

Vedlejší produkty ze zpracování zvěřiny jako netradiční zdroj kolagenu

Bc. Jakub Dvořák

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Jakub Dvořák**
Osobní číslo: **T20096**
Studijní program: **N0722A130001 Inženýrství polymerů**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Vedlejší produkty ze zpracování zvěřiny jako netradiční zdroj kolagenu.**

Zásady pro vypracování

1. V literární studii se zaměřte na současný stav řešené problematiky a kriticky jej zhodnoťte.
2. Navrhněte technologický postup zpracování vybraných tkání ze zvěřiny obsahujících kolagen na kolagenní produkty (želatiny/hydrolysáty).
3. Vyhodnoťte stupeň konverze suroviny na připravené produkty. Zaměřte se na charakterisaci připravených produktů. Navrhněte optimální procesní podmínky zpracování odpadní suroviny na želatiny, respektive hydrolysáty.
4. Výsledky měření zpracujte vhodným softwarem, proveďte diskusi a zhodnoťte přínos práce pro vědu a praxi.

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

Seznam doporučené literatury:

- Schrieber R.; Gareis H. *Gelatine Handbook. Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
- Ockerman H.W.; Hansen C.I.: *Animal By-Product. Processing & Utilization*. Woodhead Publishing, London 2000.
- Gómez-Guillén, M.C.; Giménez, B.; López-Caballero, M.E.; Montero, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll.* 2011, 25, 1813-1827.
- Jayathilakan, K.; Sultana, K.; Radhakrishna, K.; Bawa, A.S. Utilization of by products and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. *J. Food Sci. Technol.* 2012, 49, 278-293.
- Liu, D.; Nikoo, M.; Boran, G.; Zhou, P.; Regenstein, J.M. Collagen and gelatin. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2015, 6, 527–557.

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

Datum zadání diplomové práce: **1. února 2022**
Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

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

L.S.

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

Ve Zlíně dne 1. dubna 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zaměřuje na odpady s velkým procentem kolagenu (jelení šlachy) jako potenciálním zdrojem pro přípravu želatiny o srovnatelných vlastnostech jakou mají komerční želatiny s odlišným druhem opracování než konvenčními metodami. Experiment je veden metodou faktorových pokusů, kdy jako limitní faktory byly zvoleny koncentrace enzymu (0,3-1,2 %), doba kondicionování (24-72 h) a teplota kondicionování (6-18 °C). Z kolagenu bylo získáno víceúrovňovou extrakcí 5 frakcí želatiny. Celková účinnost extrakce želatin z kolagenu byla 46,3-71,1 %. Průměrný obsah popelu byl 0,25-0,40 %. Maximální pevnost gelu byla 237 Bloom, nejvyšší teplota tání 36,8 °C, teplota tuhnutí 17,2 °C. Vlastnosti želatin z jeleních šlach umožňují stejné aplikace jako pro běžné komerčně připravované želatiny.

Klíčová slova: želatina, extrakce, enzym, jelení šlachy, faktorové pokusy, vedlejší živočišné produkty

ABSTRACT

This diploma thesis focuses on wastes with a large percentage of collagen (deer tendons), as a potential source for the preparation of gelatine with comparable properties as commercial gelatine with a different type of processing than conventional methods. I utilize the methodology of factor experiments, the factors influencing the extraction are the amount of enzyme (0.3-1.2 %), conditioning time (24-72h) and conditioning temperature (6-18 ° C). 5 fractions of gelatine were recovered from collagen by multilevel extraction. The overall extraction efficiency of gelatine from collagen was 46.3-71.1 %. The average ash content was 0.25-0.40 %. The maximum gel strength was 237 Bloom, the highest melting point 36.8 ° C, and the gelling point 17.2 ° C. Under these circumstances it is possible to prepare high-quality gelatine gels from deer tendons, which can, due to their properties, find a number of applications corresponding with commercial gelatine.

Keywords: gelatine, extraction, enzyme, deer tendons, factorial experiments, animal by-products

Chtěl bych poděkovat vedoucímu své práce panu prof. doc. Ing. Pavlu Mokrejšovi, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a přínosné rady během psaní mé diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat paním laborantkám Miroslavě Žaludkové a Petře Elšíkové za rady a pomoc při realizaci experimentální části.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ODPADY	12
1.1 LEGISLATIVA.....	12
1.2 KATEGORIZACE.....	13
1.3 STATISTICKÉ ÚDAJE.....	14
1.4 ZPRACOVÁNÍ.....	15
1.4.1 Zpracování jedlých VŽP.....	15
1.4.2 Zpracování nejedlých VŽP.....	15
2 VYUŽITÍ TUHÝCH A KAPALNÝCH ODPADŮ	18
2.1 HOVĚZÍ A VEPŘOVÉ ODPADY.....	18
2.1.1 Kůže a srst.....	18
2.1.2 Kosti.....	18
2.1.3 Lůj a sádlo.....	19
2.1.4 Orgány a žlázy.....	19
2.1.5 Krev.....	20
2.2 RYBÍ ODPADY.....	22
2.2.1 Moučka.....	22
2.2.2 Olej.....	23
2.2.3 Siláž.....	23
2.2.4 Bílkovinný koncentrát.....	23
2.2.5 Minerály.....	23
2.2.6 Chitin a Chitosan.....	24
2.3 ODPADNÍ VODA.....	24
3 KOLAGEN	25
3.1 SLOŽENÍ A VLASTNOSTI.....	25
3.2 VYUŽITÍ.....	25
3.2.1 Modifikace.....	26
3.2.2 Hydrolyzát.....	26
4 ŽELATINY	27
4.1 SLOŽENÍ ŽELATIN.....	27
4.2 VÝROBA ŽELATINY.....	27
4.2.1 Kosti.....	27
4.2.2 Kůže.....	28
4.2.3 Kondicionování.....	28
4.2.4 Extrakce.....	29
4.2.5 Dokončující operace.....	30
4.3 VLASTNOSTI ŽELATIN.....	31

4.4	MODIFIKACE ŽELATINY	33
4.5	APLIKACE ŽELATIN	33
4.5.1	Potravinářství	33
4.5.2	Lékařství a farmacie	36
4.5.3	Fotografický průmysl	37
4.5.4	Kosmetika	38
4.5.5	Technické aplikace	38
4.5.6	Želatinový hydrolyzát	38
4.5.7	Bioaktivní peptidy	39
II	PRAKTICKÁ ČÁST	40
5	CÍLE PRÁCE	41
6	METODIKA A MATERIÁL	42
6.1	VÝCHOZÍ SUROVINA	42
6.2	SEZNAM PŘÍSTROJŮ, POMŮCEK A CHEMIKÁLIÍ	42
6.2.1	Přístroje	42
6.2.2	Pomůcky	43
6.2.3	Chemikálie	43
6.3	METODIKA PRÁCE	43
6.4	CHARAKTERISTIKA ŽELATIN	44
6.4.1	Stanovení pevnosti želatinového gelu	44
6.4.2	Stanovení kinematické viskozity	44
6.4.3	Stanovení teploty tání želatinového gelu	45
6.4.4	Stanovení teploty tuhnutí gelu	45
6.4.5	Stanovení obsahu popelovin	45
6.4.6	Stanovení transmitance	46
6.4.7	Stanovení vodu zadržující kapacity	46
6.4.8	Stanovení tuk vázací kapacity	47
6.4.9	Stanovení pěnotvorné kapacity	47
6.4.10	Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze	47
6.4.11	Hmotnostní bilance	48
7	POSTUP PRÁCE PŘÍPRAVY ŽELATIN	49
7.1	PŘÍPRAVA KOLAGENU	49
7.2	EXTRAKCE ŽELATINY	50
8	VÝSLEDKY A DISKUZE	53
8.1	ÚČINNOST EXTRAKCE	53
8.2	1. FRAKCE ŽELATINOVÉHO GELU	55
8.3	2. FRAKCE ŽELATINOVÉHO GELU	57
9	OPTIMÁLNÍ PODMÍNKY PŘÍPRAVY ŽELATIN Z JELENÍCH ŠLACH	63
10	VÝZNAM PRÁCE PRO PRAXI	64
10.1	SROVNÁNÍ S OSTATNÍMI LITERÁRNÍMI ZDROJI	64

10.2	NÁVRHY NA APLIKACE PŘIPRAVENÝCH ŽELATIN.....	64
10.3	NÁVRHY NA POKRAČOVÁNÍ DALŠÍHO VÝZKUMU	65
11	ZÁVĚR.....	66
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	68
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	75
	SEZNAM OBRÁZKŮ	76
	SEZNAM TABULEK.....	77
	SEZNAM PŘÍLOH.....	78

ÚVOD

Želatina jako významný zástupce biopolymerních hydrokoloidů, nabývá razantně v posledním desetiletí na hodnotě. Kromě konvenčních způsobů opracování a tradičních zdrojů je snaha o nalezení alternativních cest velmi výrazná, a to ať už z důvodů ekonomických, či náboženských. S rostoucí poptávkou po mase a masných produktech úměrně roste i procento vzniklých odpadů během jejich produkce. Z těchto důvodů jsem si jako potenciálně vhodný zdroj zvolil jelení šlachy, které jsou v současné době kategorizovány jako odpad a které mohou díky velkému obsahu kolagenu posloužit jako zdroj pro přípravu želatiny s velkým potenciálem. Aplikace enzymatického opracování na připravený kolagen je za účelem cíleného rozrušení vazeb mezi jednotlivými řetězci kolagenu při současném zachování struktury samotného řetězce. Vzhledem k velikosti a povaze obsaženého kolagenu očekávám vyšší kvalitu připravené želatiny schopnou svými vlastnostmi konkurovat zavedeným želatinám z hovězího či vepřového zdroje. Cílem mé diplomové práce je tedy zjistit možnosti využití odpadního materiálu a snaha o jeho maximální možnou valorizaci.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ODPADY

Vedlejší živočišné produkty (dále jen VŽP) jsou definovány jako části, či celé tělo zvířete, nebo produkty, které byly získány ze zvířete a nejsou nadále určené ke konzumaci [1]. Nakládání a zpracování odpadů je díky jejich biologické nestabilitě, vysokému obsahu vody [2] (až 60 %) [3], tendenci k oxidaci, a napadení bakteriemi velmi složité [2]. Vzhledem k možnému zdroji rizika pro lidské zdraví, je veškerá manipulace (sběr, transport, skladování, zpracování, použití) s VŽP legislativně ošetřena. Nesprávná manipulace s VŽP může vést k řadě vysoce infekčních onemocnění jako je ptačí chřipka, nemoc šílených krav, prasečí mor či také slintavka nebo kulhavka [1]. Poslední dvě zmíněné choroby se řadí mezi nejvíce nakažlivé choroby zvířat a lidí [4]. Jatečně upravená těla či jejich části (odřezky, kůže, kosti, orgány a další) jsou považovány za vedlejší produkty původu živočišného, ať už se jedná o produkty požitelné, či nikoliv [5]. Obecným výstupem zpracování jatečných těl zvířat je požadovaný produkt, vedlejší živočišný produkt a procesní odpadní materiál [2].

Je nutné si uvědomit, že označení „odpad“ do značné míry závisí na geografické poloze. Existují totiž země, které považují určité části zvířete jako požitelné, i dokonce kulinářsky velmi výjimečné, zatímco v jiných zemích jsou striktně odmítány [6]. Dle legislativy Spojených států amerických jsou veškeré části zvířete kromě masa označeny za vedlejší produkty. Ty se pak dále dělí na požitelné a nepožitelné [3]. Dle dělení ve Spojeném království se například vnitřnosti dělí do několika kategorií. První významná kategorie obsahuje hlavu, játra, plíce, jazyk, srdce a ocas. Druhá kategorie obsahuje pouze tuk. Do dalších kategorií se řadí vnitřnosti, močový měchýř, dršťky a ořez [2]. Je samozřejmé, že kvalita a složení suroviny primárně záleží na typu a stavu zvířete stejně jako na způsobu zpracování [6].

Efektivním zpracováním VŽP je možné dosáhnout více než 11% nárůstu příjmů u hovězího dobytka [2]. Nezanedbatelná nutriční hodnota těchto produktů je hnacím motorem pro výzkumy možného uplatnění namísto prostého vyhození a tím pádem nevyužití skrytého potenciálu těchto surovin. V dnešní době jsou v odpadním zpracovatelském průmyslu běžně implementovány konkrétní postupy jako například hydrolytický rozklad pevných odpadů či snaha o separaci krevních proteinů pro jejich vhodné funkční vlastnosti [5].

1.1 Legislativa

Česká legislativa se opírá o zákon č. 541/2020 Sb., o odpadech, vyhlášku 8/2021 Sb., o katalogu odpadů a posuzování vlastností odpadů, o vyhlášku 273/2021 Sb.,

o podrobnostech nakládání s odpady [7] a o Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 ze dne 21. října 2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu) spolu s Nařízením Komise (EU) č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, kterým se provádí 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, a provádí směrnice Rady 97/78/ES/, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice [1].

Výrobky prodávané na půdě Spojených států amerických, pokud obsahují strojně oddělené maso, musí mít tuto skutečnost uvedenou na etiketě. Strojně oddělené maso (hovězí/vepřové) by mělo obsahovat minimálně 14 % bílkovin a maximálně 30 % tuku [2].

1.2 Kategorizace

VŽP jsou děleny do kategorií dle míry rizika poškození zdraví lidí a zvířat. Co se týče získaných produktů, tak ty spadají do stejné kategorie, do které patří i původní materiál, z něhož byly vyprodukovány. VŽP se dělí do tří kategorií.

1.2.1 Materiál kategorie 1

Jedná se o kategorii s nejvyšší mírou rizika pro zdraví. Řadíme sem jak celá těla, tak i všechny jejich části pocházející ze zvířat podezřelých na infekci transmisivní spongiformní encefalopatií (dále jen TSE), dále těla zvířat, která uhynula v souvislosti s TSE, jakož i zvířat pocházejících ze zájmových chovů, cirkusů, pokusná zvířata (z důvodu velkého množství léčiv a jiných chemikálií) či volně žijící zvěř. Dále sem patří odpadní produkty obsahující látky znečišťující životní prostředí, produkty pocházející ze zvířat podrobných nezákonnému ošetření či odpady získané během zpracování jiného odpadu spadajícího do kategorie 1. Patří sem také odpad vzniklý během mezinárodní přepravy (odpad vzniklý mimo Evropskou unii).

1.2.2 Materiál kategorie 2

Do této kategorie spadá, který není vysoce nebezpečný, ale stále je uznán jako nepoživatelný jako např. produkty porážek za účelem redukce či prevence nákazy, drůbež, jež odumřela přímo ve vejci, nevyvinutá embrya, oocyty, plody či sperma, které již není určeno pro

oplození dobytka. Mimo veškerý obsah trávicího traktu se v této kategorii vyskytuje také trus mořských ptáků, hnůj či produkty, pocházející ze zpracování materiálů z této kategorie.

1.2.3 Materiál kategorie 3

Do této kategorie se řadí nejméně toxické materiály, především se jedná o celá těla zvířat či jejich části, které byly shledány vhodnými pro lidskou spotřebu, přesto jsou ekonomicky nevýhodné pro prodej koncovým spotřebitelům. Řadíme sem také jatečně opracovaná těla či opět jejich části, které byly po prohlídce negativní na přítomnost patogenů a jiných onemocnění (peří, drůbeží hlavy, běháky, kůže, rohy, krev, srst, tuková tkáň, placenta, štětiny z prasete a jiné).

Velkou skupinou odpadů, které spadají do této kategorie, jsou odpady z obchodních řetězců a průmyslu. Patří sem výrobky, jejichž obal byl poškozen, obsahující výrobní vady, či krmivo nevhodné pro další spotřebu. Pro všechny tyto produkty platí, že nesmí představovat zdravotní riziko pro lidskou či zvířecí společnost. Nedílnou součástí jsou také odpady z produkce drůbeže, jmenovitě skořápky od vajec, jednodenní kuřata, odpady z líhní a odpady ze stravovacích zařízení [8].

1.3 Statistické údaje

Celosvětový trend ve spotřebě masa je rostoucí, přičemž od roku 2010 do současnosti vzrostla spotřeba hovězího masa o skoro o 10 % (na 71,45 milionů tun). Spotřeba vepřového masa od roku 2010 do roku 2018 rostla prakticky lineárně, pak ale nastal pokles a spotřeba v roce 2021 se vrátila na hodnotu shodnou s rokem 2010 (108,78 milionů tun). Největší nárůst spotřeby však zaznamenalo drůbeží maso. Jedná se o nepřerušovaný, strmý růst prakticky od roku 1990, kdy aktuální spotřeba drůbežího masa činí 132,43 milionů tun. Největšími konzumenty toho typu masa jsou Čínská lidová republika a Spojené státy americké [9]. V globálním měřítku se také zvyšuje produkce ryb, kdy největší producent, Čínská lidová republika, za rok 2021 vyprodukoval 68,42 milionů tun [10]. Z celkové hmotnosti zvířete je u hovězího dobytka procentuální hmotnost čistého masa kolem 42 % z celkové živé váhy, u vepřového dobytka je tato hodnota 56 % [3]. Hmotnost VŽP je tedy značně velká, toto však záleží zejména na tom, co dle právní úpravy dané země spadá do kategorie odpadů. Z celkové hmotnosti např. u lososa obecného tvoří odpady 40 % [11]. Spotřeba zvěřiny se od roku 2004, kdy byla průměrná spotřeba pouze 0,6 kg na osobu, zvýšila v roce 2012 o 50 % [12], přičemž v letech 2018–2020 spotřeba stagnuje na 1kg

zvěřiny na osobu a 600 g králíčího masa na osobu [13]. Celkem bylo v období od 1. 4. 2020 do 31. 3. 2021 v České republice uloveno 20,8 tisíc tun vysoké zvěře [14]. Celosvětově byla produkce v roce 2018 2,11 milionů tun [15]. Zvěř (konkrétně daněk evropský) obsahuje okolo 30 % odpadního materiálu (srdce, játra, ledviny, tuk atd.) přičemž jako největší zdroj kolagenu se jeví končetiny (cca 2,8 % z váhy zvířete) [16].

V případě zajištění správné úpravy, zpracování a sanitace VŽP jsou tyto postupy klíčem k možné kontrole udržitelnosti ekonomické stránky zpracovatelského průmyslu coby snížení ekonomické zátěže v oblasti krmiva, do kterého se zpracované VŽP přidávají jako náhrada nutričních komponentů. Díky implementaci těchto produktů do krmiv může dojít ke snížení celkové ceny krmiva o 5-10 %, přičemž jsou zároveň ušetřeny náklady vzniklé za případnou likvidaci odpadů, pokud by nebyly efektivně využity [17].

1.4 Zpracování

Obecně je cílem zpracování VŽP přeměnit je na produkty, které budou mít tržní hodnotu. Uplatnění mohou nalézt v zemědělství jako hnojivo či krmivo, v potravinářství, farmacii či kosmetice. Zpracovávají se produkty jak požitelné, tak nepožitelné. Máme dva základní druhy zpracovatelských zařízení. Jeden typ takového závodu spolupracuje výhradně s porážkami, druhý typ odebírá VŽP od obchodních řetězců, farem či výkrmů.

1.4.1 Zpracování jedlých VŽP

Hlavní suroviny pro toto zpracování jsou lůj a sádlo. Používají se dva typy zpracování - nízkoteplotní a vysokoteplotní. U nízkoteplotního způsobu se používá teplota pod 49 °C, je šetrnější a zajistí kvalitnější produkt, který lze prodávat pod značkou jedlý. U vysokoteplotního zpracování jsou teploty mezi 82-100 °C, tuk se lépe rozpustí, avšak výsledný produkt je nižší kvality a je označen jako nepožitelný [2].

1.4.2 Zpracování nejedlých VŽP

Samotnou likvidaci vedlejších masných produktů či celých těl zvířat, které pocházejí z porážky, je možné provést několika způsoby. Řadíme zde kompostování, zpracování v kafilerie nebo anaerobní digesce. Nejsnáze lze zajistit hygienické předpisy při anaerobní digesti oproti např. kompostování, u něhož se spolu s těly kompostují také exkrementy hospodářských zvířat či ostatní produkty.

