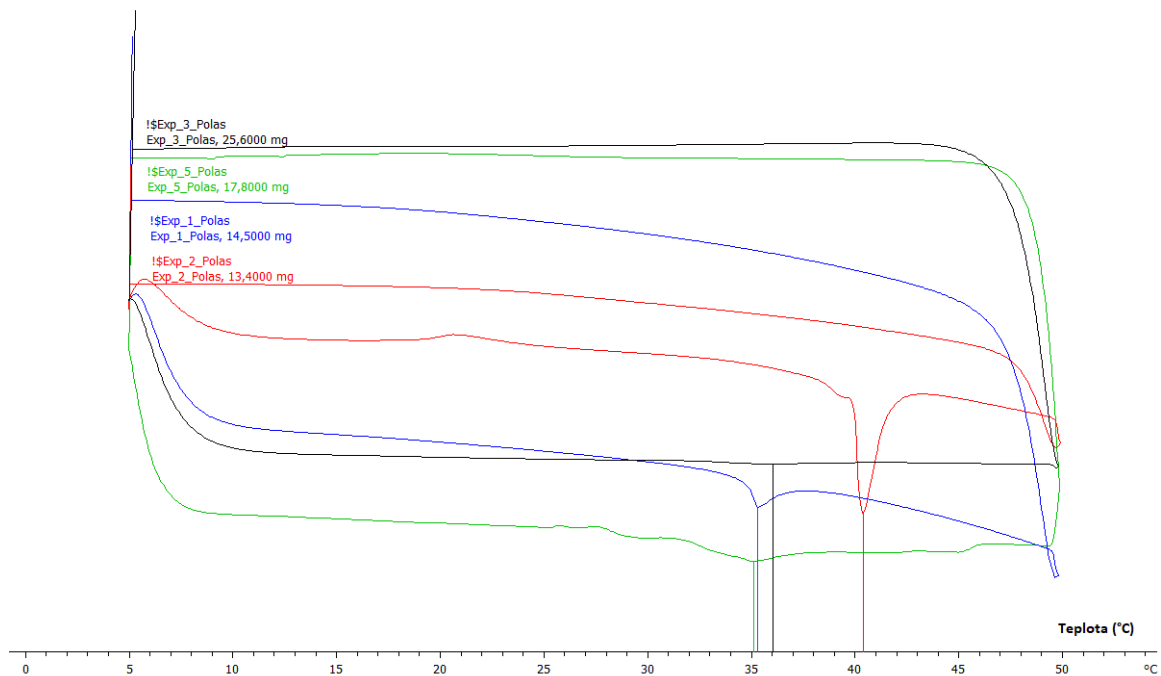
Obrázek 23 Vliv faktoru A na obsah popelovin při různé teplotě extrakce



Obrázek 24 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na obsah popelovin

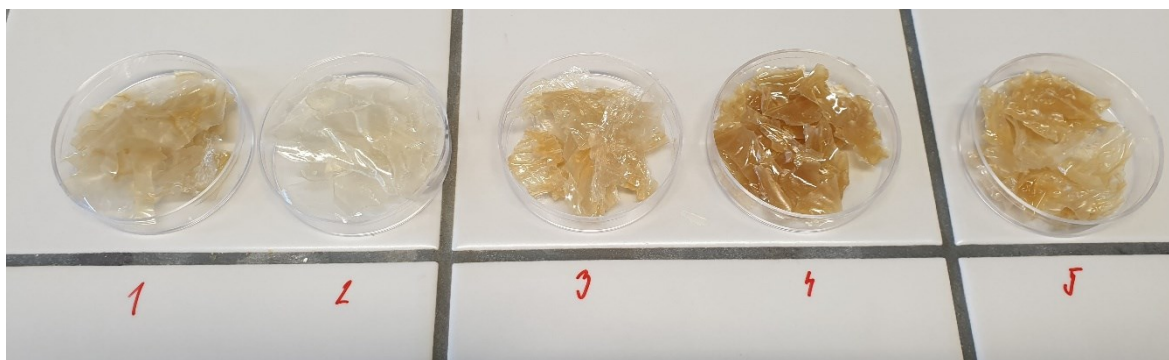
Na obrázku č. 24 je vrstvený graf vlivů faktoru A a B na obsah popelovin po optimalizaci zpracování. Z obrázku je patrné, že pro dosažení nízkých hodnot obsahu popelovin v % je nutné použít nižší/vyšší teplotu extrakce a vyšší množství přidaného enzymu. Při 0,4 % přidaného enzymu Protamex a době extrakce 60 a 65 °C je obsah popelovin v kolem 1,1 %. Obecně lze říci, že s klesajícím množstvím přidaného enzymu a se zvyšující se teplotou extrakce roste i obsah popelovin. Nejvyšší hodnota odpovídá 0,1 % přidaného enzymu a teplotě extrakce 60 °C, což odpovídá experimentu č. 1.

#### 6.2.4 Teplota tání želatinových gelů



Obrázek 25 DSC křivka určení teploty tání želatinových gelů po optimalizaci

Obrázek č. 25 popisuje DSC křivku určení teploty tání želatinových gelů po optimalizaci. Z grafu je patrné, že bylo provedeno stanovení teploty tání gelů pouze pro čtyři experimenty. U experimentu č. 4, kde byla pevnost gelu  $2 \pm 0$  Bloom, se nepovedlo teplotu tání gelu naměřit. Experiment č. 4 odpovídá 0,4 % enzymu, teplotě extrakce 65 °C a době extrakce 2 h. U metody s použitím 0,1 % enzymu a teplotou extrakce 60 °C bylo dosaženo teploty tání želatinového gelu kolem 35 °C. Velmi podobné teploty tání bylo dosaženo i s 0,25 % enzymu a teplotou extrakce 62,5 °C. Teplota tání 36 °C odpovídá 0,4 % přidaného enzymu, teplotě extrakce 60 °C a době extrakce 2 h. Nejvyšší teplota tání, zhruba 40,5 °C, odpovídá experimentu č. 2 (0,1 % enzymu a teplota extrakce 65 °C).



