

# **Využití vedlejších bílkovinných produktů z porážky drůbeže na přípravu kolagenu**

Bc. Ladislav Bureš

---

Diplomová práce  
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav inženýrství polymerů  
akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ladislav Bureš**  
Osobní číslo: **T16125**  
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Využití vedlejších bílkovinných produktů z porážky drůbeže na přípravu kolagenu.**

### Zásady pro vypracování:

1. V teoretické části se zaměřte na kategorizaci, charakterizaci a možnosti zpracování pevných a kapalných vedlejších produktů z jatečného zpracování zvířat.
2. V praktické části zpracujte vybranou tkáň z porážky drůbeže na kolagenní produkty; studujte vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu a charakterizujte připravené produkty.
3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, proveďte diskusi.
4. Navrhněte optimální podmínky zpracování vybrané tkáně na kolagen a zhodnoťte význam 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.**

**Vědecké články a monografie z elektronických databází (např. Web of Science, ScienceDirect a další; databáze elektronických knih (např. Knovel).**

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.**

Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání diplomové práce:

**2. ledna 2018**

Termín odevzdání diplomové práce:

**16. května 2018**

Ve Zlíně dne 1. března 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



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

## 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 .....10.5.2018

.....

<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 nahlázení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

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

<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 vzdělávacímu 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). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo 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 výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlíží k vyšší výdělku dosaženému školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Tato práce se zabývá kategorizací, charakterizací a možnostmi zpracování pevných a kapalných vedlejších produktů z jatečného zpracování zvířat. V praktické části byla zpracována vybraná tkáň z porážky drůbeže (kuřecí žaludky), biotechnologickým procesem na želatiny a hydrolyzáty. Byl studován vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu a charakterizace připravených želatin.

Klíčová slova: želatina, extrakce, kuřecí žaludky, kolagen

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the categorization, characterization and possibilities of processing of solid and liquid by-products from the animal processing of animals. In the practical part, selected tissue from the slaughter of poultry (chicken gizzards) was processed, the biotechnological process on gelatin and hydrolysates. The influence of selected technological conditions on the efficiency of the process and the characterization of prepared gelatin was studied.

Keywords: gelatin, extraction, chicken gizzards, collagen

Rád bych zde poděkoval vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlu Mokrejšovi, PhD. za odborné vedení, ochotný a vstřícný přístup a čas věnovaný konzultacím. Poděkovat bych chtěl i paní laborantce Miroslavě Žaludkové za pomoc při experimentech v laboratoři. Poděkování patří i mé rodině, za podporu během celého studia.

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

# OBSAH

|   |           |
|---|-----------|
| ÚVOD.....   | 10        |
| <b>I TEORETICKÁ ČÁST.....</b>   | <b>11</b> |
| <b>1 CHARAKTERIZACE ODPADŮ Z JATEČNÉHO ZPRACOVÁNÍ ZVÍŘAT .....</b>                        | <b>12</b> |
| 1.1 SOUČASNÉ ZPRACOVATELSKÉ PROCESY V MASNÉM PRŮMYSLU .....                               | 12        |
| 1.2 ODPADY Z JATEČNÍ VÝROBY .....   | 14        |
| 1.3 PEVNÉ ODPADY Z JATEK .....  | 14        |
| 1.4 KAPALNÉ ODPADY Z JATEK .....  | 15        |
| 1.5 VYBRANÁ DATA Z JATEČNÍ VÝROBY V ČR A VE SVĚTĚ .....                                   | 16        |
| <b>2 ZPRACOVÁNÍ PEVNÝCH A KAPALNÝCH BÍLKOVINNÝCH ODPADŮ .....</b>                         | <b>17</b> |
| 2.1 PRÁVNÍ PŘEDPISY PRO ZACHÁZENÍ SE ŽIVOČIŠNÝMI ODPADY .....                             | 17        |
| 2.2 PŘÍMÉ VYUŽITÍ .....   | 18        |
| 2.3 ZPŮSOBY ZPRACOVÁNÍ BÍLKOVINNÝCH ODPADNÍCH ČÁSTÍ ZVÍŘECÍCH TĚL .....                   | 19        |
| 2.3.1 Fyzikální způsoby zpracování bílkovinných odpadních částí zvířecích těl.....        | 19        |
| 2.3.2 Chemické způsoby zpracování bílkovinných odpadních částí zvířecích těl.....         | 19        |
| 2.4 VÝROBA ŽELATIN .....  | 21        |
| 2.4.1 Složení želatin .....   | 21        |
| 2.4.2 Surovinové zdroje pro výrobu želatin .....  | 22        |
| 2.4.3 Želatina typu A.....  | 22        |
| 2.4.4 Želatina typu B.....  | 22        |
| 2.5 VYUŽITÍ ODPADŮ VZNIKAJÍCÍCH PŘI JATEČNÉM ZPRACOVÁNÍ DRŮBEŽE PRO PRODUKCI ŽELATIN..... | 23        |
| <b>3 APLIKACE PRODUKTŮ ZE ZPRACOVÁNÍ NEVYUŽITÝCH ČÁSTÍ ZVÍŘECÍCH TĚL .....</b>            | <b>28</b> |
| 3.1 SLOŽENÍ A VLASTNOSTI PRODUKTŮ ZE ZPRACOVÁNÍ NEVYUŽITÝCH ČÁSTÍ ZVÍŘECÍCH TĚL .....     | 28        |
| 3.2 VYUŽITÍ PRODUKTŮ ZE ZPRACOVÁNÍ NEVYUŽITÝCH ČÁSTÍ ZVÍŘECÍCH TĚL .....                  | 28        |
| 3.2.1 Potravinářské aplikace .....  | 28        |
| 3.2.2 Medicinské aplikace.....  | 29        |
| 3.2.3 Technické aplikace.....   | 32        |
| <b>II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>  | <b>33</b> |
| <b>4 CÍLE PRÁCE .....</b>   | <b>34</b> |



|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>5</b> | <b>MATERIÁLY, METODY A POSTUP PRÁCE.....</b>                  | <b>35</b> |
| 5.1      | PŘÍSTROJE, POMŮCKY, CHEMIKÁLIE .....                          | 35        |
| 5.2      | METODIKA PRÁCE .....  | 35        |
| 5.3      | METODY ANALÝZY SUROVIN A PRODUKTŮ .....                       | 36        |
| 5.4      | BILANČNÍ ROVNICE .....  | 39        |
| 5.5      | POSTUP ZPRACOVÁNÍ KUŘECÍCH ŽALUDKŮ .....                      | 39        |
| 5.5.1    | Příprava odtučněných a přečištěných žaludků .....             | 42        |
| 5.5.2    | Extrakce želatiny .....                                       | 42        |
| <b>6</b> | <b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>                               | <b>44</b> |
| 6.1      | VÝSLEDKY EXPERIMENTŮ .....                                    | 44        |
| 6.1.1    | Množství vyextrahovaných želatin/hydrolyzátů .....            | 46        |
| 6.1.2    | Pevnost gelu želatin.....                                     | 47        |
| 6.1.3    | Viskozita želatin/hydrolyzátů.....                            | 48        |
| 6.1.4    | Obsah popela .....  | 49        |
| 6.1.5    | Teplota tání želatinových gelů .....                          | 50        |
| 6.2      | FAKTOROVÉ POKUSY 2 <sup>k</sup> .....                         | 51        |
| 6.2.1    | 1. série 2 <sup>k</sup> .....                                 | 52        |
| 6.2.2    | 2. série 2 <sup>k</sup> .....                                 | 53        |
| 6.2.3    | 3. série 2 <sup>k</sup> .....                                 | 54        |
| <b>7</b> | <b>ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ PRÁCE A NÁVRH PRO POKRAČOVÁNÍ.....</b> | <b>55</b> |
|          | <b>ZÁVĚR .....</b>  | <b>57</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>                         | <b>59</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>                | <b>63</b> |
|          | <b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>                                   | <b>64</b> |
|          | <b>SEZNAM TABULEK.....</b>                                    | <b>65</b> |
|          | <b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>                                     | <b>66</b> |

## ÚVOD

Již od dávných dob, kdy lidé začali lovit a chovat zvířata pro obživu, využívali i části jejich těl, které nemohli použít k přímé konzumaci. Ze začátku jen k výrobě jednoduchých nástrojů a kusů oděvů. Jak se rozšiřoval okruh znalostí, rozšiřovaly se i možnosti využití původně omezeně využívaných zdrojů z opracování zvířecích těl po porážce či lovu. S narůstajícím objemem zpracování, přechodem k průmyslovému způsobu zpracování a zvyšující se spotřebou masa v rozvinuté společnosti, dochází i k navýšení objemů vedlejších produktů. To sebou přináší nejen organizační, ale i finanční zátěž pro zpracovatele. Musí uhradit náklady vzniklé při likvidaci nejen odpadů, jako je například odpadní voda, ale i vedlejších produktů v asanačních ústavech.

Možností, jak se vyhnout úhradě nákladů na likvidaci, je zpracování těchto vedlejších produktů na jiné, využitelné též v potravinářství, ale i v dalších oborech průmyslu.

Velmi známým produktem ze zpracování živočišných produktů je želatina, využívaná k přímé konzumaci v mnoha potravinách, kde se využívá jejích specifických vlastností. Nalézá však uplatnění i v dalších odvětvích lidské činnosti. V současné době je želatina získávána zejména z vepřových a hovězích kůží a kostí. Dalšími méně využívanými zdroji jsou rybí kosti a kůže. Vzhledem k počtům chovaných kusů drůbeže se jeví jako možný zdroj surovin i zbytky z porážky drůbeže. Tato diplomová práce pojednává o zpracování takovýchto zbytků, bílkovinné povahy, konkrétně kuřecích žaludků, na hydrolyzáty a želatiny.

## I. TEORETICKÁ ČÁST

# 1 CHARAKTERIZACE ODPADŮ Z JATEČNÉHO ZPRACOVÁNÍ ZVÍŘAT

## 1.1 Současné zpracovatelské procesy v masném průmyslu

Jatečný a masný průmysl zaznamenal v uplynulém půl století větší změny, než tomu bylo za poslední dvě tisíciletí. Vývoj vědeckých znalostí a vybavení, zároveň s rozšířením počítačů a kamer měly zásadní vliv i v masném průmyslu. Zpočátku masný průmysl zůstával za jinými průmyslovými odvětvími (např. automobilovým průmyslem), ale dnes je protkнут mechanizací a automatizací (tzv. průmysl 4.0).

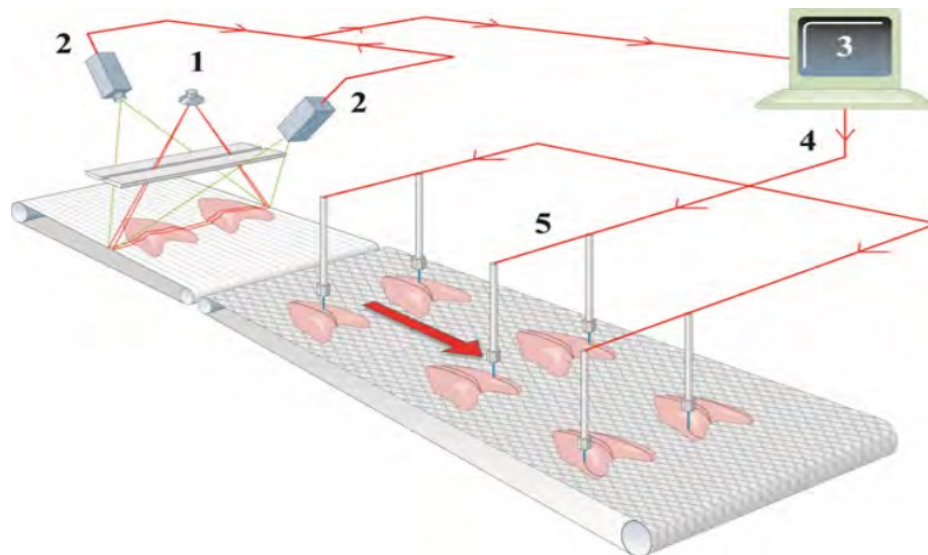
Je také zajímavé, že základní stupně zpracování masa, které byly používány před dvěma tisíci lety, jsou používány stále. Změnil se však jejich rozsah a způsob provedení. Dnes jsou zvířata na jatky dopravována vozidly (v blízké budoucnosti pravděpodobně plně autonomními), a např. nahánka a nakládka brojlerů může být plně mechanizována. Změnila se i oblast, ze které jsou zvířata na jatky svážena, mnohonásobným zvětšením území, které jednotlivé závody obsluhují. Další kroky při zpracování byly automatizovány v ještě větší míře, především kvůli rostoucí jednotnosti řezů ze syrového masa, které vyrábějí primární zpracovatelská zařízení. Příkladem je plně automatizovaná linka, kde se vyrábějí tisíce nuggetů za hodinu bez zásahu člověka. Dalším příkladem je koextruzní proces vyvinutý pro přímou aplikaci polotuhého obalu na masné výrobky. Změny v marketingu a chování spotřebitelů měly velký vliv na masný průmysl. Distribuce se přesunula z místní spotřeby k produktům převážným na velké vzdálenosti (příkladem je např. export masa z Brazílie do Evropy). Důležitá je i bezpečnost potravin, u automatických systémů snáze kontrolovatelná, spojená se sanitací a skladovatelností. Vliv má i spotřeba masa pro průměrnou osobu, která stoupá. Zároveň se zkracuje doba pro přípravu jídla doma, kterou jsou zákazníci ochotni přípravě věnovat (např. v USA se za posledních 50 let snížila z 2,5 h na 10 min). To vše vede k tomu, že například primární rychlost zpracování drůbeže se za posledních 40 let zvýšila čtyřnásobně a vedla ke zvýšení zpracovatelské kapacity ze 4500 kg/h v roce 1970 na dnešních 36 000 kg/h pro jednu linku. Zároveň ale nesmí být kvalita masa negativně ovlivněna zvyšováním rychlosti linky a zkrácením doby pro vykostění.

Jedním z příkladů zařízení je nůž s vodním paprskem (Obr. 2), který používá kamery pro získání 3D obrazu masa a vypočítá optimální řez podle předem stanovených specifikací.

Dalším, méně nákladným příkladem, je stroj, který používá vysokorychlostní rotující čepel, a laserové skenery před ním provádějí měření a následně je vypočítán tvar porce [1].



Obr. 1. Robotický systém schopný třídit a balit 300 filetů z kuřecích prsou za minutu



Obr. 2. Systém řezání vodním paprskem. Snímací kamery pořizují snímky pro vytvoření 3D obrazu, který je později použit k výpočtu řezných linek pro vysokotlaké vodní trysky, umístěné shora, pro řezání masa

## 1.2 Odpady z jateční výroby

Při jatečném opracování zvířecích těl vznikají odpady, z nichž mnohé je možné dále zpracovávat pro další využití v mnoha oblastech včetně výživy lidí a zvířat, i když k tomuto účelu je u lidí primárně určena svalovina poražených zvířat. Při jatečném zpracování je množství vzniklého odpadu obecně zhruba odpovídající 35 % porážkové hmotnosti zvířat [2].

## 1.3 Pevné odpady z jatek

**Kosti** tvoří značnou část pevných odpadů z jateční výroby. Jejich využití je například v MKM (masokostních moučkách), produkovaných v asanačních podnicích. Surovina přijatá do kafilerie je zpracovávána při teplotě 133 °C, při tlaku 3 barů po dobu 20 minut. Kousky tkání zpracováváných při těchto parametrech nesmějí být větší než 50 mm, proto je nutné v prvním stupni nutně surovinu drtit [3]. Zároveň je možné využití kostí pro produkci želatiny.

**Vnitřnosti** jsou všechny orgány z dýchací, trávicí, oběhové, nervové a vylučovací soustavy, z nichž některé se využívají k přímé konzumaci, případně po přepracování jako přísada do dalších produktů.

**Kůže** je využívána nejen v produkci usní pro široké možnosti využití, ale zároveň je zdrojem pro většinovou produkci želatiny. Kůže je i součástí ostatních částí zvířecích těl, jako jsou například drůbeží běháky, využitelné též pro výrobu želatiny.

**Ostatní části**, jsou například drůbeží běháky a hlavy, které lze využít i pro produkci želatiny. Dále se jedná o peří, rohy a paznehty jako suroviny pro keratinové hydrolyzáty.

**Kuřecí žaludek** (Obr. 3) je u kuřat, stejně jako u ostatních příslušníků třídy ptáků (Aves), nepárovým orgánem, který je součástí trávicího ústrojí. Probíhá zde trávení pomocí enzymů a působením kyseliny chlorovodíkové. Z hlediska anatomického se jedná o vak tvořený hladkým svalstvem, který má na jedné straně vstup z distální části rozšířeného jícnu tvořícího vole a na druhé straně výstup, odkud natrávená potrava pokračuje do tenkého střeva. Je rozdělen na část žláznatou a svalnatou [4].