Kompostování

Po staletí je tento proces používán na farmách, kde je organický materiál vršen na sebe nebo tzv. kompostován na rádcích za současného zakrytí celého procesu z důvodu kontroly obsahu vlhkosti. Uplatnění této metody na živočišné odpady je možné v případě, že jsou odpady z masného průmyslu prokládány vrstvami slámy, hnoje a pilin. Obsah VŽP by se měl pohybovat v rozmezí 5-30 % a celý proces trvá 4 a 12 měsíců v závislosti na teplotě a rozměrech odpadního materiálu. Proces kompostování je sám o sobě exotermní, tudíž se v průběhu zvyšuje teplota masy. V epicentru rozkladu dojde k nárůstu teploty až na 70 °C. Je nutné během kompostování obsah promíchávat, tím se zajistí aerobní podmínky a bude upřednostněna přeměna uhlíku na oxid uhličitý, nikoliv na methan.

Anaerobní digesce

Rozkladný proces se skládá z řady biochemických reakcí typicky v kapalně fázi za podpory mikroorganismů, které bez přítomnosti kyslíku rozkládají původní materiál primárně na oxid uhličitý a methan [18]. Díky značnému podílu obsahu tuku a bílkovin v odpadních vodách je tento způsob zpracování velmi často využíván pro nakládání s odpady v čistírnách odpadních vod, zemědělském průmyslu či je potenciálně vhodná pro aplikaci v rybních sádkách [11]. Celý proces probíhá za endotermních podmínek, tudíž je potřeba celou masu vyhřívat v teplotní škále 10–70 °C. VŽP jsou v reaktorech mixovány s velkým množstvím (až 65 hmotnostních %) zemědělského hnoje v kombinaci s dalšími chemickými látkami sloužícími pro udržení pH, předcházení koroze a zápachu. Výsledné chemické složení velmi kolísá. Celkový obsah methanu se může pohybovat v rozmezí od 50 do 100 %. Obecně však plyn, který je výsledkem celého procesu, obsahuje kombinaci methanu, oxidu uhličitého, dusíku a jeho oxidů, amoniaku a vodní páry. Plyn pak může být dále zpracován přímo na místě díky své výhřevnosti, nebo transportován do rafinérie, kde je zpracován na bioplyn. Odpadní látky vznikající při anaerobní digesci se obvykle skladují přímo na místě a slouží převážně jako kapalné hnojivo.

Kafilérie

Nejrozšířenější proces pro zpracování VŽP, který dokáže rozložit jak jatečně upravená těla, tak i odpady masného průmyslu jako jsou kosti, peří, krev a jiné na rentabilní produkty. Zpracování v kafilérie je založeno na principu odstranění přebytečné vody a patogenů díky převaření. Hlavními produkty jsou tuky, oleje a moučka bohatá na proteinové řetězce. Ekonomická hodnota pramenící ze zpracování v kafilérii, je až pětinasobně větší, než

kdybychom stejné množství zpracovali metodou kompostování. Z 10 tun odpadního materiálu lze touto metodou získat až 2 tuny původního tuku a 2 tuny bílkovinných složek podobné kvality.

V první fázi zpracování musí být veškerý vstupní materiál upraven na stejnou velikost. Následně je přepuštěn do reaktoru, kde je teplota 115–145 °C za účelem odpaření vlhkosti, usmrcení cizorodých organismů a rozpuštění tuku. Teplo je do reaktoru dodáváno horkou vodní párou, která je generována spalováním plynu, oleje či dřeva.

Následuje fáze, kdy hmota skládající se z proteinů, kostí a tuku je dopravena do sušárny, kde se jednotlivé frakce oddělí. Tuk je následně pomocí centrifugy zbaven zbylých pevných částic. Proteinová část spolu s kostní jsou následně pomocí lisu zbaveny přebytečného tuku, který se zpětně vrací do systému. Posledním krokem je příprava masokostní moučky s vysokým obsahem bílkovin. Zkondenzovanou vodní páru je pak nutné přechytit [18].

Energetické využití

Bio nafta se stala v posledních letech vyhledávanou alternativou ke klasickým pohonným hmotám připravovaným z ropy hlavně díky své biodegradabilitě a absenci nutnosti velkých změn v konstrukci typického spalovacího motoru jakož i nízké pořizovací ceně u VŽP obsahujících velké množství tuků. Proces zpracování je založen na transesterifikaci alkoholem s nízkou molekulovou hmotností. Následně vzniká směs mastných kyselin a glycerolu. Jsou prováděny studie na zvýšení účinnosti a ziskovosti celého procesu, se kterým souvisí návrhy na jeho modifikaci. Při transesterifikaci je možné použít ultrazvuk či použít trubkové reaktory, avšak živočišné odpady mají stále svá omezení, jelikož je při jejich zpracování nutná voda. S tím souvisí i následné sušení a také velké procento mastných kyselin, které se redukuje procesem frakční krystalizace [6]. Drůbeží stelivo, které běžně obsahuje z velké části vodu (40 %), minoritně dusík, oxid fosforečný a oxid draselný, je velmi často využito jako hnojivo [19], může být využito i jako palivo (v případě nižšího obsahu vody), protože velmi dobře hoří [2].

Nejvíce prozkoumané je pyrolýza a spalování odpadů zároveň s uhlím. Hlavní výhodou spalování živočišných odpadů je jejich velký podíl minerálů jako například fosfor. Tyto minerály jsou nespalitelné, tudíž se pak mohou coby hnojivo výhodně využít. Současným spalováním je také generována energie, která je dalším přínosným výstupním artiklem [6].

2 VYUŽITÍ TUHÝCH A KAPALNÝCH ODPADŮ

V této kapitole bude shrnuto základní využití tuhých a kapalných odpadů, jež produkuje masný a zpracovatelský průmysl. Nejčastěji se jedná o hovězí, vepřové, drůbeží a rybí odpady. Vzhledem k tématu své bakalářské práce, v němž jsem detailněji rozebíral drůbeží odpady, je v této kapitole vynechám. Celkové množství odpadů činí ročně více než 35 milionů tun u hovězího a více než 43 milionů tun u vepřového dobytka [3] [9].

2.1 Hovězí a vepřové odpady

VŽP obsahují široké spektrum minerálů, vitamíny rozpustné i nerozpustné v tucích, vitamíny skupiny B, mastné kyseliny, esenciální aminokyseliny a jiné [6]. Všechny orgány, krev a další VŽP mají obecně vysoké procento minerálů, vitamínů i hormonů. Některé dokonce obsahují větší množství sacharidů (játra, ledviny) či vody (krev, mozek, plíce) než samotné maso [2].

2.1.1 Kůže a srst

Hmotnostní podíl se pohybuje v rozmezí od 4 do 11 %, přičemž nejmenší množství nalezneme u prasat a nejvíce u ovcí. Obecně jsou kůže považovány za jeden z nejcennějších vedlejších živočišných produktů. Proces zpracování kůže začíná po jejím odebrání z těla zvířete, kde je kůže co nejdříve ošetřena, aby se zamezilo počátku bakteriálního rozkladu. Typické je vysoušení vzduchem či opracování solným roztokem. Vepřovou kůží je možné zpracovat rovněž v kulinářském sektoru, a to jako nám známou smaženou pochoutku škvarky. Nicméně také v lékařství jsou vepřové kůže uplatněny jako náhrada popálených míst, díky své dobré kompatibilitě s lidským tělem. Kůži je nutno odchlupit, nařezat na požadované rozměry, upravit na tloušťku 0,2-0,5 mm a vyčistit.

2.1.2 Kostí

Kostí, jako součást těle zvířete, tvoří zhruba 11-16 % živé váhy podle druhu zvířete. V případě špatné separace masa vzniká kostní separát, v důsledku čehož je tento procentuální podíl o to vyšší. Historicky se kosti používají na přípravu vývarů, vyvařování klišu atd. Součástí kostí je i morek, který má v gastronomii značné využití. Existují však snahy o její využití i jiným způsobem než pouze v gastronomii, a to jako přísady do krmiv známé jako masokostní moučka.

Každý stát má vlastní normy pro to, kolik strojně oddělného masa může být do výrobku během zpracování přidáno stejně tak i povinnost tuto skutečnost ohlásit na etiketě [2].

2.1.3 Lůj a sádlo

Jako sádlo je označován tuk získaný z vepřového dobytka, zatímco lůj je z hovězí či ovčího dobytka. Odlišné vlastnosti u loje jsou především díky jeho chemické konfiguraci. Díky ní je možné separovat mastné kyseliny a glycerol pro další možné zpracování na mýdla, gumu, kosmetiku či pojivo do betonu [3]. Při mokřém zpracování je tuk opracován ve vodě při nízké teplotě. Výstupní kvalita a parametry tohoto zpracování jsou lepší než u druhého, suchého zpracování, typického pro nepoživatelné a nízko-kvalitní tuky. Historicky se tento druh tuků používal pro smažení [2].

Obecnou nevýhodou tuků je však náchylnost ke žluknutí, biologickému rozpadu a hydrolýze. Ke ztuhnutí vepřového sádla dochází při nižší teplotě (36-40 °C), než je tomu u hovězího loje (42-45 °C), přičemž ovčí lůj tuhne již při teplotách 44-48 °C. Vlastnosti zpracovaných tuků záleží i na typu stravy, jež zvíře po dobu výkrmu požívalo. Krmivo s vyšším obsahem tuku zpříčí snížení teploty potřebné ke ztuhnutí tuku, zatímco krmivo s vyšším obsahem sacharidů tuto teplotu naopak zvýší.

Množství volných mastných kyselin je pak charakteristické pro určení znehodnocení zpracovaného produktu a udává se jako podíl procentuálního zastoupení mastných kyselin ku celkové hmotnosti. Jakmile hodnota volných mastných kyselin překročí hodnotu 1 %, tuk už není považován za požitelný. Hlavní využití tuku nevhodného pro lidskou spotřebu je přídavek do krmiva, přičemž jeho přínosem je velká energetická hodnota [3].

2.1.4 Orgány a žlázy

Celosvětově, nejvíce však v Asii, jsou zvířecí orgány značnou kulinářskou pochoutkou. Jedná se především o játra, ledviny, mozek, srdce či plíce. Skrývají v sobě kvalitní nutrienty, stejně tak i vitamíny a minerály.

Střeva, které je kvůli kontaminaci nutné velmi rychle po vyjmutí vyčistit, jsou hojně využívána jako obaly na klobásy, stejně tak i jako přídavek do zvířecích krmiv.

Lékařství má díky hormonům, které se v orgánech a žlázách zvířat hojně vyskytují, pro tyto produkty rovněž využití. Jako prevence proti napadení mikroby a bakteriemi se využívá rychlého zmrazení orgánů následující po odebrání tuku a vyčištění orgánu. Následuje

transport do zařízení, kde se zpracují. Technologie zpracování jsou extrakce či rozmělnění na pastu a následné vysušení do formy prášku.

Cholesterol, obsažený nejvíce v mozku, je výchozí surovinou pro syntézu vitamínu D3. Jako účinný lék na schizofrenii, nespavost či mentální retardaci se ukázal hormon melatonin, extrahovatelný z šišinky, malé žlázy v mezimozku.

Pro zvýšení aktivity jater, léčbu zácpy či zlepšení trávení je možné použít látky získané ze žlučníku, respektive ze žluči v něm obsažené. Zpracovává se v podobě prášku či jako tekuté léčivo.

Samotná játra váží u hovězího dobytka okolo 5 kg a jsou ceněnou surovinou především jako zdroj vitamínu B12 pro léčbu různých typů anémie či jako zdroj heparinu, který je užíván jako protisrážedlo krve během operací či jako forma léčby některých onemocnění.

Pohlavní hormony jako estrogen nebo progesteron jsou extrahovány z vepřových pohlavních žláz. Dalším možným hormonem, získatelným z vaječníku prasnic, je peptidový hormon relaxin, který se používá během těhotenství [2], kdy upravuje reakci kardiovaskulárního systému, zvýšenou vasodilataci a funkci ledvin [20].

Trypsin, chymotrypsin a inzulin, jsou hormony produkované slinivkou břišní. První dva zmíněné hormony jsou využívány pro zlepšení hojení po operacích. Inzulin slouží k léčbě cukrovky snížením cukru v krvi. Jeho antagonist, glukagon, naopak zvyšuje v případě potřeby hladinu cukru [2].

Další možnou aplikací, která je stále ve výzkumné fázi může být potenciální snížení zbytkové cholesterolu pomocí ultrafiltrátu z prasečí aorty [6].

2.1.5 Krev

Krev obsahuje značné procento bílkovin (17 %) [2] tvořeného převážně bílkovinným komplexem hemoglobinem [6]. Obsahuje několik oddělitelných frakcí, největší z nich je tekutá krevní plazma (63 %) [2]. Celková hmotnost krve se pohybuje od 2 do 6 % živé váhy zvířete [3].

Aby krev mohla být použita v potravinách, musí pocházet přímo z vykrceného zvířete zkontrolované veterinární správou. Tradiční využití krve v evropských zemích je do klobás, černého pudingu, sušenek či chleba. V asijských zemích můžeme zase najít konkrétně vepřovou krev v krevním tofu. Krev se v potravinách může vyskytovat za účelem stabilizátoru, modifikace barvy a také jako přídatek nutričních hodnot [3]. Jako barvivo či

vylepšení chuti je možné použít frakce krve, které obsahují červené a bílé krvinky, stejně tak i krevní destičky. Omezením při použití je příliš tmavě červená až hnědá barva, která je s ohledem na v aktuální politiku velkoobchodních řetězců nahrazována spíše světlejšími odstíny.

Fibrinogen a trombin se využívají jako pojivo pro výrobu masových emulzí za účelem lepší tvrdosti a pružnosti nebo například pro výrobu restrukturalizovaných masných výrobků. Fibrinogen podporuje v potravinářských výrobcích spolu s imunoglobuliny či albuminy emulsifikaci a gelaci [6].

Kromě kulinářského využití se krev používá i jako součást hnojiva či krmiva. V zemědělství se nejvíce uplatňuje ve formě krevní moučky jako krmivo či jako přímá náhrada bílkovin a minerálů ve stravě [2]. Krevní moučku je však nutné přidávat v omezeném množství, není dobře stravitelná a dodává krmivu nepříjemnou chuť [3].

Buňky hemoglobinu, stejně tak i plazma, mohou být využity na přípravu bioaktivních peptidů [6]. Krevní produkty jsou také využívány v mikrobiologii jako součásti kultivačního substrátu známého jako krevní agar [2]. Konkrétně hydrolyzát z hovězí krve, který je připravován v prostředí 30% ethanolu a pepsinu, je schopen účinně odolávat bakterii *E. Coli*, *Staphylococcus aureas* či *Listeria innocua*. Červené krvinky z prasečí a hovězí kůže se chovají jako velmi dobré antioxidanty [6].

Výzkumy probíhají na téma přidávání fermentované směsi tvořené krví z porážky a rybích vnitřností do krmící směsi. Krev je tím pádem bohatá na aminokyseliny, konkrétně na lysin, a rybí složka zároveň dodává kvalitní bílkoviny a tuky [21].

Krevní plazma

Největší část krevní plazmy tvoří voda (cca 90 %). Zbytek jsou krevní bílkoviny albumin, globulin a fibrinogen. Díky obsahu albuminu má podobně jako želatina schopnost tvořit gel. Oddělený albumin se využívá jako krevní náhrada pro zvířata či jako stabilizátor ve vakcínách. Ze všech frakcí krve má právě plazma nejlepší schopnost vázat vodu a tuk, a tím je podpořena i její schopnost tvořit pěnu. Aplikace využívající tuto skutečnost je náhrada šlehaných bílků v pekařství. Transglutaminázu, extrahovatelný enzym obsažený v krevní plazmě, lze použít pro zlepšení soudržnosti restrukturovaných masných výrobků [2].

2.2 Rybí odpady

V roce 2020 byla celosvětová produkce ryb 195 milionů tun, z čehož je 40 % využito pro lidskou spotřebu a 60 % je odpad [22]. Odpady u ryb jsou nejvíce tvořeny vnitřnostmi (až 18 %), kostmi (až 15 %), hlavou (9-12 %), ploutvemi (kolem 5 %) a kůží (1-3 %). Odpady lze rozdělit do dvou kategorií, dle náročnosti jejich rozložení. Do té první řadíme odpady, které lze snadno enzymaticky rozložit, jako jsou vnitřnosti a krev. Druhá kategorie obsahuje hlavy, kůži, ploutve a kosti [23]. Díky velkému obsahu proteinů, jsou tyto odpady zpracovávány především na krmivo, siláž či hnojivo. Zároveň však mohou být zpracovány na hodnotnější produkty jako želatina, bioaktivní peptidy, enzymy, olej, bílkoviny, hydrolyzáty či [22] posloužit jako zdroj peptonů (běžněji se vyskytují v hovězím, vepřovém či koním masě) [2]. Aktuální výzkumy se ubírají právě cestou rybích hydrolyzátů, které mají velmi dobré vlastnosti a pozitivně účinkují na lidský organismus jako antioxidanty či antiflogistika. Jako antioxidanty se mohou přidávat do potravin za účelem prodloužení jejich trvanlivosti, jelikož omezují oxidační reakci tuků tím, že zachycují hydroxylové a kyslíkové radikály [22].

Kromě běžných metod zpracování je uplatňována také enzymatická hydrolýza, Soxhletova extrakce (pro získání tuků), biokatalytická degradace či fermentace. Mezi technologie více šetrné k životnímu prostředí řadíme extrakci superkritickou tekutinou (typicky CO₂), ultrazvukem, mikrovlnami nebo elektrickým polem [23].

Produkty zpracované hydrolýzou mohou podpořit produkci bakteriocinu bakteriemi kyseliny mléčné [2], které mohou být dle výzkumů možnou alternativou k nám známým antibiotikům [24].

Typickým zpracováním je tepelné opracování při 65-150 °C po dobu 12 h, za účelem snížení obsahu vody na 10-12 %. Výsledný produkt má vysoký obsah bílkovin (58 %), tuku (19 %) a minerálů. V případě zpracování na kolagen, jehož zdrojem jsou kůže, kosti a ploutve, je možné dosáhnout až 54% konverze vzhledem k celkovému obsahu kolagenu v surovině [2]. Rybí krev je nejčastěji využívána jako palivo, hnojivo či jako součást přípravku pro ryby ve vývinu [23].

2.2.1 Moučka

Je připravena z odpadů rybiho průmyslu pomocí vaření, lisování, vysušení a převedení do formy prášku. Díky velkému podílu bílkovin, velmi dobrému aminokyselinovému složení,

absenci antinutrientů a velmi dobré stravitelnosti je základem pro tvorbu krmení u masožravých ryb. Jako možná alternativa rybí moučce se jeví upravené vnitřnosti pstruha, které mohou ve formě extrudovaných pelet zaujmout významné místo na trhu díky lepší cenové nabídce a možnosti kombinace s jiným zdroji nutrientů.

2.2.2 Olej

Olej je připravován pomocí lisování uvařených VŽP a následnou centrifugací. Jedná se o druhou hlavní složku, získávanou zpracováním odpadů z ryb. Složením se jedná o kombinaci triacylglycerolu, fosfolipidů, etherů glycerolu, esterů mastných kyselin a alkoholů. Rybí tuk je výborným zdrojem dlouhých polynenasycených mastných kyselin.

2.2.3 Siláž

Siláž je tekutým produktem zpracování zbytkových odpadů, který vzniká smícháním s enzymy a kyselinami či s mikroorganismy (fermentace). V případě, že je nevhodné, především z transportních důvodů, převést odpady do zpracovatelského závodu na rybí moučku či olej, volí se forma zpracování na siláž přímo na místě. Během procesu je možné tuk pomocí centrifugace odebrat a použít jako doplněk do krmiva. Siláž je možné opět využít jako krmivo či ve formě hnojiva pro plodiny s dlouhou dobou skladovatelnosti. Nevýhodou je však poměrně velký obsah vlhkosti, a to až 80 %.

2.2.4 Bílkovinný koncentrát

Zpracovává se pouze pro lidskou spotřebu či specifické aplikace v potravinářství, nikoliv jako krmivo pro zvířata. Celkový obsah bílkovin je kolem 80 %, ve srovnání s hydrolyzátem však neobsahuje tuky ani vlhkost. Koncentrát je ve formě jemnějšího prášku s lepší texturou díky obsahu menších částic.

2.2.5 Minerály

Nejvíce obsaženými minerály v rybách jsou vápník, fosfor, zinek a železo. Nejvyšší obsah vápníku je v kranasovi obecném (233 g/kg). Losos obecný má naopak nejvyšší obsah zinku (233 g/kg). Vápník a fosfor můžeme najít v rybích kostech. Využití hydroxylapatitu může být v pooperačním období, kdy pomáhá regeneraci kostní tkáně.