Obrázek 26 Porovnání vysušených želatin po optimalizaci

Na obrázku č. 26 jsou pozorovány rozdíly mezi vysušenými želatinami. Můžeme zde vidět želatiny po optimalizačních experimentech. Hodnoty čírosti byly od  $1,68 \pm 0,08$  % do  $2,49 \pm 0,05$  %. U vzorku č. 2 byla transparentnost  $1,68 \pm 0,08$  %, tedy nejmenší z naměřených hodnot. Naopak nejvyšší hodnota odpovídá vzorku č. 5. V prvním případě se jedná o experiment s 0,1 % enzymu a teplotou extrakce  $65$  °C. Druhá hodnota transmitance patří experimentu s 0,25 % enzymu a teplotou extrakce  $62,5$  °C.

Následně vždy byly vyextrahovány tzv. želatiny 2. a 3. (vedlejší) frakce. Jelikož byl u některých experimentů výtěžek velmi malý, popř. nulový, nepodařilo se provést výše uvedené hodnocení. Proto bylo provedeno smíchání veškerých želatin z 2. a 3. (vedlejší) frakce. Na vzniklém želatinovém roztoku se provedlo stanovení pevnosti gelu. Bylo zjištěno, že želatiny mají i v druhé a třetí extrakci určitou pevnost gelu, a to průměrně  $104 \pm 5$  Bloom. Obsah popelovin činil  $1,25 \pm 0,19$  %.

### 6.3 Navržení optimálních podmínek pro zpracování

Hlavním cílem diplomové práce bylo navrhnout optimální podmínky pro zpracování kuřecích žaludků po předchozím opracování výchozí suroviny enzymem. Účelem bylo získat želatinu v co nejlepší kvalitě. Kvalita želatiny je posuzována podle pevnosti gelu. Platí, že čím je pevnost gelu vyšší, tím je želatina kvalitnější. Dále závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech, které jsou ovlivněny způsobem zpracování a druhem použitého materiálu. Původně bylo provedeno 11 experimentů, které byly zpracovány, vyhodnoceny a z výsledků bylo navrženo celkem 5 optimalizovaných experimentů podle schématu  $2^2 + 1$  centrální (středový) experiment. Na základě měření byly vyhodnoceny výsledky a navrženy optimální podmínky pro zpracování kuřecích žaludků na želatinu. Vlivy, které ovlivňovaly celkovou výtěžnost a pevnost gelu, byly označeny jako *faktor A* (množství přidaného enzymu Protamex) a *faktor B* (teplota extrakce). Doba extrakce byla vždy konstantní.

Celková účinnost extrakce byla nejvyšší u experimentu s 0,4 % přidaného enzymu a teplotou extrakce 60 °C. Celková účinnost byla 96,45 % a procentuální výtěžek želatiny 1. hlavní frakce byl jeden z nejvyšších, činil 86,47 %. Želatina vyextrahována při výše uvedených podmínkách však tvořila pevnost gelu pouhých  $8 \pm 0$  Bloom. Želatina s tak nízkou pevností gelu by nenašla uplatnění v potravinářském průmyslu. Velmi podobných výsledků bylo dosaženo také při experimentu s 0,4 % enzymu a teplotou extrakce 65 °C. Nejlepší želatina byla vyextrahována při 0,1 % enzymu Protamex, teplotě extrakce 65 °C a době extrakce 2 h. Získaná želatina měla pevnost gelu  $429 \pm 8$  Bloom, obsah popelovin  $1,6 \pm 0,3$  %, ale naopak celková výtěžnost želatiny i výtěžek želatiny 1. hlavní frakce byl velmi malý, pouhých 43,80 %, resp. 23,84 %.

Nejideálnější podmínky na výrobu želatiny z kuřecích žaludků po přechodném opracování enzymem jsou u **experimentu č. 1** (0,1 % přidaného enzymu a teplota extrakce 60 °C), u **experimentu č. 2** (0,1 % přidaného enzymu a teplota extrakce 65 °C) a u **experimentu č. 5** (0,25 % přidaného enzymu a teplota extrakce 62,5 °C). Naměřené pevnosti gelu želatiny byly  $192 \pm 10$  Bloom,  $429 \pm 8$  Bloom a  $96 \pm 4$  Bloom. Obsah popelovin byl  $1,87 \pm 0,04$  %,  $1,6 \pm 0,3$  % a  $1,4 \pm 0,3$  %. Celková účinnost extrakce a výtěžek želatiny 1. frakce byl u prvního experimentu 64,85 % a 24,39 %, u druhého experimentu 43,80 % a 23,84 % a u pátého experimentu 80,62 % a 63,19 %. Želatina získaná za podmínek přídavku 0,1 % enzymu a teplotě extrakce 60 a 65 °C je kvalitnější, avšak celková účinnost je menší.