Obr. 3. Kuřecí žaludek (na obrázku vlevo vnější část, vpravo vnitřní část po provedeném řezu)

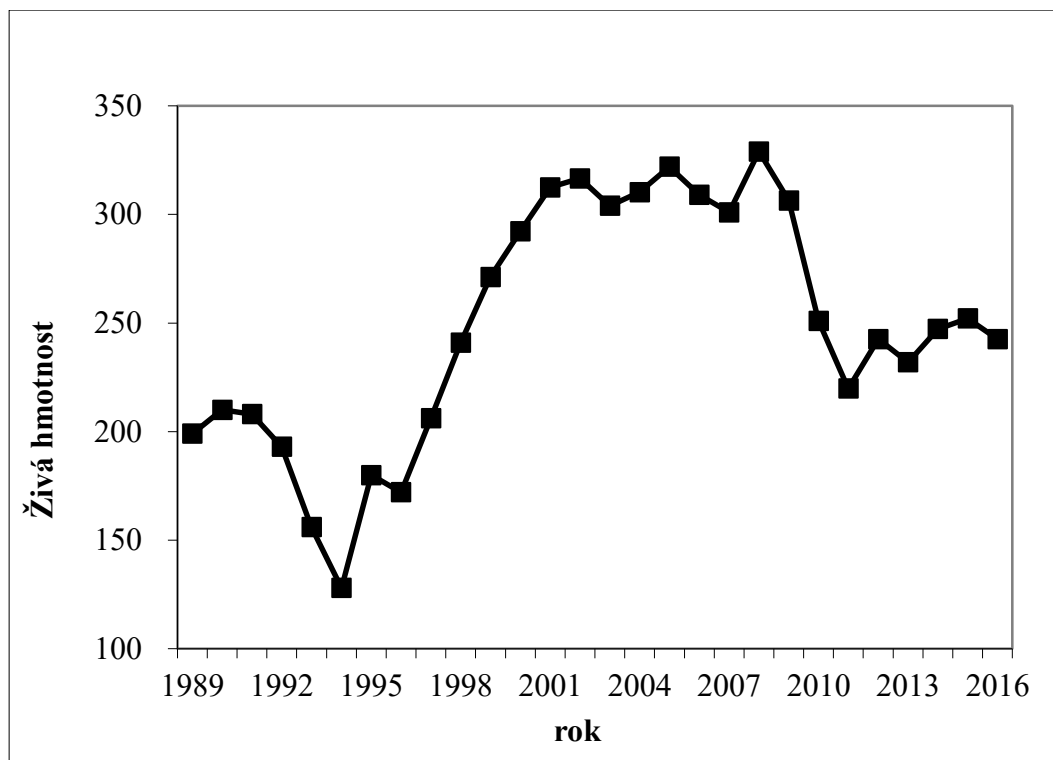
#### 1.4 Kapalně odpady z jatek

**Krev tvoří** část produktů ze zpracování na jatkách. Krev pocházející z poražených zvířat je běžným vedlejším produktem, který se získává ve velkých objemech, zejména v průmyslových porázkách. Zatímco polovina objemu krve poraženého zvířete zůstává v těle obsažena v jedlých tkáních, jako je maso a vnitřní orgány, druhá polovina může být získána prostřednictvím exsanguinace. Přibližné množství krve, získané z primárního zpracování masa v roce 2016 v Evropě, lze odhadnout z počtů poražených zvířat, které v roce 2016 přesáhly 148 milionů kusů prasat a 90 milionů kusů skotu (FAOSTAT, 2016) [5]. Pokud uvážíme, že lze shromáždit 3 litry krve z každého prasete a více než 10 litrů z každého kusu hovězího dobytka, roční dostupné množství krve mohlo v daném roce přesáhnout 1 344 000 tun [6].

**Odpadní voda** je významnou částí odpadů na jatkách. Při zpracování masa a masných produktů vzniká velké množství odpadní vody s relativně vysokým obsahem organické hmoty tvořené proteiny, tuky a mikroorganismy. Při jatečném zpracování drůbeže vychází spotřeba vody ve výši 26,5 l na jeden kus [7].

## 1.5 Vybraná data z jateční výroby v ČR a ve světě

Produkce jatečné drůbeže na území ČR v posledních 30 letech značně kolísala od 199 tis. t v roce 1989, k minimální produkci v roce 1994 v hodnotě 128 tis. t, následované růstem k maximální hodnotě 329 tis. t v roce 2008. Poté došlo opět k poklesu produkce a ta se nyní pohybuje mezi 220 a 250 tis. t za rok, viz graf č. 4.



Obr. 4. Výroba jatečné drůbeže v ČR v letech 1989–2016

Pro porovnání, roční produkce brojlerů v USA dosahovala výše 8,7 mld. kusů ročně (v letech 2015 a 2016) což je v živé váze 24 mil. t za rok. Data o produkci drůbeže za rok 2017 v Číně uvádějí roční produkci ve výši 11 mil. t, což je mnohem méně, zvláště při porovnání počtu obyvatel těchto zemí [8].



## 2 ZPRACOVÁNÍ PEVNÝCH A KAPALNÝCH BÍLKOVINNÝCH ODPADŮ

### 2.1 Právní předpisy pro zacházení se živočišnými odpady

Pro zacházení se živočišnými odpady jsou základními předpisy nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě [9] a dále nařízení Komise (EU) č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, které jej přímo provádí [10]. Základním předpisem právního řádu ČR je zákon č. 166/1999 Sb. Zákon o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon) a vyhláška č. 94/2010 Sb. Vyhláška o některých veterinárních a hygienických požadavcích na přepravu a zpracování vedlejších živočišných produktů

#### Klasifikace vedlejších živočišných produktů

Vedlejší produkty živočišného původu se zařazují do specifických kategorií, které odpovídají úrovni rizika pro zdraví lidí a zvířat, které v souvislosti s těmito produkty vzniká. Přesný seznam jednotlivých kategorií VŽP je uveden v nařízení (ES) č. 1069/2009 v člancích 8–10 [9]. Dále je uveden obsah jednotlivých kategorií ve zkráceném znění, z důvodu značné obsáhlosti uvedeného nařízení.

**Materiál kategorie 1** zahrnuje mimo jiné tyto VŽP, celá těla a všechny části zvířat podezřelých z infekce, produkty pocházející ze zvířat, kterým byly podané zakázané látky, odpad ze stravovacích zařízení, vedlejší produkty živočišného původu sebrané během úpravy odpadních vod při zpracování materiálu kategorie 1 a směsi materiálu kategorie 1 buď s materiálem kategorie 2, nebo s materiálem kategorie 3, nebo s materiálem obou kategorií.

**Materiál kategorie 2** zahrnuje tyto VŽP, hnůj, nemineralizované guáno a obsah trávicího traktu, vedlejší produkty živočišného původu sebrané během úpravy odpadních vod při zpracování materiálu kategorie 2 nebo z jiných jatek, vedlejší produkty živočišného původu, které obsahují rezidua povolených látek nebo kontaminantů přesahující přípustné úrovně, produkty živočišného původu nevhodné k lidské spotřebě, zvířata, která uhynula jinak než porážkou nebo usmrcením k lidské spotřebě, směsi materiálu kategorie 2 s materiálem kategorie 3 a vedlejší produkty živočišného původu jiné než materiál kategorie 1 nebo materiál kategorie 3.

**Materiál kategorie 3** zahrnuje tyto VŽP, těla poražených zvířat a jejich části, které jsou vhodné k lidské spotřebě, avšak z obchodních důvodů nejsou k lidské spotřebě určeny, jatečně upravená těla a dále uvedené části pocházející buď ze zvířat, která byla poražena na jatkách a po prohlídce před porážkou byla shledána jako způsobilá k porážce k lidské spotřebě, nebo těla a dále uvedené části zvíře usmrcené k lidské spotřebě, jatečně upravená těla nebo těla zvířat a jejich části, které byly prohlášeny za nevhodné k lidské spotřebě, avšak nevykazovaly žádné příznaky onemocnění přenosného na člověka nebo zvířata, hlavy drůbeže, kůže a kožky, včetně jejich odřezků a plátků, rohy a končetiny, prasečí štětiny, peří, vedlejší produkty živočišného původu z drůbeže a ze zajícovců, vedlejší produkty živočišného původu, které vznikají při výrobě produktů určených k lidské spotřebě, včetně odtučněných kostí, škvarků a kalu z odstředivky a separátoru ze zpracování mléka, produkty živočišného původu nebo potraviny obsahující produkty živočišného původu, které z obchodních důvodů již nejsou určeny k lidské spotřebě, krmiva, které již nejsou určeny ke krmení, krev, placenta, vlna, peří, srst, rohy, odřezky paznehtů, vodní živočichové a jejich části, ulity měkkýšů a koryšů s měkkými tkáněmi nebo masem, vedlejší produkty z líhní, vejce, vedlejší produkty z vajec, včetně vaječných skořápek, jednodenní kuřata usmrcená z obchodních důvodů, tuková tkáň pocházející ze zvířat, která nevykazovala žádné příznaky onemocnění, odpady ze stravovacích zařízení.

## 2.2 Přímé využití

Mnohé odpady z jatečného zpracování lze využít přímo v kulinářské oblasti. Vnitřnosti (žaludky, srdce, játra, ledviny) jsou například využívány při přípravě polévek, omáček nebo jako obal při formování masných výrobků (střívka). Přímou využít lze i krev. Po jejím zachycení při dodržení přísných hygienických podmínek a patřičné úpravě se používá čerstvá nebo koagulovaná, kde se podílí na složení určitých potravin, jako jsou tepelně zpracované masné výrobky (klobásy) [11].

Pro příklad lze uvést vybrané nutriční ukazatele pro kuřecí žaludky (vše pro 100 g nezpracované suroviny): voda 79,33 g; energie 393 kJ; proteiny 17,66 g; celkový tuk 2,06 g (z toho cholesterol 240 mg); popeloviny 0,95 g (z toho Ca 11 mg; Mg 15 mg; Fe 2,49 mg; K 237 mg; Na 69 mg; Cu 0,12 mg) [8].

## 2.3 Způsoby zpracování bílkovinných odpadních částí zvířecích těl

### 2.3.1 Fyzikální způsoby zpracování bílkovinných odpadních částí zvířecích těl

**Zahřátí** patří mezi základní způsoby fyzikálního zpracování. Používají se dva způsoby a to pastérace a sterilizace. Při pastéraci dojde k zahřátí na 60–90 °C (zpravidla 70–75 °C) a produkt musí být skladován za snížené teploty (chlazení) s obvykle kratší dobou trvanlivosti. Při sterilizaci se používá teplota nad 100 °C (zpravidla 120 °C) a výsledkem jsou produkty, které lze skladovat při „pokojové“ teplotě a mají i delší dobu použitelnosti, někdy však může dojít k nežádoucím změnám textury a sensorických vlastností.

**Chlazení a zmrazení** je často používanou metodou konzervace. Při chlazení je masný produkt rychle zchlazen na teplotu 4,4 °C a tato teplota je dále udržována. Zmrazení je proti chlazení nákladné, musí se aplikovat dražší balení a vyžaduje i nadále energeticky náročnou regulaci teploty během skladování, distribuce a marketingu. Proto je mražení vyhrazeno pro produkty s vyšší přidanou hodnotou [12].

**Sušení** je dalším možným fyzikálním způsobem konzervace používaným po staletí. Princip této konzervační metody je založen na snížení aktivity vody na úroveň, která je příliš nízká na podporu mikrobiálního růstu. Sušené potraviny obvykle neobsahují více než 25% vlhkosti a mají aktivitu vody ( $A_w$ ) 0,00 až 0,60. Nejvíce ekonomickým způsobem sušení je použití horkého vzduchu. Dnes se například sušené drůbeží maso používá v suchých polévkových směsích, suší se potraviny pro kempování a například i potraviny, které si berou astronauté do vesmíru [12].

### 2.3.2 Chemické způsoby zpracování bílkovinných odpadních částí zvířecích těl

Konzervace **chemickými látkami** je v masném průmyslu využívána často. Nejstarší používanou látkou pro chemickou konzervaci je NaCl. Aby byl produkt stabilní při teplotě okolí, měla by být použita koncentrace 10–15 % NaCl. Sůl se používá například pro konzervaci kůží při jejich transportu pro další zpracování. Dalším chemickým konzervantem jsou fosfáty, zejména pak  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ . Ke konzervaci jsou též využívány kyseliny a to organické jako  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$  nebo  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$ . Dalšími látkami jsou  $\text{NaNO}_2$  a  $\text{NaNO}_3$  jejichž působení je trojího druhu. Chrání před kontaminací mikroorganismy (např. Clostridium botulinum), pomáhají stabilizovat růžovou barvu masa vytvářením nitrosohemochromu a přispívají k rozvoji chuti s inhibicí oxidace. V minulosti bylo možné použít ke konzervaci

v masném průmyslu v některých zemích (USA) antibiotika a bacteriociny (nisin). Jejich použití je však v současnosti zakázáno z důvodu vzniku rezistence a tím vznikajícího nebezpečí sníženého účinku při léčbě lidí a zvířat. Konzervace kouřem je též metodou používanou po staletí. Fenoly, ketony, aldehydy a organické kyseliny nacházející se v různých druzích kouře (v kouři bylo izolováno více než 400 sloučenin), vznikajícího spalováním dřeva, mají bakteriostatické a baktericidní účinky a mohou tak inhibovat nebo zabít mikroorganismy. Fenoly a organické kyseliny přispívají nejvíce ke konzervačním účinkům kouře. Dnes se používá pouze lehké zauzení k tomu, aby byla zajištěna mimořádná chuť (dubové aroma). To znamená, že kouř může proniknout do hloubky  $3 \pm 1$  mm. Toto ošetření poskytuje některé bakteriostatické a baktericidní účinky na povrchu, ale ne uvnitř produktu. V některých aplikacích se používá uzení za studena u nevařených, suchých, fermentovaných klobás v zemích, jako je Kanada, kde je kyselina sorbová pro tento účel zakázána. K chemickým způsobům konzervace je možné zařadit i aplikaci koření. Tyto látky se zřídka používají jako antimikrobiální látky samy o sobě, ale některé mají antimikrobiální a antifungální vlastnosti. Antimikrobiální aktivita je obvykle způsobena specifickými chemikáliemi nebo éterickými oleji, které se nacházejí v určitém koření, a jsou určeny k boji proti mikrobiálnímu útoku vůči živé rostlině. Jako příklad lze uvést skořici (cinnamaldehyd a eugenol), hřebíček (eugenol) nebo hořčici (isothiokyanát) [12].

**Anaerobní způsob zpracování jatečných odpadů** je jednou z možností zpracování jatečných odpadů a tedy i bílkovinných. Používá se anaerobní digesce s produkcí bioplynu [13]. Produkce bioplynu je zde poměrně vysoká, až  $976 \text{ dm}^3/\text{kg}$  sušiny při využití čisté tkáně. Nabízí se možnost zpracování s dalšími odpady z lidské činnosti, jako jsou např. odpadní kaly. Zde je však produkce bioplynu nižší,  $600 \text{ dm}^3/\text{kg}$  sušiny [14]. Bioplyn obsahuje 55–75 obj. % metanu a 23–43 % oxidu uhličitého a cca 2 % vodíku. Výhřevnost bioplynu při 60 % obsahu metanu je  $25 \text{ MJ} / \text{m}^3$ . Bioplyn dále obsahuje, většinou ve stopových množstvích, sirovodík a další sirmé sloučeniny (merkaptany) a sloučeniny dusíku (amidy), které mohou způsobovat zápach [15].

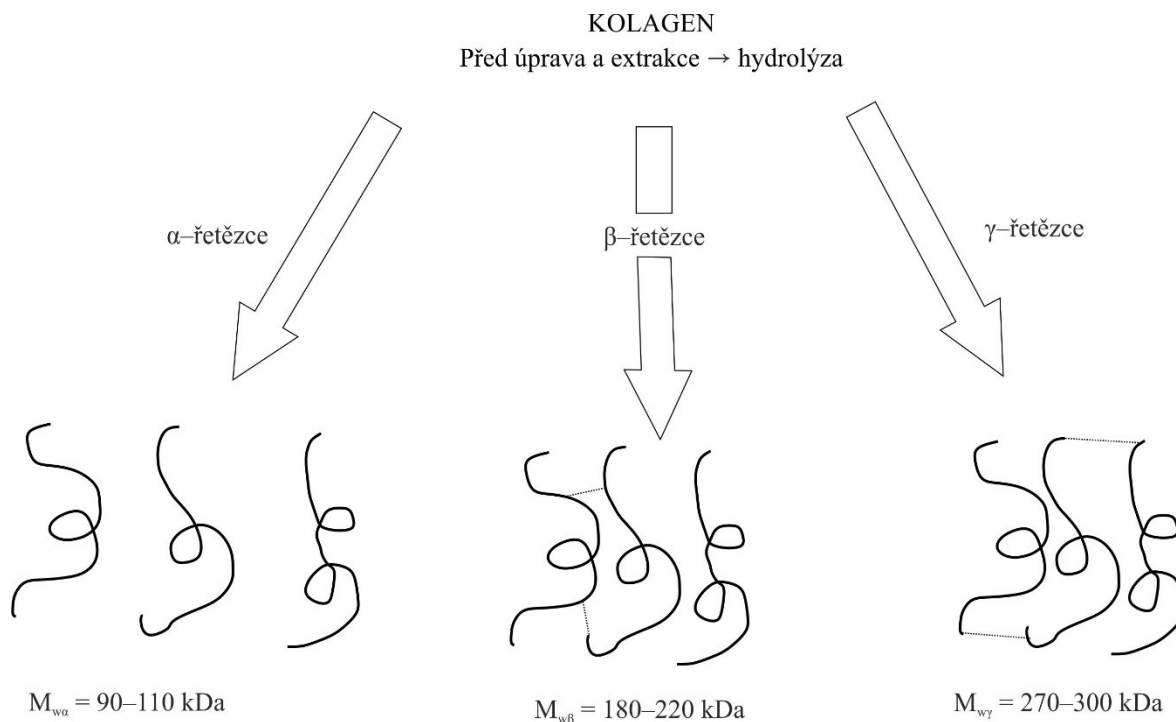
## 2.4 Výroba želatin

### 2.4.1 Složení želatin

**Kolagen**, nacházející se ve většině pojivových tkání, tvoří zhruba 25 % proteinů v těle obratlovců. Pojivová tkáň (též ECM – extracelulární matrix) má důležitou úlohu při vývoji, ale i při patologických procesech v těle živočichů. ECM je tvořena biomolekulami ze tří skupin, z nichž jednou skupinou jsou právě strukturální proteiny. Mezi ně řadíme kolagen a dále elastin s fibrinem [16]. Struktura kolagenu je tvořena trojitou šroubovicí. Tento pravotočivý superhelix tvořící tyčinkovité molekuly o průměru 1,4 nm a délce 300 nm je tvořen ze tří  $\alpha$ -řetězců, stočených do levotočivé polyprolinové šroubovice se třemi zbytky na otáčku.