2.2.6 Chitin a Chitosan

Chitin je polysacharid, získatelný z krunýřů, exoskeletů a kutikul. Je to druhý nejrozšířenější polysacharid na Zemi. Nejvíce je získáván z krunýřů krevet, olíhňů či odpadů tvořených hlavně rybími hlavami. Chitin má zajímavé biochemické vlastnosti, jako je biokompatibilita, biodegradabilita, antimikrobiální a antioxidační vlastnosti. Je často používán jako růstový stimulant a přídavek do krmiva pro zvířata a ptactvo.

Chitosan je připraven deacetylací chitinu [23], taktéž se vyskytuje v krunýři krabů a krevet. V potravinářství se využívá pro svou schopnost koagulace za účelem odstranit z výrobku během jeho zpracování látky bílkovinné povahy. Tato vlastnost se nevyužívá jen v potravinářství, ale je velmi rozšířená i při ošetření odpadní vody, kde je chitosan využíván jako chelační činidlo pro odstranění toxických kovů.

Chitosan lze zpracovat do formy tenkého filmu, který může být v kombinaci se svými antimikrobiálními a antifungicidními vlastnostmi použit jako ochranná fólie u balených potravin [2].

2.3 Odpadní voda

Voda pocházející ze závodů zpracovávajících kuřecí broilery, v sobě nese spoustu biologicky rozpustných látek. Procesem ultrafiltrace, srážením a reverzní osmózou se takto kontaminovaná voda přečišťuje [2]. Při zpracování kuřat je průměrná spotřeba vody 33,6 l na jeden kus broileru. U krutů porážky je to 41,6-87 l na cyklus a při zpracování hovězího dobytka až 1325 l. Největší spotřeba vody během zpracovatelských operací u kuřat je kuchání (29 %), chlazení (26 %), čištění (15 %) a opaření (8 %) [25].

3 KOLAGEN

3.1 Složení a vlastnosti

Kolagen není tvořen jedním typem proteinu, jedná se o celou směs vysokomolekulárních proteinových složek. Je známo několik typů kolagenu, přičemž základními a nejvíce vyskytovanými typy jsou kolagen I, II, a III [26]. Je to nejvíce zastoupený protein ve spektru VŽP avšak sám o sobě nemá nutriční hodnotu nikterak vysokou kvůli absenci esenciálních aminokyselin [6]. Rozdílné typy se vyskytují primárně v rozdílných tkáních, kdy v kůži, vazivu a šlachách se primárně objevuje kolagen typu I, naopak v chrupavce je nejvíce zastoupen kolagen II. kategorie [26]. U ryb je v obratlicích nejvíce dostupný kolagen typu I, který má výborné biodegradabilní, biokompatibilní vlastnosti, spolu s tím je nealergický a schopný tvořit film [23].

Kolagen, jako zástupce bílkovin, tvoří charakteristické struktury včetně terciální [26]. Aminokyselinové složení kolagenu je pro něj charakteristické, přičemž vždy obsahuje 19 aminokyselin. Odlišnou aminokyselinou, která se neobjevuje v jiných bílkovinách, je hydroxyprolin. Dále obsahuje velké procento glycinu, prolinu a nulové množství cysteinu [27]. Prolin a hydroxyprolin výrazně ovlivňují sekundární strukturu, jelikož na množství hydroxyprolinu v kolagenu závisí teplotní stabilita celého řetězce. Schopnost tvořit gel je možná díky fixaci skrze hydroxylové skupiny. V průběhu stárnutí organismu dochází k většímu zesíťování struktury a snížení schopnosti absorpce vody. Ve struktuře kolagenu nalezneme také minoritní podíl sacharidů, a to galaktózu a disacharid tvořený glukózou a galaktózou [26].

3.2 Využití

Původně se kolagen získával pouze z vepřových a hovězích částí, bohatých na jeho obsah. Nicméně v průběhu času se podařilo najít i jiné vhodné zdroje, které jsou běžně považovány za odpadní [23]. Kolagen je považován za velmi dobrý zdroj pro syntézu bioaktivních peptidů. Enzymy používané pro kontrolovanou hydrolýzu kolagenu jsou pepsin, alkaláza, chymotrypsin, bromelain či papain [6]. Chová se také jako emulgátor, tudíž se v potravinářství často využívá jako pojivo pro tuk, například u klobás. Zdravotnické produkty z kolagenu mohou při operacích zahájit srážení krve [2].

3.2.1 Modifikace

Modifikace kolagenu v přítomnosti chitosanu vytvoří interakci, která má za následek změnu kolagenní sekundární struktury. To ovlivní i koncové vlastnosti, kdy film vytvořený z tohoto typu kolagenu má odolnost vůči UV záření a funguje jako antioxidant [23].

3.2.2 Hydrolyzát

Zdroje rybího hydrolyzátu mohou být kůže sumečka tečkovaného, tilápie, amura bílého, sardele obecné či hlavy lososa obecného i lososa nerka a dalších. Při přípravě je velmi časté enzymatické opracování. Enzym volíme podle druhu ryby, nejčastěji alkalázu. Celkový obsah bílkovin v hydrolyzátu, připraveného z rybích VŽP (svalovina, hlavy, kůže), byl průměrně 64-92 %, přičemž nejvíce bílkovin obsahoval hydrolyzát z kůže amura bílého, který se vyskytuje i v České republice. Obsah tuků se pohybuje nejčastěji do 3 %. Vlastnosti hydrolyzátu jsou voda a olej zadržující kapacita, emulsifikační kapacita a schopnost tvořit gel či pěnu. Má velmi dobrou stravitelnost, schopnost prodloužit trvanlivost zmrazených výrobků stejně jako podpořit cílený růst organismů tím, že se může stát zdrojem dusíku [22]. Velmi častou aplikací je hydrolyzovaný kolagen v kombinaci s kyselinou hyaluronovou pro zlepšení povrchu kloubů a zlepšení jejich funkce [6].

4 ŽELATINY

4.1 Složení želatin

Želatina z velké části obsahuje bílkoviny, v rozmezí 85–92 %. Zbytek tvoří minerály, případně částečná vlhkost. Hlavní zdroj tvoří kolagen, jehož částečnou hydrolýzou je želatina připravena.

Při přípravě želatin z kolagenu hrají klíčovou roli parametry, které budou nastaveny při extrakci. Největší vliv na výsledné vlastnosti kolagenu má kyselé nebo zásadité opracování spolu s teplotou a dobou extrakce. Opracování má vliv na finální molekulovou hmotnost a distribuci želatin, přičemž kyselé opracování vede k širší molekulové distribuci. Obecně platí, že čím vyšší molekulová hmotnost želatin, tím více pevné gely vytváří. Tím že želatina tvoří koloidní vodný roztok, ji můžeme taktéž řadit do skupiny hydrokoloidů. Ty se velmi často používají v potravinářství díky svým rozličným vlastnostem. Želatina vyniká mezi ostatními tím, že je nejvíce univerzální [26].

Základní surovinou pro přípravu želatin jsou kosti a kůže, díky velkému podílu kolagenu obsaženém v jejich strukturách [2]. Alternativním zdrojem pro výrobu želatin jsou rybí části, bohaté na kolagen, ovšem chemicko-fyzikální vlastnosti rybí želatin se doposud nevyrovnají vlastnostem konvenčních želatin z hovězích nebo vepřových zdrojů [23].

4.2 Výroba želatin

Průmyslově nejvíce zpracovávané zdroje kolagenu, a tudíž i želatin, jsou z vepřového a hovězího dobytka.

4.2.1 Kostí

Významným zdrojem jsou zvířecí kosti, které se poté, co jsou transportovány na místo zpracování, namelou na uniformní velikost. Poté jsou proprány horkou vodou spolu s mechanickým opracováním za účelem odstranění tuku, zbytkového masa či nečistot, a následně vysušeny. Odpadní produkty vznikající při těchto operacích, převážně tuk a zbytky kostí, jsou nejčastěji využity jako hnojivo.

Druhým stupněm zpracovatelského procesu je macerace. Principem je odstranění minerálních látek z kostní tkáně pomocí kyselého opracování, nejčastěji kyselinou chlorovodíkovou. Vedlejším produktem je roztok hydroxidu vápenatého

a dihydrogenfosforečnanu vápenatého, z něhož se po vysrážení získá hydrogenfosforečnan vápenatý, jež nachází využití jako hnojivo či přídatek do krmiva.

Procesem zvaným tlaková hydrolyza, lze zkrátit dobu opracování a vynechat maceraci. Zpracování je na principu opracování v autoklávu při teplotě 140 °C po dobu 20 minut. Kvalita želatiny takto vzniklé není příliš velká, avšak v případě namletí kostí na menší rozměry se zkrátí délka procesu a lepší kvalita želatiny.

4.2.2 Kůže

Druhým významným zdrojem pro výrobu želatiny jsou hovězí a vepřové. Hovězí kůže je ošetřena alkalickým roztokem, odchlupena a následně rozřezaná na jednotlivé vrstvy. Pro výrobu želatiny se využívá pouze střední vrstva. Pro horní vrstvu je typické využití v kožedělném průmyslu, spodní tuková vrstva se většinou odstraňuje jako odpad.

U vepřové kůže je první zpracování již na jatkách, kde je z ní účelově odstraněn tuk. Následně je zchlazena a transportována do zařízení na zpracování želatiny. V Asii jsou vepřové kůže zpracovány také v kožedělném průmyslu, tudíž se provede stejný postup jako je popsán u hovězích kůží výše.

4.2.3 Kondicionování

Kolagen se díky své zesíťované struktuře ve vodě, i vařící, neochotně rozpouští. Proces kondicionování je způsob opracování kolagenu do takové míry, aby se tyto vazby rozrušily. Cílem je však rozrušit pouze tyto vazby, nikoli bílkovinný řetězec. V případě, že bychom chtěli kolagen pomalu vařit, trvalo by rozrušení vazeb velmi dlouho, a výsledná želatina by měla špatné vlastnosti. Z tohoto důvodu se tedy používají zředěné kyseliny, zásady či šetrnější enzymy, které volíme podle výchozí suroviny, respektive pro více tučné zdroje kolagenu se volí kyseliny, jelikož v případě použití zásady by mohlo dojít k saponifikaci.

Alkalické opracování

Spolu s kostní drtí jsou kůže opracovány pomocí vodného roztoku hydroxidu sodného (1%) či roztoku hydroxidu vápenatého. Obě chemikálie potřebují rozdílnou dobu na úspěšné opracování. Rozdíly nejsou však jen v době opracování, ale také v samotném procesu. Opracování hydroxidem vápenatým trvá déle, ale má jisté výhody jako například velmi dobré odstranění albuminů a globulinů ze směsi. V případě, že je koncentrace zásaditých

látek příliš vysoká, může dojít k rozpuštění kolagenu v roztoku a při konečném promývání se vymyje společně s jinými látkami, což způsobí následně nižší výtěžnost.

Po alkalickém opracování má extrahovaná želatina vyšší čistotu, a proto je tento způsob opracování preferován, pokud se jedná o želatinu určenou pro fotografické využití.

Kyselé opracování

Opracování zředěnou kyselinou se nejčastěji využívá na vepřové kůže, které jsou na jatkách sejmuty relativně mladých (5-7 měsíců) prasat. Díky tomu nejsou mezi kolagenními řetězci tak silné příčné vazby. Tyto vazby, které jsou následně štěpeny zředěnou (2-4%) kyselinou chlorovodíkovou či kyselinou sírovou za současného mechanického mělnění. Během tohoto procesu, trvajících 24 h při pokojové teplotě, se na hladině vyplavuje odseparovaný tuk. Na konci procesu se upraví pH přidáním zásaditých látek, čímž se vytvoří soli kyselin, jež jsou následně vymytím odstraněny.

4.2.4 Extrakce

Želatina je z kolagenu extrahována při několika tepelných stupních, na škále od 50 do 100 °C po dobu 4-7 hodin v každém kroku. Během každého stupně se získá 3-7% želatinový roztok. Gelotvornost želatiny se zvyšující se teplotou během extrakce negativně ovlivněna.

Kontinuální extrakce

Využívá se především pro hovězí kůže, které jsou zpracovávány při nízkém pH (2-3) při stálém doplňování čerstvě opracované suroviny. To způsobí, že v jednu chvíli jsou extrahovány různé frakce želatiny, které se ve výsledku smíchají. Výsledná želatina má dobré vlastnosti jak po chemicko-fyzikální stránce, velká pevnost a nízká viskozita, tak i po stránce potravinářské, velká čírost. Proces extrakce může pokračovat i s na dně reaktoru usazeným podílem, ze kterého se dá získat želatina s nižší pevností.

Semi-kontinuální extrakce

Extrakční dávka upraveného materiálu je vložena do reaktoru a zahřívána podle teplotního režimu. Jakmile je první frakce vyextrahována a odebrána, pokračuje se kontinuálně v extrakci až k poslední frakci. To umožní extrahovat i želatinu, která je ve středu materiálu. Obecně platí, že čím vyšší teplota, tím horší vlastnosti u želatiny můžeme očekávat. Výsledkem této extrakce jsou jednotlivé frakce, nikoliv směs.

4.2.5 Dokončující operace

Filtrace

V prvním kroku filtrace jsou použity separátory, které rozdělí extrahovaný roztok na pevnou složku, tuky a roztok želatiny. V případě, že matečnou surovinou jsou vepřové kůže, je zde větší množství tuku, který lze následně využít jako složku do krmiva či pro výrobu mýdel. Po odseparování tuku následuje další filtrace pomocí křemeliny, perlitu či celulózy. V případě, že se vyrábí nízkomolekulární želatina, lze provést mikrofiltraci přes membránu. Pokud bychom však připravovali vysokomolekulární želatinu, je zde riziko, že neprojde přes póry, které mají průměr 1 mikrometr.

Deionizace

I přes předchozí filtraci obsahuje želatinový roztok stále určité procento minerálních solí a popela. Obsah popela je mezi 2-3 %, přičemž farmaceutické požadavky jsou ideálně pod 1 % obsahu. Minerální soli mohou reagovat s ionty ve vodě. Při následném při vysušení by mohlo dojít k tvorbě nestabilit, kvůli vzniku dalších nerozpustných solí. Aby se těmto jevům předešlo, používají se iontové výměníky, případně je želatinový roztok převeden přes ultrafiltrační aparaturu.

Koncentrace

Po předchozích úpravách obsahuje želatinový roztok zhruba 95 % vody. Optimální množství vlhkosti v želatině, je 10-12 %. To zajistí, že se želatina bude dít dlouho skladovat a nezačnou v ní nechtěné mikrobiální procesy. Procesy koncentrace můžeme rozdělit do dvou základních postupů, a to jednostupňové při teplotě 52 °C a více stupňové používající teplotní rozmezí 50–100 °C.

Použití systému ultrafiltrace je rovněž velmi výhodné, kdy jeho cílem je přes póry (0,05 mikrometru) procedit vodu spolu se zbylými minerálními solemi. Je zde však riziko, že některé nízkomolekulární frakce želatiny projdou spolu s vodou, což může snížit výslednou účinnost extrakce.

Koncentrační fáze je dokončena pomocí výparníku až na koncentraci okolo 50 %. Během koncentrace mohou albumin a globulin začít koagulovat, což vede k jejich vyloučení na povrchu roztoku. V takovém případě je nutný další krok filtrace.

Sterilizace

Sterilizace se provádí dvěma způsoby, často se i kombinují. Prvním z nich je nepřímá sterilizace přes deskové výměníky tepla, která je z hlediska energetické recyklace velmi výhodná. Druhým způsobem je přímá sterilizace pomocí páry, která je k produktu šetrnější díky kratší době trvání celého procesu, avšak spotřebovanou energii nelze nijak recyklovat.

Sušení a Granulace

Želatinu je nutné po sterilizaci ochladit, děje se tak přes výměník tepla. Následně je vytlačena přes hlavu do formy nudliček, které padají na sušicí pás. Sušení probíhá za pomoci proudícího vzduchu na začátku při teplotě 30 °C a vlhkosti 10–15 %, ke konci sušení je teplota vzduchu 60 °C. Želatina se dostane na finální vlhkost zhruba kolem 10 % a je dále nahrubo namleta.

Standardizace a Balení

Jednotlivé šarže připravené želatiny se liší jak svými vlastnostmi, tak i původem matečné suroviny. Pro speciální aplikace je nutné jednotlivé šarže oddělit, avšak pro zajištění stejné kvality v průběhu času, je želatina před balením tzv. standardizována. Standardizace je proces, kdy se smíchají želatiny různých fyzikálních a chemických vlastností podle daného schématu. Je tak zajištěna uniformní vlastnost v průběhu času.

Součástí procesu standardizace je také snaha o dosažení uniformní velikosti částic. Nikdy však není dosaženo stavu, že všechny částice budou mít stejný rozměr. Význam deklarovaného rozměru je ale ten, že všechny částice budou stejné nebo menší, než je uvedená hodnota. Standardní rozměry jsou 0,1 mm; 0,5mm; 0,8mm; 2,5-3,5mm; 10 mm.

Po namletí je želatina balena do balíčků podle přání koncového spotřebitele. Velikosti se pohybují od pytlíčků do supermarketových řetězců (10-15 g) až po průmyslové Big Bagy obsahující až 1 000 kg.

4.3 Vlastnosti želatin

Vlastnosti želatiny se dají rozdělit do dvou základních kategorií, první z nich souvisí s tvořením gelu, druhá pak s ovlivněním a modifikací povrchu. V případě tvoření gelu jsou důležité vlastnosti jako pevnost, viskozita, doba gelovatění, teplota tání a tuhnutí. U modifikace povrchů nás bude zajímat pěnotvornost, vodu a tuk zadržující kapacita, adhezivní vlastnosti, a stejně tak i schopnost se rozpouštět či tvořit film.

Pevnost želatinového gelu – měří se v jednotkách Bloom, což značí množství gramů zatížení potřebného pro vtlačení pístu do specifické hloubky v gelu. U komerčních želatin se pevnost pohybuje do 300 Bloom, přičemž čím větší molekulovou hmotnost želatina má, tím má vyšší pevnost a je čířejší.

Formování gelu – pokud se želatinový roztok ochladí, molekuly se začnou shlukovat k sobě a po čase vytvoří gel.

Teploty tání a tuhnutí želatinového gelu – lze určit z průsečíků elastického a ztrátového modulu, respektive teplotu tuhnutí gelu určíme při ochlazování a teplotu tání určíme při zahřívání. Tyto tepelné hodnoty jsou také ovlivněny rychlostí ohřevu.

Povrchové vlastnosti – želatina obsahuje ve svých bočních řetězcích hydrofilní i hydrofobní aminokyseliny, které jsou schopné migrovat na povrch a tím snížit povrchové napětí. Zároveň s faktem, že je želatina schopná stabilizace a ochrany tvořeného povrchu, se využívá pro tvorbu a stabilizaci pěny a emulze.

Isoelektrický bod – určitá hodnota pH, při které se želatina bude chovat neutrálně, bez náboje. Jakmile pH zvýšíme nad tuto teoretickou hodnotu, želatina bude nabitá negativně. Isoelektrický bod ovlivňuje kompatibilitu želatiny s jinými složkami, proto je důležité ji volit podle výsledného pH směsi.

Ochranný koloid – degradace povrchu materiálu je způsobena agregací částic a krystalů, přičemž funkcí ochranného koloidu je těmto procesům zabránit. Hojně se této vlastnosti využívá u fotografií, kdy plní funkci jak ochranného koloidu, tak i nosiče a vazného média. Na stejném principu funguje i v potravinářství, kdy se využívá jako ochranná vrstva pro zmrzliny (zabránění krystalizace laktózy). Účinnost ochranných látek se hodnotí dle zlatého čísla, jež je vyjádřeno jako minimální nutná váha koloidu v miligramech, která zabrání koagulaci definovaného roztoku. Želatina má ve srovnání s ostatními hydrokoloidy zdaleka nejlepší ochranné vlastnosti. Oproti škrobu je třeba užít 500x méně želatiny a je 200x účinnější než arabská guma.

Pojivo – spojení částic pracuje na principu adhezních a kohézních sil. Adhezní přitažlivé síly jsou založeny na intermolekulární interakci částic, naopak kohézní jsou založeny na intramolekulární interakci částic. Kohezní interakce jsou také často nazývány silami vnitřní soudržnosti materiálu.