**Želatina nízké kvality** byla vyextrahována u experimentu č. 5, tedy 0,25 % přidaného enzymu, teplotě extrakce 62,5 °C a době extrakce 2 h. Želatina má pevnost gelu  $96 \pm 4$  Bloom, obsah popelovin  $1,4 \pm 0,3$  % a celkovou účinnost 80,62 % (z toho výtěžek želatiny 1. frakce byl 63,19 %). Viskozita želatiny činila  $2,149 \pm 0,014$  mPa.s a čírost roztoku  $2,49 \pm 0,05$  %. Hodnota pH želatinového roztoku byla 8,38. Teplota tání želatinové gelu byla zhruba 35 °C. Želatina by se mohla aplikovat v potravinářském průmyslu na výrobu karamelů, pusinek, lékořice, ale také marshmallow. [78]

**Želatina střední kvality.** Pro produkci středně kvalitní želatiny navrhuji použít extrakci s 0,1 % přidaného enzymu, teploty extrakce 60 °C a doby extrakce 2 h. Pevnost gelu byla stanovena na hodnotu  $192 \pm 10$  Bloom, obsah popelovin byl  $1,87 \pm 0,04$  %. Získaná želatina měla celkovou účinnost 64,85 % (z toho výtěžek želatiny 1. frakce 24,39 %). Viskozita želatiny činila  $2,89 \pm 0,02$  mPa.s a čírost roztoku  $2,1 \pm 0,6$  %. pH želatinového roztoku bylo 8,41. Teplota tání želatinové gelu, měřená v DSC přístroji, činila 35 °C. Želatina připravená za

výše uvedených podmínek by našla uplatnění v potravinářském průmyslu na výrobu želé, marshmallow, mléčných výrobků (deserty, jogurty, sýry), na aspiky a řadu dalších. Želatina by našla uplatnění i ve farmaceutickém průmyslu na výrobu tvrdých a měkkých želatino-vých tobolek. [78]

**Želatina vysoké kvality.** Pro extrakci vysoce kvalitní želatiny navrhuji použít experiment s 0,1 % enzymu, teploty extrakce 65 °C a doby extrakce 2 h. Získaná želatina měla celkovou účinnost 43,80 % (z toho výtěžek želatiny 1. frakce 23,84 %), pevnost gelu 429±8 Bloom a obsah popelovin 1,6±0,3 %. Viskozita želatiny činila 2,369±0,012 mPa.s a čírost roztoku 1,68±0,08 %. Hodnota pH želatinového roztoku byla 8,44. Zde byla zjištěna i nejvyšší tep-lo-ta tání, zhruba 40,5 °C. Vysoká hodnota teploty tání umožňuje aplikaci ve farmaceutickém a medicínském průmyslu. Želatina by našla uplatnění na výrobu tvrdých tobolek nebo jako náhrada plazmy.

#### 6.4 Zhodnocení výsledků pro praxi

V praxi se setkáváme s želatinou typu A a B. Želatina typu A je získána kyselým opracová-ním výchozí suroviny, naopak želatina typu B je vyextrahována při předchozím opracování vstupního materiálu zásadou. Diplomová práce se zabývá extrakcí želatiny po předchozím opracování enzymem, které je z hlediska úspory času a energie nejvhodnějším způsobem výroby želatiny. Želatina typu B se opracovává po dobu až 6 měsíců, želatina typu A po dobu 40 h, ale želatina extrahována pomocí enzymu se opracovává max. 20 h. [70, 72]

**Zpracovatelské podmínky.** V předložené diplomové práci byly zpracovatelské podmínky následovné. Nejprve probíhalo odstranění albuminů, globulinů a glutelinů pomocí vody, NaCl a NaOH. Následovalo odtučnění pomocí enzymu Lipolase a acetonu a dále extrakce želatiny. Práce byla zaměřena na extrakci želatiny po předchozím opracování enzymem a doba extrakce byla max 3 h. Duem a kol. prováděli extrakci želatiny z krocaních a kuřecích hlav, které byly odtučněny pomocí 0,015 M roztoku NaHCO<sub>3</sub> po dobu 3 h. Následně proběhlo odstranění nekolagenních bílkovin pomocí NaOH, které probíhalo po dobu 6 h. Dále proběhlo smíchání s 0,05 M kyselinou octovou a vzniklá směs se opracovávala po dobu max. 18 h. Extrakce proběhla ve dvou stupních. První extrakce proběhla při teplotě 50 °C po dobu 18 h a druhá při teplotě 60 °C po dobu 6 h [81]. Hlavní a nejdůležitější rozdíl byl při extrakci želatiny. Způsob extrakce pomocí enzymu je výhodnější nejen z ekonomického hlediska (úspora energie, času a maximální zhodnocení výchozí tkáně), ale také ze zdravotního hle-diska. Vyhneme se použití kyseliny octové, která spadá pod hořlavé a žíravé látky. [84]

**Výtěžek želatiny 1. hlavní frakce** byl v diplomové práci v intervalu do 23,84 do 88,69 %. Duem a kol. zpracovávali kuřecí a krocaní hlavy v kyselině octové a dosáhli výtěžku želatiny v intervalu od 21,1 do 38,0 %. Nižší výtěžek želatiny, tedy 21,1 %, byl naměřen u kuřecí želatiny extrahované při 60 °C a vyšší výtěžek želatiny, zhruba 38,0 %, byl naměřen u krocaní želatiny vyextrahované při 50 °C. V obou případech bylo dosaženo nižšího výtěžku želatiny v porovnání s předloženou diplomovou prací. [81]