**Celkový obsah proteinů a aminokyselin (AK) v kuřecích žaludcích je následující (g/kg v sušině):** Kyselina asparágová 70,26; Treonin 35,19; Serin 34,23; Kyselina glutamová 130,53; Prolin 39,73; Glycin 40,07; Alanin 30,07; Cystein 20,04; Valin 34,24; Methionin 20,03; Izoleucin 36,03; Leucin 53,63; Tyrosin 23,23; Fenylyalanin 31,79; Histidin 15,41; Lysin 52,79; Arginin 54,89; Tryptofan 6,84; Celkový obsah proteinů 763,96 [17].

**Želatinu** tvoří tři dominantní fragmenty nacházející se v kolagenu: volné  $\alpha$ -řetězce,  $\beta$ -řetězce, kde jsou kovalentně spojeny dva  $\alpha$ -řetězce a  $\gamma$ -řetězce, kde jsou kovalentně spojené tři  $\alpha$ -řetězce. Volné  $\alpha$ -řetězce mohou být také depolymerovány do sub- $\alpha$ -řetězců, polypeptidů s nižší Mw než jeden  $\alpha$ -řetězec. To znamená, že želatina není mono disperze proteinů a že všechny parametry popisující chemické a fyzikální vlastnosti želatin jsou průměrné hodnoty [18].



Obr. 5. Želatina není monodisperzní protein, spíše se skládá ze směsi různých typů řetězců s různou molekulovou hmotností vedoucí k polydisperzitě (převzato a upraveno z *Handbook of Food Proteins*)

#### 2.4.2 Surovinové zdroje pro výrobu želatin

Pro výrobu želatin se využívají především suroviny vznikající po jatečném opracování zvířat ze třídy savců. V poslední době je předmětem výzkumu i využití odpadů po zpracování ryb a v menší míře i ptáků. V podstatě lze využít jakoukoliv tkáň obsahující kolagen, jako jsou kůže, kosti a chrupavky.

#### 2.4.3 Želatina typu A

Předběžné zpracování kyselinami vede k želatinám typu A. V tomto procesu je promytá hydratovaná surovina ponořena do studené zředěné minerální kyseliny (pH 1,5 až 3,0) po dobu 8 až 30 hodin (obvykle 18 až 24 hodin) v závislosti na tloušťce a velikosti suroviny. Po zpracování je materiál promyt tekoucí vodou a neutralizuje se, dokud nedosáhne pH extrakce [18].

#### 2.4.4 Želatina typu B

Želatin typu B jsou konečným produktem z alkalické předúpravy. Pro tuto úpravu může být použita řada alkalických činidel, ale  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (pH 12,0) je obecně nejpoužívanější.

Opracovávaný materiál je umístěn v jámách nebo kádích spolu s roztokem  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Teplota se udržuje pod  $24\text{ }^\circ\text{C}$  a směs se míchá v daných intervalech, zpravidla mechanicky. Proces trvá nejméně 20 dní až šest měsíců (obvykle dva až tři měsíce) v závislosti na tloušťce a druhu suroviny. Po dokončení se materiál promyje vodou, dokud nedosáhne přibližně neutrálního pH před ošetřením zředěnou kyselinou (např.  $\text{HCl}$ ), pro úpravu pH extrakce [18].

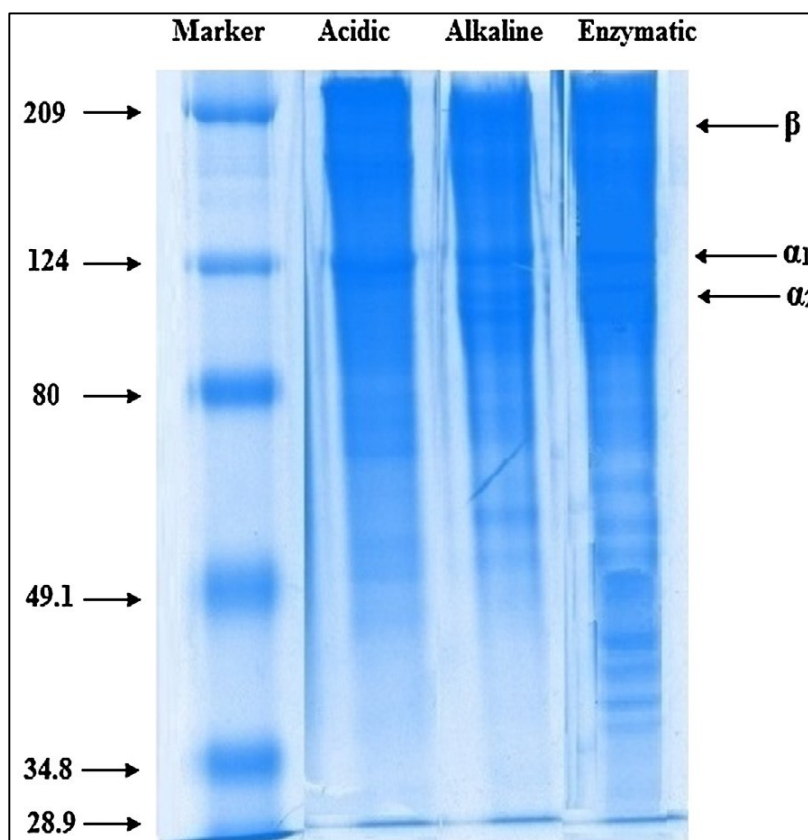
## 2.5 Využití odpadů vznikajících při jatečném zpracování drůbeže pro produkci želatin

V současnosti je stále největší množství želatiny extrahováno z vepřových a hovězích kůží. Nicméně, extrakce želatiny z jiných zdrojů se stále zvyšuje kvůli spongiformní encefalopatii krav (BSE), nebo z důvodu slintavky a kulhavky. Některá náboženství zakazují používání želatiny z vepřové kůže a použití hovězí želatiny je přijatelné pouze v případě porážky zvířete podle náboženských postupů. Nejen z těchto důvodů jsou alternativní zdroje pro extrakci želatiny mimořádně atraktivní pro komerční výrobu, protože celosvětová spotřeba želatiny roste (v roce 2008 činila 325 tis. t a v roce 2016 stoupla na 400 tis. t) [19]. Pozornost se mimo zpracování odpadů z rybářského průmyslu zaměřuje i na odpad ze zpracování drůbeže.

Zpracovávat se mohou například **běháky** kachny pekingské. Ve studii Abedinia a kol. [19] byly běháky kachny pekingské podrobeny předběžnému opracování jak kyselým tak zásaditým způsobem a zároveň byl použit i biotechnologický postup opracování pomocí enzymu. Kachní běháky byly rozmrazeny při teplotě  $4\text{--}7\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 24 hodin. Drápky a povrchový tuk byly odstraněny. Běháky byly nakrájeny na malé kousky a při pokojové teplotě promyty vodovodní vodou (1:6, w/v,  $30\text{ }^\circ\text{C}$ ) po dobu 10 minut. Vyčištěná surovina byla filtrována přes tkaninu po dobu 5 minut při stlačení rukou. Předběžné studie ukázaly, že opracování 15 jednotkami enzymu/g suroviny u pepsinu,  $0,05\text{ M CH}_3\text{COOH}$  a  $0,1\text{ M NaOH}$  dává nejvyšší výtěžek a pevnost gelu želatiny. Vyčištěná surovina byla opracována  $0,05\text{ M CH}_3\text{COOH}$  a  $0,1\text{ M NaOH}$  v poměru 1/6 (w/v) při pokojové teplotě ( $30\text{ }^\circ\text{C}$ ) po dobu 3 hodin. Po opracování byla surovina neutralizována promytím vodou z vodovodu. Pro enzymatický postup byla vyčištěná surovina smísená s  $0,2\text{ M CH}_3\text{COOH}$  v poměru 1:10 (w/v) při použití 15 jednotek enzymu/g běháků. Směs se míchala 3 hodiny při  $4\text{ }^\circ\text{C}$ . Hodnota pH směsi se zvýšila na 7,5 za použití  $10\text{ M NaOH}$ . Směs byla mírně míchána 1 hodinu pro inaktivaci pepsinu. Poté byla surovina propláchnuta vodovodní

vodou. Odfiltrovaná surovina (s výjimkou enzymem ošetřené), byla extrahována v destilované vodě po dobu 12 hodin, při teplotě 65 °C, v poměru 1: 2 (w/v) ve vodní lázni s řízenou teplotou za stálého míchání. Enzymem opracovaná směs byla po inaktivaci umístěna ve vodní lázni při stejných podmínkách. K filtrování směsi byl použit filtrační papír a vakuum. Získaný filtrát byl lyofilizován v lyofilizátoru. Výťažky želatiny extrahované z kachních nohou těmito třemi způsoby byly 12,76 %, 11,39 % a 17,94 % (vztaženo na sušinu) pro kyselý, zásaditý a enzymatický způsob opracování suroviny před extrakcí.

Obsah proteinů ze tří želatinových vzorků získaných z kachních běháků byl značně odlišný 81,89 %, 79,41 % a 82,55 % pro kyselý, zásaditý a enzymatický způsob opracování. Pro srovnání u hovězí želatiny byl obsah 87,38 % vzorku. Výsledky ukázaly, že hlavní přítomná aminokyselina byl glycin, následovaný hydroxyprolinem, prolinem a alaninem. Obsah popela byl v rozmezí 1,07–2,1 % želatiny.



Obr. 6. SDS-PAGE vzorků želatiny extrahované z kachních nohou pomocí odlišné předběžné úpravy. Kyselý, alkalický a enzymatický označují způsob opracování suroviny pro želatiny [19].



K analýze proteinových vzorků želatin z kyselých, alkalických a enzymem předběžně opracovaných kachní běháků byla použita elektroforéza na polyakrylamidovém gelu (Obr. 6). Kyselé opracované (typ A) a alkalicky opracované (typ B) želatiny byly mírně odlišné, zatímco enzymaticky opracovaná želatina vykazovala více rozdílů. Želatina typu A obsahuje asi osm hlavních skupin s molekulovou hmotností přibližně 200, 180, 120, 114, 76, 70, 53 a 50 kDa. Želatina typu B ukázala 10 pozorovatelných pásů kolem 135, 124, 118, 100, 95, 87, 80, 75, 60 a 50 kDa a profil enzymaticky opracované želatiny se sestával z přibližně 13 pásem 124, 100, 95, 80, 73, 63, 56, 52, 49, 41, 39, 37 a 35 kDa. Intenzita pásů  $\alpha_1$  a  $\alpha_2$  řetězců jako hlavních složek ( $\approx 100$  kDa) byla při enzymatické extrakci snížena. Peptidy s nízkou molekulovou hmotností, které byly pozorovány u enzymatické extrakce, byly způsobeny dostatečným štěpením peptidů prostřednictvím pepsinu při přípravě želatiny. Tedy velikost polypeptidických řetězců byla ovlivněna pepsinem. Obecně platí, že typ předúpravy ovlivnil reologické a fyzikálně-chemické vlastnosti výsledné želatiny a želatina získaná po předběžné kyselé úpravě vykazovala nejlepší vlastnosti. Celé kachní běháky by tedy mohly sloužit jako surovina pro extrakci želatiny po příslušné předběžné úpravě kyselinou.

Další částí využitelnou pro extrakci želatiny jsou **kuřecí kůže**, které ve své studii použil Sarbon a kol. [20]. Zmrazená kuřecí kůže byla rozmrazena v chladné místnosti (4–5 °C) přes noc. Po důkladném opláchnutí byly kůže nakrájeny na kusy o délce 2–3 cm a lyofilizovány po dobu přibližně 4 dnů. Úplně suché kůže byly rozdrceny a odučněny metodou Soxhlet. K extrakci želatiny bylo smícháno 14 g sušené kuřecí kůže a 200 ml NaOH (0,15% w/v). Směs byla protřepávána a pomalu míchána při laboratorní teplotě (22 °C) po dobu 40 minut před centrifugací trvající po dobu 10 minut. Tento krok byl opakován třikrát. Alkalický roztok byl změněn každých 40 minut, aby se odstranily nekolagenní proteiny a pigmenty. Alkalicky upravená surovina byla opláchnuta destilovanou vodou a poté smíchána s 200 ml 0,15% (w/w)  $H_2SO_4$ . Opět se výsledná surovina smísila s 200 ml 0,7% (w/v) roztoku  $C_6H_8O_7$ . Směs byla dobře protřepána a mírně míchána při teplotě místnosti po dobu 40 minut před centrifugací po dobu 10 min. Každé opracování bylo opakováno třikrát a trvalo asi 2 h. Surovina byla promyta destilovanou vodou, aby se odstranily veškeré zbytkové soli a následovalo odstředění po dobu 15 minut. Konečná extrakce byla prováděna v destilované vodě při kontrolované teplotě (45 °C) přes noc bez míchání. Výsledná směs byla filtrována v Büchnerově nálevce s filtračním papírem a deionizována za použití ionexu na hodnotu 50  $\mu S/cm$ . Hodnota pH byla upravena na 6,0

pomocí 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Objem byl snížen na 1/10 odpařením ve vakuu (pomocí rotační odparky) při 45 °C a poté proběhla lyofilizace. Produkt byl označován jako "želatinový prášek". Výtěžek želatiny byl 16 % (vztaženo na sušinu), což ukazuje, že extrakce používaný smíšený kyselý a alkalický proces opracování suroviny nemusí být optimální pro kuřecí kůži z hlediska výtěžnosti. Nižší výtěžek může být způsoben ztrátou extrahovaného kolagenu při vyluhování během série mytí nebo v důsledku neúplné hydrolyzy kolagenu. Pevnost gelu želatiny z kuřecích kůží (6,67% w/v) byla výrazně vyšší s hodnotou Bloom 355 ve srovnání s hovězí želatinou (229), pravděpodobně kvůli struktuře želatiny, jako je složení proteinového řetězce, distribuce molekulové hmotnosti, obsah aminokyselin a druh extrakční úpravy. Pokud jde o obsah aminokyselin v želatině, obsah glycinu byl vysoký, 33,70 % (kuřecí kůže) a 37,05 % (hovězí želatina). Prolinu a hydroxyprolinu bylo více u kuřecí želatiny (13,42 % a 12,13 %) ve srovnání s hovězí želatinou (12,66 % a 10,67 %). Vyšší obsah aminokyselin (prolinu + hydroxyprolinu) a také alaninu v kuřecí kůži může přispět k želatině s vyššími viskoelastickými vlastnostmi způsobenými podporou tvorby trojitě šroubovice a stabilizaci želatiny při nízké teplotě. Teplota tání kuřecí želatiny (33,57 °C) byla významně vyšší než u hovězí želatiny (31,55 °C). Výsledky studie ukazují, že želatina z kuřecí kůže by mohla být potenciálně alternativou komerční želatiny.

Extrakci želatiny ze zbytků z **odkost'ovače** (CDR) prováděl Rafieian F. a kol. [21]. Nejprve rozmrazil surovinu přes noc při 8-10 °C v ledničce. Po rozmrazení byla vysušena při teplotě 39 °C po dobu 24 hodin, dokud vlhkost nebyla nižší než 30 % a pak byla odtučněna použitím hexanu. Vysušené a odtučněné vzorky byly promyty vodovodní vodou k odstranění vnějších nečistot. 500 g vzorku vložil do kádinky a přidal 2000 ml 1% (w/v) roztoku NaCl. Hodnota pH byla upravena pomocí 1 N NaOH na 10,5 až 10,7. Směs byla míchána po dobu 30 minut při teplotě místnosti s úpravou pH každých 8-10 minut. Suspenze byla přefiltrována a rozdělena na hydrolyzát a tuhý zbytek. Zbytek byl potom smíchán s roztokem HCl (v různých koncentracích) v poměru 1:2 (w/v) po dobu 24 hodin při pokojové teplotě (25 °C). Po opracování kyselinou byla surovina filtrována a propláchnuta vodovodní vodou až do neutrálního nebo slabě kyselého pH. Pak byla surovina smíchána s destilovanou vodou s poměrem 1: 3 (w/v) a konečná extrakce byla provedena ve vodní lázni pro různé teploty a různý čas extrakce s průběžným mícháním. Výsledná směs byla potom filtrována a získal se želatinový extrakt. Extrakt byl demineralizován přidáním ionexových pryskyřic a byl dále filtrován v Buchnerově nálevce s filtračním

papírem. Vzorčky byly potom sušeny v konvekční sušárně při 40-42 ° C, dokud nebyla vlhkost menší než 15 %. Optimální úroveň koncentrace kyseliny (%), extrakční teplota (°C) a doba extrakce (h) při zpracování zbytků z kuřecího odkost'ovače na želatinu, byly při vyhodnocení stanoveny jako 6,73 %, 86,8 °C a 1,95 h. Připravená želatina měla vynikající pevnost gelu 520 Bloom. Obsah popelovin byl 2,6 % a želatina měla výborné pěnotvorné vlastnosti. Pěny jsou dvoufázové systémy s dispergovanou plynnou fází ve vodné. Bílkoviny jsou zde hlavní povrchově aktivní látky, které hrají klíčovou úlohu při zachycování vzduchu, snížením povrchového napětí na rozhraní fází. CDR želatina měla také mnohem vyšší viskozitu (5,5 mPa.s), než komerční želatina (2,9 mPa.s). Ukázalo se že CDR želatina je vhodná například pro přípravu marshmallow, protože želatina pro marshmallow by měla mít vysokou hodnotu Bloom i viskozitu a mít dobré pěnotvorné vlastnosti. Na základě srovnání s komerční želatinou bylo prokázáno, že želatina extrahovaná z CDR vykazuje vynikající vlastnosti a může být potenciálně použita jako alternativní zdroj k savcím želatinám a může být použita v různých aplikacích v potravinářském, farmaceutickém a fotografickém průmyslu.

### 3 APLIKACE PRODUKTŮ ZE ZPRACOVÁNÍ NEVYUŽITÝCH ČÁSTÍ ZVÍŘECÍCH TĚL

Aplikace produktů ze zpracování jatečných odpadů je možná v mnoha oblastech potravinářství, průmyslu a stranou nezůstává ani využití v medicíně. Dále jsou uvedeny některé možnosti využití.