Želatina ve formě roztoku je schopná obalit jednotlivé části směsi, které je třeba spojit, a tím se vytvoří adhezivní interakce. Po ochlazení směsi začne želatina přecházet v gel, čímž se výrazně zlepší také kohézní síly.

4.4 Modifikace želatiny

Technické želatiny jsou velmi často modifikovány skrze své funkční skupiny (aminoskupiny, hydroxylová a karboxylová skupina). Díky vhodné modifikaci se dosáhne vlastností, kterými standardní želatina nedisponuje. Využití je možné ve vinařství, kosmetice či farmacii. Pokud želatina bude reagovat s chloridy mastných kyselin, lze ji přetvořit do čistícího prostředku, jež je biodegradabilní, netoxický a vhodný k použití v kosmetice.

Významnou modifikací je síťování a stupeň, kterého jsme po aplikaci síťovadel schopni dosáhnout. Jako vhodné síťovadlo se dá využít jak kovové kationty, tak i organické sloučeniny jako ketony či aldehydy. Se zvyšující se intenzitou sítě, roste také teplota nutná k rozpuštění želatiny a zvyšuje se odolnost proti mechanickému namáhání.

Želatinu lze také modifikovat enzymaticky pomocí transglutaminázy. Tento proces způsobí opětovné spojení řetězců kolagenu a zvýšení viskozity. Samotná pevnost gelu tímto není výrazně ovlivněna.

4.5 Aplikace želatin

4.5.1 Potravinářství

Dezerty a cukrovinky

Želatina jako jediný hydrokoloid disponuje kombinací vlastností velmi důležitých pro cukrovinky. Je to především schopnost v krátkém čase velmi rychle absorbovat vodu, rozpustit se při teplotě, jež je v lidských ústech, a tím uvolnit chuť uchovanou ve výrobku.

Jedním z produktů, ve kterém hraje želatina významnou roli, jsou gumoví medvídci. Převážně se využívá želatina typu A s vyšší pevností. Je neutrální v barvě a chuti, čirá a má požadovanou texturu. V případě použití želatiny typu B je potřeba volit želatinu s ještě vyšší pevností. V případě, že je výsledný produkt tmavěji zbarvený, je třeba zkrátit dobu vystavení vyšším teplotám, či zredukovat množství přidaných cukrů. V případě použití želatiny typu A o pevnosti 260 Bloom bude její celkový obsah ve směsi okolo 7 %.

Ve sladkých pochutinách jsou využívány také pěnotvorné a stabilizační vlastnosti želatiny. Příkladem mohou být marshmallows, žvýkáci bonbony či turecký med. V případě tvorby pěny čistě z roztoku cukru se pěna, jež bude vyšlehána, velmi rychle rozpadne. Přidáním želatiny se nejen díky snížení povrchové napětí navýší celkový objem pěny, ale navíc se vytvoří film, a pěna se stabilizuje. Želatiny typu A se upřednostňují kvůli zajištění většího objemu a stability pěny, než by dokázala poskytnout želatina typu B. Procento přidané želatiny je oproti gumovým medvídkům menší (3,2 %) a jsou zde i nižší nároky na pevnost želatiny (postačí už 220 Bloom)

Želatina o pevnosti 70-140 Bloom najde uplatnění v karamelových bonbonech, v plněných tyčinkách či nugátu. Má zde opět funkci stabilizace pěny, fixace struktury, případně zabraňuje rekrystalizaci sacharózy.

V müsli tyčinkách lze použít jak želatinu, tak také hydrolyzát. Primárně totiž nejde o využití schopnosti tvořit gel či stabilizovat pěnu, ale o adhezivní schopnosti. V případě, že by se použila pouze sacharóza (více než 50 %), byl by v tyčince příliš velký obsah vody a musel by být zařazen procesní krok sušení. V případě použití hydrolyzátu, který je velmi dobře rozpustný ve vodě, je potřeba pouze 10 % sacharózy a díky nízkému obsahu vody není třeba sušit. Zároveň jej lze využít také ve slaných tyčinkách, kde je schopen velmi dobře navázat tuky a koření.

Důležitá role želatiny je i v bonbonech obalených v čokoládě. Zde želatina plní funkci elastického filmu a zajišťuje adhezi mezi jádrem bonbonu a čokoládovým obalem. Společně s hydrolyzátem jsou díky svým jedinečným vlastnostem technologicky ale také cenově vhodnou alternativou arabské gumě.

Mléčné výrobky

Přirozeným stabilizátorem pro mléko je bílkovina kasein. Jeho přeměny v gel se využívá při výrobě sýrů či fermentovaných výrobků. Během tohoto procesu ale kasein ztrácí svou funkci, a proto je nahrazen přidanou želatinou. Želatina snižuje povrchové napětí vody, tenkým filmem obalí kapénky tuku, čímž se stanou hydrofilní. Emulze je stabilní díky stejně nabitým částicím, což způsobí jejich odpuzování. Vhodnější jsou želatiny s vyšší pevností, jelikož lineárně s ní roste i mechanická odolnost filmu.

Méně pevná želatina (125 Bloom) je vhodná pro stabilizaci pěny u mléčných výrobků, jako jsou jogurt či zmrzlina, u nichž zároveň ovlivňuje distribuci a velikost ledových krystalů. Želatina o dvojnásobné pevnosti (240 Bloom) je využívána pro stabilizaci pomazánek, ve

kterých je z jistých důvodů nutno omezit procento tuku. Tím, že je redukováno procento tuku, je potřeba, aby bylo nahrazeno vodou. Želatina zajistí, že nedojde k oddělení fází voda-tuk během skladování.

Masné výrobky

Technologické vlastnosti vázat vodu a tuk jsou v tomto odvětví hojně využívány stejně jako možnost zvýšit celkový podíl bílkovin ve výrobku. Nejvíce viditelné je použití želatiny a její želírovacích schopností v aspiku neboli huspenině. Pro výběr vhodné želatiny je rozhodující teplota, při níž bude výrobek skladován. Obecně platí, že čím vyšší pevnost bude zvolená želatina mít, tím vyšší bude teplota tání, což umožní výrobek skladovat i při pokojové teplotě. V průmyslu se používají želatiny o pevnosti okolo 240 Bloom, u nichž je i přes vyšší cenu celkové množství použité želatiny nižší a ekonomicky výhodnější než méně pevnější typy želatin.

Želatina ve formě ochranného filmu chrání výrobky před předčasným vysycháním, ať už se jedná o maso konzervované v plechovce, či zatavené v plastovém obalu. Zároveň je během sterilizace schopná absorbovat vyloučenou šťávu a drží kousky masa pohromadě.

Želatinu je možné použít také jako vodu zadržující prostředek ještě před uvařením. Aplikací želatiny na povrch masa se zabrání vylučování šťávy, která je pak zachycena v mase při skladování a prodeji. Díky tenkému povlaku želatiny maso neuvolní takové množství šťávy do obalu a výrobek je následně sensoricky více přitažlivý pro zákazníka.

Nápoje

Želatina je velmi populární při přípravě piva, vína či ovocných nápojů. Plní roli čiřícího činidla, pomáhá při srážení a zároveň je schopná aktivně reagovat s polyfenoly a tříslovinami, jejichž koncentraci účinně snižuje. Molekuly želatiny jsou v roztoku pozitivně nabitý a reagují s negativně nabitým polyfenoly, se kterými vytvoří vodíkovou vazbu, tím se stává želatina nerozpustná a následně sedimentuje na dně skladovací nádoby. Schopnost vázat se na jiné molekuly je ovlivněna isoelektrickým bodem, a tím i hodnotou pH přítomného roztoku. Víno, pivo a džusy mají většinou pH hodnoty od 3,5 – 4,5, proto se v tomto případě uplatní želatina typu A více, než želatina typu B. Želatina typu A má totiž isoelektrický bod mezi hodnotami 8-9, zatímco želatina typu B okolo 5.

4.5.2 Lékařství a farmacie

Drtivá většina, (až 90 %) želatiny, spotřebované ve zdravotnickém odvětví je využita na výrobu želatinových kapslí. Želatinové tobolky slouží k ochraně a pohodlné aplikaci léčiva v nich uloženém. Podle technologie přípravy a využití kapslí je dělíme do dvou kategorií, a to tvrdé a měkké kapsle.

Tvrdé kapsle

Skládají ze dvou částí, kdy spodní část je o trochu delší a v průměru menší, než vrchní část. Jsou připraveny technologií máčení, kdy jsou ocelové trny namočeny do želatinového roztoku o koncentraci 28–35 % a teplotě 50 °C, přičemž jsou po vytažení ochlazeny a sušeny vzduchem o teplotě 22–28 °C na celkový obsah vlhkosti v rozmezí 14–16 %. Na viskozitě roztoku a rychlosti vytažení trnů záleží konečná tloušťka vrstvy, jež se pohybuje v mezích 80–150 µm, podle dané části tobolky. Po primárním vysušení je želatinová kapsle dočasně uzavřena z důvodu snadnějšího převozu k plnicí lince. Uzavřené tobolky jsou následně dosušeny při teplotě vzduchu 22 °C na expediční vlhkost 13 %. Jako ochranu vnitřního obsahu proti účinkům slunečního záření či jako prosté rozlišení oproti jiným léčivům lze přidat nerozpustné pigmenty pro změnu barvy tobolky. Byly pozorovány jiné doby rozpustnosti u tobolek připravených z želatiny původem z kostí, než tomu je u z hovězích kůží. Respektive první zmíněná želatina má tendenci se rychleji rozpouštět, avšak obecně platí, že tvrdá želatinová kapsle se v těle rozpustí do 30 minut od požití.

Měkké kapsle

Jsou připravovány kontinuálním rotačním způsobem, kdy jsou nezávisle na sobě připraveny z želatinového roztoku o teplotě 60 °C dva želatinové filmy, které jsou přivedeny na rotační bubny a po vstříknutí léčiva je kapsle uzavřena. Před přípravou samotného filmu je do želatinového roztoku nutné přidat změkčovadla, aby bylo eliminováno smrštění filmu, k němuž došlo v důsledku odstranění velké části vlhkosti obsažené během procesu sušení. Jako nejběžnější změkčovadla se používají glycerol, sorbitol nebo jejich kombinace. Vyrábí se jak tobolky s podélným švem, tak i bez něj. Průměrná tloušťka stěny se pohybuje v rozmezí 500–800 µm. Tím, že je látka vstříkována při teplotě 40–45 °C, dochází k jemnému natavení vnitřní strany tobolky, což pozitivně přispívá k celkovému utěsnění. Na rozdíl od tvrdých kapslí je zde příprava a plnění součástí jedné technologické operace.

Po uzavření tobolky následuje fáze sušení, kdy je během 3–8 dní v tobolce snížen obsah vlhkosti na 6–8 %. Následně je možné dodatečně modifikovat povrch pro zvýšení pevnosti či odolnosti proti žaludečním šťávám. Přibližná doba rozpuštění měkké želatinové kapsle o orálním užití je 2–10 minut. Optimální vlastnosti želatiny pro měkké kapsle jsou: pevnost 150–200 Bloom a dynamická viskozita 6,66% roztoku při teplotě 60 °C 2,5 – 4,5 mPas. Musí zde být také vhodný poměr dlouhých a krátkých řetězců, aby byl připravený film během procesu plnění a uzavření stabilní.

Náhrada krevní plazmy

V případě velké ztráty krve, ať už v důsledku nehody, či náročné operace, je možnost využít dočasnou náhradu krevní plazmy založenou na želatině. Před použitím je nutné snížit molekulovou hmotnost želatiny tepelným opracováním na 10 000 g/mol a následně změnou jejich molekulového charakteru z podélných na globulární se současným nárůstem molekulové hmotnosti až na 30 000 g/mol. Celkový podíl želatiny v roztoku je pak 3 – 5,5 % a spolu s ionty sodíku, vápníku, chloridu, draslíku, fosforu a síry tvoří roztok se stejným osmotickým tlakem, jako má krevní plazma.

Další aplikace

Nízkopevnostní želatina (90–140 Bloom) je využívána jako pojivo spolu se sacharidy a antioxidanty pro vitamíny, mastné kyseliny či karotenoidy. Pro zvýšení odolnosti je jako obal zvolen škrob nebo silika. Funkci pojiva má také při výrobě pastilek či tvorbě ochranného povlaku na tabletách. Želatina nachází své uplatnění také při operacích, a to ve formě želatinových houbiček, které dokáží absorbovat až 50násobek své váhy při plné biodegradabilitě.

4.5.3 Fotografický průmysl

Želatinové roztoky jsou bezbarvé, transparentní a ve formě povlaku nezbytné ve fotografickém průmyslu. Reagují s halogenidy stříbra a zabraňují jeho koagulaci. Opět se zde využívají schopnosti želatiny stabilizovat emulzi voda – olej a rovněž její schopnost thermoreversibilní gel, díky čemuž je možné fotografické emulze trvale nanášet na nosiče, jako jsou fotografický film či papír.

Parametry na použitou želatinou jsou velmi striktní, co se týče pevnosti (minimálně 260 Bloom), dynamické viskozity (vyšší než 5 mPas), tak i iontového složení. S dnešní technologií však není problém hlídat, aby byly hodnoty vápenatých iontů v normě.

4.5.4 Kosmetika

Účelem kosmetických produktů je zvýšit obsah vody v pokožce, respektive v jejích buňkách. Přírodní zvířecí kolagen, který má vyšší molekulovou hmotnost, není schopen proniknout do pokožky, avšak zajistí hydrataci buněk pokožky a díky své filmotvornosti zajistí, aby z pokožky ihned neunikla vlhkost. Je však velmi náchylný na tepelnou degradaci, tudíž musí být při zpracování dodržen limit 30 °C. V případě, že se vstříkne kolagen přímo do podkoží, je nutné kúru opakovat, jelikož tělo přírodní kolagen po čase samo denaturuje. Naproti tomu želatinové hydrolyzáty díky své nižší molekulové hmotnosti, kterou lze řídit kontrolovanou hydrolyzou, mohou pronikat do pokožky či do vlasů, a zadržet zde vlhkost mnohem déle.

4.5.5 Technické aplikace

Mikroenkapsulace je jeden z možných procesů, v němž našla želatina své uplatnění. Tuto technologii najdeme u samopropisovacího papíru. Mikroenkapsulace je také použita v katalogích kosmetických firem, kdy po otření určitého místa je uvolněna vůně do okolí. Využití je však daleko více, a to od farmacie, kde je využívána pro vakcíny, přes zemědělství až po potravinářství.

V technickém průmyslu je také hojně využívána adheze želatiny. Přírodní klihová lepidla jsou běžně používána v nábytkářském průmyslu, ale i ve všem dobře známých zápalkách. U zápalek se kombinuje jak výborná adheze, tak pěnivost želatiny. Díky vzniklým pórům můžeme zápalku pohodlně zapálit. Adhezivní vlastnosti jsou využívány také při výrobě papíru stejně jako při restaurování starých knih.

Filmotvornost a ochrana povrchu je aplikována na výrobky, jež je třeba ochránit proti korozi či vlivům prostředí. Konkrétní využití je například u povlaku vrtné tyče při narážení studny, kdy s ohledem na životní prostředí a možnou kontaminaci vody nelze použít klasické ochranné povlaky proti korozi. Stejně jako u kovových povrchů lze želatinový film aplikovat také na plastové obalové výrobky za účelem snížení jejich propustnosti pro plyny, či na dýchací masky, kdy slouží jako vrstva reagující s vlhkým vzduchem, který uživatel vydechuje a zabraňuje tak nadměrnému zamlžení z vnitřní strany.

4.5.6 Želatinový hydrolyzát

Forma želatiny, která má menší molekulovou hmotnost (500–25 000 g/mol), a díky tomu je rozpustná ve studené vodě. Na přípravu se využívá stejná výchozí surovina jako pro přípravu

klasické želatiny. Postup je takový, že se nejprve extrakcí připraví želatina, která je následně enzymaticky opracována. Kolagen jako takový lze rozložit pouze pomocí enzymu kolagenázy, avšak želatina se dá enzymaticky opracovat i enzymy, jako jsou alkaláza, pepsin či neutráza. Je tedy snazší nejdříve extrahovat želatinu, a tu následně zpracovat.

Hydrolyzát je po purifikaci sušen ve sprejové sušárně. Díky svým vlastnostem je využíván v průmyslu, avšak najde uplatnění i potravinářství (má neutrální chuť) [26].

4.5.7 Bioaktivní peptidy

Atraktivní chemické proteinové složení VŽP motivuje k výzkumu extrakce, izolace a použití jako bioaktivních peptidů, které mohou mít kladný efekt na zdraví člověka. Bioaktivní peptidy jsou sekvence o váze 400-2000 Da s maximálním limitem obsažených aminokyselin. Uvádí se maximálně 30 aminokyselin [28], avšak některá literatura udává maximální hranici 20 aminokyselin [6]. Úroveň jejich bioaktivity pak závisí na detailním složení těchto aminokyselin [28].

Abychom peptid mohli nazývat bioaktivní, musí být nejprve oddělen od svého původního proteinového řetězce. Během procesů fermentace, zpracování či trávení může k tomuto procesu dojít také samovolně. Kontrolu celého procesu hydrolyzy ztěžuje fakt, že v jednom okamžiku dochází ke vzniku mnoha peptidů s širokou molekulovou distribucí. Aby bylo možné zajistit kontrolovanou hydrolyzu, využívají se enzymy jako pepsin, trypsin, thermolysin či alkaláza pro zajištění zisku bioaktivních peptidů s chtěnou molekulovou distribucí. Nejvíce zkoumané zdroje z řad vedlejších produktů jsou krev a kolagen. V případně využívání hydrolyzovaných proteinů do krmiv pro domácí mazlíčky je vhodné odštěpit hydrofobní aminokyseliny z peptidových řetězců. Tím se výrazně sníží hořkost a zlepší se chuťové vlastnosti a atraktivita pro zvíře. Jelikož takto upravené VŽP masného průmyslu neobsahují antinutrienty či proteiny, které by mohly spustit alergickou reakci, jsou vhodným konkurentem sójového šrotu, který se vyrábí po extrakci oleje [6].

Peptidy pocházející výlučně z živočišných zdrojů, mají pozitivní efekt jako antioxidanty, přispívají ke snížení tlaku či tlumí záněty. Mají však velmi dobré vlastnosti, i co se týče potravinářského průmyslu, ve kterém se uplatňují díky své schopnosti konzervovat látky [28].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍLE PRÁCE

Tradiční zdroje pro výrobu želatin jsou hovězí a vepřové kůže či kosti. Opracování je velmi často voleno zásadité, pro přípravu želatin z hovězích surovin a kyselé opracování pro přípravu želatin z vepřových zdrojů. Většinové využití odpadních materiálů ze zpracování masa je v kafilériích, anaerobní digescí či spalováním. Želatiny z alternativních zdrojů jako jsou kuřecí či rybí odpady, jsou v poslední době velmi žádané, ať už z důvodu náboženských, nebo z důvodu jiné formy opracování. Velmi často se u nekomerčních zdrojů využívá enzymatické opracování pro šetrnější narušení vazeb u kolagenu a pro ulehčení extrakčního procesu. Jako surovinu pro svůj experiment jsem zvolil šlachy ze zvěřiny. Produkce zvěřiny totiž celosvětově neustále roste. Celkové množství odpadů ze zvěřiny v roce 2018 činilo 0,63 milionů tun [15], z čehož nejvyšší kolagenní části, končetiny, tvoří zhruba 21 tisíc tun ročně [29].

V experimentální části se budu zabývat přípravou kolagenu z jeleních šlach, jež budou prvotně opracovány alkalickým způsobem. Kondicionování kolagenu bude pomocí enzymu Protamexu v rozdílných koncentracích při odlišných podmínkách a při následné hydrolýze za konstantních podmínek pro všechny experimenty z něj bude extrahovaná želatina. Želatinové gely bude po extrakci testovány pro své vlastnosti.

Cílem mé práce bylo zjistit, zda je možné z jeleních šlach získat kolagen a z něj extrahovat želatinu, jež bude mít odpovídající vlastnosti pro využití v průmyslu. Součástí experimentální práce bylo i navržení optimálních podmínek kondicionování. Vzhledem k velkému obsahu přírodního kolagenu ve vstupní surovině očekávám minimální výtěžnost 40 % s cílem připravit želatinu s minimální pevností 180 Bloom.