**Pevnost gelu** neboli Bloom hodnota se v této práci zaměřené na extrakci želatiny z kuřecích žaludků pohybovala v intervalu od 2±0 do 429±8 Bloom. Duem a kol. extrahovali želatinu z krocaních a kuřecích hlav po předchozím opračování v kyselině octové. Zjistili pevnost gelu 367 Bloom pro krocaní želatiny extrahované při teplotě 50 °C a pevnost gelu 248 Bloom pro kuřecí hlavy extrahované při teplotě extrakce 60 °C. Obě pevnosti gelu želatin z vyextrahovaných kuřecích a krocaních hlav se pohybují v intervalu od 2±0 do 429±8 Bloom. [81]

**Obsah popelovin.** V diplomové práci se obsah popelovin pohyboval v intervalu od 1,0±0,3 do 1,87±0,04 %. Duem a kol. zjistili obsah popelovin v krocaních a kuřecích želatinách vyextrahovaných při 50 a 60 °C pouhých 0,03 až 0,06 %. Dosáhli tedy zisku želatiny s menším obsahem popelovin nežli bylo naměřeno v diplomové práci. [81]

## ZÁVĚR

Diplomová práce s názvem *Příprava bílkovinných produktů z drůbežích tkání bohatých na kolagen* je rozdělena do dvou částí, část teoretická a praktická.

Teoretická část se zaměřuje na vývoj chovu drůbeže v České republice, složení masa drůbeže a vlastní porážku drůbeže. Dále jsou zde charakterizovány pevné a kapalné vedlejší živočišné produkty vznikající na jatkách a jejich možnosti využití v energetice, kompostování a na výrobu želatiny. Poslední část je věnována kolagenům, hydrolyzátům a želatinám. Popisuje vlastnosti želatiny, výrobu a její využití v praxi, kdy největší zastoupení má želatina v potravinářském průmyslu na výrobu masných výrobků, mléčných produktů, cukrovinek, kde funguje především jako pojivo, stabilizátor a zahušťovadlo.

Experimentální část se zabývá možností extrakce hydrolyzátů/želatin z kuřecích žaludků po předchozím opracování proteolytickým enzymem Protamex. Hlavním cílem bylo navrhnout technologické podmínky pro zpracování žaludků na kolagenní produkty s maximální výtěžností. Byly sledovány faktory A, B a C na celkovou účinnost a kvalitu vyextrahovaných hydrolyzátů a želatin. Faktor A představuje množství přidaného enzymu (0,3, 0,6 a 0,9 %), faktor B teplotu extrakce (63, 66 a 69 °C) a faktor C dobu extrakce (1, 2 a 3 h).

Metodika práce byla založena na úplném faktorovém pokusu  $2^3 + 2$  centrální (středové) experimenty + 1 slepý pokus a optimalizačních faktorových pokusech  $2^2 + 1$  centrální experiment. Postup práce byl založený na rozemletí a zhomogenizování surových kuřecích žaludků, ze kterých byly odstraněny nekolagenní bílkoviny pomocí NaCl a NaOH a tuk pomocí enzymu Lipolase a acetonu. Následně se postup práce skládal z neutrálního opracování výchozí suroviny enzymem Protamex, z extrakce v horké vodě a dále ze sušení získané suroviny. Na vyextrahovaných hydrolyzátech/želatinách byly provedeny metody analýzy obsahu sušiny, popelovin, pevnosti gelu, viskozity, čirosti a teploty tání želatinového gelu.

V původních 11 základních experimentech byla **celková účinnost extrakce** vyextrahovaných hydrolyzátů/želatin v intervalu od 38,80 % (0,0 % přidaného enzymu Protamex, teplota extrakce 66 °C a doba extrakce 2 h) do 95,90 % (0,6 % přidaného enzymu, teplota 66 °C a doba extrakce 2 h). **Pevnost gelu** u vzorků byla v intervalu od 8,7±0,6 Bloom (0,3 % přidaného enzymu, teplota extrakce 69 °C a doba extrakce 1 h) do 155±5 Bloom (0,9 % enzymu, teplota extrakce 69 °C a doba extrakce 3 h). **Obsah popelovin** se pohyboval v rozmezí od 1,71±0,16 % (0,9 % přidaného enzymu Protamex, teplota 69 °C a doba extrakce 3 h) do 8,8±,4 %. (0,6 % enzymu, teplota 66 °C a doba extrakce 2 h).

V optimalizačních experimentech se pracovalo podle schématu  $2^2 + 1$  centrální experiment. Byly sledovány faktory A a B na celkovou účinnost a kvalitu vyextrahovaných želatin. Faktor A představuje množství přidaného enzymu (0,1, 0,25 a 0,4 %) a faktor B teplotu extrakce (60, 62,5 a 65 °C). Doba extrakce byla konstantní, činila 2 h. Postup práce a metody analýzy vyextrahovaných želatin byly stejné jako u původních 11 experimentů. **Celková účinnost extrakce** byla od 43,83 % (teplota extrakce 65 °C a 0,1 % přidaného enzymu) do 96,45 % (0,4 % přidaného enzymu a teplota extrakce 60 °C). Nejvyšší hodnota **pevnosti gelu**, zhruba  $429 \pm 8$  Bloom, byla naměřena s přidavkem enzymu 0,1 % a teplotou extrakce 65 °C. Naopak nejnižší hodnota,  $2 \pm 0$  Bloom, byla zjištěna s přidavkem enzymu 0,4 % a teplotou extrakce 65 °C. **Obsah popelovin** se u připravených želatin pohyboval od  $1,0 \pm 0,3$  % (0,4 % enzymu a teplota extrakce 65 °C) do  $1,87 \pm 0,04$  % (0,1 % enzymu a teplota extrakce 60 °C).