#### 3.1 Složení a vlastnosti produktů ze zpracování nevyužitých částí zvířecích těl

Definice jedlých a nepoživatelných částí zvířecích těl se může lišit podle země (např. kuřecí nohy jsou kategorizovány jako jedlé jen v některých zemích). První z nich se skládá z různých druhů masa, jako jsou játra, srdce a žaludek, které jsou označovány jako “droby“ u drůbeže. Krev, která se někdy používá jako přísada v masném průmyslu, je také zahrnuta do této kategorie. Nepoživatelná část obsahuje části, jako jsou vnitřnosti (střeva), hlava a kosti, které se běžně používají v krmivu pro zvířata. Droby mají po patřičné tepelné úpravě obvykle vysoký obsah bílkovin a mohou být smíchány s jinými složkami (např. obiloviny, vitamíny) za účelem vytvoření vyváženého krmiva pro užitková zvířata a pro zvířata v zájmovém chovu. Jeden z hlavních produktů, masokostní moučka (MKM) se používá ve výživě zvířat jako zdroj bílkovin namísto dalších nákladnějších rostlinných bílkovin (např. sójové boby). MKM obsahuje většinu esenciálních aminokyselin, minerálů a vitamínu B12, které jsou potřeba ve výživě monogastrů a přežvýkavců [1].

#### 3.2 Využití produktů ze zpracování nevyužitých částí zvířecích těl

##### 3.2.1 Potravinářské aplikace

V potravinářství je jednou z nejužívanějších látek pocházejících ze zpracování částí zvířecích těl želatina. Je tvořena přibližně z 90 % proteiny a obsahuje všechny esenciální aminokyseliny s jedinou výjimkou, neobsahuje tryptofan. Její schopnost vytvářet gel při pokojové teplotě se využívá pro různé účely od přímé aplikace různě zbarvených a ochucených želé na povrchu cukrářských výrobků, dále jsou to aplikace ochranných filmů na produkty a polotovary, využití jako emulgátoru až po vysoce sofistikované využití při zapouzdření látek do gelových kapslí a mikro kapslí [22]. Schopnost želatiny disper-

govat ve vodném roztoku a absorbovat pěti až šestinásobek své vlastní hmotnosti ve vodě, dále široký rozsah možných hodnot viskozity a například i pěnová kapacita, která se liší podle typu a množství želatiny, jsou vlastnosti, které umožňují toto široké uplatnění [11].

Stále častější je aplikace jedlých filmů na bázi želatiny. Zkoumáno je i použití jedlých inteligentních filmů na bázi želatiny. Byly vytvořeny filmy na bázi želatiny a kurkuminu, připravené odlitím za použití vody a směsi etanolu jako rozpouštědel. Přidání kurkuminu, kromě ovlivnění fyzikálně – chemických vlastností želatinových filmů, se projeví změnou barvy filmu v závislosti na pH (žlutá při pH = 6 a červená při pH = 11). Poskytuje také filmy s důležitými antioxidačními vlastnostmi, avšak bez antimikrobiální aktivity. Tyto jedlé fólie by mohly být používány jako inteligentní balení potravin, protože mohou informovat spotřebitele o tom, zda je produkt vhodný ke konzumaci díky své schopnosti reagovat na změny pH [23].

I v potravinářství se stále více používá mikroenkapsulace a bioenkapsulace. Metody využívají různé nosiče důležitých složek potravin a jejich kontrolované uvolnění. Tyto technologie mohou hrát důležitou roli ve výrobě potravin, do kterých byly přidány přísady s přínosem pro zdraví. V případech kdy některé složky potravin vykazují reaktivitu vůči jiným molekulám potravy a produkují nežádoucí vedlejší produkty, které mohou vést ke zhoršení kvality potravin, zapouzdření je technologií využitelnou k ochraně důležitých složek potravin před takovými jevy. Jednou z možných látek pro tyto aplikace je právě želatina [24].

### 3.2.2 Medicinské aplikace

Biologicky odbouratelné polymery, jako polysacharidy (škrob) a proteiny (želatina, pšeničný gluten a kukuřičný zein), jsou již dlouho uznávány jako slibné materiály pro náhradu materiálů založených na syntetickém základu a lze je úspěšně použít při vývoji léků s řízenou distribucí a pro vývoj materiálů užívaných pro regeneraci tkání. Zajímavé je, že želatina typu A (kyselé opracování) poskytuje jinou mikro a nano strukturu než želatina typu B (alkalické opracování) při syntéze hybridních gelů pomocí kombinace želatiny (buď typu A nebo typu B) s 3 – glycidoxypropyltrimethoxysilanem (GOTMS) na podporu zesíťování proteinových makromolekul [25]. Želatina typu A poskytuje porézní materiál s nanovlákný a specifickým povrchem do 150 m<sup>2</sup>/g, zatímco želatina typu B tvoří materiál s globulární morfologií, většími dutinami a nižším poměrem povrchu k objemu.

Želatina patří mezi biologicky resorbovatelné polymery, které se často používají k výrobě mikročástic pro lékařské a farmaceutické použití, protože aplikace obvykle vyžadují částice existující v těle pouze dočasně. Uvolňování léčiva z želatinových mikročástic je řízeno enzymatickou degradací matrice nebo změnami v prostředí, jako je například zvýšená iontová síla, pokud interakce léku a polymeru závisí na náboji. Kinetika uvolňování léčiv, zabudovaných do těchto částic, může být přizpůsobena i mírou zesílení částic, což závisí na množství glutaraldehydu přidaného k zesíťování želatiny během výroby. Ukázalo se, že želatinové mikročástice zesíťované 10 mM glutaraldehydem, byly zcela degradovány po 9 dnech, zatímco u částic zesíťovaných 40 mM glutaraldehydem nebyla viditelná degradace po 28 dnech [26].

Hydrogely kolagenu jsou úspěšně využívány v regeneraci pokožky. Hydrogely jsou produkovány neutralizací roztoků kyselých kolagenů za dobře definovaných podmínek pH, iontové síly a teploty. Tyto hydrogely jsou osídleny dermálními fibroblasty, které na nich mohou růst a tvoří náhražku pokožky. Hustotu a tím i tuhost hydrogelu, lze zvýšit například zvýšením koncentrace kolagenu v roztoku. Hydrogely mohou být navíc zesíťovány, aby dále zlepšovaly svou pevnost v tahu pro zvýšení odolnosti vůči biologickému rozkladu. Mobilizované hydrogely jsou většinou určeny k ozdravení chronických ran tím, že poskytují zdroj růstových faktorů, hydratují ránu a nakonec ji chrání před kontaminací. Příkladem hydrogelu je Apligraf, který se používá jako dočasný obvaz například při léčbě chronických vředů dolních končetin.

„**3D bioprinting**“ je jednou z oblastí kde probíhá výzkum využití želatiny. Nedávné pokroky umožnily 3D tisk biokompatibilních materiálů, buněk a nosných komponent, do komplexních, 3D funkčních živých tkání. 3D bioprinting je automatizovaná, počítačem řízená depozice buněk, bio materiálů a biomolekul. Hardwarové vybavení tiskárny je řízeno softwarem pro přesné ukládání biologických materiálů vrstvu po vrstvě. Ve své nejjednodušší podobě používá 3D bioprinter stříkačku pro uložení bio materiálů a buněk (mezi 2 a 20 miliony buněk na ml) ve správných souřadnicích x y z, počítačem řízenými krokovými motory pro vytvoření požadované struktury. Při uložení materiálu může být rychlost a objem změněny, aby bylo zajištěno zachování 3 dimenzionální rozlišení tištěného objektu. Struktury vytvořené pomocí 3D bioprintingu se potom kultivují v bioreaktoru za specifických podmínek, aby se vytvořila fyziologicky relevantní tkáň [27].

3D bioprinting se využívá v regenerační medicíně, kde lze takto řešit potřebu tkání a orgánů vhodných k transplantaci. Ve srovnání s nebiologickým tiskem zahrnuje 3D bi-

oprinting další složité problémy. Zde nejde pouze o výběr materiálů, ale i typů buněk, růstové a diferenciační faktory a technické problémy související s citlivostí živých buněk a konstrukcí tkání [28]. Jedná se o kombinaci technologií z oblasti inženýrství, bio materiálů, buněčné biologie a rekonstrukční mikrochirurgie. 3D bioprinting, stejně jako u jiných produktů tkáňového inženýrství, bude muset splňovat platné předpisy správné výrobní praxe a získat souhlas od Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) nebo Evropské agentury pro léčivé přípravky (EMA). Tkáně kultivované pomocí 3D bioprintingu, které obsahují buňky, jsou agenturami FDA a EMA klasifikovány jako kombinované přípravky a vyžadují přísné klinické testy před jejich schválením pro rutinní použití. Hlavní překážkou je standardizace, validace a průběžná kontrola výroby 3D bioprintů od návrhu až po výrobu, což je extrémně obtížné pro přizpůsobitelný a tedy i proměnlivý proces [27]. Hlavní nevýhoda želatiny při použití v 3D bioprintingu spočívá v tom, že buněčné kultury musí být uchovávány při 37 °C a želatina je při této teplotě kapalná. Možností je chemická modifikace želatiny, která umožňuje vytvořit síťovou strukturu gelu při vyšších teplotách, glutaraldehydem a nebo bezvodým methakrylamidem. Obě tyto látky chemicky modifikují strukturu želatiny, což ji činí nerozpustnou (v případě bezvodého methakrylamidu je zapotřebí další foto iniciace UV zářením). Takto modifikovaná želatina musí mít dále upravený povrch, pro příznivý růst buněk na jejím povrchu. Želatina je tedy vhodná pro 3D bioprinting, protože může být během procesu tisku flexibilní a může být rovněž tvrzena chemickou reakcí nebo fyzikálními procesy [29]. Ale dlouhá doba expozice UV záření může také způsobit poškození a mutace DNA buněk, což vede k dlouhodobému poškození buněčné metabolické aktivity. Intenzita UV záření je tedy obvykle omezena na hodnotu 5 až 10 mW/cm<sup>2</sup>, aby se tomuto poškození zabránilo [30].

**Tvrdé želatinové kapsle** se skládají ze dvou kusů (víčko a tělo). Jejich výroba se provádí ponořením. Roztok želatiny je smíchán s dalšími složkami (např. barviva, opacifikační činidlo, smáčedla a maziva), tím dojde ke snížení viskozity roztoku a kovové kolíky (formy) se ponoří do nádoby obsahující konečný roztok želatiny. Víčko a tělo kapsle jsou vyráběny za použití různých forem a konečný obsah vody by měl být 13 až 16 hmotnostních %, protože voda působí jako změkčovadlo želatiny, zajišťuje vhodné mechanické vlastnosti kapsle (zabraňuje praskání nebo trvalé deformaci během výroby, manipulace nebo skladování). Z tohoto pohledu jsou důležité i podmínky skladování kapslí. K dispozici je široká škála velikostí kapslí od 0,20 do 0,67 ml. Plnění tvrdých tobolek probíhá pomocí různých mechanických technik. Tělo a víčko jsou poté spojeny, vzájemně se pře-

krývají a přítomnost těsně uzavřených pojistných kroužků zajišťuje uzavření bez netěsností v celém obvodu. Oddělení těla a uzávěru se nevyskytuje při normálních podmínkách uskladnění ani při klinickém použití [31].

**Měkké želatinové kapsle** se skládají z želatiny, plastifikátorů, vody a různých pomocných látek. V důsledku toho vykazují různé mechanické vlastnosti přidáním změkčovadel (například glycerolu, sorbitolu nebo jiného vícesytného alkoholu), což vede k pružnější struktuře. Umožňují možnost vyvinout formulace na bázi kapaliny, které poskytují větší  $C_{\max}$  než tablety. Hlavní tvary měkkých želatinových kapslí jsou podélné, kulaté, trubkové a oválné [31].

### 3.2.3 Technické aplikace

Pro technické aplikace se používá želatina v různé kvalitě tak, jak je to pro toto použití potřeba a v současnosti jsou známy již stovky různých použití želatiny v průmyslových procesech. **Fotografie** a s ní spojená výroba fotografických negativů a pozitivů je jednou z oblastí, kde je aplikována želatina už více než 100 let a jako taková pomohla k masovému rozšíření tohoto vynálezu levnou produkcí fotografických materiálů. Želatina se využívá například i při **restaurování** historických dokumentů nebo pro výrobu **mikro kapslí naplněných inkoustem**, které se používají na dokumentech u kterých je potřeba při jednom průpisu vytvořit více kopií. Základem je reakce mezi želatinou a arabskou gumou. Želatina různé kvality se používá i pro výrobu adhesiv. Další oblastí kde se využívá želatiny je výroba granulátů zadržujících vodu, které se aplikují při setí a sázení rostlin do kořenové zóny a slouží jako zásobárna vody při období sucha. Jejich nespornou výhodou je, že jsou plně biodegradabilní [22].



## **II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

## 4 CÍLE PRÁCE

Některé způsoby zacházení s odpady bílkovinné povahy z jateční výroby, a zejména ty, kdy se vedlejší produkty stávají odpadem, za jehož likvidaci je nutné platit, by jistě bylo vhodné nahradit zpracováním na produkty použitelné nejen pro výživu, ale i pro další využití např. v medicíně a průmyslu. Tedy produkty s vyšší přidanou hodnotou, které nezatěžují životní prostředí a přináší zpracovateli další zdroje, nejen finančních prostředků. Cílem teoretické části diplomové práce bylo popsat vedlejší produkty masného průmyslu a možné způsoby jejich zpracování. Dále byly uvedeny způsoby výroby želatiny z vedlejších bílkovinných produktů, z nichž jsou některé stále intenzivně zkoumány (např. odpady ze zpracování ryb a drůbeže), a některé oblasti kde je želatina aplikována. V publikovaných pracích lze nalézt zpracování různých částí drůbežích těl na želatinu (kůže, běháky a hlavy), ale zpracování kuřecích žaludků k těmto účelům je novinkou, dosud nikde nepublikovanou, a proto byla tato surovina zvolena pro zpracování v experimentální části.

Diplomová práce se zabývá návrhem technologických podmínek extrakce bílkovinných produktů (hydrolyzátů a želatin), biotechnologickým postupem s využitím enzymatického opracování suroviny (kuřecí žaludky). Hlavním cílem byl návrh technologických podmínek extrakce bílkovinných produktů, želatin/hydrolyzátů, tak aby byl výsledný výtěžek co nejvyšší. Experimenty byly provedeny s cílem posoudit vliv jednotlivých faktorů (dále uvedených) na množství a kvalitu extrahovaných hydrolyzátů/želatin s následující charakterizací získaných produktů a zhodnocením výsledků pro praxi.

## 5 MATERIÁLY, METODY A POSTUP PRÁCE

Při zpracování experimentů byly použity následující přístroje, materiály a postupy.

### 5.1 Přístroje, pomůcky, chemikálie

#### Přístroje a pomůcky

Řezačka masa SPAR Mixer SP-100AD-B (TH Industry RD, Taiwan), pH metr WTW pH 526, přístroj extrakční dle Soxhleta, ruční ponorný mixér TEFAL (HB711), třepací přístroj LT 2, laboratorní váhy Kern 440–47, analytické laboratorní váhy Kern 770, sušárna MEMMERT ULP 400, sušárna WTB Binder E-28-TB1, topné hnízdo LTHS 250 a 500 (výrobce Brněnská Drutěva v.a.), topná deska Schott s magnetickým míchadlem, Sevens-LFRA analyzátor (pro stanovení pevnosti gelu), diferenční snímací kalorimetr DSC1 Mettler Toledo, plastové lahve se šroubovacím uzávěrem o objemu 2 l pro odstranění nekolagenních bílkovin, Erlenmayerova baňka 2 l pro odtučnění, Erlenmayerova baňka 0,5 l pro enzymatické opracování, odměrný válec 25 ml, 250 ml, pipeta 2 ml, Petriho misky, váženky, baňka pro stanovení pevnosti gelu dle Blooma, filtrační papír nízké hustoty – KA-1 (Filpap, ČR), kovové sítko s rozměrem ok 0,5×0,5 mm, stříčka s destilovanou vodou, nůžky, keramický kelímeček, nepřilnavé podložky pro vysušení

#### Chemikálie

Enzym POLARZYME 6.0 T, 0,05% roztok NaOH, Aceton, 3% roztok HCl, chloroform, etanol, destilovaná voda

### 5.2 Metodika práce

Faktorové plánování je optimalizační metoda. Tato metoda je časově náročnější a velmi citlivá na chybu měření, ale poskytuje velké množství informací a zahrnuje i možné interakce mezi podmínkami. Cílem je navrhnout uspořádání pokusů, které by co nejlépe postihlo vliv těchto faktorů popř. i jejich interakce. Úplný faktorový plán, který se používá při nižším počtu faktorů (optimální 2 nebo 3), spočívá v postupném otestování všech možných kombinací faktorů. Pokud jsou uvažovány dvě úrovně faktoru (horní a dolní hodnota), používá se k určení množství pokusů vzorec  $2^k$ , kde „k“ je počet faktorů. Při úplných faktorových plánech jsou provedeny všechny možné kombinace úrovní sledovaných faktorů. Vzhledem k množství experimentů se úplný faktorový plán zjednodušuje různými způsoby, například využitím jedno faktorového plánu nebo částečného faktoro-

vého plánu, který navrhuje jen polovinu, čtvrtinu nebo osminu pokusů oproti úplnému faktorovému plánu. Další možností jsou takzvané smíšené faktorové experimenty. Při jejich plánování je navržen různý počet úrovní pro jednotlivé faktory. Nejsou zde uvažovány pouze dvě hodnoty faktoru (horní a dolní), ale je navržena změna faktoru v daném intervalu v několika úrovních s pravidelnou změnou faktoru. Pro počet experimentů se použije vzorec  $j^m \times k^n$ , tj.  $m$  faktorů je dáno o  $j$  úrovních a  $n$  faktorů o  $k$  úrovních [32].

Ukázalo se, že koncentrace enzymu a doba enzymatického opracování v návrhu experimentů nebudou ukazateli, které by ovlivňovaly při použití maximální a minimální hranice těchto faktorů konečné výsledky extrakce. Byly tedy navrženy u těchto dvou faktorů konstantní hodnoty ve výši 0,4 % k sušině suroviny u enzymu (w/w) a doba opracování enzymem byla zvolena konstantně v délce 48 hodin. Faktory, jejichž hodnoty se měnily, byla doba extrakce ve dvou úrovních 15 a 60 minut a teplota extrakce v rozmezí 60–72 °C. Teplota byla měněna v krocích po 3 °C.