6 METODIKA A MATERIÁL

6.1 Výchozí surovina

Výchozí surovinu tvořil odpad ze zpracování jelenů od firmy WINDSOR, respektive jelení šlachy. Materiál byl dodán ve zmrazené formě, následně rozmrazen a namlet na velikost 3 mm. Byla provedena chemická analýza matečné suroviny, a obsah látek byl následující : sušina: 33,10 % , v sušině pak kolagen: 61,56 %, tuk: 14,80 %, popeloviny: 2,12 % . Namletá surovina byla následně skladována při teplotě -18 °C a před zahájením zpracování byla rozmrazena při teplotě 5 °C.



Obrázek 1 Výchozí surovina – Jelení šlachy

6.2 Seznam přístrojů, pomůcek a chemikálií

6.2.1 Přístroje

Analytická váha M254A, analytické váhy KERN 770-14, analytické váhy Kern ALS 250-4A, předvážky KERN 440-33, třepačka laboratorní LT3, třepačka digitální IKA-HS 501, teplotní čidlo, topná deska CERAN 93020, topné hnízdo LTHS 1000, topná deska s tepelným čidlem IKA C-MAG HS7, míchačka magnetická 2002 LED IDL, termostat oběhový C10-P5U, termostat BSK ET618 180 l, pH metr pH 526 WTW, mixer Tefal BL 435831, sušárna Venticell, sušárna Memmert ULP 400, sušárna Binder E28-TB1, spektrofotometr Helios, odstředivka Hettich EBA 20, muflová pec Labotherm L9/11, analyzátor LFRA Textury 1000, chladnička Elektrolux ERF 250 4 AOW, mrazák Zanusi, šlehač IKA T 25 digital Ultra-Turrax

6.2.2 Pomůcky

Odměrný válec, kádinka, varná baňka, Erlenmeyerova baňka, kapilára, váženky, zkumavka, Petriho misky, Ubbelohdeho viskozimetr, teploměr, pipeta, odměrná baňka, skleněná tyčinka, žíhací kelímek, kleště, varné kamínky, balónek pipetovací, stopky, síto, PA tkanina, plech, teploměr, silikonová forma na sušení, nepřilnavá fólie, pinzeta, magnetické míchadélko, exsikátor, lžička, pryžové ucpávky.

6.2.3 Chemikálie

Destilovaná voda, 0,2M NaCl, 0,03M NaOH, Ethanol, Petrolether, 3% HCl, Enzym Protamex (produktový list enzymu je uveden v příloze 1).

6.3 Metodika práce

Při plánování pokusů standardní cestou je možné vždy zkoumat závislost pouze jedné proměnné na sledované veličině. Tato metoda je však příliš náročná a nákladná, pokud má za cíl sledovat více proměnných zároveň. V takovém případě je velmi často používáno volno-faktorové plánování, které na základě matice stanoví takové podmínky experimentu, aby nebyl časově a finančně tak nákladný jako standardní cesta. K naplánování faktorových pokusů je nutné znát okrajové (maximální) podmínky experimentu [30]. Jednotlivé faktory jsou kombinovány takovým způsobem, aby vytvořily různé experimentální podmínky. Výhodou této metody je, že sleduje vliv faktorů na sledovanou vlastnost, ale také vzájemné ovlivnění mezi faktory navzájem [31].

Pro výpočet počtu experimentů platí vzorec NP, kde N symbolizuje počet úrovní a P počet sledovaných parametrů. V případě, že závislosti nejsou lineární, je třeba aplikovat více úrovní. V průmyslu se tato metodika nazývá RSM [30].

Okrajové podmínky při našem experimentu se týkaly kondicionace přečištěného kolagenu a byly následující: Faktor A – množství enzymu (0,3–1,2 %), Faktor B – doba kondicionování (24–72 h), Faktor C – teplota kondicionování (6–18 °C).

Výsledky jsou zpracovány ve statistickém programu Minitab 17 (Minitab, LLC)

6.4 Charakteristika želatin

6.4.1 Stanovení pevnosti želatinového gelu

Stanovení pevnosti želatinového gelu bylo provedeno dle standardních metod testování želatinu dle Gelatin Manufacturers Institute of America [32] s mírnými modifikacemi. Připraví se želatinový gel o koncentraci 6,67 % (w/w) do standardizované nádoby. Volíme metodu, dle aktuálního množství připravené želatinu stejně jako koeficient přepočtu, kdy hodnoty pevnosti měřené jinou metodou než A jsou o tento koeficient nižší vizte tabulka 1. Heterogenní želatinový roztok je umístěn na vařič a při teplotě 45 °C je při současném míchání převeden do homogenního roztoku. Poté je umístěn do lednice a při teplotě 10 °C je skladován 16–18 hodin. Následně je provedeno měření na přístroji STEVENS-LFRA TEXTURE ANALYSER při rychlosti 1 mm/s do hloubky 4 mm.

Metoda	Navážka želatinu [g]	Navážka vody [g]	Nádoba	Rozměry nádoby [vnější průměr – vnitřní průměr – výška]	Koeficient
A	7,5	104,5	Předepsaná nádoba	66 mm - 59 mm - 85 mm	1
B	3	42	Nádoba o ½ objemu	50 mm - 44 mm - 50 mm	1,2627
C	1,5	21	Nádoba o ¼ objemu	40 mm - 35 mm - 50 mm	1,6372
D	0,9	13	Nádoba o ⅙ objemu	32 mm - 29 mm - 40 mm	2,53

Tabulka 1 Parametry pro měření pevnosti želatinového gelu

6.4.2 Stanovení kinematické viskozity

Stanovení kinematické viskozity želatinového gelu bylo provedeno standardními metodami testování želatinu dle Gelatin Manufacturers Institute of America [32] s mírnými modifikacemi. Stanovení bylo provedeno pomocí Ubbelohdeho viskozimetru u želatinového roztoku s koncentrací 6,67 % (w/w) při 60 °C. Želatinový roztok je temperován na 60 °C a přelit do nejširší části Ubbelohdeho viskozimetru a temperován 10 minut při teplotě 60 °C. Následně je měřena doba, za kterou proteče roztok mezi ryskami. Měření je provedeno 3x u každého roztoku. Kinematická viskozita je vypočtena dle vzorce:

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

Kde:

<i>v</i>	<i>kinematická viskozita [mm²/s]</i>
<i>k</i>	<i>konstanta viskozimetru [0,5]</i>
<i>t</i>	<i>aritmetický průměr změřených časů [s]</i>
<i>B</i>	<i>konstanta ke korekci na kinetickou energii [2,8]</i>

6.4.3 Stanovení teploty tání želatinového gelu

Stanovení teploty tání želatinového gelu bylo provedeno dle Muyonga a kol. [33], Moosavi-Nasab a kol. [34] s mírnými modifikacemi. Před stanovením teploty tání je nutné si připravit želatinový roztok o koncentraci 6,67 % (w/w). Kapiláru o průměru 1,5 mm ponoříme do roztoku a nabereme jej dovnitř. Takto připravenou kapiláru vložíme do lednice s teplotou 4,5 °C a necháme na 2 hodiny chladit. Kapilára s želatinou je umístěna do zkumavky s destilovanou vodou. Zkumavku následně vložíme do kádinky naplněné vychlazenou destilovanou vodou a umístíme na vařič a sledujeme teplotu, při níž se ztuhlý želatinový roztok uvolní a vytlačí vodu z kapiláry vlivem vzrůstající teploty. Tento moment je označen jako teplota tání želatinového gelu.

6.4.4 Stanovení teploty tuhnutí gelu

Jako teplota tuhnutí je označena taková teplota, kdy želatinový roztok na svém povrchu udrží kuličku o specifické hmotnosti 0,1065g. Homogenní želatinový gel je nalit do zkumavky, jež je ponořena do studené vody. Do zkumavky je zaveden teploměr a postupně se do ochlazujícího se želatinového roztoku vhazují kuličky, dokud se jedna neudrží na povrchu.

6.4.5 Stanovení obsahu popelovin

Vzorek želatiny (0,5-2 g) je navážen do přežíhaného kelímku a nad kahanem spálen. Jakmile přestane dýmat, je vzorek v kelímku umístěn do Muflové pece a při 600 °C se nechá spalovat po dobu 1 hodiny. Po uplynutí této doby se kelímek umístí do exsikátoru, aby vychladl, a ihned poté se zváží. Měření je prováděno do konstantní hmotnosti. Obsah popelovin se stanoví dle vzorce:

$$OP = \frac{m_A}{m_P} \cdot 100$$

Kde:

OP *obsah popelovin [%]*

m_P *hmotnost vzorku před spálením [g]*

m_A *hmotnost vzorku po spálení [g]*

6.4.6 Stanovení transmitance

Stanovení transmitance želatinového gelu bylo provedeno standardními metodami testování želatiny dle Gelatin Manufacturers Institute of America [32] s mírnými modifikacemi. Měření probíhá na přístroji Spektrofotometr Helios, kdy je dovnitř umístěna kyveta s želatinovým roztokem o koncentraci 6,67 % (w/w) a teplotě 45–50 °C. Měření probíhá při vlnové délce 546 nm a výsledkem je hodnota absorbance, která se přepočítá na transmitanci (čirost) dle vzorce:

$$T = 10^{(2-A)}$$

Kde:

T *transmitance (čirost) [%]*

A *Absorbance [1]*

6.4.7 Stanovení vody zadržující kapacity

Stanovení vody zadržující kapacity gelu bylo provedeno dle Nasrin a kol. [35] s mírnými modifikacemi. Jako první navážíme do plastové zkumavky 1 g vzorku a přidáme 25 ml destilované vody. Zkumavka se zazátkuje a důkladně protřepe při teplotě 25 °C, aby byl obsah rovnoměrně rozptýlen. Dále odstraníme zátku a necháme odstředit při 5 000 otáčkách za minutu po dobu 30 minut. Po odstředění je cílem odstranit tekutou fázi a následně ji zvážit. Vodu zadržující kapacitu (WHC) stanovíme dle následujícího vzorce

$$WHC = \frac{m_F}{m_C} \cdot 100$$

Kde:

WHC *vodu zadržující kapacita [%]*

m_F *hmotnost tekuté fáze [g]*

m_C *celková původní hmotnost [g]*

6.4.8 Stanovení tuk vázací kapacity

Stanovení tuk vázací kapacity bylo provedeno dle Li a kol. [36] s mírnými modifikacemi. Do plastové zkumavky navážíme 0,1g vzorku a přidáme 10 g sójového oleje. Zkumavku je nutné zazátkovat a důkladně protřepat. Následně necháme zkumavku stát 30 minut při teplotě 25 °C. Po uplynutí této doby odstředíme obsah při 2500 otáčkách po dobu 30 minut. Supernatant (oddělená tekutá fáze) se zváží a tuk vázací kapacitu (FBC) dopočítáme dle vzorce

$$FHC = \frac{1}{v} \cdot \frac{c}{u} \cdot 100$$

Kde:

<i>FHC</i>	<i>tuk vázací kapacita [%]</i>
<i>v</i>	<i>hmotnost navážené želatiny [g]</i>
<i>c</i>	<i>hmotnost oleje před odstředěním [g]</i>
<i>u</i>	<i>hmotnost supernatantu [g]</i>

6.4.9 Stanovení pěnotvorné kapacity

Stanovení pěnotvorné kapacity bylo provedeno dle Sathe a kol. [37] s mírnými modifikacemi. Na stanovení je třeba použit 100 ml odměrný válec, navážít 1 g želatiny a přidat 50 ml destilované vody. Při teplotě 60 °C je nutné želatinu rozpustit a vzniklý homogenní roztok umístit pod homogenizátor. Následně je nezbytné spustit šlehač a při 10 000 otáčkách napěňovat 5 minut. Po ukončení zaznačíme na válci množství pěny a sledujeme pokles v čase. Pěnotvorná kapacita (FC) se vypočte dle následující rovnice

$$FC = \frac{V_{PO} - V_P}{V_P} \cdot 100$$

Kde:

<i>FC</i>	<i>pěnotvorná kapacita [%]</i>
<i>V_P</i>	<i>celkový objem před našleháním [ml]</i>
<i>V_{PO}</i>	<i>celkový objem po našlehání [g]</i>

6.4.10 Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze

Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze bylo provedeno dle Neto a kol. [38] s mírnými modifikacemi. Do plastové zkumavky navážíme 0,05 g vzorku a přidáme 5 ml destilované vody. Po umístění zátky důkladně zkumavku protřepeme. Poté do zkumavky

přidáme 5 ml sójového oleje a opět promícháme. Zkumavku s obsahem odstředíme při 1000 otáčkách za minutu po dobu 5 minut. Po ukončení změříme výšku emulze a celkového obsahu zkumavky. Po změření umístíme zkumavku do vodní lázně a při teplotě 55 °C necháme ohřívat po dobu 5 minut. Následně odstředíme při 2000 otáčkách za minutu po dobu 5 minut. Po uplynutí této doby opět změříme výšku emulze a celkovou výšku obsahu zkumavky. Emulzifikační kapacita a stabilita emulze se vypočte dle vztahů

$$EC = \frac{H_E}{H_C} \cdot 100$$

$$ES = \frac{H_A}{H_E} \cdot 100$$

Kde:

EC	<i>emulzifikační kapacita [%]</i>
ES	<i>stabilita emulze [%]</i>
H_E	<i>výška emulze [cm]</i>
H_C	<i>výška celkového obsahu [cm]</i>
H_A	<i>výška emulze po ohřátí a odstředění [cm]</i>

6.4.11 Hmotnostní bilance

Je posuzována hmotnost materiálu na vstupu a hmotnost materiálu na výstupu. V ideálním stavu by se měly hmotnosti rovnat dle rovnice

$$m_V = m_H + m_Z + m_N$$

$$B = \frac{m_V}{m_H + m_Z + m_N} \cdot 100$$

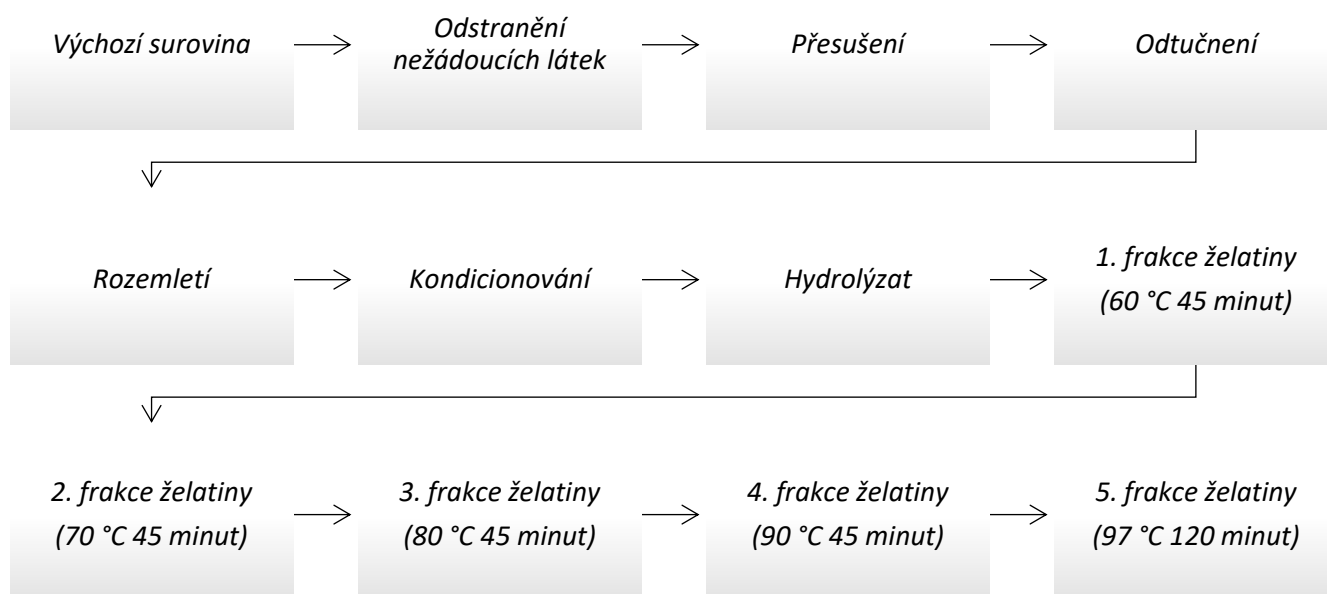
$$BCH = 100 - B$$

Kde:

m_V	<i>počáteční hmotnost kolagenu [g]</i>
m_H	<i>hmotnost hydrolyzátu [g]</i>
m_Z	<i>součet hmotností želatinových frakcí [g]</i>
m_N	<i>hmotnost nerozloženého podílu [g]</i>
B	<i>bilance [%]</i>
BCH	<i>bilanční chyba [%]</i>

7 POSTUP PRÁCE PŘÍPRAVY ŽELATIN

Obrázek 1 znázorňuje schematický pracovní postup během experimentální části mé práce.



Obrázek 2 Blokové schéma přípravy želatin z jeleních šlach

7.1 Příprava kolagenu

1. Rozmražení suroviny

- Surovinu nechat rozmraznout v lednici při vnitřní teplotě 4,5 °C

2. Odstranění albuminů

- 2 minuty promývat studenou vodou surovinu na sítu, 5 minut surovinu máčet v čisté studené vodě máčet, 2 minut promývat studenou vodou

3. Odstranění globulinů

- Připravit 0,2 M NaCl roztok a v poměru 1:6 smíchat surovinu s roztokem NaCl a 1,5 h nechat máčet, přes síto odfiltrovat a promýt studenou vodou po dobu 1 minuty

4. Alkalické opracování

- Připravit 0,03M roztok NaOH a v poměru 1:6 máčet surovinu po dobu 45 minut, za občasného zamíchání . Po opracování promývat 1 minutu studenou vodou a znovu nechat 45 minut máčet v 0,03M NaOH. Proces opakovat třikrát

5. Přesušení

- V tenké vrstvě, cca 1 cm rozprostřít opracovanou surovinu a vysušit při teplotě 35 °C po dobu 24–36 hodin.

6. Odtučnění

- Připravit směs rozpouštědel petrolether/ethanol v poměru 1:1. Smíchat vysušenou surovinu s rozpouštědly v poměr 1:6. Nechat odtučňovat 8 hodin, při současném třepání, následně vyměnit rozpouštědlo a cyklus opakovat 5x . Po ukončení cyklu se odstraní rozpouštědlo a surovina se nechá v digestoři přes noc doschnout

7. Rozemletí kolagenu

- Při mletí používat mletí pulzní, aby se kolagen příliš nezahřival. Cílová velikost částic cca 3 mm. Namletý kolagen skladovat v temnu a v uzavřené nádobě

8. Stanovení obsahu sušiny v kolagenu

- Vzorek kolagenu je vysušen při teplotě 103 °C do konstantní hmotnosti.

7.2 Extrakce želatiny

1. Enzymatické opracování kolagenu

- Navážit 80 g vysušeného kolagenu. Smíchat kolagen v poměru 1:10 s destilovanou vodou. 20 minut třepat na třepačce, po skončení zkontrolovat a upravit pH podle potřeby do rozmezí 6,5-7 pomocí NaOH. Přidat proteolytický enzym Protamex v množství dle Faktoru A (vztaženo na sušinu). Třepat po dobu dle Faktor B při teplotě dle faktoru C. Po půlhodině od začátku třepání zkontrolovat hodnotu pH a popřípadě dopravit na hodnotu 6,5 – 7,0 (pomocí NaOH či HCl). Po ukončení opracování přefiltrovat přes sítko opatřené 3 vrstvami polyamidové tkaniny. Kapalínu (hydrolyzát) rozlít na plech vyložený nepřilnavou fólií a vysušit při teplotě 70 °C po dobu 24 hodin.

2. Promytí opracovaného materiálu

- Materiál na sítku důkladně promýt studenou vodou, aby byl odstraněn přebytečný enzym.

3. Extrakce 1. frakce želatiny

- Materiál se umístí do kádinky spolu s vodou v poměru 1:10. Umístíme kádinku na vařič a extrahujeme při teplotě 60 °C po dobu 45 minut za současného míchání. Po uplynutí doby přefiltrujeme obsah kádinky přes sítko opatřené 3 vrstvami polyamidové tkaniny. Filtrát (želatinový roztok) rychle zahřejeme na teplotu 85 °C a udržujeme po dobu 6 minut, aby byl inaktivován zbylý enzym. Roztok přelijeme na plech vyložený nepřilnavou fólií a umístíme do lednice na 30 minut. Následně přesuneme plech do sušárny a vysušíme při 40 °C 12 hodin a následně dosušíme při 65 °C. Vysušenou želatinu jemně rozdrtíme na velikost cca 1 mm a skladujeme v suchu a temnu.