Na základě srovnání účinnosti extrakce, pevnosti gelu a obsahu popelovin je pro výrobu **farmaceutické želatiny** z kuřecích žaludků nejvhodnější použít 0,1 % enzymu, teplotu extrakce 65 °C a dobu extrakce 2 h. Získaná želatina měla účinnost 1. frakce 23,84 %, pevnost gelu  $429 \pm 8$  Bloom a obsah popelovin byl  $1,6 \pm 0,3$  %. Želatina by našla uplatnění na výrobu tvrdých tobolek a také jako náhrada plazmy. Anebo použít 0,1 % přidaného enzymu, teplotu extrakce 60 °C a dobu extrakce 2 h. Pevnost gelu byla stanovena na hodnotu  $192 \pm 10$  Bloom, obsah popelovin byl  $1,87 \pm 0,04$  %. Získaná želatina měla výtěžek 1. frakce 24,39 %. Želatina by byla vhodná na výrobu tvrdých i měkkých želatinových tobolek.

Na základě srovnání účinnosti extrakce, pevnosti gelu a obsahu popelovin je pro výrobu **potravinářské, jedlé, želatiny** nejoptimálnější použít 0,25 % enzymu, s teplotou extrakce 62,5 °C a s dobou extrakce 2 h. Získaná želatina měla výtěžek 1. frakce 63,19 %. Pevnost gelu byla  $96 \pm 4$  Bloom a obsah popelovin činil  $1,4 \pm 0,3$  %. Takto připravená želatina by našla uplatnění na výrobu pusinek, karamelů, lékořice a také marshmallow. A dále želatina vyextrahována s 0,1 % přidaného enzymu, teplotě extrakce 60 °C a době extrakce 2 h. Želatina má  $192 \pm 10$  Bloom, obsah popelovin  $1,87 \pm 0,04$  % a účinnost 1. frakce želatin 24,39 %. Želatina by se mohla aplikovat v potravinářském průmyslu na výrobu želé, marshmallow, na aspiky, na mléčné výrobky a na řadu dalších.

V diplomové práci bylo prokázáno, že vhodnou volbou technologických podmínek lze z kuřecích žaludků, jakožto vedlejších živočišných produktů (odpadů) z drůbežáren, získat vysoce kvalitní želatinu, které naleznou široké uplatnění jak v potravinářském, tak farmaceutickém průmyslu.



**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Holoubek J., Ledvinka Z., Skřivan M., Tůmová E., *Základy chovu drůbeže*, Praha, 2. vydání, Česká zemědělská univerzita, 2007, st. 113, ISBN 978-80-213-0660-8
- [2] Roubalová M., *Situační a výhledová zpráva drůbeže a vejce*, Praha, Ministerstvo zemědělství ČR, 2009, ISBN 9788070848968
- [3] Tůmová E., Skřivan M., *Význam chovu drůbeže u nás a ve světě*, [Online], [Citace 18. 1. 2019], [http://www.agris.cz/Content/files/main\\_files/63/141635/tumova.pdf](http://www.agris.cz/Content/files/main_files/63/141635/tumova.pdf)
- [4] Český statistický úřad, *Výkazy, Sběr dat* [Online], [Citace 21. 2. 2019] <https://www.czso.cz/csu/vykazy/vykazy-sber-dat>
- [5] Barbut S., *The science of poultry and meat processing*, Guelph, University of Guelph, 2015, ISBN 978-0-88955-626-3
- [6] Dikeman M., Devine C., *Encyclopedia of meat sciences*, San Diego, Academic Press, 2014, ISBN 978-0-12-384734-8
- [7] Kadlec P., *Technologie potravin I.*, Praha, Vysoká škola chemicko-technologická, 2007, st. 300, ISBN 8070805099
- [8] Toldra F., *Chemistry and biochemistry, In handbook of food science technology and engineering*, USA, 1st edition, Press, 2006, ISBN 1574445510
- [9] Šatava M., *Chov drůbeže: velká zootechnika*, Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 1984, st. 505
- [10] Kříž L., *Základy výživy a technika krmení drůbeže*, Praha, Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1997, ISBN 807105142X
- [11] Kodeš A., *Základy moderní výživy drůbeže*, Praha, Česká zemědělská univerzita, 2003, st. 137, ISBN 80-213-1077-4
- [12] Alvarado Ch. Z., Ownes C. M., *Chemistry and biochemistry, In handbook of food science technology and engineering*, USA, 1st edition, Press, 2006, ISBN 1574445510
- [13] Zelenka J., Heger J., Zeman L., *Doporučený obsah živin v krmných směsích a výživná hodnota krmiv pro drůbež*, Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, ISBN 978-80-7375-091-6