### 5.3 Metody analýzy surovin a produktů

Pro analýzy produktů byly použity postupy „Standardní testovací metody pro jedlé želatiny“ (Standard testing method for edible gelatin) [33].

#### Stanovení obsahu sušiny

Stanovení sušiny bylo provedeno u odtučněné suroviny a výsledek byl použit pro výpočet množství přidaného enzymu v g (w/w) podle faktoru A. Byla provedena 2 stanovení, ze kterých se poté vypočítal průměr. Do předsušených misek byl na analytických vahách navážen přibližně 1 g suroviny s přesností na 4 desetinná místa. Poté byly misky vloženy do sušárny a sušeny při  $103 \pm 1$  °C po dobu 3 h. Následně byly misky vloženy do exsikatoru a po vychladnutí zváženy na analytických vahách, opět s přesností na 4 desetinná místa.

Výpočet sušiny byl proveden podle následujícího vztahu:

$$S = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100 [\%]$$

S...obsah sušiny ve vzorku [%]

$m_1$ ...hmotnost vzorku po vysušení [g]

$m_0$ ...hmotnost vzorku před vysušením [g]

### Stanovení obsahu popelovin

Obsah popelovin byl stanoven ze vzorků pro stanovení sušiny vždy 2× pro každý vzorek. Do vyžíhaného kelímku bylo naváženo 0,5 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Poté byl vzorek v kelímku spalován nad kahanem v digestoři po dobu přibližně 1 hodiny. Následně byl kelímek umístěn na dobu 3 hodin do muflové pece, předem vyhřáté na 600 °C. Po zchlazení při laboratorní teplotě byl vzorek vložen do exsikátoru, kde vychladl a byl zvážen, opět na analytických vahách.

Výpočet obsahu popelovin byl proveden podle následujícího vztahu:

$$P = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100 [\%]$$

P...obsah popelovin ve vzorku [%]

$m_1$ ...hmotnost kelímku se vzorkem po spálení [g]

$m_0$ ...hmotnost kelímku se vzorkem před spálením [g]

### Stanovení pevnosti gelu dle Blooma

Metoda stanovení pevnosti gelu dle Blooma se provádí vtlačováním válečku o průměru 12,7 mm za přesně definovaných podmínek do připraveného gelu. Ke stanovení je připraven gel o koncentraci želatiny 6,67 % (w/w), tj. 7,5 g želatiny a 105 g destilované vody. Ten je skladován 16-18 hodin při teplotě 10 °C. Následně je gel podroben zkoušce. Výsledkem měření je hodnota Bloom (gram), která určuje zátěž (sílu v gramech) potřebnou ke stlačení gelu o 4 mm. Čím větší hodnota Bloom je naměřena, tím kvalitnější je želatina (gel). Protože v experimentech nebylo vyextrahováno dostatečné množství želatiny pro stanovení pevnosti dle Blooma, bylo použito menších navážek želatiny, do nádob o menším objemu než standardní nádoby. Následně byl použit přepočítávací koeficient, aby výsledky odpovídaly výsledkům dosaženým za standardních podmínek. Předepsané (metoda A) a upravené (metody B a C) podmínky jsou zaznamenány v Tab. 1.

Tab. 1. Stanovení pevnosti dle Blooma

| Metoda | Navážka želatiny [g] | Navážka vody [g] | Nádoba   | Přepočítávací faktor |
|--------|----------------------|------------------|--|----------------------|
| A      | 7,50                 | 105              | vnější průměr 66 mm, vnitřní 59 mm a výška 85 mm | –                    |
| B      | 3,00                 | 42               | vnější průměr 50 mm, vnitřní 44 mm a výška 50 mm | 1,26                 |
| C      | 1,50                 | 21               | vnější průměr 40 mm, vnitřní 35 mm a výška 50 mm | 1,64                 |

### Stanovení kinematické viskozity

Viskozita byla stanovena měřením doby průtoku, 17 ml roztoku želatiny v destilované vodě o koncentraci 6,67 % (w/w), Ubbelohdeho viskozimetrem při teplotě 60 °C. Naměřená doba průtoku byla přepočítána na viskozitu dosazením do níže uvedeného vzorce.

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

v...kinematická viskozita [mm<sup>2</sup>/s]

B...konstanta ke korekci na kinetickou energii určená z rozměrů viskozimetru (2,8)

k...konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou (0,5)

t...aritmetický průměr změřených průtokových dob [s]

### Stanovení čirosti želatiny

Čirost 6,67% želatinového roztoku se stanoví při 45 °C měřením transmitance přes kyvetu 1 cm při vlnové délce 640 nm (kalibrace na destilovanou vodu).

### Stanovení teploty tání želatinového gelu

Pro stanovení teploty tání gelu želatin byla použita metoda diferenční snímací kalorimetrie. Vzorek gelu (v množství 30–50 mg), po měření pevnosti gelu, byl navážen do Al vzorkovnice pro měření DSC a hermeticky uzavřen. Vzorek byl umístěn do měřicí cely spolu s referencí, došlo k jeho ochlazení na 5 °C, které trvalo 15 min a měření tepelného toku poté probíhalo s rychlostí záhřevu 5 °C/1 min. Po zahřátí na teplotu 50 °C, byl vzorek opět zchlazen na 5 °C, rychlostí 5 °C/1 min. Získaná data byla zpracována v tabulkovém procesoru a vyjádřena graficky.

## 5.4 Bilanční rovnice

Zde jsou uvedeny rovnice použité pro bilanci a hodnocení stupně konverze výchozího materiálu (žaludky) na produkt (želatina/hydrolyzát).

**Konverze na hydrolyzát** (po neutrálním opracování výchozího materiálu enzymem – 1. stupeň)

$$H = \left| \left( \frac{\xi_H}{\xi_S} \right) \right| \times 100$$

**Konverze na želatinu/hydrolyzát** (extrakce želatiny – 2. stupeň)

$$\text{Ž}/H = \left| \left( \frac{\xi_{\text{Ž}}}{\xi_S} \right) \right| \times 100$$

**Celková účinnost extrakce**

$$\Sigma_{\text{Ž}+H} = \left| \left( \frac{\xi_H + \xi_{\text{Ž}}}{\xi_S} \right) \right| \times 100$$

**Bilanční chyba**

$$B. CH. = |100 - (\xi_H + \xi_{\text{Ž}} + NP)|$$

$\xi_H$ ...množství extrahovaného hydrolyzátu

$\xi_{\text{Ž}}$ ...množství extrahované želatiny

$\xi_S$ ...množství sušiny odtučněné a vyčištěné suroviny

NP...nerozložený podíl

## 5.5 Postup zpracování kuřecích žaludků

Jako vedlejší bílkovinný produkt jatečního průmyslu byly zvoleny kuřecí žaludky. Surovinu dodala RACIOLA Uherský Brod, spol. s r.o. Složení vstupní suroviny bylo následující: obsah sušiny: 19,1±0,05 %; v sušině bylo stanoveno: celkový obsah bílkovin: 75,6±0,8 %, z toho podíl kolagenu v bílkovinách: 98,5±0,1 %, obsah tuku: 21,7±0,01%, minerální látky: 3,9±0,005 %. Kuřecí žaludky byly rozmělněny na částice o velikosti cca 3 mm pomocí upravené řezačky masa (dvoufázový proces mletí a homogenizace suroviny: v prvním stupni mletí použita řezná deska ve tvaru ledviny a v druhém stupni ve tvaru kruhu o průměru 5 mm) a poté zamrazeny pro další zpracování na FT Univerzity To-

máše Bati ve Zlíně. Dále je uvedeno blokové schéma zpracování (Obr. 9) a fotografie detailu řezných desek (Obr. 7 a 8).

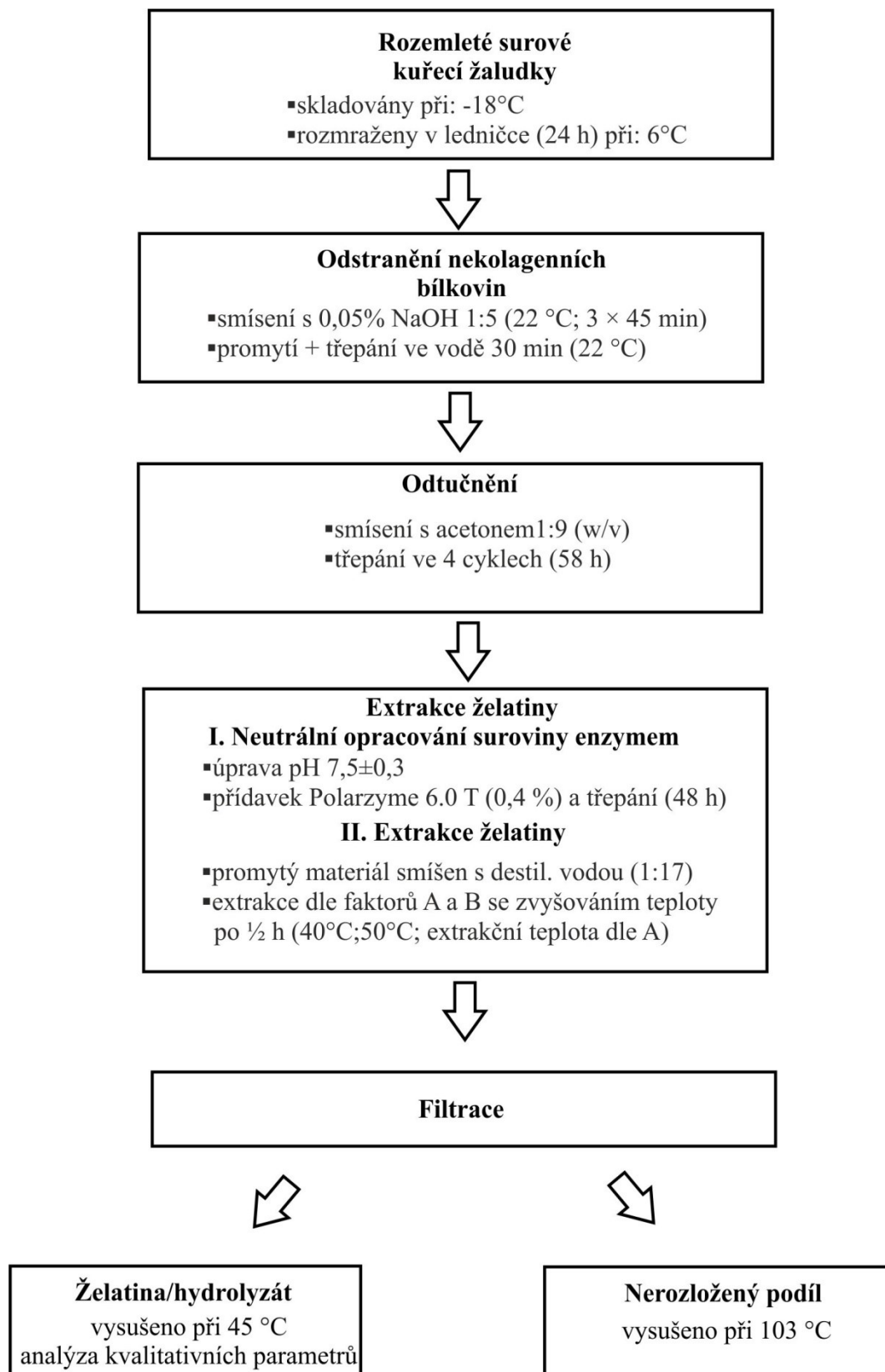


Obr. 7. Detail řezné desky tvaru ledviny



Obr. 8. Detail řezné desky s kruhovými otvory 5 mm





Obr. 9. Blokové schéma zpracování kuřecích žaludků na želatiny/hydrolyzáty

### 5.5.1 Příprava odtučněných a přečištěných žaludků

#### *Odstranění nekolagenních bílkovin*

Opakovaně 3× po sobě bylo provedeno smíšení suroviny s 0,05 % NaOH v poměru 1:5 (w/v), tj. 200 g navážky suroviny a následně třepání 45 min při pokojové teplotě. Poté byla surovina smíchána s vodou v poměru 1:5 (w/v) a třepána dalších 30 min při pokojové teplotě. Následovala filtrace na kuchyňském sítku a promytí vodou. Surovina byla poté rozprostřena na plechu na nepřilnavou folii a vložena do sušárny s cirkulací vzduchu, kde se sušila při teplotě 35 °C cca 48 hodin. Po usušení byla surovina pomocí ručního ponorného mixéru rozmělněna na menší (cca 2–4 mm) částice.

#### *Odtučnění*

Přesušená surovina byla smíšena s acetonem v poměru 1:7 (w/v) v Erlenmayerově baňce (bylo použito 50 g suroviny). Směs byla třepána při pokojové teplotě, na třepačce po dobu 58 hodin. Byly provedeny 4 navazující třepací cykly (vždy s novým rozpouštědlem), výměna rozpouštědla proběhla po 6, 18, 10 a 24 hodinách třepání. Po ukončení odtučňování byla po filtraci odtučněná surovina rozprostřena na plech a ponechána cca 30 minut v digestoři pro odpaření zbylého rozpouštědla a pak byla ještě nechána volně ležet k dosušení. Odtučněná surovina byla skladována v uzavřené nádobě.

### 5.5.2 Extrakce želatiny

#### *Neutrální opracování výchozího materiálu enzymem (1. stupeň)*

Pro neutrální opracování enzymem byl použit následující postup. Surovina + destilovaná voda byla smíchána v poměru  $\approx 1:12$  (bylo použito 15 g suroviny). Po cca 15 minutách třepání bylo upraveno pH na  $7,5 \pm 0,3$  pomocí 3% roztoku HCl. Byl přidán enzym v množství 0,4 % – množství enzymu je vztaženo na sušinu suroviny. Dále pokračovalo třepání při pokojové teplotě po dobu 48 hodin. Po uplynutí 48 hodin byla provedena filtrace přes kuchyňské sítko, které bylo opatřeno ještě 3 vrstvami PA tkaniny, a ta byla vysušena s nerozloženým podílem. Přefiltrovaná kapalina byla vylita na nepřilnavou podložku a vysušena (tento vyextrahovaný podíl byl označen jako „Hydrolyzát“). Materiál zachycený na kuchyňském sítku byl důkladně promyt běžnou vodou z kohoutku, aby se odstranil veškerý enzym.

***Extrakce želatiny (2. stupeň)***

Promytý materiál byl smíšen s destilovanou vodou v poměru  $\approx 1:17$  (počítalo se s 15 g výchozí tkáně). Směs byla zahřáta na teplotu 40 °C a po dosažení této teploty se míchala 30 minut (magnetické míchadlo), byl zaznamenán čas, za který bylo dosaženo teploty 40 °C. Následně byla teplota směsi zvýšena na 50 °C a po dosažení této teploty se míchala 30 minut (magnetické míchadlo) a opět byl zaznamenán čas, za který bylo dosaženo teploty 50 °C. Nakonec byla směs zahřáta na konečnou extrakční teplotu podle Faktoru B (tj. 60, 63, 66, 69 nebo 72 °C) a po dosažení této teploty byla extrahována želatina podle faktoru A (15 nebo 60 minut za míchání magnetickým míchadlem). Ihned po uplynutí času extrakce byla provedena filtrace a přefiltrovaná kapalina byla zahřáta k varu a při této teplotě se udržovala 3 minuty (je to z důvodu inaktivace zbytků enzymu). Roztok byl nalit na plech o ploše 600 cm<sup>2</sup> s nepřilnavou folií a vysušen při 45 °C, cca 2 dny a vysušený film byl zvážen. Nerozložený podíl byl vysušen při 103 °C a následně zvážen spolu s tkaninou použitou při filtraci (PA tkanina použitá k filtraci na sítku byla zahrnuta do hmotové bilance). U některých experimentů byla zkušebně provedena ještě 2. extrakce z nerozloženého podílu po 1. extrakci (extrakční doba 15–60 min, extrakční teplota 80–100 °C). Nakonec byla provedena hmotová bilance (sušiny) a vypočtena účinnost extrakce.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V následujících kapitolách 6.1 a 6.2 jsou zhodnoceny výsledky provedených experimentů a následných analýz získaných želatin/hydrolyzátů.

### 6.1 Výsledky experimentů

V průběhu experimentů bylo připraveno 11 želatin/hydrolyzátů dle rozpisu, tak jak je uveden v tabulce č. 2 na str. 37. Množství hydrolyzáta získaného po enzymatickém opracování v 1. stupni se pohybovalo mezi 2,26–4,23 %. Výtěžek želatiny/hydrolyzáta byl 5,94–24,75 %. U některých experimentů byla po 1. extrakci provedena ještě 2. extrakce, u níž byl výtěžek želatiny/hydrolyzáta 3,22–7,08 %. Množství nerozloženého podílu po extrakci se pohybovalo mezi 62,47–88,50 %. Celková účinnost extrakce byla 9,86–32,84 %. Pevnost gelu želatin/hydrolyzátů byla naměřena v rozmezí od 16 do 162 Bloom, ne všechny připravené vzorky však vytvořily gel (ve výsledcích je u takovýchto vzorků uvedena pevnost gelu Bloom = 0). Obsah popelovin byl stanoven v rozmezí hodnot 1,22–6,61 %. Naměřené hodnoty viskozity byly 0,57–1,94 mm<sup>2</sup>/s. Některé vzorky nebyly měřeny z důvodu malého množství vyextrahovaných želatin/hydrolyzátů pro které nemohl být připraven roztok o předepsané koncentraci (minimální potřebné množství roztoku je 16 ml a ve výsledcích je u takovýchto vzorků uvedena viskozita = 0). Naměřené hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí 6,8–7,4. Sušina u odtučněné suroviny byla stanovena v rozmezí 93,11–94,82 % a zbytkový tuk odtučněné suroviny byl stanoven v množství 9,55 %. Měřením transmitance 6,67% roztoku želatin/hydrolyzátů byly zjištěny hodnoty 0,9–2,5 %. Výsledky experimentů byly zpracovány pomocí software MiniTab 15, který slouží pro statistické zpracování dat.