4. Extrakce 2. frakce želatiny

- Nerozložený materiál zachycený z extrakce 1. frakce na sítku je třeba smíchat s destilovanou vodou v poměru 1:10. Umístíme kádinku na vařič a extrahujeme při teplotě 70 °C po dobu 45 minut za současného míchání. Po uplynutí doby, obsah kádinky přefiltrujeme přes sítko opatřené 3 vrstvami polyamidové tkaniny. Filtrát rychle zahřejeme na teplotu 85 °C a udržujeme po dobu 6 minut, aby byl inaktivován zbylý enzym. Roztok přelijeme na plech vyložený nepřilnavou fólií a umístíme do lednice na 30 minut. Následně přesuneme plech do sušárny a vysušíme při 40 °C 12 hodin a následně dosušíme při 65 °C. Vysušenou želatinu jemně rozdrtíme na velikost cca 1 mm a skladujeme v suchu a temnu.

5. Extrakce 3. frakce želatiny

- Nerozložený materiál zachycený z extrakce 2. frakce na sítku je třeba smíchat s destilovanou vodou v poměru 1:10. Umístíme kádinku na vařič a extrahujeme při teplotě 80 °C po dobu 45 minut za současného míchání. Po uplynutí doby, obsah kádinky přefiltrujeme přes sítko opatřené 3 vrstvami polyamidové tkaniny. Filtrát rychle zahřejeme na teplotu 85 °C a udržujeme po dobu 6 minut, aby byl inaktivován zbylý enzym. Roztok přelijeme na plech

vyložený nepřilnavou fólií a umístíme do lednice na 30 minut. Následně přesuneme plech do sušárny a vysušíme při 40 °C 12 hodin a následně dosušíme při 65 °C. Vysušenou želatinu jemně rozdrtíme na velikost cca 1 mm a skladujeme v suchu a temnu.

6. Extrakce 4. frakce želatiny

- Nerozložený materiál zachycený z extrakce 3. frakce na sítku je třeba smíchat s destilovanou vodou v poměru 1:10. Umístíme kádinku na vařič a extrahujeme při teplotě 90 °C po dobu 45 minut za současného míchání. Po uplynutí doby, obsah kádinky přefiltrujeme přes sítko opatřené 3 vrstvami polyamidové tkaniny Roztok přelijeme na plech vyložený nepřilnavou fólií a umístíme do lednice na 30 minut. Následně přesuneme plech do sušárny a vysušíme při 40 °C 12 hodin a následně dosušíme při 65 °C. Vysušenou želatinu jemně rozdrtíme na velikost cca 1 mm a skladujeme v suchu a temnu.

7. Extrakce 5. frakce želatiny (klihu)

- Nerozložený materiál zachycený z extrakce 4. frakce na sítku je třeba smíchat s destilovanou vodou v poměru 1:10. Umístíme kádinku na vařič a extrahujeme při teplotě 97 °C po dobu 120 minut za současného míchání. Po uplynutí doby, obsah kádinky přefiltrujeme přes sítko opatřené 3 vrstvami polyamidové tkaniny Roztok přelijeme na plech vyložený nepřilnavou fólií a umístíme do lednice na 30 minut. Následně přesuneme plech do sušárny a vysušíme při 40 °C 12 hodin a následně dosušíme při 65 °C. Vysušenou želatinu jemně rozdrtíme na velikost cca 1 mm a skladujeme v suchu a temnu.

8. Nerozložený podíl se při teplotě 103 °C vysuší po dobu 12 hodin.

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledková část je rozdělena do 3 sekcí, kde proběhlo stanovení účinnosti extrakce u všech 9 experimentů a u všech želatinových frakcí, přičemž detailnější analýza vlastností proběhla u 1. a 2. želatinové frakce. Zbylé želatinové frakce nebyly testovány z důvodu nedostatečného množství pro předepsané zkoušky. U 3. frakce želatiny jsem očekával lepší vlastnosti než u druhé želatinové frakce, avšak u 4. a 5. želatinové frakce jsem předvídal sestupnou tendenci vlastnosti a absenci schopnosti tvořit gel.

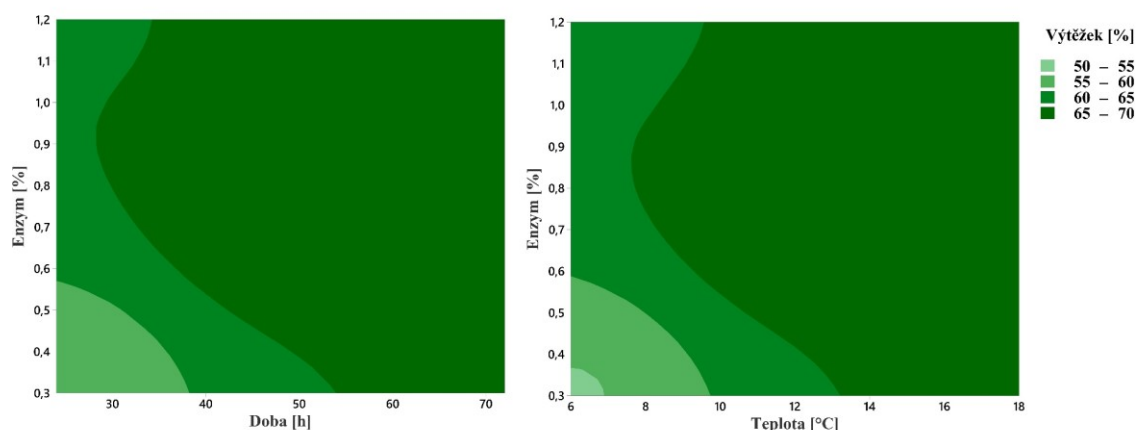
8.1 Účinnost extrakce

Experiment	Enzym [%]	Doba [h]	Teplota [°C]	Hydrolyzát [%]	1. želatinová frakce [%]	2. želatinová frakce [%]	3. želatinová frakce [%]	4. želatinová frakce [%]	5. želatinová frakce [%]	Nerозložený zbytek [%]	Bilanční chyba [%]	Celkový výtěžek želatinových frakcí [%]
1	0,3	24	6	1,5	25,4	9,6	3,5	2,4	5,4	48,6	3,6	46,3
2	0,3	24	18	2,5	54,7	3,8	1,7	1,0	3,3	29,9	3,1	64,4
3	0,3	72	6	3,8	54,4	4,6	1,1	0,8	2,1	30,0	3,2	63,1
4	0,3	72	18	5,7	62,8	3,3	0,6	0,6	1,7	21,5	3,9	68,9
5	1,2	24	6	4,0	55,0	3,3	0,6	0,4	2,4	31,3	3,0	61,7
6	1,2	24	18	5,8	58,8	5,1	1,1	0,7	1,8	22,8	3,9	67,5
7	1,2	72	6	6,0	62,5	2,1	0,4	0,3	0,6	24,5	3,7	65,8
8	1,2	72	18	9,3	63,3	3,9	1,4	0,7	1,8	16,7	1,7	71,1
9	0,75	48	12	9,6	67,1	1,4	0,0	0,3	0,3	19,1	2,3	69,0

Tabulka 2 Účinnost extrakce u experimentů 1-9

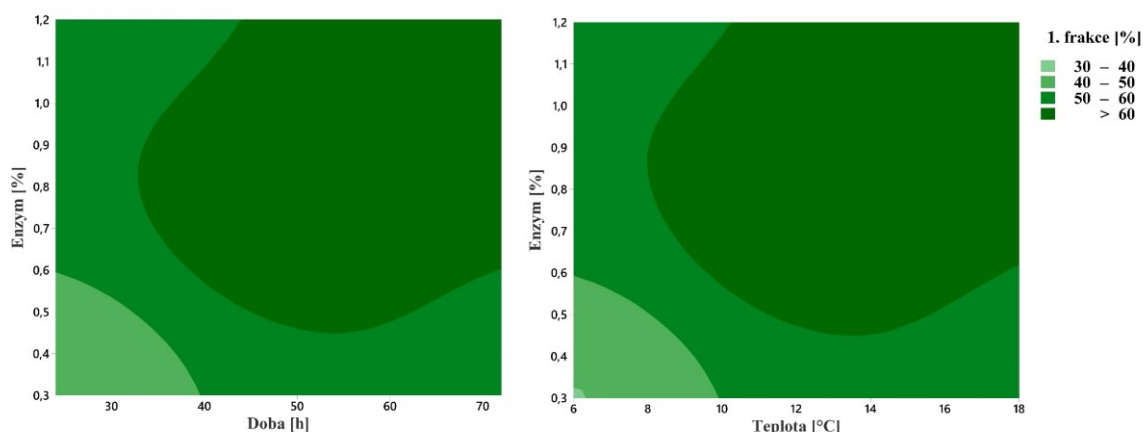
V tabulce 2 jsou uvedeny výtěžnosti jednotlivých frakcí zbytkového materiálu po extrakci a také je zde prezentována celková bilanční chyba u každého experimentu. Výtěžnost extrakce se pohybovala v rozmezí 46,3–71,1 % , přičemž nevyšší výtěžnost byla u experimentu č. 8 (součet frakcí želatin bez hydrolyzátu). Celková výtěžnost želatiny

s přepočtem na sušinu vzhledem k výchozí surovině činila 16,40 % při celkové době extrakce 5 h (sušina v kolagenu tvořila 90 %). V celkovém výtěžku je pouze želatina, nikoliv hydrolyzát. Dominantní v želatinovém spektru byla 1.frakce želatiny kromě prvního experimentu, u něhož výtěžnost činila 25,4 %, u ostatních experimentů byla vždy nad 50 %. V roce 2016 byla provedena studie na zpracování kůží z olihně. Opracování proběhlo 0,05M NaOH po dobu 2 hodin následované opracováním 0,2M kyselinou octovou spolu s pepsinem v množství 15 U/g na suroviny, které trvalo 48 h. Výsledná výtěžnost činila 6,82 % při extrakční teplotě 50 °C po dobu 18 h [39]. Studie v roce 2021 při opracování rybích kůží použila také 0,05M NaOH po dobu 1 h, avšak v kombinaci s 0,1M HCl pufrům a přidavkem pepsinu v množství 15 U/g suroviny. Dosáhla výrazně vyššího výtěžku než studie z roku 2016, a to konkrétně 18 %. Extrakce probíhala při teplotě 50 °C po dobu 8 h [40]. V roce 2010 se podařilo připravit rybí želatinu s celkovou výtěžností 20,1 %. Suroviny byla opracována 90 minut 0,2M NaOH a následně 3 h 0,05M kyselinou octovou. Oproti našemu experimentu probíhala extrakce probíhala delší dobu, a to 12 hodin při teplotě 45 °C [41].



Obrázek 3 Závislost účinnosti extrakce na podmínkách kondicionování

Ze závislosti výtěžku na hodnotách enzymu, době opracování a teplotě, jak vidíme na obrázku 3, můžeme určit optimální podmínky pro maximalizaci zisku. Pro výtěžek 65-70 % je minimální hranice pro obsah enzymu 0,3 % při době opracování 53 h za teploty 13,2 °C. V případě zvýšení obsahu enzymu na 0,9 % se také zkrátí doba potřebná na opracování, a to na 28 h při teplotě 7,8 °C.



Obrázek 4 Závislost účinnosti extrakce pro 1. frakci na podmínkách kondicionace

Z obrázku 4, kde je vynesena závislost výtěžnosti první frakce želatiny na zvolených faktorech, obsahu enzymu, době a teplotě opracování, můžeme určit optimální podmínky pro maximální výtěžek, jehož může být dosaženo. Výtěžnosti 50-60 % u 1. frakce lze dosáhnout při koncentraci enzymu 0,8 % při minimální době opracování 33 hodin a teplotě 8 °C.

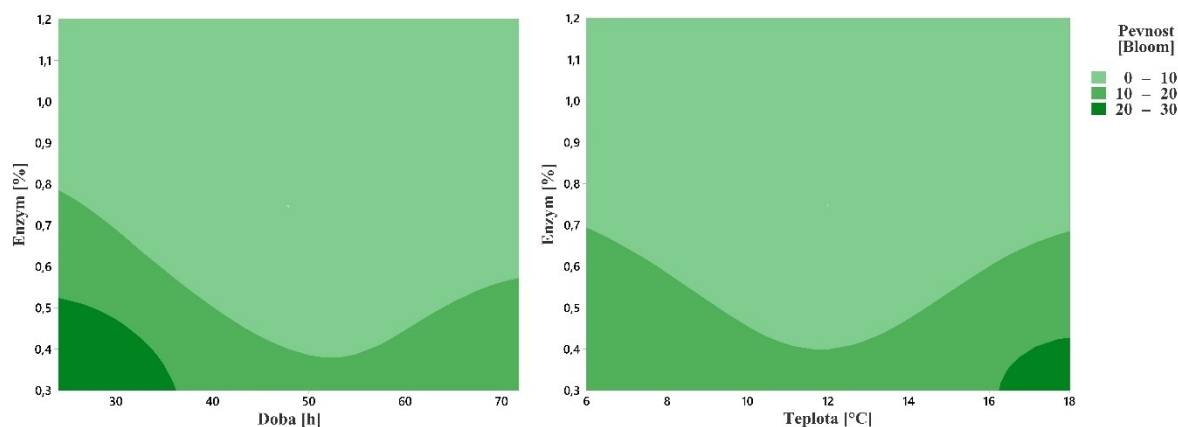
8.2 1. Frakce želatinového gelu

EXP	Podmínky kondicionace			Vlastnosti želatinových gelů										
	E [%]	t [h]	T [°C]	GS [Bloom]	KM [mm ² /s]	MP [°C]	GP [°C]	T [%]	WHC [%]	FBC [%]	FC [%]	FS [%]	EC [%]	ES [%]
1	0,3	24	6	37	1,41	24	12,0	6,3	12	6	54	0	53	48
2	0,3	24	18	16	1,38	22	11,2	6,7	8	6	30	0	51	48
3	0,3	72	6	0	1,02	NA	NA	10,0	8	4	40	0	48	47
4	0,3	72	18	28	1,39	22,9	10,0	8,1	13	5	48	0	52	52
5	1,2	24	6	15	1,20	25,4	12,0	9,8	11	8	40	0	49	46
6	1,2	24	18	0	0,86	NA	NA	9,2	5	5	30	0	52	46
7	1,2	72	6	0	1,02	NA	NA	10,1	4	5	40	0	51	48
8	1,2	72	18	0	1,04	NA	NA	9,3	6	7	34	0	52	44
9	0,75	48	12	0	1,22	NA	NA	7,6	7	7	46	0	48	45

Tabulka 3 Vlastnosti želatin 1. frakce

EXP – číslo experimentu, *E* – množství enzymu, *t* – doba opracování, *T* – teplota při opracování, *GS* – pevnost želatiny, *KM* – kinematická viskozita, *MP* – teplota tání, *GP* – teplota tuhnutí, *T* – transmitance, *WHC* – vodu zadržující kapacita, *FBC* – tuk vázací kapacita, *FC* – pěnotvorná kapacita, *FS* – stabilita pěny, *EC* – emulzifikační kapacita, *ES* – stabilita emulze, *NA* – neměřeno

V tabulce 3 můžeme vidět měřené vlastnosti 1. frakce želatiny. Gel vytvořily pouze želatinové roztoky u experimentu 1, 2, 4 a 5 a i jejich pevnost byla velmi nízká v rozsahu 15–37 Bloom. U těchto želatinových gelů byla změřena teplota tání i teplota tuhnutí. Rozdíl mezi oběma hodnotami je u všech zmíněných experimentů minimálně 10 °C. Hodnoty transmitance se pohybovaly v rozmezí 6,3–10,1 %. Pěnotvornost u testovaných želatin byla maximálně 54 % (experiment 1), přičemž ve studii z roku 2013 je u želatinového gelu 1. frakce uvedena hodnota expanze pěny 120 %. Po přepočítání naší hodnoty dle vzorce uvedeného ve zmíněné studii je hodnota expanze pěny 154 % u experimentu 1 [42]. Je nutné zmínit, že želatinový gel z kuřecích hlav má větší pevnost než námi připravený vzorek. Hodnoty stability pěny po 30 minutách (*FS*) jsou nulové z důvodu nízké stability pěny, jež klesla na původní hladinu dříve, než uběhl čas nutný k měření tohoto parametru. Nejvíce stabilní byla pěna u experimentu č. 7 a nejrychlejší pokles pěny byl zaznamenán u experimentu 9.



Obrázek 5 Závislost pevnosti 1. frakce na podmínkách kondicionace

Z obrázku 5 můžeme posoudit vliv faktorů na hodnotu pevnosti gelu. Celkově však 1. frakce tvořila gel velmi neochotně, proto jsou hodnoty pevnosti velmi malé. Maximální hodnota pevnosti u první frakce dosáhla hodnoty 37 Bloom u experimentu číslo 1. Optimální podmínky pro dosažení nejvyšší pevnosti jsou při obsahu enzymu do 0,4 %, době opracování maximálně 36 hodin při teplotě 16,2–18 °C. Tyto podmínky, jež jsou vhodné pro maximální pevnost, jsou zároveň i ideálními podmínkami pro nejvyšší viskozitu. Pevnost želatiny

u experimentu 1 (37 Bloom) je srovnatelná s pevností rybí želatiny (51 Bloom), která byla připravena za extrakčních podmínek 45 °C a 8 hodin z kolagenního materiálu, opracovaného 0,2M kyselinou octovou po dobu 24 h [43].

Celkový obsah popelovin byl u 1. frakce průměrně 0,26 %. Želatina z chobotnice, při enzymatickém opracování a po 4hodinové extrakci při 40 °C, měla průměrný obsah popela 0,06-0,07 % [44]. Nižší obsah popelovin měla želatina z kuřecích a krocaních hlav, při celkové době extrakce 24 h, a to 0,03-0,06 % [42]. Naopak vyšší obsah popelovin byl stanoven u želatiny z kuřecích kůží, opracovaných kombinací 0,15% NaOH spolu s 0,15% H₂SO₄ a 0,7% kyselinou citronovou, a to 2,13 % [45]. Velmi podobný obsah popelovin byl stanoven u želatinového gelu, extrahovaného z enzymaticky opracovaných kachních běháků, konkrétně 2,1 % [46].