- [14] Zelenka J., *Výživa a krmění drůbeže*, Olomouc, Agriprint, 2014, st. 160, ISBN 978-80-87091-53-1
- [15] Výmola J., *Drůbež na farmách a v drobném chovu*, Jílové u Prahy, Apros, 1996, ISBN 5611-564-645-15
- [16] Veselý Z., *Výživa a krmění hospodářských zvířat*, Praha, Profi Press, 2006, st. 360, ISBN 80-86726-17-7
- [17] Steinhauser L., *Hygiena a technologie masa*, Brno, Last, 1995, st. 643, ISBN 80-900260-4-4
- [18] Pipek P., *Technologie masa I*, Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 3. vydání, 1995, st. 334, ISBN 8070801743
- [19] Staruch L., Pipek P., Nutriční postavení masa ve výživě IV., *Maso*, 2009, vol. 4, pp. 30-35
- [20] Čermák B., *Základy výživy a krmění hospodářských zvířat*, České Budějovice, Jihočeská univerzita, 2000, st. 212
- [21] MVDr. Jaroslava Pavlíčková, *Bourání masa*, Prezentace, Mendelova Univerzita, Brno, 24.4.2014, Název projektu: Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace
- [22] Pipek P., Jirotková D., *Hodnocení jakosti, zpracování a zbožíznalství živočišných produktů: část III.*, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2001, ISBN 80-7040-490-6
- [23] Case L. A., Miller S. P., Wood B. J., Factors affecting breast meat yield in turkey, *World poultry science journal*, 2010, vol. 66, no. 2, pp. 189-202, ISSN 0043-9339
- [24] Ledvinka Z., Zita L., Tůmová E., *Vybrané kapitoly z chovu drůbeže*, Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, 2009, ISBN 978-80-213-192-9
- [25] Rafieian F., Keramat J., Shahedi M., Physicochemical properties of gelatin extracted from chicken deboner residue, *LWT – Food science and technology*, 2015, vol. 64. no. 2, pp. 1370-1375
- [26] Simeonovová J., Míková K., Ingr I., Kubišová S., *Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů*, Brno, Mendelova univerzita, 2013, st. 241, ISBN 978-80-7375-891-2

- [27] Matoušek V., *Speciální zootechnika*, České Budějovice, JU ZF České Budějovice, 1996, ISBN 80-7040-158-3
- [28] Láta J., *Technologie masa*, Praha, 2. vydání, Nakladatelství technické literatury, 1984, st. 662
- [29] Skřivan M., *Drůbežnictví 2000*, Praha, Agrospoj, 2000, st. 203
- [30] Duben J., Státní veterinární správa, Agris [Online] 2000, [Citace 15. 1. 2019] <http://www.agris.cz/zemedelstvi>
- [31] Borowski S., Kubacki P., Co-digestion of pig slaughterhouse waste with saweage sludge, *Waste management*, 2015, vol. 40, pp. 119-126
- [32] Mrázek P., Mokrejš P., Gál R., *Vedlejší produkty z porážky drůbeže jako zdroj hodnotných bílkovin*, Prezentace, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, [Citace 12. 4. 2019]
- [33] Sarbon N. M., Badii F., Howell N. K., Preparation and characterization of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin, *Food hydrocolloids*, 2013, vol. 30, pp. 143-151
- [34] Marvan F., *Morfologie hospodářských zvířat*, Praha, Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992, ISBN 80-209-0226-0
- [35] Food and agriculture organization of the United Nations, FAOSTAT, [Online] 2016, [Citace 15. 1. 2019], <http://www.fao.org/home/faostat>
- [36] Hsieh Y. H. P., Ofori J. A., Food-grade proteins from animal by-products, *Handbook of analysis of edible animal by-products*, Press, 2011, ISBN 9781439803608
- [37] Kosseva M. R., *Polutry wastes – Food industry wastes*, Amsterdam, Elsevier, 2013, ISBN 978-0-12-391921-2
- [38] Lee J. H., Lee J., Song K. B., Development of a chicken feet protein film containing essential oils, *Food hydrocolloids*, 2015, vol. 46, pp. 208-215
- [39] Khalid A., Arshad M., Anjum M., Manmood T., Dawson L., The anaerobic digestion of solid organic waste, *Waste management*, 2011, vol. 31, no. 8, pp. 1737-1744
- [40] Cuetos M. J., Gómez X., Otero M., Morán A., Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste at laboratory scale, *Biochemical engineering journal*, 2008, vol. 40, no. 1, pp. 99-106

- [41] Salminen E., Rintala J., Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste - a review, *Bioresource Technology*, 2002, vol. 83, no. 1, pp. 13-26
- [42] Coutand M., Cyr M., Deydier E., Guilet R., Clastres P., Characteristics of industrial and laboratory meat and bone meal ashes and their potential applications, *Journal of hazardous materials*, 2008, vol. 150, pp. 522-532
- [43] Ademirbas A., Biofuels securing the planet's future energy needs, *Energy conversion and management*, 2009, vol. 50., pp. 2239-2249
- [44] Alibardi L., Cossu R., Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products, *International journal of hydrogen energy*, 2016, vol. 47, pp. 69-77
- [45] Mokrejš P., Gál R., Janáčková D., Plšková M., Zachatová M., Chicken paws by-products as an alternative source of proteins, *Oriental journal of chemistry*, 2017, vol. 33, no. 5, pp. 2209-2216, ISSN 0970-020
- [46] Peterková P., Lapčík L., *Kolagen – vlastnosti, modifikace a aplikace*, Chemické listy, 2000, vol. 94, pp. 371-379
- [47] Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W., *Harperova biochemie*, Jinočany, Nakladatelství a vydavatelství HaH, 2002, ISBN 80-7319-013-3
- [48] Velíšek J., *Chemie potravin I.*, Tábor, OSSIS, 1999, ISBN 80-902391-3-7
- [49] Navrátil L., Rosina J., *Medicínská biofyzika*, Praha 7, Grada Publishing, a. s., 2005, pp. 524, ISBN 978-80-247-1152-2
- [50] Fratzl P., *Collagen: structure and mechanics*, New York, Springer, 2008, no. 506, ISBN 978-0-387-73905-2
- [51] Wagermaier W., Fratzl P., Collagen, *Polymer science: A comprehensive reference*, 2012, vol. 35, DOI 10.1016/BP78-0-444-53349-4.00247-8
- [52] Lodish H., Berk A., Zipursky L., *Molecular cell biology*, New York, Freeman, 2000, pp. 1084, ISBN 07-167-3136-3
- [53] Hoza I., Kramářová D., *Potravinářská biochemie I.*, Zlín, 1. vydání, UTB ve Zlíně, 2005, st. 168, ISBN 80-7318-295-5
- [54] Konrádová V., Uhlík J., Vajner L., *Funkční histologie*, Jinočany, Vyšehradská, 2000, st. 291, ISBN 80-86022-8-3