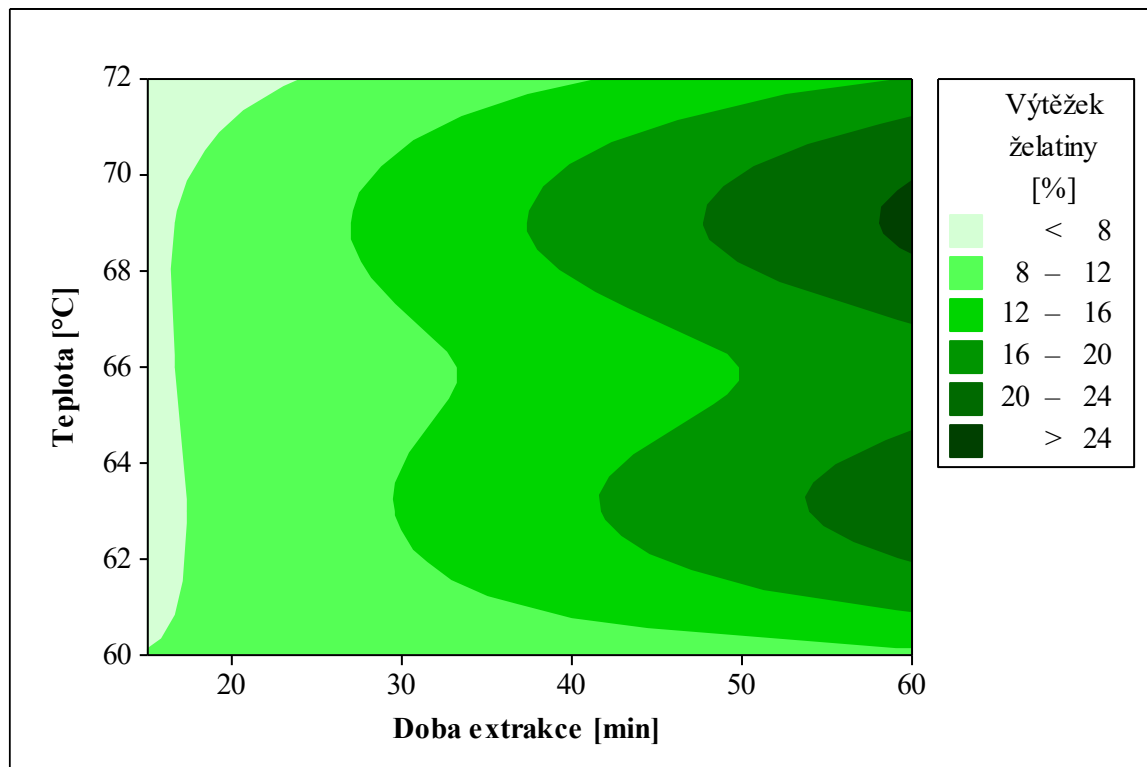
Tab. 2. Rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů

| Experiment č.    | Technologické podmínky                  |                              | Charakterizace procesu  |                      |                                   |                               |                    | Charakterizace připravené želatiny |                                |                                |     |            |
|------------------|---|------------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----|------------|
|                  | Faktor A Teplota extrakce želatiny [°C] | Faktor B Doba extrakce [min] | Výtěžek hydrolyzátu [%] | Výtěžek želatiny [%] | Množství nerozloženého podílu [%] | Celková účinnost extrakce [%] | Bilanční chyba [%] | Pevnost gelu [Bloom]               | <sup>1)</sup> Obsah popela [%] | Viskozita [mm <sup>2</sup> /s] | pH  | Sušina [%] |
| 1                | 60                                      | 15                           | 3,15                    | 8,06                 | 85,3                              | 11,21                         | 3,5                | 0                                  | 3,23                           | 0,00                           | 6,8 | 94,43      |
| 2                | 60                                      | 60                           | 3,66                    | 5,13                 | 84,7                              | 14,65                         | 6,5                | 0                                  | 6,61                           | 0,00                           | 7,0 | 94,22      |
| 3                | 63                                      | 15                           | 3,69                    | 7,23                 | 87,6                              | 10,91                         | 1,5                | 0                                  | 3,31                           | 0,00                           | 6,9 | 94,46      |
| 4                | 63                                      | 60                           | 3,30                    | 21,98                | 62,5                              | 31,87                         | 5,7                | 77                                 | 1,49                           | 1,30                           | 7,1 | 94,61      |
| 5                | 66                                      | 15                           | 2,26                    | 7,60                 | 88,5                              | 9,86                          | 1,7                | 0                                  | 3,43                           | 0,00                           | 6,8 | 94,14      |
| 6                | 66                                      | 60                           | 3,69                    | 18,44                | 69,0                              | 29,20                         | 5,4                | 0                                  | 2,20                           | 0,57                           | 7,1 | 93,11      |
| 7                | 69                                      | 15                           | 3,69                    | 7,37                 | 83,4                              | 16,00                         | 3,2                | 0                                  | 3,55                           | 0,00                           | 7,0 | 93,61      |
| 8                | 69                                      | 60                           | 3,12                    | 24,75                | 67,1                              | 32,84                         | 1,0                | 162                                | 1,22                           | 1,94                           | 7,4 | 94,32      |
| 9                | 72                                      | 15                           | 4,23                    | 5,94                 | 79,8                              | 16,85                         | 10,0               | 0                                  | 2,83                           | 0,00                           | 7,1 | 93,20      |
| 10               | 72                                      | 60                           | 3,66                    | 16,12                | 70,9                              | 26,67                         | 6,0                | 16                                 | 1,94                           | 0,57                           | 7,3 | 93,47      |
| 11 <sup>2)</sup> | 66                                      | 40                           | 4,1                     | 11,50                | 83,4                              | 18,32                         | 1,5                | 0                                  | 2,29                           | 0,00                           | 7,0 | 94,58      |

1) % v sušině produktu

2) Referenční experiment bez enzymatického opracování suroviny

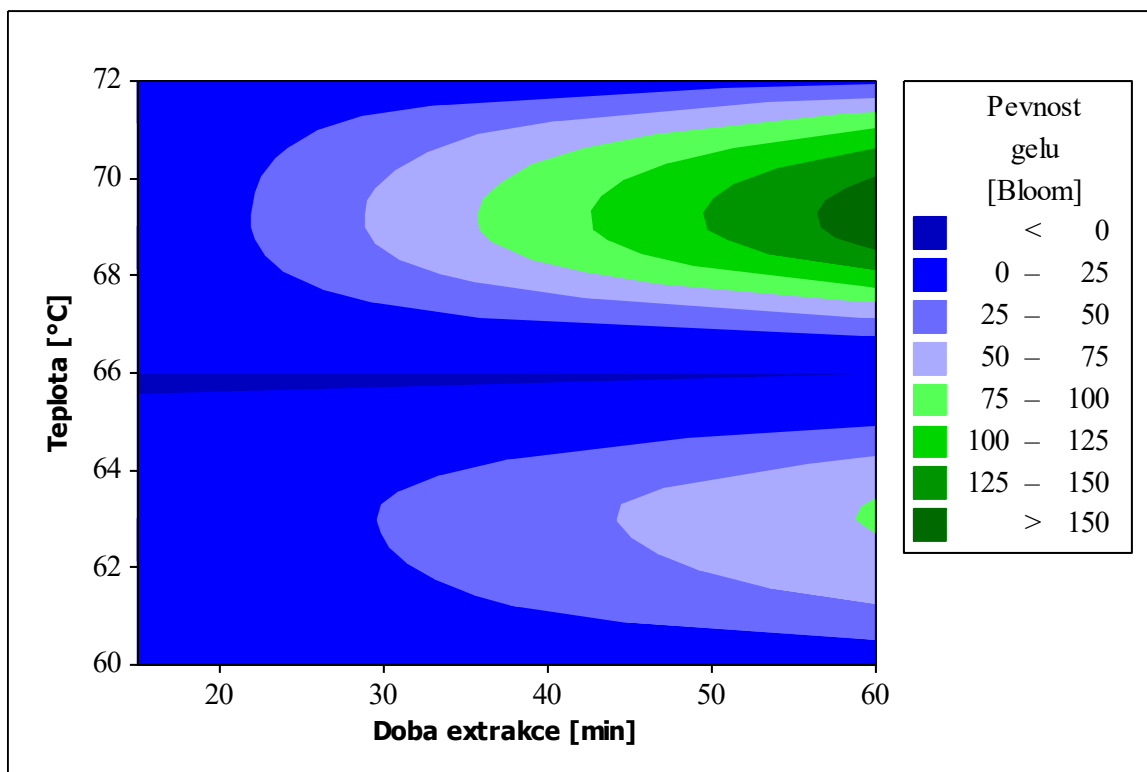
### 6.1.1 Množství vyextrahovaných želatin/hydrolyzátů



Obr. 10. Množství vyextrahované želatiny/hydrolyzátu v závislosti na teplotě a době extrakce

Z grafu č. 10 je patrné, že nejvyššího výtěžku želatiny/hydrolyzátu bylo dosaženo při extrakci trvající 60 minut při teplotě 69 °C. To odpovídá pozorování v průběhu prováděných extrakcí, kdy při překročení teploty 65 °C došlo k redukci objemu částic suroviny a ke změně jejich zbarvení (z lehce nažloutlé se změnila na světle hnědou). Zároveň je z grafu vidět, že při zvýšení teploty extrakce na 72 °C došlo ke snížení množství extrahované želatiny/hydrolyzátu o 35 %. Z grafu dále vyplívá, že při extrakci trvající 15 minut nemá teplota na výtěžek téměř žádný vliv, a při překročení teploty 70 °C, při takto krátké extrakci, dochází k poklesu výtěžku želatiny/hydrolyzátu.

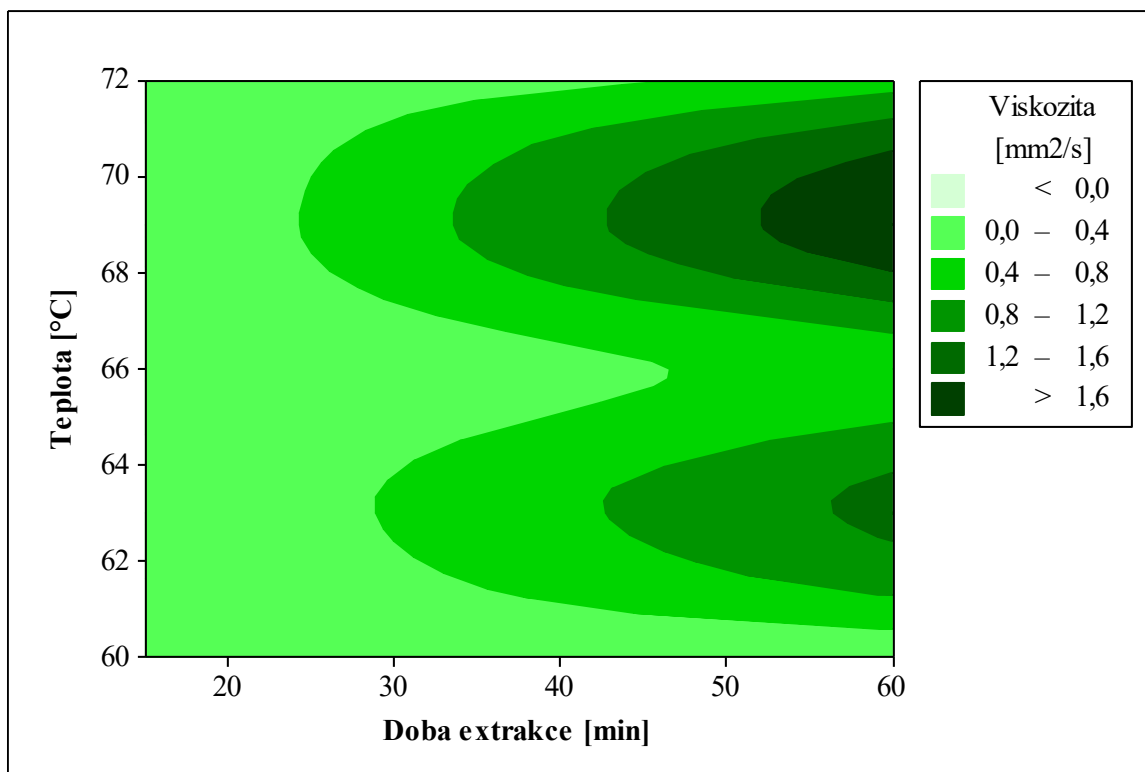
### 6.1.2 Pevnost gelu želatin



Obr. 11. Pevnost gelu v závislosti na teplotě a době extrakce

Z grafu č. 11 je patrné, že kvalita připravených želatin/hydrolyzátů byla nízká. Některé vzorky netvořily gel ani při 10 °C v lednici (extrakce provedená při teplotě 60 a 66 °C, v délce 15 minut i 60 minut). U ostatních teplot při době extrakce 15 minut vzorky též netvořily gel, ale při prodloužení extrakční doby na 60 minut, již k tvorbě gelu docházelo. Nejnižší hodnotu měl vzorek extrahovaný při 72 °C a to 16 Bloom. Vyšší hodnotu pevnosti gelu měl vzorek extrahovaný při 63 °C a to 77 Bloom. Nejvyšší pevnost vykazoval vzorek extrahovaný při 69 °C s hodnotou 162 Bloom.

### 6.1.3 Viskozita želatin/hydrolyzátů

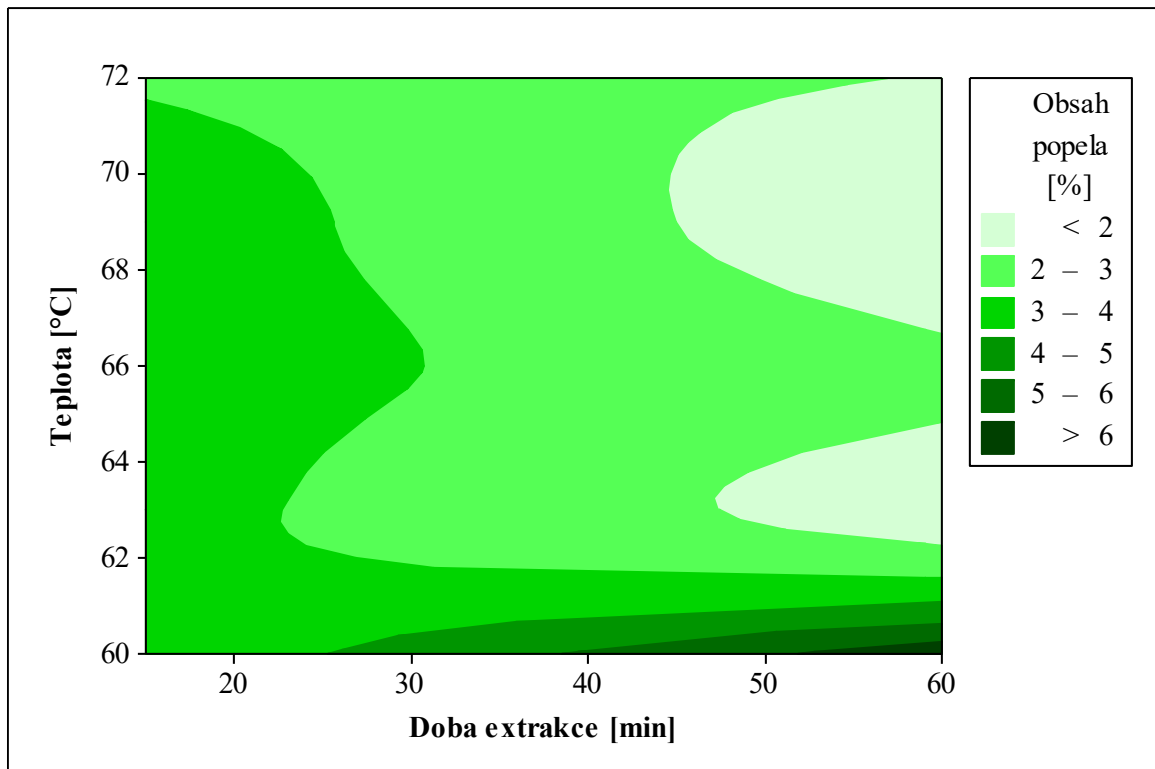


Obr. 12. Viskozita v závislosti na teplotě a době extrakce

Z grafu č. 12 vyplývá, že při krátké době extrakce, nemá teplota žádný vliv na viskozitu získaných želatin/hydrolyzátů a její hodnoty jsou velmi nízké. To se změnilo při prodloužení extrakční doby. Při prodloužení extrakční doby a zvýšení extrakční teploty na 69 °C, vykazovala želatina nejvyšší hodnotu 1,94 mm<sup>2</sup>/s. Želatina extrahovaná při vyšší teplotě měla ale opět hodnotu viskozity nižší, a to 0,57 mm<sup>2</sup>/s.