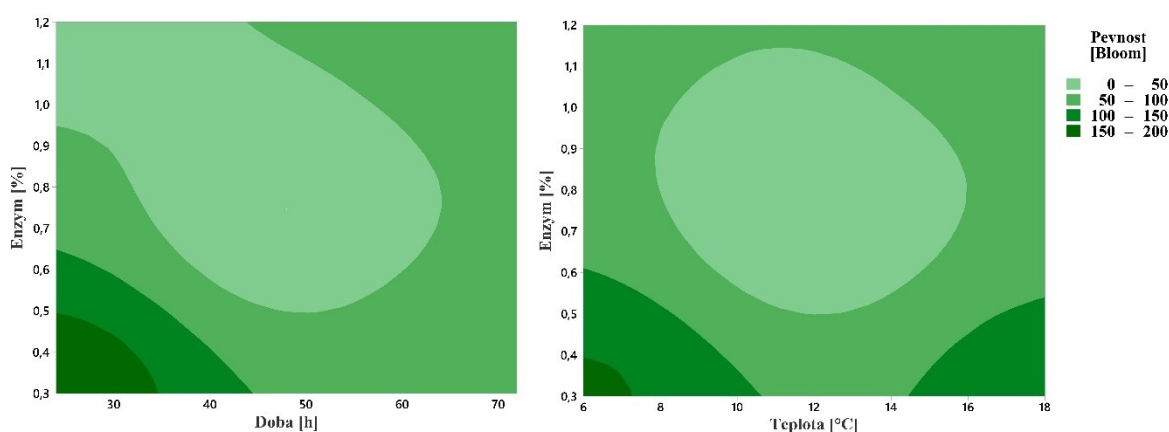
8.3 2. Frakce želatinového gelu

EXP	Podmínky kondicionace			Vlastnosti želatinových gelů										
	E [%]	t [h]	T [°C]	GS [Bloom]	KM [mm ² /s]	MP [°C]	GP [°C]	T [%]	WHC [%]	FBC [%]	FC [%]	FS [%]	EC [%]	ES [%]
1	0,3	24	6	237	4,31	36,8	17,2	7,1	29	7	50	0	50	51
2	0,3	24	18	131	1,95	30	16,1	17,4	27	8	28	0	47	46
3	0,3	72	6	75	1,77	29,4	16,3	9,6	27	8	42	0	56	52
4	0,3	72	18	119	1,92	32,3	14,9	48,0	29	7	38	0	52	49
5	1,2	24	6	75	1,80	28,4	15,0	9,0	22	7	36	0	48	48
6	1,2	24	18	0	1,02	NA	NA	19,9	3	6	36	0	50	46
7	1,2	72	6	30	1,45	29,5	14,9	25,5	18	6	50	0	50	49
8	1,2	72	18	150	2,00	30,2	16,1	10,8	32	7	40	0	51	51
9	0,75	48	12	0	1,18	NA	NA	5,2	8	7	44	0	49	49

Tabulka 4 Vlastnosti želatin 2. frakce

EXP – číslo experimentu, *E* – množství enzymu, *t* – doba opracování, *T* – teplota při opracování, *GS* – pevnost želatiny, *KM* – kinematická viskozita, *MP* – teplota tání, *GP* – teplota tuhnutí, *T* – transmitance, *WHC* – vodu zadržující kapacita, *FBC* – tuk vázací kapacita, *FC* – pěnotvorná kapacita, *FS* – stabilita pěny, *EC* – emulzifikační kapacita, *ES* – stabilita emulze, *NA* – neměřeno

V tabulce 4 můžeme vidět měřené vlastnosti 2. frakce želatiny. Gel vytvořily všechny experimenty kromě experimentu 6 a 9. U těchto experimentů nebyla následně měřena teplota tuhnutí ani tání. Nejvyšší pevnost, 237 Bloom, byla u želatinového gelu při podmínkách 0,3 % enzymu, 24 hodin a teplotě 6 °C. Měl zároveň také nejvyšší hodnotu kinematické viskozity, 4,31 mm²/s, i teplotu tání, 36,8 °C. Nejvyšší transmitance byla dosažena u experimentu č.4, konkrétně 48 %. Celkový obsah popelovin ve 2. frakci želatiny činil 0,40 %.

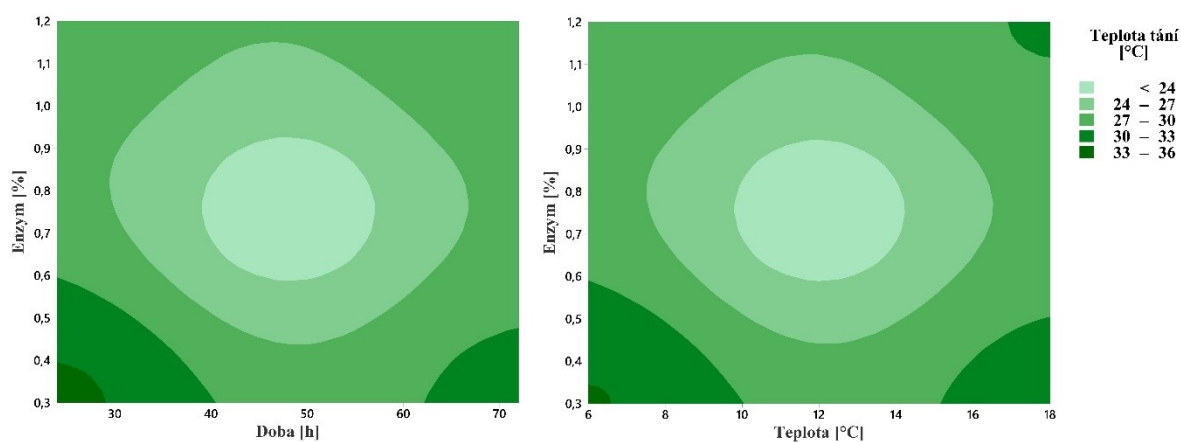


Obrázek 6 Závislost pevnosti 2. frakce na podmínkách kondicionace

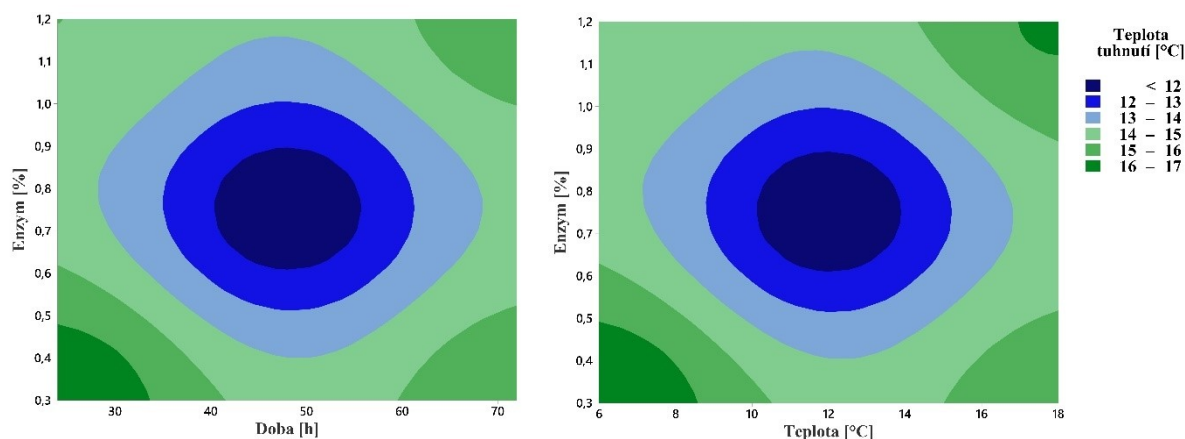
Obrázek 6 zobrazuje závislost pevnosti želatinového gelu na podmínkách kondicionování kolagenu před fází extrakce. Extrakce druhé frakce probíhala při teplotě 70 °C 45 minut. Optimální podmínky pro dosažení hodnoty pevnosti, mezi 150–200 Bloom, jsou obsah enzymu do 0,5 % při době opracování maximálně 35 h. Teplota při kondicionování by neměla přesáhnout 7°C.

Ve studii z roku 2018 je pevnost želatinového roztoku druhé frakce, jež je extrahován při 75 °C z kolagenu, původem z kuřecích běháků, 280 Bloom. Opracování výchozí suroviny bylo v 0,1M HCl při 18 °C po dobu 24 h [47]. Při aplikaci takovýchto podmínek do enzymatického opracování, které bylo použito v našem experimentu, bychom mohli očekávat pevnost v rozmezí 150-200 Bloom. Studie z roku 2013, kdy jako výchozí materiál byly použity kuřecí a krůtí hlavy, dosáhla u druhé frakce extrahované při 60 °C po dobu 6h pevnosti 200 Bloom u kuřecího a 332 Bloom u krůtího želatinového roztoku. Pevnost byla měřena při poloviční rychlosti pístu než v našem experimentu. Opracování výchozí suroviny bylo jak na bázi alkalické, tak i kyselá. Byl použit 0,015M NaHCO₃ po dobu 1 h, 0,1M NaOH po dobu 6 h a 0,05M kyselina octová po dobu 18 h při zachování teploty 4 °C během

celé doby opracování [42]. Kyselé opracování bylo také použito při studii z roku 2017, kdy u kuřecích kůží byla zvolena kombinace 0,15% kyseliny sírové s 0,7% kyselinou citronovou, doplněná o 0,15% NaOH. Výsledná pevnost želatinového gelu při extrakční teplotě 50 °C dosáhla hodnoty 166 Bloom [45]. Studie z roku 2015 ukazuje, že s rostoucím obsahem pepsinu roste výtěžnost extrakce, avšak klesá hodnota pevnosti želatinového gelu, jež byl extrahován 4 h při 40 °C [44]. Studie z roku 2018 navrhuje optimální extrakční teplotu pro maximální pevnost želatinového gelu ze strojně oddělného kuřecí masa 58 °C po dobu 150 minut. Surovina byla alkalicky opracována 3% roztokem NaOH po dobu 48 h [48]. Ve studii z roku 2002 je použit pro opracování rybích kůží roztok 0,2% NaOH současně s 0,2% kyselinou sírovou a 1% kyselinou citronovou. Extrakce probíhala při 45 °C po dobu 12 h a výsledný želatinový gel měl průměrnou pevnost pro dva druhy ryb 128 a 180 Bloom [49]. Ve studii z roku 2008 uvádí jako vhodný způsob opracování rybích kůží, ze sumečka tečkovaného, 0,0135M Ca(OH)₂ po dobu 68-76 h. Extrakce probíhala při teplotě 40-46 °C po dobu až 6 h při výsledné pevnosti želatinového gelu 276 Bloom [50]. Studie z roku 2010 upravila zpracovatelský proces a uvádí, že opracování 0,2M NaOH po dobu 90 minut a následně 0,05M kyselinou octovou po dobu 3 h vede při extrakční teplotě 45 °C po dobu 12 hodin k rybímu želatinovému gelu o pevnosti 153 Bloom [41]. V roce 2011 byla provedena studie na rybí želatině, kde byla sledována rozdílnost opracování pomocí různých kyselin na konečné vlastnosti želatiny. Extrakce probíhala při 45 °C po dobu 4 a 8 hodin, přičemž nejvyšší pevnosti (149 Bloom) dosáhl želatinový roztok při extrakci 45 °C po dobu 4 hodin, jehož výchozí surovina byla opracována 0,2M kyselinou fosforečnou, po dobu 24 h [43].



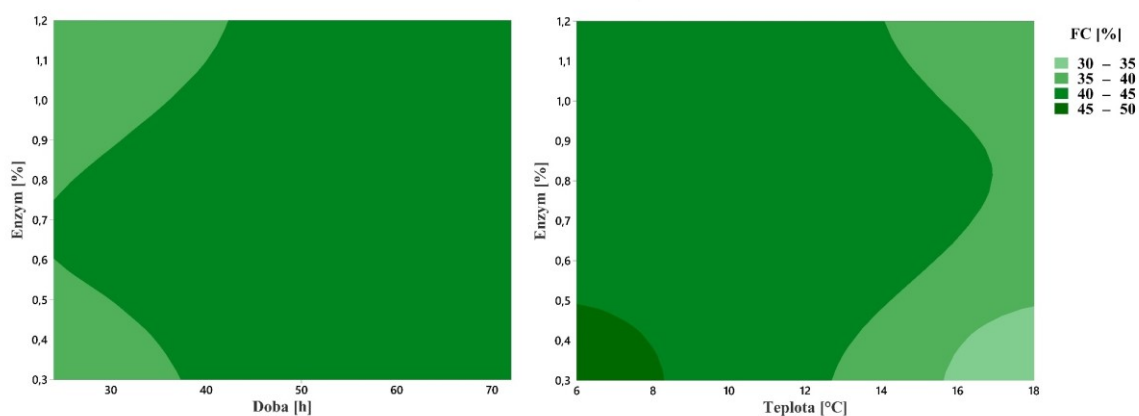
Obrázek 7 Závislost teploty tání 2. frakce na podmínkách kondicionace



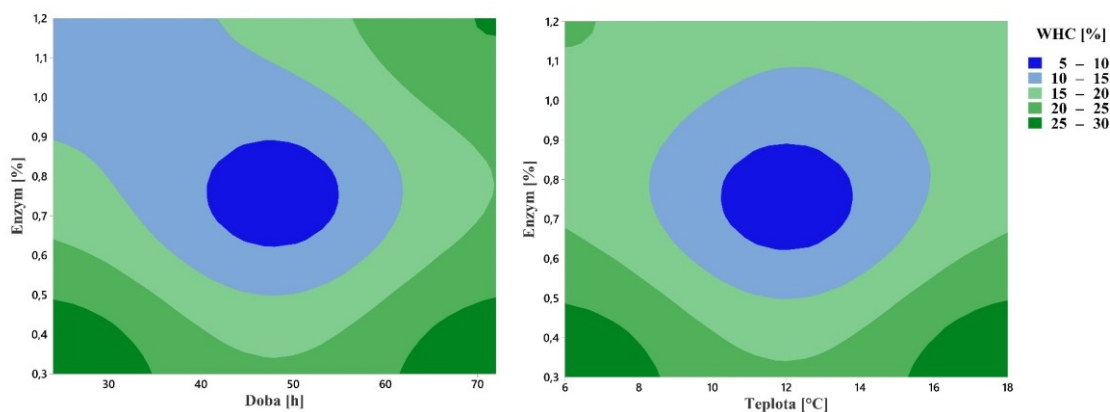
Obrázek 8 Závislost teploty tuhnutí 2.frakce na podmínkách kondicionace

Obrázky 7 až 8 zobrazují závislosti charakteristických teplot (teplota tání a tuhnutí) pro želatinové gely 2. frakce na obsahu enzymu, době a teplotě kondicionování. Teploty tání mezi 33–36 °C je dosaženo při nízkém obsahu enzymu do 0,4 %, při současné době opracování maximálně 28 h při teplotě nejvýše 6,3 °C. Takové podmínky korespondují s hodnotami nejvyšší teploty tuhnutí, a to mezi 16–17 °C. Nejvyšší teploty tání (36,8 °C) bylo dosaženo při experimentu č.1, který měl zároveň nejvyšší teplotu tuhnutí (17,2 °C). Kondicionování probíhalo s přídatkem enzymu 0,3 % po dobu 24 h při teplotě 6 °C. Želatina připravená z kůže chobotnice pobřežní měla pro srovnání při podobné pevnosti gelu (201 Bloom) teplotu tání 22,4 °C a teplotu tuhnutí 17,5 °C [44]. Želatina z jeleních šlach má tedy o více než 14 °C vyšší teplotu tání. Podobných hodnot teploty tání bylo dosaženo u rybí želatiny, připravené z tilápie, a to 22,45 °C či 28,90 °C podle specifického druhu ryby [49]. Teplota tání 25 °C a teplota tuhnutí gelu 22 °C byly zjištěny u želatinového gelu ze sumečka tečkovaného ve studii z roku 2008. Opracování bylo zvoleno alkalické, konkrétně 0,0135M hydroxidem vápenatým [50]. Želatina připravená z kuřecích běháků při extrakční teplotě 85 °C o koncentraci 4 % (w/v) měla při pevnosti 237 Bloom teplotu tání 36,5 °C [47], což je také ve shodě s výsledky studie z roku 2022, kde byla u želatinového roztoku z kuřecích kůží o koncentraci 6,67 % (w/v) při teplotě extrakce 85 °C teplota tání stanovena na 35,1 °C. Nejvyšší teplotu tání (38,3 °C) a teplotu tuhnutí (20,5 °C) měla 1. frakce želatiny extrahovaná 30 minut při 50 °C [51]. Podobných výsledků dosáhla také studie z roku 2017, kdy u kuřecích kůží opracovaných 0,15% NaOH v kombinaci s 0,15% H₂SO₄ a 0,7% kyselinou citronovou při extrakční teplotě 50 °C dosáhly teploty tání 33,65 °C. Na stanovení byl však použit 10% (w/v) želatinový roztok [45]. Vysoká teplota tuhnutí (25,15 °C) byla naměřena u želatiny extrahované po dobu 150 minut při teplotě 58 °C. Želatina byla

připravena z kuřecího separátu po opracování 3% HCl (24 h) spolu s 3% NaOH (48 h). Ve stejné studii byly stanoveny i optimální podmínky pro nejvyšší teplotu tání (33,71 °C), a to extrakční teplota 70 °C po dobu 150 minut při stejném způsobu opracování jako u nejvyšší teploty tuhnutí [48]. Studie z roku 2017 ukazuje 3 možné způsoby opracování kachních běháků, tedy kyselé v 0,05M kyselině octové, zásadité v 0,1M NaOH a enzymatické v 0,2M kyselině octové s 15 U/g kůže pepsinu. Kyselé a zásadité opracování probíhalo 3 h při teplotě 30 °C, zatímco u enzymatického po stejnou dobu při teplotě 4 °C. Následně byla z opracované suroviny extrahována želatina při teplotě 65 °C po dobu 12 h. Teplota tání želatinového gelu byla u kyselého opracování 34,4 °C, u alkalického 36,6 °C a u enzymatického 36,4 °C. Teploty tuhnutí gelu jsou ve stejném pořadí 26,6 °C; 21,67 °C a 26,1 °C [46].



Obrázek 9 Závislost FC 2.frakce na podmínkách kondicionace



Obrázek 10 Závislost WHC 2. frakce na podmínkách kondicionace

Závislost měřených potravinářských vlastností WHC a FC na zvolených faktorech lze pozorovat na obrázcích 9 a 10. Optimální podmínky pro WHC mezi 25-30 % jsou u množství enzymu do 5 %, době opracování do 35 hodin či nad 63 hodin do 72 hodin. Teplota při stejné limitní hodnotě enzymu, tj. do 5 %, je optimální do 8,3 °C či následně mezi 15,2 do 18 °C. Maximální pěnotvorná kapacita (45-50 %) byla dosažena pouze v extrémních koncentracích enzymu, a to při 0,3 a 1,2 % za současné doby opracování 24 a 72 h při 6 °C (experimenty 1 a 7).

Studie z roku 2011 u želatiny z rybí kůže uvádí expanzi pěny 116-152 % pro rozdílná opracování a odlišné koncentrace želatiny v roztoku [43]. Studie z roku 2013 u 2.frakce želatiny z kuřecích a krůtích hlav uvádí průměrnou hodnotu expanze pěny v rozmezí 124-136 % v závislosti na typu želatinového roztoku. S rostoucí koncentrací roste i hodnota expanze pěny, přičemž vyšších hodnot dosahovala želatina z krůtí hlav [42]. Po přepočtu hodnot našeho experimentu dle vzorců uvedených v obou studiích, dosahují naše želatiny hodnot expanze pěny 128-154 %.

9 OPTIMÁLNÍ PODMÍNKY PŘÍPRAVY ŽELATIN Z JELENÍCH ŠLACH

Navržené optimální podmínky pro maximální výtěžnost celého procesu jsou celkové množství enzymu 0,9 %, doba opracování 28 h při teplotě 7,8 °C. Konkrétně pro maximalizaci výtěžků u první frakce je ideální 0,8 % enzymu při teplotě 8 °C po dobu 33 h. Vzhledem k nižším hodnotám pevnosti želatinového gelu 1. frakce je vhodnější cílit na maximalizaci extrakce 2. frakce želatiny, u které jsou ideální podmínky maximálně 0,46 % enzymu po limitní dobu opracování 33 h při teplotě maximálně 8,7 °C. Tyto podmínky nezajistí maximální možnou výtěžnost u 1. frakce, avšak je zde předpokládán výtěžek mezi 40–50 %. Podmínky 0,4 % enzymu, 33 h a 6 °C zajistí pevnost 150-200 Bloom u druhé želatinové frakce a zároveň neovlivní výtěžnost u 1. frakce. Teplota tuhnutí u 2. frakce želatinového gelu bude také maximální (16-17 °C) stejně jako hodnota WHC (25-30 %) i hodnota FC. To ale ovlivní teplotu tání gelu 2. frakce želatiny a její pěnotvornost. Nebude dosaženo maximální teploty tání želatinového gelu, přičemž můžeme očekávat teplotu tání gelu 30-33 °C a jeho pěnotvornou kapacitu mezi 35-40 %. Za konečné optimální podmínky tedy můžeme stanovit maximální hodnotu enzymu při opracování 0,4 % po dobu maximálně 33 h při teplotě 6 °C.

10 VÝZNAM PRÁCE PRO PRAXI

10.1 Srovnání s ostatními literárními zdroji

Nejvíce rozšířený typ opracování u komerčních želatin, pocházející z hovězích či vepřových částí, je zásaditý nebo kyselý. Můj postup se liší použitím enzymu během kondicionování coby prostředku pro šetrné rozrušení vazeb mezi řetězci kolagenu. Výsledkem vícestupňové extrakce bylo několik kvalitativních druhů želatin, při maximální úspěšnosti konverze z kolagenu na želatinu 71,1 %. Hodnota pevnosti u hovězího a vepřového želatinového gelu se pohybuje v rozmezí 50-300 Bloom podle druhu opracování. V případě našeho enzymatického opracování měla 2. frakce želatinového gelu pevnost 237 Bloom, což naznačuje potenciál konkurovat komerčně připravovaným želatinám. Pro srovnání také uvádím hodnoty pevností želatinových gelů připravených z kuřecích hlav (200-247 Bloom) [42], kuřecích kůží (190 Bloom) [51] či rybích kůží (153 Bloom) [41].