- [55] Ottani V., Raspanti M., Ruggeri A., *Collagen structure and functional implications*, PubMed, 2001, vol. 32, no. 3, pp. 251-260
- [56] Konvičková S., Valenta J., *Biomechanika člověka: svalově kosterní systém*, Praha, 2. vydání, Česká technika – nakladatelství ČVUT, 2006, st. 177, ISBN 80-010-3424-0
- [57] Batovská L., Šišková M., *Co je co v povrchové a koloidní chemii*, Vydavatelství VŠCH Praha, [Online] 2005, [Citace 22. 2. 2019] [http://147.33.74.135/knihy/uid\\_es-001/ebook.help.htm](http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/ebook.help.htm)
- [58] Blažej A., Galatín A., *Technologie kůže a kožešin*, Praha 1, 1. vydání, Nakladatelství technické literatury, 1984, st. 456, ISBN 04-817-84
- [59] Janura M., *Úvod do biomechaniky pohybového systému člověka*, Olomouc, Univerzita Palackého, 2003, st. 84, ISBN 80-244-0644-6
- [60] Opletal L., *Přírodní látky a jejich biologická aditiva*, Karolinum, 2010, ISBN 978-80-246-1884-5
- [61] Mrázek P., Mokrejš P., Gál R., Krejčí O., *Preparation of collagen concentrate from chicken feet*, Waste forum, 2018, no. 4, pp. 407-571
- [62] Al-Mousilly M. M., Alajeli I. S., Abdulrahman L. K., Study the healing effect of collagen hydrolysate for the treatment of bone tail fracture in mice, *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 2014, vol. 6, no. 6, pp. 67-71, ISSN 0975-1491
- [63] Dybka K., Walczak P., Collagen hydrolysates as a new diet supplement, *Food chemistry and biotechnology*, 2009, vol. 73. no. 1058, pp. 83-91
- [64] Schieber R., Gareis H., *Gelatine handbook*, Anglie, 1st edition, Wiley-VCH, 2007, pp. 347, ISBN 978-3-527-31548-2
- [65] McCarthy A., O'Callaghan Y., O'Beiw N., Protein hydrolysates from agricultural crops – bioactivity and potential for functional food development, *Agriculture*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 112-130, ISSN 2077-0472
- [66] Smíšek J., *Výroba cukrovinek a trvanlivého pečiva, zaměření pro obor výroba cukrovinek*, Praha 1, 1. vydání, Praha: Čokoládovky o.p., 1984, st. 223, učební obor 06-94-2

- [67] Vrbová T., *Víme, co jíme? Aneb Průvodce „Ěčky“ v potravinách*, EcoHouse, 2001, st. 268, ISBN 80-238-7504-3
- [68] Keenan T.R., *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology: Gelatin in J. Kroschwitz*, New York, Wiley, 5th edition, Kirk-Orhmer, 2007, pp. 1084, ISBN 978-0-471-48496-7
- [69] Mokrejš P., Gál R., Pavlačková J., Janáčková D., Mrázek P., *Využití vedlejších kolagenních produktů z porážky drůbeže k přípravě želatin a hydrolyzátů*, Chemické listy, no. 113, pp. 121-125, 2019
- [70] Kodet J., Šotolová I., Štěrbá S., *Plnicí, zahušťovací, gelotvorné a stabilizační látky pro potraviny*, Praha, 1. vydání, Praha: Středisko potravinářských informací, 1993, st. 236, ISBN 80-85120-32-1
- [71] Hrdová L., *Želatina – vlastnosti, metody charakterizace a její použití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu*, Bakalářská práce, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, 2008
- [72] Hages pro Českou republiku, *Potravinářské ingredience, Želatina*, [Online] 2005, [Citace 23. 3. 2019] <https://www.hages.cz/>
- [73] Buschow J. K. H., Cahn R. W., Flemings M. C., Ilshner B., Kramer E. J., *Encyclopedia of materials – Science and technology*, Pergamont, 2001, pp. 10388, ISBN 978-0-08-043152-9
- [74] Mládek M., *Zpracování odpadů kožedělného průmyslu*, Praha 1, 1. vydání, Nakladatelství technické literatury, 1971, st. 324, ISBN 04-837-71
- [75] Burey P., Bhandari B. R., Howes T., Gidley M. J., Hydrocolloid gel particles: Formation, characterization and application, *Critical reviews in food science and nutrition*, 2008, vol. 48, no. 5, pp. 361-377
- [76] Mariod A. A., Adam H. F., Gelatin, source, extraction and industrial application, *Acta scientiarum polonorum, technologia alimentaria*, 2013, vol. 12, no. 2, pp. 135-147, ISSN 1889-959
- [77] Phillips G. O., Williams P. A., *Handbook of hydrocolloids*, Woodhead publishing, 2nd edition, 2009, ISBN 978-1-84569-414-2