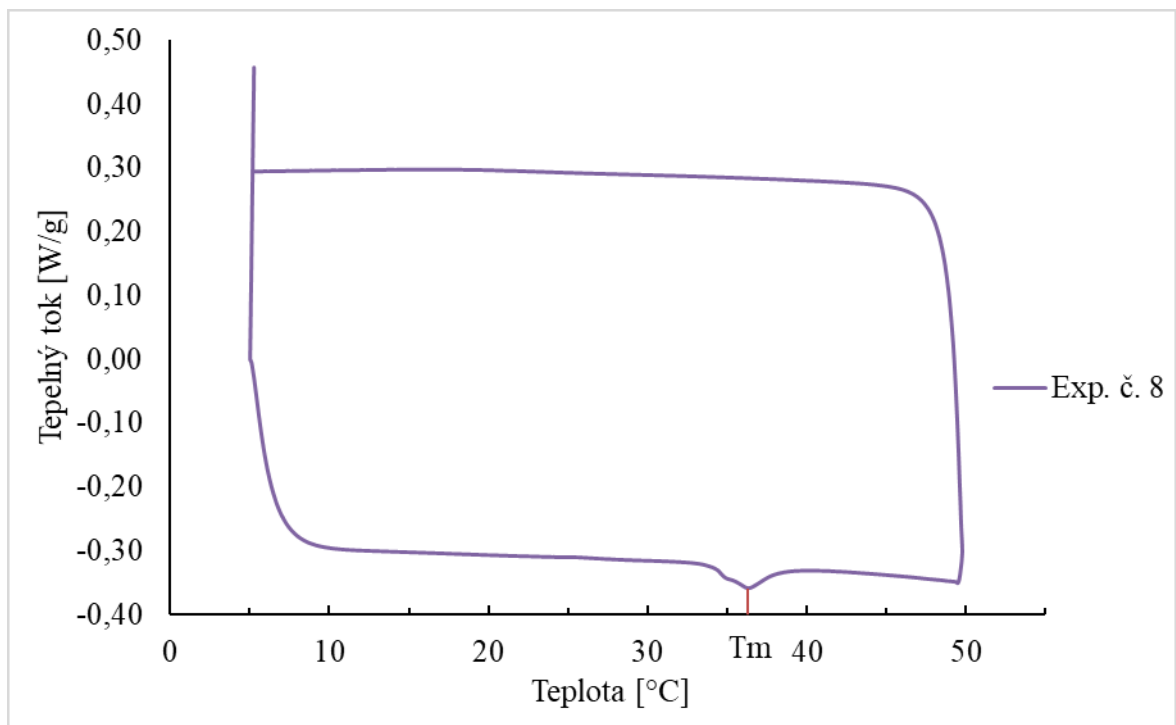
### 6.1.4 Obsah popela



Obr. 13. Obsah popelovin v závislosti na teplotě a době extrakce

Z grafu č. 13 vyplívá, že obsah popelovin byl v extrahovaných želatinách/hydrolyzátech značně variabilní a v mnoha případech výrazně překračoval maximální hodnotu povolenou pro jedlé želatiny. Nejvyšší obsah popelovin, překračující tuto hranici více jak trojnásobně, byl zjištěn u želatin/hydrolyzátů extrahovaných při nízkých teplotách po delší dobu.

### 6.1.5 Teplota tání želatinových gelů



Obr. 14. DSC křivka – určení teploty tání želatinového gelu (experiment č. 8)

Jak je patrné z grafu č. 14, měřením DSC na přístroji Metler Toledo pro experiment č. 8 (0,4 % enzymu w/w – vztaženo na sušinu suroviny; opracování 48 h; doba extrakce 60 min; teplota extrakce 69 °C), byla stanovena teplota tání želatinového gelu 36,6 °C. Všechny měřené vzorky měly teplotu tání gelu v rozmezí 35–37 °C.

## 6.2 Faktorové pokusy $2^k$

Po provedení experimentů podle schématu navrženého jako faktorové pokusy smíšené, byly provedeny ještě extrakce podle schématu  $2^k$ . Postupně byly navrženy tři schémata experimentů, vždy se třemi faktory. Ve všech byla faktorem A zvolena koncentrace enzymu pro opracování suroviny před extrakcí (0,1–0,9 % w/w, vztaženo na sušinu odtučněné suroviny). Faktorem B byla doba enzymatického opracování (16–48 h). Faktorem C byla nejprve, v prvním schématu, zvolena teplota extrakce želatiny (60–80 °C), a na tuto teplotu byl systém ohříván stejně jako ve smíšených experimentech. Nejprve proběhl co nejrychlejší ohřev na 40 °C, poté udržování této teploty po dobu 30 min a následný ohřev na 50 °C s opětovným udržováním teploty po dobu 30 min. Pak byl proveden ohřev na extrakční teplotu a vlastní extrakce probíhala po dobu 30 min. V dalších dvou schématech byla faktorem C zvolena doba extrakce (40–200 min při 80–85 °C) a systém byl na extrakční teplotu ohříván ihned. Vzhledem k časové náročnosti provedení experimentů podle kompletních schémat, byly zvoleny tzv. neúplné faktorové experimenty. Zvoleny byly vždy okrajové podmínky, pro ověření předpokládaných výsledků, vzhledem k provedeným smíšeným experimentům. Je to jedna z možností, která se využívá v rámci faktorového plánování experimentů.

6.2.1 1. série 2<sup>k</sup>Tab. 3. 1. část 2<sup>k</sup> faktorových pokusů – rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů

| Experiment č. | <sup>1)</sup> Technologické podmínky  |  |   | Charakterizace procesu        |                            |                                     |  | Charakterizace připravené želatiny |                                      |  |     |               |
|---------------|---------------------------------------|--|---|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|--|------------------------------------|--------------------------------------|--|-----|---------------|
|               | Faktor A<br>Přídavek<br>enzymu<br>[%] | Faktor B<br>Doba enzy-<br>matického<br>opracování<br>[h] | Faktor C<br>Teplota<br>extrakce<br>želatiny<br>[°C] | Výtěžek<br>hydrolyzátu<br>[%] | Výtěžek<br>želatiny<br>[%] | Množství<br>tuhého<br>podílu<br>[%] | Celková<br>účinnost<br>extrakce<br>[%] | Pevnost<br>gelu<br>[Bloom]         | <sup>2)</sup> Obsah<br>popela<br>[%] | Visko-<br>zita<br>[mm <sup>2</sup> /s] | pH  | Sušina<br>[%] |
| 1             | 0,3                                   | 16   | 60  | 2,21                          | 10,32                      | 87,0                                | 12,54                                  | 9                                  | 2,21                                 | 1,3                                    | 7,1 | 93,1          |
| 2             | 0,9                                   | 48   | 80  | 6,68                          | 8,57                       | 83,5                                | 15,25                                  | 20                                 | 2,46                                 | 1,3                                    | 7,1 | 93,1          |
| 3             | 0,6                                   | 32   | 70  | 0,74                          | 32,67                      | 61,7                                | 33,41                                  | 61                                 | 1,32                                 | 1,3                                    | 7,0 | 94,9          |

1) konstantní doba extrakce 30 min

2) % v sušině produktu

V této sérii experimentů byly zvoleny okrajové podmínky a jeden centrální experiment. Probíhal zde ohřev systému v několika úrovních, stejně jako u smíšených experimentů. Z výsledků je patrné, že maximální hodnoty faktorů nepřinesly maximální hodnoty výtěžku a kvalitativních parametrů. Lepších hodnot dosáhl středový experiment, pouze výtěžek hydrolyzátu byl významně nižší.

6.2.2 2. série 2<sup>k</sup>Tab. 4. 2. část 2<sup>k</sup> faktorových pokusů – rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů

| Experiment č. | <sup>1)</sup> Technologické podmínky  |  |   | Charakterizace procesu        |                                 |                                     |  | Charakterizace připravené želatiny |                                      |  |     |               |
|---------------|---------------------------------------|--|---|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--|------------------------------------|--------------------------------------|--|-----|---------------|
|               | Faktor A<br>Přídavek<br>enzymu<br>[%] | Faktor B<br>Doba enzy-<br>matického<br>opracování<br>[h] | Faktor C<br>Doba ex-<br>trakce<br>želatiny<br>[min] | Výtěžek<br>hydrolyzátu<br>[%] | Výtě-<br>žek<br>želatiny<br>[%] | Množství<br>tuhého<br>podílu<br>[%] | Celková<br>účinnost<br>extrakce<br>[%] | Pevnost<br>gelu<br>[Bloom]         | <sup>2)</sup> Obsah<br>popela<br>[%] | Visko-<br>zita<br>[mm <sup>2</sup> /s] | pH  | Sušina<br>[%] |
| 1             | 0,3                                   | 16   | 40  | 2,97                          | 4,45                            | 89,9                                | 7,42                                   | 68                                 | 2,69                                 | 0,00                                   | 7,1 | 94,7          |
| 2             | 0,9                                   | 48   | 200   | 5,94                          | 17,82                           | 73,1                                | 23,76                                  | 150                                | 1,28                                 | 1,94                                   | 7,0 | 94,7          |

1) konstantní teplota extrakce 85 °C

2) % v sušině produktu

Ve druhé sérii 2<sup>k</sup> experimentů byly zvoleny pouze okrajové podmínky a změnil se faktor C z teploty extrakce na dobu extrakce. Z výsledků je vidět, že sice poklesl výtěžek želatiny, ale pevnost gelu se významně zvýšila. Zde už nebyl prováděn postupný ohřev jako u smíšených experimentů, ale systém byl ohříván na extrakční teplotu co nejdříve s rychlostí 6 °C/min.

6.2.3 3. série 2<sup>k</sup>Tab. 5. 3. část 2<sup>k</sup> faktorových pokusů – rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů

| Experiment č. | 1) Technologické podmínky             |  |  | Charakterizace procesu        |                            |                                     |  | Charakterizace připravené želatiny |                           |  |     |                    |
|---------------|---------------------------------------|--|--|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|--|------------------------------------|---------------------------|--|-----|--------------------|
|               | Faktor A<br>Přídavek<br>enzymu<br>[%] | Faktor B<br>Doba enzy-<br>matického<br>opracování<br>[h] | Faktor C<br>Doba ex-<br>trakce žela-<br>tiny [min] | Výtěžek<br>hydrolyzátu<br>[%] | Výtěžek<br>želatiny<br>[%] | Množství<br>tuhého<br>podílu<br>[%] | Celková<br>účinnost<br>extrakce<br>[%] | Pevnost<br>gelu<br>[Bloom]         | 2) Obsah<br>popela<br>[%] | Visko-<br>zita<br>[mm <sup>2</sup> /s] | pH  | Suší-<br>na<br>[%] |
| 1             | 0,1                                   | 16   | 30   | 5,16                          | 15,52                      | 76,7                                | 20,67                                  | 0                                  | 1,62                      | 0,00                                   | 7,1 | 93,22              |
| 2             | 0,4                                   | 48   | 150  | 8,2                           | 23,76                      | 65,0                                | 31,96                                  | 202                                | 1,61                      | 2,53                                   | 6,6 | 92,83              |

1) konstantní teplota extrakce 80 °C

2) % v sušině produktu

Rovněž ve třetí sérii 2<sup>k</sup> experimentů byly zvoleny pouze okrajové podmínky, mírně se ale snížila teplota extrakce želatiny/hydrolyzátů na 80 °C. Jako maximální hodnoty faktorů A a B byly zvoleny hodnoty shodné se smíšenými experimenty. V porovnání s 2. sérií se mírně snížila doba extrakce. Výtěžek se proti 2. sérii zvýšil a zvýšila se i pevnost gelu s maximální hodnotou 202 Bloom. Za značnou variabilitou výsledků experimentů stojí s největší pravděpodobností působení enzymu, který zvyšuje obsah peptidových řetězců s nižší M<sub>w</sub>, a ty poté výrazně ovlivňují výsledné vlastnosti produktů.

## 7 ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ PRÁCE A NÁVRH PRO POKRAČOVÁNÍ

V této kapitole je uvedeno zhodnocení výsledků práce ve srovnání se studii, které se zabývaly zpracováním vedlejších produktů z jatečného opracování drůbeže.

### Výtěžek želatiny

Abedinia a kol. [19] dosáhl při zpracování kachních běháků výtěžku želatiny 12,76 %, 11,39 % a 17,94 % pro kyselý, zásaditý a enzymatický způsob opracování suroviny před extrakcí. I když dosáhl biotechnologickým postupem nejvyššího výtěžku, je to i tak méně, než 24,75 % v této práci. Sarbon a kol. [20], který zpracovával kuřecí kůže, dosáhl výtěžku 16 %, což je také menší hodnota. Sám však uvedl, že důvodem menšího výtěžku by mohl být nevhodný způsob opracování, kombinovaným alkalicko – kyselým způsobem. Ve studii Dua a kol. [34], který zpracovával krůtí a kuřecí hlavy, byl výtěžek 37,97 % pro krůtí a 31,21 % pro kuřecí hlavy, což je u obou surovin významně více než v této práci. Druh, věk zvířat, blízkost složení a obsah kolagenu, stupeň jeho zesílení v surovinách, a způsob extrakce způsobují rozdíly mezi procenty výtěžku získané želatiny z různých zdrojů.

### Pevnost želatinových gelů

Pevnost gelu ve studii Dua a kol. [34], byla pro želatinu extrahovanou z krůtích hlav 368 Bloom a pro želatinu z hlav kuřecích 248 Bloom, což jsou v porovnání s nejvyšší hodnotou z této práce ve výši 162 Bloom, hodnoty významně vyšší. Rovněž ve studii kde Sarbon a kol. [20], zpracovával kuřecí kůže, bylo dosaženo vyšší pevnosti gelu a to 355 Bloom. Výborné hodnoty u pevnosti gelu dosáhl Rafieian a kol. [21], s pevností gelu 520 Bloom.

### Obsah popelovin

Obsah popelovin stanovený Duem a kol. [34], byl 0,03–0,06 %, což je řádově méně než obsah zjištěný v této práci, který se pohyboval v rozmezí 1,22–6,61 %. I Sarbon a kol. [20], dosáhl významně nižšího obsahu popelovin s hodnotou 0,37 %. V želatině, kterou extrahoval Rafieian a kol. [21], byl stanoven obsah popela ve výši 4,41 %, což je více než 2 % pro jedlé želatiny.

### Teplota tání želatiny

Pokud jde o teplotu tání želatiny určenou Duem a kol. [34], její hodnota byla 33,7 až 34,2 °C. Je to o něco méně než teplota 36–37 °C, určená měřením pomocí DSC v této práci.

### Extrakční podmínky

V této práci byl použit pro opracování suroviny biotechnologický způsob s konstantní koncentrací enzymu 0,4 % (w/w) a dobou enzymatického opracování 48 h, která byla též konstantní. Faktory u nichž se hodnoty měnily, byla teplota v rozmezí 60–72 °C a doba extrakce 15–60 min. Ve studii Abedinia a kol. [19], který použil mimo alkalického a kyselého i enzymatický způsob opracování suroviny pepsinem, byla doba opracování 3 h s koncentrací enzymu 15 jednotek enzymu/g suroviny, 0,05 M CH<sub>3</sub>COOH a 0,1 M NaOH. Extrakce byla provedena při teplotě 65 °C po dobu 12 h. Rafieian a kol. [21], použil pro opracování různé koncentrace HCl s konstantní dobou opracování 24 h a různou teplotu extrakce s odlišnou dobou extrakce. Při vyhodnocení byly stanoveny jako optimální podmínky koncentrace HCl 6,73 %, 86,8 °C pro teplotu extrakce a 1,95 h pro dobu extrakce. Due a kol. [34], použil pro opracování 0,1 M NaOH v poměru 1:10 (w/v) po dobu 6 hodin při teplotě 4 °C. Po promytí destilovanou vodou dále 0,05 M roztok CH<sub>3</sub>COOH v poměru 1:10 (w/v), po dobu 18 hodin při 4 °C. Želatina byla extrahována při 50 °C po dobu 18 hodin. Sarbon a kol. [20], použil k opracování kombinaci 0,15% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,7% (w/v) C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> po dobu 2 h. Extrakce želatiny probíhala přes noc při 45 °C.

Mimo jediné studie (Abedinia a kol.), používali všichni autoři k opracování tradiční způsoby alkalické nebo kyselé. Někteří zvolili poměrně krátkou dobu opracování a delší dobu extrakce, u některých byly tyto doby srovnatelné a někteří použili schéma, které je využito i v této práci, tzn. konstantní dobu opracování po několik desítek hodin a následnou extrakci, která trvala výrazně kratší dobu. Metoda práce použitá k experimentům je tedy srovnatelná s dostupnými zdroji, nicméně výsledný produkt nedosahuje kvalitativních parametrů pro jeho plné využití v běžných aplikacích želatiny. Bude potřeba se zaměřit na úpravu podmínek a provedení extrakce, tak aby působením enzymu nedocházelo ke snižování  $M_w$  a tím ke zhoršování kvalitativních parametrů výsledných produktů.



## ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala zpracováním vedlejších jatečných odpadů, vznikajících při jatečném zpracování zvířecích těl, se zaměřením na odpady ze zpracování drůbeže. Těchto odpadů vzniká vzhledem k roční produkci drůbeže velké množství a mnoho z nich obsahuje značnou část kolagenu (běháky, hlavy, kůže, žaludky) a jsou tedy vhodným alternativním zdrojem kolagenu.

V teoretické části byly shrnuty poznatky ze zpracování vedlejších produktů jatečního průmyslu s jejich klasifikací a možnými způsoby zpracování. Další část byla věnována zpracování na želatiny se způsoby opracování a aplikacemi v různých odvětvích průmyslu od potravinářství, přes medicínské aplikace až po technické využití.

V praktické části byly zpracovávánou tkání kuřecí žaludky a pro opracování suroviny před extrakcí želatin/hydrolyzátů byl zvolen biotechnologický postup (POLARZYME 6.0 T). Byly navrženy faktorové pokusy podle smíšeného schématu, kdy byly sledovány dva faktory s různým počtem úrovní (faktor A – teplota s pěti úrovněmi 60–72 °C a faktor B – doba extrakce s dvěma úrovněmi 15 a 60 min). V průběhu experimentu byly nejprve z rozemletých kuřecích žaludků (velikost částic 3 mm) odstraněny nekolagenní bílkoviny a pigmenty pomocí roztoku NaOH, následovalo rozemletí usušené suroviny a její odtučnění v acetonu. Odtučněná surovina byla před extrakcí želatin/hydrolyzátů opracována pomocí enzymu a poté proběhla vlastní extrakce v horké vodě podle faktorů A a B. Extrahované želatiny/hydrolyzáty byly vysušeny v tenkém filmu a následně podrobeny analýze pro posouzení vlivu procesních parametrů na účinnost extrakce a kvalitu získaných produktů.