- [78] Rousselot Gelatine, [Online] 2019, [Citace 30. 4. 2019] <https://www.rousselot.com/products-solutions/rousselot-gelatin>
- [79] Beneš M., Likeš J., *Faktorové experimenty v průmyslovém výzkumu*, 1957, vol. 2, no. 1, pp. 18-30
- [80] Gelatin manufacturers institute of Amerika, [Online] 2013, [Citace 2. 4. 2019] <http://www.gelatin-gmia.com/>
- [81] Du L., Khiari Z., Pietrasik Z., Betti M., Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads, *Poultry Science*, 2013, vol. 92, no. 9, pp. 2463-2474, ISSN 1525-3171
- [82] Almeida P. F., Lannes S.C.S., Extraction and physicochemical characterization of gelatin from chicken by-product, *Journal of food process engineering*, 2013, vol. 36, no. 6, pp. 824-833
- [83] Huda N., Nik Aisyah N. M., Seow E. K., Normawati M. N., Preliminary study on physicochemical properties of duck feet collagen, *International journal of poultry science*, 2013, vol. 12, no. 10, pp. 615-621, ISSN 1682-8356
- [84] Bezpečnostní list podle Nařízení (ES) č. 1907/2006/EC (REACH), v platném znění, Kyselina octová ledová 99,8 %, PENTA s.r.o., datum vydání 23. 10. 2010, datum revize 25. 8. 2017, [Citace 2. 4. 2019], [https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/bezpecnostni-list\\_535.pdf](https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/bezpecnostni-list_535.pdf)

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AMK	Aminokyselina/aminokyseliny
ATP	Adenosintrifosfát
ADP	Adenosindifosfát
AMP	Adenosinmonofosfát
GME	Gelatin Manufacturers of Europe
NaHCO <sub>3</sub>	Hydrogenuhličitan sodný
NaOH	Hydroxid sodný
Gly	Glycin
-NH <sub>2</sub> -	Primární aminoskupina
-NH-	Sekundární aminoskupina
PET	Polyethylentereftalát
PA	Polyamid
PE	Polyethylen
HCl	Chlorid sodný
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetr
NaCl	Chlorid sodný



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Produkce jatečné drůbeže v ČR v letech 1993 až 2018 [4].....	13
Obrázek 2 Surovina v průběhu přípravy čistého kolagenu.....	49
Obrázek 3 Extrakce želatiny u optimalizačního procesu.....	51
Obrázek 4 Vliv interakcí sledovaných faktorů na účinnost 1. extrakce .....	55
Obrázek 5 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na účinnost 1. extrakce.....	56
Obrázek 6 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na účinnost 1. extrakce.....	56
Obrázek 7 Vliv interakcí sledovaných faktorů na celkovou účinnost extrakce.....	57
Obrázek 8 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na celkovou účinnost extrakce .....	58
Obrázek 9 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na celkovou účinnost extrakce .....	59
Obrázek 10 Vliv interakcí sledovaných faktorů na pevnost gelu .....	60
Obrázek 11 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na pevnost gelu.....	60
Obrázek 12 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na pevnost gelu.....	61
Obrázek 13 Vliv interakcí sledovaných faktorů na obsah popelovin .....	62
Obrázek 14 Vrstvený graf vlivů faktorů A a B na obsah popelovin.....	63
Obrázek 15 Vrstvený graf vlivů faktorů A a C na obsah popelovin.....	64
Obrázek 16 Porovnání vysušených želatin/hydrolyzátů pro hlavní (primární) experimenty .....	64
Obrázek 17 Vliv faktoru A na účinnost 1. extrakce při různé teplotě extrakce.....	67
Obrázek 18 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na účinnost 1. extrakce.....	68
Obrázek 19 Vliv faktoru A na celkovou účinnost extrakce při různé teplotě extrakce .....	69
Obrázek 20 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na celkovou účinnost extrakce .....	70
Obrázek 21 Vliv faktoru A na pevnost gelu při různé teplotě extrakce .....	71
Obrázek 22 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na pevnost gelu.....	72
Obrázek 23 Vliv faktoru A na obsah popelovin při různé teplotě extrakce .....	73
Obrázek 24 Vrstvený graf vlivů faktoru A a B na obsah popelovin.....	73
Obrázek 25 DSC křivka určení teploty tání želatinových gelů po optimalizaci.....	74
Obrázek 26 Porovnání vysušených želatin po optimalizaci .....	75

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 Hodnoty jatečné výtěžnosti, živé hmotnosti, množství tuku a požitelných orgánů [26] .....	18
Tabulka 2 Obsah AMK v g ve 100 g želatině typu A a B [71] .....	33
Tabulka 3 Složení vstupní suroviny v sušině.....	42
Tabulka 4 Navážky želatiny, vody a příslušné přepočítávací koeficienty.....	45
Tabulka 5 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací procesu podle faktorového schématu 2 <sup>3</sup> .....	53
Tabulka 6 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací připravených hydrolyzátů/želatin .....	54
Tabulka 7 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací procesu podle faktorového schématu 2 <sup>2</sup> .....	66
Tabulka 8 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakterizací připravených hydrolyzátů/želatin .....	66

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI – materiálový list enzymu Protamex

Příloha PII – materiálový list enzymu Lipolase