Při experimentech bylo dosaženo výtěžku hydrolyzátu v rozmezí 2,26 až 4,23 %. Množství extrahovaných želatin/hydrolyzátů bylo v rozmezí 5,13 (při teplotě 60 °C a době extrakce 60 min) až 24,75 % (při teplotě 69 °C a době extrakce 60 min). Pevnost gelu u vzorků, které jej tvořily, byla v rozsahu 16 Bloom (při teplotě 72 °C a době extrakce 60 min) až 162 Bloom (při teplotě 69 °C a době extrakce 60 min). Obsah popelovin se pohyboval mezi hodnotami 1,22 (při teplotě 69 °C a době extrakce 60 min) až 6,61 % (při teplotě 60 °C a době extrakce 60 min). Teplota tání želatinových gelů se pohybovala mezi 36 a 37 °C. Čírost 6,67% roztoků želatin/hydrolyzátů (měřeno při  $\lambda=640$  nm) byla stanovena v rozmezí 0,9–2,5 %. Hodnota pH se pohybovala od 6,8–7,4.

Během částečných faktorových pokusů podle schématu 2<sup>k</sup> bylo dosaženo výtěžku želatiny v rozsahu 4,45–32,67 % přičemž hydrolyzátu po 1. stupni bylo 0,74–6,68 %. Pevnost gelu

se pohybovala od 9 Bloom do 202 Bloom a kromě jednoho, všechny vzorky gel vytvořily. Obsah popela byl v rozmezí 1,28–2,69 % a pH bylo od 6,6 do 7,1.

Zpracování kuřecích žaludků, biotechnologickým postupem na želatiny/hydrolyzáty, bylo zkoumáno jako vhodný postup pro zpracování tohoto vedlejšího bílkovinného produktu z porážky drůbeže. Nejenže se jedná o zpracování pomocí moderního postupu s omezením množství použitých chemikálií, šetrícího životní prostředí, ale zároveň lze získat produkt s vysokou přidanou hodnotou. Pokud je dodržen nízký obsah popelovin (např. experiment č. 8 nebo experiment č. 2 z 3. série 2<sup>k</sup> experimentů), lze takto připravené želatiny použít v potravinářství nebo farmacii.

Výsledky získané v této práci nejsou zatím optimální pro maximální využití vstupní suroviny. V dalších experimentech navrhuji zaměřit se na úpravu technologických podmínek pro maximalizaci výtěžku extrakce a zvýšení kvalitativních parametrů želatin (pevnost gelu). Zde by bylo vhodné přidršet se podmínek ze schématu 2<sup>k</sup>, který je zmíněn v závěru práce a použít jej pro další experimenty. Surovina i zvolený biotechnologický postup zpracování jsou vhodnou alternativou pro výrobu želatiny z netradičních zdrojů.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] BARBUT, Shai. *The Science of Poultry and Meat Processing*. Guelph : University of Guelph, 2015. ISBN: 978-0-88955-626-3.
- [2] CHEREMISINOFF, Nicholas, ROSENFELD, Paul a DAVLETSHIN, Anton. *Meat Processing and Rendering. Responsible Care: A New Strategy for Pollution Prevention and Waste Reduction Through Environment Management*. místo neznámé : Elsevier, 2013, 6.5, stránky 422 – 424, ISBN: 9780127999852.
- [3] DUBEN, Josef. Agris. [Online] Státní veterinární správa, 28. listopad 2000. [Citace: 10. leden 2018.] [http://www.agris.cz/zemedelstvi?id\\_a=98678](http://www.agris.cz/zemedelstvi?id_a=98678).
- [4] MARVAN, František. *Morfologie hospodářských zvířat*. 1. Praha : Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992. ISBN: 80-209-0226-0.
- [5] Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. [Online] FAO, 2016. [Citace: 10. leden 2018.] <http://www.fao.org/faostat>.
- [6] PARÉS, D, SAGUER, E a CARRETERO, C. Blood by-products as ingredients in processed meat. [autor knihy] John F. KERRY a Joseph P. KERRY. *Processed meat*. Cambridge : Woodhead Publishing Limited, 2011, 9, stránky 218 – 242; ISBN 978-1-84569-466-1. <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt009469Y1/processed-meats-improving/front-matter>.
- [7] KOSSEVA, Maria R. Poultry Wastes. [autor knihy] Colin WEBB. *Food Industry Wastes - Assessment and Recuperation of Commodities*. Amsterdam : Elsevier, 2013, stránky 48–52; ISBN: 978-0-12-391921-2.
- [8] USDA. *United States Department of Agriculture*. [Online] 2015. [Citace: 23. duben 2018.] <https://www.usda.gov>.
- [9] EVROPSKÝ PARLAMENT A RADA EVROPSKÉ UNIE. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009. *EUR-Lex*. [Online] 21. říjen 2009. [Citace: 10. prosinec 2017.] <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32009R1069>.
- [10] —. Nařízení Komise (EU) č. 142/2011. *EUR-Lex*. [Online] 25. únor 2011. [Citace: 10. prosinec 2017.] <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32011R0142>.

- [11] LINDEN, Guy a LORIENT, Denis. *New Ingredients in Food Processing*. Sawston : Woodhead Publishing; ISBN: 978-1-85573-443-2, 1999. ISBN: 978-1-85573-443-2.
- [12] BARBUT, Shai. Preservation techniques. [autor knihy] Geoffrey MEAD. *Poultry Meat Processing and Quality*. Sawston : Woodhead Publishing, 2004, stránky 196–201; ISBN: 9781855737273.
- [13] DIKEMAN, Michael a DEVINE, Carrick. *Encyclopedia of Meat Sciences*. 2. vydání. San Diego : Academic Press, 2014. ISBN: 978-0-12-384734-8.
- [14] BOROWSKI, Sebastian a KUBACKI, Przemyslaw. Co-digestion of pig slaughterhouse waste with sewage sludge. *Waste Management*. červen 2015, Sv. 40, stránky 119-126. <https://doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.wasman.2015.03.021>.
- [15] VÁŇA, Jaroslav. *Bioplynové stanice na využití bioodpadů*. Praha : CZ Biom, CZ Biom, 10. Květen 2010. Biom.cz. <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplynove-stanice-na-vyuziti-bioodpadu>. ISSN: 1801-2655.
- [16] MURRAY, Robert K. a KEELEY, Frederick W. Extracelulární matrix. *Harperova ilustrovaná biochemie*. Praha : Galén, 2012, 48, stránky 572, ISBN 978-80-7262-907-7.
- [17] ZARKADAS, Constantinos G. a MALONEY, Sean. Assessment of the Protein Quality of the Smooth Muscle Myofibrillar and Connective Tissue Proteins of Chicken Gizzard. *Poultry Science*. 1. květen 1998, Sv. 77, stránky 770–779; <https://doi.org/10.1093/ps/77.5.770>.
- [18] HAUG, I. J. a DRAGET, K. I. Gelatin. [autor knihy] G. O. PHILIPS a P. A. WILLIAMS. *Handbook of Food Proteins*. 1. Cambridge : Woodhead Publishing, 2011, 5, stránky 92 – 113; ISBN 978–1–84569–758–7.
- [19] ABEDINIA, Ahmadreza, a další. Extraction and characterization of gelatin from the feet of Pekin duck (*Anas platyrhynchos domestica*) as affected by acid, alkaline, and enzyme pretreatment. *International Journal of Biological Macromolecules*. 4. únor 2017, stránky 586–594; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.139>.
- [20] SARBON, N. M., BADI, F. a Howell, N. K. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids*. leden 2013, Sv. 30, stránky 143–151; doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.009.

- [21] RAFIEIAN, Fatemeh, KERAMAT, Javad a KADIVAR, Mahdi. Optimization of gelatin extraction from chicken deboner residue using RSM method. *Journal of Food Science and Technology*. duben 2013, Sv. 50, stránky 374–380; <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0355-7>.
- [22] SCHRIEBER, Reinhard a GAREIS, Herbert. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim : WILEY–VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, 2007. ISBN: 978-3-527-61097-6.
- [23] MUSSO, Yanina S., SALGADO, Pablo R. a MAURI, Adriana N. Smart edible films based on gelatin and curcumin. *Food Hydrocolloids*. 2017, Sv. 66, stránky 8 – 15. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.007>.
- [24] MSAGATI, Titus A.M. *Chemistry of Food Additives and Preservatives*. 1. Chichester : John Wiley & Sons, Ltd., 2013. ISBN: 9781118274149.
- [25] SALERNO, A., a další. Hybrid gelatin-based porous materials with a tunable multiscale morphology for tissue engineering and drug delivery. *European Polymer Journal*. únor 2018, Sv. 99, stránky 230 – 239. ISSN 0014-3057, <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.12.024>.
- [26] CHEW, S. A., HINOJOSA, V. A. a ARRIAGA, M. A. Bioresorbable polymer microparticles in the medical and pharmaceutical fields. [autor knihy] Jöns Hilborn Giuseppe Perale. *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications*. Cambridge : Woodhead Publishing, 2017, stránky 229 – 264. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100262-9.09002-9>.
- [27] JESSOP, Zita M., a další. 3D bioprinting for reconstructive surgery: Principles, applications and challenges. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. září 2017, Sv. 70, 9, stránky 1155 - 1170. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2017.06.001>.
- [28] MURPHY, Sean V. a ATALA, Anthony. 3D Bioprinting of Tissues and Organs. *Nature Biotechnology*. 5. srpen 2014, Sv. 32, stránky 773–785. doi:10.1038/nbt.2958.
- [29] MIELCZAREK, Jakub, a další. A Prototype of a 3D Bioprinte. [autor knihy] Adam MAZURKIEWIC. *Advances in Manufacturing*. Pfaffikon : Trans Tech Publications Ltd, 2015, stránky 221 – 226. doi:10.4028/www.scientific.net/SSP.237.221.

- [30] MIN, Lee Jia, a další. BIOMATERIALS FOR BIOPRINTING. [autor knihy] L.G. ZHANG, J. P. FISHER a K. W. LEONG. *3D Bioprinting and Nanotechnology in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. London : Academic Press is an imprint of Elsevier, 2015, 6, stránky 129 – 149. <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpDBNTERM3/bioprinting-nanotechnology/bioprinting-nanotechnology>.
- [31] BRUCHI, M. Gelatin capsules. *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*. 1. Sawston : Woodhead Publishing, 2015, 6.; ISBN:9780081000922.
- [32] BENEŠ, Milan a LIKEŠ, Jiří. Faktorové experimenty v průmyslovém výzkumu. 1957, Sv. 1, 2, stránky 18 – 30.
- [33] Gelatin Manufacturers Institute of America, Inc. GELATIN MANUFACTURERS INSTITUTE OF AMERICA. [Online] 2013. [Citace: 17. 3 2018.] <http://www.gelatin-gmia.com>.
- [34] DU, L., a další. Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads. *Poultry Science*. 1. září 2013, Sv. 92, stránky 2463–2474; <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03161>.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

|  |  |
|--|--|
| EUR-Lex  | Portál pro bezplatný přístup k právu Evropské unie |
| VŽP  | Vedlejší produkty živočišného původu               |
| ECM  | Extracelulární matrix                              |
| MKM  | Masokostní moučka                                  |
| ES   | Evropské společenství                              |
| EU   | Evropská unie                                      |
| GOTMS  | 3-glycidoxypropyltrimethoxysilan                   |
| FDA  | U.S. Food and Drug Administration                  |
| EMA  | European Medicines Agency                          |
| DNA  | Deoxyribonukleová kyselina                         |
| BSE  | Bovinní spongiformní encefalopatie                 |
| NaCl   | Chlorid sodný                                      |
| NaNO <sub>2</sub>                              | Dusitan sodný                                      |
| NaNO <sub>3</sub>                              | Dusičnan sodný                                     |
| Ca(OH) <sub>2</sub>                            | Hydroxid vápenatý                                  |
| HCl  | Kyselina chlorovodíková                            |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                 | Kyselina sírová                                    |
| Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> | Tripolyfosfát sodný                                |
| CH <sub>3</sub> COOH                           | Kyselina octová                                    |
| C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>   | Kyselina citrónová                                 |
| NaOH   | Hydroxid sodný                                     |
| C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | Kyselina mléčná                                    |
| C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>   | Kyselina sorbová                                   |

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

|  |    |
|--|----|
| Obr. 1. Robotický systém schopný třídít a balit 300 filetů z kuřecích prsou za minutu.....   | 13 |
| Obr. 2. Systém řezání vodním paprskem. Snímací kamery pořizují snímky pro vytvoření 3D obrazu, který je později použit k výpočtu řezných linek pro vysokotlaké vodní trysky, umístěné shora, pro řezání masa ..... | 13 |
| Obr. 3. Kuřecí žaludek (na obrázku vlevo vnější část, vpravo vnitřní část po provedeném řezu) .....  | 15 |
| Obr. 4. Výroba jatečné drůbeže v ČR v letech 1989–2016 .....   | 16 |
| Obr. 5. Želatina není monodisperzní protein, spíše se skládá ze směsi různých typů řetězců s různou molekulovou hmotností vedoucí k polydisperzitě (převzato a upraveno z <i>Handbook of Food Proteins</i> ) ..... | 22 |
| Obr. 6. SDS-PAGE vzorků želatiny extrahované z kachních nohou pomocí odlišné předběžné úpravy. Kyselý, alkalický a enzymatický označují způsob opracování suroviny pro želatiny [19].....                          | 24 |
| Obr. 7. Detail řezné desky tvaru ledviny .....   | 40 |
| Obr. 8. Detail řezné desky s kruhovými otvory 5 mm.....  | 40 |
| Obr. 9. Blokové schéma zpracování kuřecích žaludků na želatiny/hydrolyzáty .....   | 41 |
| Obr. 10. Množství vyextrahované želatiny/hydrolyzátu v závislosti na teplotě a době extrakce .....   | 46 |
| Obr. 11. Pevnost gelu v závislosti na teplotě a době extrakce.....   | 47 |
| Obr. 12. Viskozita v závislosti na teplotě a době extrakce .....   | 48 |
| Obr. 13. Obsah popelovin v závislosti na teplotě a době extrakce .....   | 49 |
| Obr. 14. DSC křivka – určení teploty tání želatinového gelu (experiment č. 8) .....  | 50 |



**SEZNAM TABULEK**

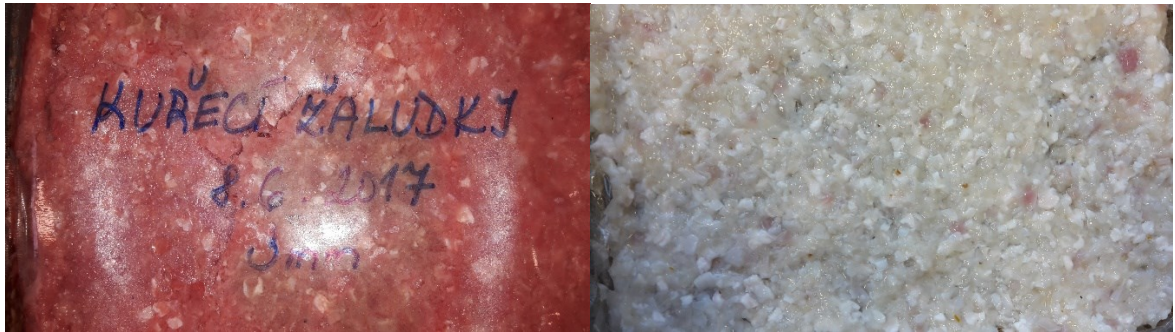
|   |    |
|---|----|
| Tab. 1. Stanovení pevnosti dle Blooma .....   | 38 |
| Tab. 2. Rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů.....  | 45 |
| Tab. 3. 1. část 2 <sup>k</sup> faktorových pokusů – rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů ..... | 52 |
| Tab. 4. 2. část 2 <sup>k</sup> faktorových pokusů – rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů ..... | 53 |
| Tab. 5. 3. část 2 <sup>k</sup> faktorových pokusů – rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených želatin/hydrolyzátů ..... | 54 |

## **SEZNAM PŘÍLOH**

- [1] **Fotografie z opracování suroviny a měření pevnosti želatinových gelů**
- [2] **Produktový list POLARZYME 6.0 T**

## PŘÍLOHA P I:

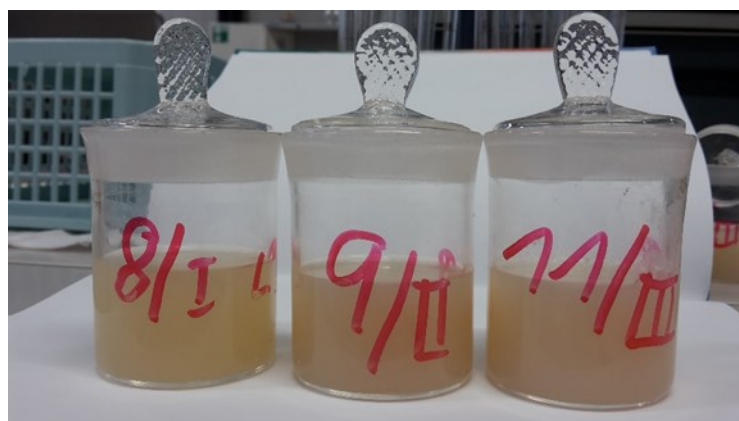
Fotografie z opracování suroviny a měření pevnosti želatinových gelů



Vstupní surovina (vlevo) a surovina po opracování NaOH před sušením a odtučněním (vpravo)



Usušená surovina před odtučněním (vlevo) a po odtučnění (vpravo)



Želatinové gely připravené pro měření pevnosti podle

Blooma

# PŘÍLOHA P II:

## Produktový list POLARZYME 6.0 T

### Product Data Sheet



1 of 1

Valid from 2014-03-19

## Polarzyme® 6.0 T

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

#### PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

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

#### SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

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

#### COMPLIANCE

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

#### CERTIFICATIONS

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



#### PRODUCT SPECIFICATION

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

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

#### COMPOSITION

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

#### GM STATUS

This product is not a GMO.

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

#### STORAGE CONDITION

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

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

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

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

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

#### PACKAGING

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

Novozymes A/S  
Krogshøjvej 36  
2880 Bagvaerd  
Denmark

Tel. +45 4446 0000  
Fax +45 4446 9999

For more information, or for more office addresses, visit [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com)

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

© Novozymes A/S