10.2 Návrhy na aplikace připravených želatin

Hydrolyzát s průměrnou výtěžností 2–4 % lze díky obsahu bílkovin využít jako přídavek do krmných směsí pro zemědělská zvířata. 1. želatinovou frakci, jež má ve srovnání s druhou želatinovou frakcí velmi nízkou pevnost, je možné využít díky nízkému obsahu popelovin (do 0,26 %) jako formu suplementu bílkovin v doplňcích stravy. S ohledem na nízkou viskozitu želatinového gelu se jako vhodná metoda zpracování jeví technologie rozprašování.

Druhá frakce želatiny může být díky své pevnosti přes 200 Bloom a viskozitě 2,5-3,5 mm²/s využita jak na přípravu tvrdých, tak i měkkých kapslí. U tablet, kde se vyžaduje pevnost kolem 150 Bloom a viskozita 3,2-3,5 mm²/s, lze také uvažovat o její aplikaci. Ve prospěch pro použití v lékařství a farmacii hraje i nízký obsah popelovin, a to do 0,4 %. V potravinářském průmyslu jsou nároky na pevnost u želatiny nižší, do 200 Bloom, tudíž želatinový gel 2. frakce zde může také najít uplatnění při výrobě gumových medvídků, marshmallows, ale rovněž pro výrobu pudinků či různých dezertů. Pro výrobu chlazených výrobků je důležitá i teplota tání a tuhnutí želatinového gelu, který u 2. frakce dosahuje hodnot 30-33 °C, respektive 16-17 °C. Díky dobré emulzifikační kapacitě a stabilitě emulze lze využít želatinu jako emulzní stabilizátor v masném průmyslu. Želatina může sloužit také jako plnivo do porézní keramiky či pro tvorbu ochranného povlaku nosiče léčiv. Molekulová hmotnost nebyla u připravených želatinových gelů stanovena, tudíž nelze s jistotou říct míru

uplatnění v kosmetickém průmyslu. Pro něj je tento parametr klíčový a je spíše typickou aplikační oblastí želatinových hydrolyzátů. Díky vyšší viskozitě 2. frakce želatinové gelu může být použita technologie zpracování ve formě namáčení, vytlačování či tvorbě filmů.

Nepochybně důležitým produktem extrakce želatiny je i nerozložený zbytek. Množství nerozloženého podílu při optimálních podmínkách je v rozmezí 35-40 %. Lze ho použít pro další opracování za pomoci kyselin či zásad nebo ho využít pro jeho minerální obsah jako přísadu do krmiv či jako přídavek do půdy ve formě hnojiva.

10.3 Návrhy na pokračování dalšího výzkumu

Po implementaci optimalizovaných podmínek kondicionování je pro maximálně možný výtěžek jakož i pro zvýšení aplikačního potenciálu důležité dále optimalizovat i podmínky při extrakci, které byly v mém experimentu zafixovány. V případě doby extrakce u první frakce lze předpokládat, že její zkrácení následně povede ke zvýšení extrakční účinnosti u 2. želatinové frakce, avšak s minimálním dopadem na kvalitu želatinového gelu. U želatinových gelů je dále možné stanovit detailní aminokyselinové složení, stejně jako molekulovou hmotnost. Tyto údaje pak pomohou se specifickým potenciálním uplatněním v dalších odvětvích průmyslu. Žádaným postupem při charakterizaci želatin z jeleních vazů může být jejich detailnější reologická charakteristika, která je klíčová při technologii lití a máčení. Další způsob opracování je možné aplikovat také na nerozložený zbytkový podíl po extrakci, který pravděpodobně obsahuje zbytkový podíl extrahovatelné želatiny.

11 ZÁVĚR

V teoretické části své práce jsem se zaměřil na představení aktuální situace zpracovatelského průmyslu coby producenta množství odpadů, kategorizaci odpadu a způsob jeho následného zpracování. Mimo klasické zpracovatelské techniky jsou v teoretické části uvedené také jiné možnosti využití odpadů s důrazem na vepřové, hovězí a rybí odpady jakožto nedílné součásti kulinářského a farmaceutického průmyslu. Poslední dvě kapitoly jsou věnovány kolagenu a želatině, jejich vlastnostem, zpracování a využití.

Výchozí surovina (jelení šlachy) byla opracována roztokem 0,2M NaCl s následným zásaditým opracováním 0,03M NaOH. Surovina byla dále odtučněna a rozemleta na uniformní velikost. Kolagen byl enzymaticky opracován při podmínkách založených na metodice faktorových pokusů, kdy jako limitní faktory byl zvolen obsah enzymu (0,3-1,2 %), doba (24-72 h) a teplota kondicionování (6-18 °C). Želatina byla následně z kolagenu extrahována dle stejných podmínek u každého experimentu.

Celkový výtěžek želatinových frakcí ve vztahu k výchozí surovině činil 16,40 %, přičemž konverze z kolagenu na želatinové frakce se pohybovala v rozmezí 46,3-71,1 %. Nejvíce byla zastoupená 1. želatinová frakce, následně 2. želatinová frakce. Nerozložený podíl tvořil v celkovém objemu 16,7-48,6 %. Nejlepší vlastnosti měla 2. želatinová frakce, nejvyšší pevnosti dosahoval želatinový gel u 1. experimentu při podmínkách kondicionování 0,3 % enzymu, 24 h opracování při teplotě 6 °C. 1. experiment měl ze všech experimentů také nejvyšší teplotu tání želatinového gelu stejně jako teplotu tuhnutí. Výtěžnost druhé frakce při tomto experimentu činila 9,6 % vzhledem ke kolagenu. Nejvyšší vodu zadržující kapacitu vykazovala 2. frakce želatinového gelu u experiment č. 8, tato hodnota byla více než dvojnásobná oproti kapacitě u 1. frakce želatinového gelu. Pěnotvorné schopnosti u první a druhé želatinové frakce jsou nejvíce ovlivněny teplotou, respektive s rostoucí teplotou během kondicionace klesá kapacita pěny. Nejvyšší hodnoty pěnotvorné kapacity bylo dosaženo u 1. želatinové frakce experimentu 1, a to 54 %. Emulzifikační kapacita stejně jako stabilita emulze vykazovaly také stejný trend jako kapacita emulze, avšak nikoli tak výrazný. Stanovené optimální podmínky pro zachování vysoké kvality želatinových frakcí při co nejvyšším možném výtěžku jsou limitní hranice enzymu 0,4 % po dobu maximálně 33 h při teplotě 6 °C. Celkový procentuální výtěžek 16,40 % želatinových frakcí z původní suroviny spolu s pevností 237 Bloom, teplotou tuhnutí 17,2 °C, teplotou tání 36,8 °C a vyšší viskozitou zajišťují 2. želatinové frakci aplikační potenciál ve farmaceutickém, potravinářském a technologickém průmyslu. Tím byla splněna, a dokonce překonána naše

původní vědecká hypotéza. Zbylé želatinové frakce mohou najít uplatnění díky nízkému obsahu popelovin a vysokému obsahu bílkovin ve své struktuře. Další krokem po optimalizaci kondicionování je optimalizace extrakčních podmínek jednotlivých želatinových frakcí a dodatečné opracování nerozloženého zbytku po extrakčním procesu.

Extrahovaná želatina z enzymaticky opracovaného kolagenu pocházejícího z jeleních šlach má potenciál obstát v konkurenci komerčních želatin, připravovaných dle standardních metod, a díky svým vlastnostem nalézt uplatnění ve farmaceutickém, potravinářském ale i v polymerním průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Animal by-products general guidance. Department of Agriculture, Environment and Rural Affairs [online]. [cit. 2022-04-13]. Dostupné z: <https://www.daera-ni.gov.uk/articles/animal-products-general-guidance>
- [2] JAYATHILAKAN, K., Khudsia SULTANA, K. RADHAKRISHNA a A. S. BAWA, 2012. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology*. 49(3), 278-293. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-011-0290-7
- [3] OCKERMAN, Herbert W. a Conly L. HANSEN, 2000. *Animal By-Product Processing*. Boca Raton, USA: CRC Press. ISBN 1-56676-777-6.
- [4] GRUBMAN, Marvin J. a Barry BAXT, 2004. Foot-and-Mouth Disease. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 17(2), 465-493 [cit. 2022-04-13]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.17.2.465-493.2004
- [5] SIMPSON, Benjamin K., Alberta N. A. ARYEE a Fidel TOLDRÁ, 2019. *Byproducts from Agriculture and Fisheries: adding value for food, feed, pharma and fuels*. Hoboken, NJ: Wiley. ISBN 978-111-9383-970. Dostupné z: doi:10.1002/9781119383956
- [6] TOLDRÁ, Fidel, Leticia MORA a Milagro REIG, 2016. New insights into meat by-product utilization. *Meat Science* [online]. 120, 54-59 [cit. 2022-04-16]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2016.04.021
- [7] Platná legislativa: Odpadové Hospodářství, 2022. Ministerstvo životního prostředí [online]. Olomouc, 2022 [cit. 2022-04-13]. Dostupné z: <https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/>
- [8] 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, 2009. In: . Štrasburk.
- [9] OECD: Meat consumption, 2021. OECD: Data [online]. 2021 [cit. 2022-04-16]. Dostupné z: <https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm>
- [10] OECD Data: Aquaculture production, 2021. OECD: Data [online]. 2021 [cit. 2022-04-16]. Dostupné z: <https://data.oecd.org/fish/aquaculture-production.htm>

- [11] CHOUDHURY, Abhinav, Christine LEPINE, Freddy WITARSA a Christopher GOOD, 2022. Anaerobic digestion challenges and resource recovery opportunities from land-based aquaculture waste and seafood processing byproducts: A review. *Bioresource Technology* [online]. [cit. 2022-04-16]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2022.127144
- [12] SALÁKOVÁ, Alena, 2014. *Hygiena a technologie drůbeže, vajec a zvěřiny*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-720-6.
- [13] *Spotřeba potravin - 2020*, 2022. Český statistický úřad [online]. Praha, 30.11.2021 [cit. 2022-04-21]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin>
- [14] *Základní údaje o honitbách, stavu a lovu zvěře - od 1. 4. 2020 do 31. 3. 2021*, 2022. Český statistický úřad [online]. Praha, 24.08.2021 [cit. 2022-04-21]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/zakladni-udaje-o-honitbach-stavu-a-lovu-zvere-od-1-4-2020-do-31-3-2021>
- [15] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). *Meat production by livestock type, World, 1961 to 2018*. Our World in Data [online]. 2020 [cit. 2022-04-22]. Dostupné z: <https://ourworldindata.org/grapher/global-meat-production-by-livestock-type>
- [16] STANISZ, Marek, Agnieszka LUDWICZAK, Przemysław BUDA, Marian PIETRZAK, Marta BYKOWSKA, Artur KRYZA a Piotr ŚLÓSZARZ, 2015. The Effect of Sex on the Dressing Percentage, Carcass, and Organ Quality in the Fallow Deer (Dama Dama). *Annals of Animal Science* [online]. 15(4), 1055-1075 [cit. 2022-04-21]. ISSN 2300-8733. Dostupné z: doi:10.1515/aoas-2015-0045
- [17] DENTON, J.H., C.N. COON, J.E. PETTIGREW a C.M. PARSONS, 2005. Historical and Scientific Perspectives of Same Species Feeding of Animal By-Products. *Journal of Applied Poultry Research* [online]. 14(2), 352-361 [cit. 2022-04-15]. ISSN 10566171. Dostupné z: doi:10.1093/japr/14.2.352
- [18] GOODING, Charles H. a David L. MEEKER, 2016. Review: Comparison of 3 alternatives for large-scale processing of animal carcasses and meat by-products. *The Professional Animal Scientist* [online]. 32(3), 259-270 [cit. 2022-04-15]. ISSN 10807446. Dostupné z: doi:10.15232/pas.2015-01487

- [19] BURTON, C.H., T.R. CUMBY a D.B. TINKER, 2004. Treatment and disposal of poultry processing waste. *Poultry Meat Processing and Quality* [online]. Elsevier, 2004, 345-376 [cit. 2022-04-19]. ISBN 9781855737273. Dostupné z: doi:10.1533/9781855739031.345
- [20] TEERLINK, John R, Marco METRA, G Michael FELKER, et al., 2009. Relaxin for the treatment of patients with acute heart failure (Pre-RELAX-AHF): a multicentre, randomised, placebo-controlled, parallel-group, dose-finding phase IIb study. *The Lancet* [online]. 373(9673), 1429-1439 [cit. 2022-04-19]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(09)60622-X
- [21] SAMADDAR, Ayan, Anilava KAVIRAJ a Subrata SAHA, 2015. Utilization of fermented animal by-product blend as fishmeal replacer in the diet of *Labeo rohita*. *Aquaculture Reports* [online]. 1, 28-36 [cit. 2022-04-15]. ISSN 23525134. Dostupné z: doi:10.1016/j.aqrep.2015.03.004
- [22] DESAI, Ajay S., Margaret BRENNAN, S.S. GANGAN a Charles BRENNAN, 2022. Utilization of Fish Waste as a Value-Added Ingredient: Sources and Bioactive Properties of Fish Protein Hydrolysate. *Sustainable Fish Production and Processing* [online]. Elsevier, 2022, 203-225 [cit. 2022-04-19]. ISBN 9780128242964. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-824296-4.00004-9
- [23] SALEH, Norhan E., Elham A. WASSEF a Heba H. ABDEL-MOHSEN, 2022. Sustainable Fish and Seafood Production and Processing. *Sustainable Fish Production and Processing* [online]. Elsevier, 2022, 259-291 [cit. 2022-04-20]. ISBN 9780128242964. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-824296-4.00002-5
- [24] COTTER, Paul D., R. Paul ROSS a Colin HILL, 2013. Bacteriocins — a viable alternative to antibiotics?. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 11(2), 95-105 [cit. 2022-04-19]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro2937
- [25] LUJÁN-RHENALS, D., R. MORAWICKI, E. J. VAN LOO a S. C. RICKE, 2016. Energy and water use in poultry processing. Achieving sustainable production of poultry meat Volume 1: Safety, quality and sustainability [online]. Burleigh Dodds Science Publishing, 2016-12-31, 389-410 [cit. 2022-04-19]. Burleigh Dodds Series in Agricultural Science. ISBN 9781786760647. Dostupné z: doi:10.19103/AS.2016.0010.22
- [26] SCHRIEBER, Reinhard a Herbert GAREIS, 2007. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. ISBN 978-3-527-31548-2.

- [27] GAUZA-WŁODARCZYK, Marlena, Leszek KUBISZ a Dariusz WŁODARCZYK, 2017. Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 104, 987-991 [cit. 2022-04-22]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.013
- [28] ROMERO-GARAY, Martha Guillermina, Efigenia MONTALVO-GONZÁLEZ, Crisantema HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, Adolfo SOTO-DOMÍNGUEZ, Eduardo Mendeleev BECERRA-VERDÍN a María DE LOURDES GARCÍA-MAGAÑA, 2022. Bioactivity of peptides obtained from poultry by-products: A review. *Food Chemistry: X* [online]. 13 [cit. 2022-04-15]. ISSN 25901575. Dostupné z: doi:10.1016/j.fochx.2021.100181
- [29] FITZHENRY, Leon B., Donna M. CAWTHORN, Voster MUCHENJE, Daniel BUREŠ, Radim KOTRBA a Louwrens C. HOFFMAN, 2019. Carcass Composition and Yields of Wild Fallow Deer (*Dama dama*) in South Africa. *African Journal of Wildlife Research* [online]. 49(1) [cit. 2022-04-21]. ISSN 2410-7220. Dostupné z: doi:10.3957/056.049.0100
- [30] ŠTRAUSOVÁ, Klára a Petr DOLEJŠ, 2010. Faktorové plánování a hodnocení experimentů při úpravě vody. *Sborník konference Pitná voda. Č. Budějovice: W&ET Team, s. 95-100. ISBN 978-80-254-6854-8.*
- [31] XIANG, Feng, Zhou TAO, Zhang JIALEI, Zhang BOYA a Ma DONGLIANG, 2020. Research on heat transfer coefficient of supercritical water based on factorial and correspondence analysis. *Nuclear Engineering and Technology* [online]. 52(7), 1409-1416 [cit. 2022-04-27]. ISSN 17385733. Dostupné z: doi:10.1016/j.net.2019.12.017
- [32] Standard Testing Methods for Edible Gelatin: Official procedures of the Gelatin Manufacturers Institute of America, Inc., 2019. Dostupné z: http://www.gelatin-gmia.com/uploads/1/1/8/4/118450438/gmia_official_methods_2019.pdf.
- [33] MUYONGA, J.H, C.G.B COLE a K.G DUODU, 2004. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* [online]. 86(3), 325-332 [cit. 2022-04-29]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2003.09.038
- [34] MOOSAVI-NASAB, Marzieh, Marzieh YAZDANI-DEHNAVI a Armin MIRZAPOUR-KOUHDASHT, 2020. The effects of enzymatically aided acid-swelling

process on gelatin extracted from fish by-products [online]. 8(9), 5017-5025 [cit. 2022-04-29]. ISSN 2048-7177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.1799

[35] NASRIN, Taslima Ayesha Aktar, Athapol NOOMHORM a Anil Kumar ANAL, 2014. Physico-Chemical Characterization of Culled Plantain Pulp Starch, Peel Starch, and Flour. *International Journal of Food Properties* [online]. 18(1), 165-177 [cit. 2022-04-29]. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2013.828747

[36] LI, Fan, Dongying JIA a Kai YAO, 2009. Amino acid composition and functional properties of collagen polypeptide from Yak (*Bos grunniens*) bone. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 42(5), 945-949 [cit. 2022-04-29]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2008.12.005

[37] SATHE, S. K., S. S. DESHPANDE a D. K. SALUNKHE, 1982. Functional Properties of Lupin Seed (*Lupinus mutabilis*) Proteins and Protein Concentrates. *Journal of Food Science* [online]. 47(2), 491-497 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.1982.tb10110.x

[38] NETO, V. Q., N. NARAIN, J. B. SILVA a P. S. BORA, 2001. Functional properties of raw and heat processed cashew nut (*Anacardium occidentale*, L.) kernel protein isolates. *Nahrung/Food* [online]. 2001, 45(4), 258-262 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: doi:10.1002/1521-3803(20010801)45:4<258::AID-FOOD258>3.0.CO;2-3

[39] ABDELMALEK, Baha Eddine, Joaquín GÓMEZ-ESTACA, Assaâd SILA, Oscar MARTINEZ-ALVAREZ, M. Carmen GÓMEZ-GUILLÉN, Semia CHAABOUNI-ELLOUZ, Mohamed Ali AYADI a Ali BOUGATEF, 2016. Characteristics and functional properties of gelatin extracted from squid (*Loligo vulgaris*) skin. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 65, 924-931 [cit. 2022-05-02]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2015.09.024

[40] ISLAM, Md. Rashidul, Tomoharu YUHI, Dawei MENG, Takeya YOSHIOKA, Yumi OGATA, Kazuhiro URA a Yasuaki TAKAGI, 2021. Purity and properties of gelatins extracted from the head tissue of the hybrid kalamtra sturgeon. *LWT* [online]. 142 [cit. 2022-05-02]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.110944

[41] JONGJAREONRAK, Akkasit, Saroat RAWDKUEN, Manat CHAIJAN, Soottawat BENJAKUL, Kazufumi OSAKO a Munehiko TANAKA, 2010. Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*). *LWT -*

Food Science and Technology [online]. 43(1), 161-165 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2009.06.012

[42] DU, L., Z. KHIARI, Z. PIETRASIK a M. BETTI, 2013. Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads. Poultry Science [online]. 92(9), 2463-2474 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00325791. Dostupné z: doi:10.3382/ps.2013-03161

[43] AHMAD, Mehraj a Soottawat BENJAKUL, 2011. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. Food Hydrocolloids [online]. 25(3), 381-388 [cit. 2022-05-01]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2010.07.004

[44] JRIDI, Mourad, Rim NASRI, Rabeb BEN SLAMA-BEN SALEM, Imen LASSOUED, Ahmed BARKIA, Moncef NASRI a Nabil SOUISSI, 2015. Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from the skin of octopus (*Octopus vulgaris*). LWT - Food Science and Technology [online]. 60(2), 881-889 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2014.10.057

[45] AYKIN-DINÇER, E, A. KOÇ a M. ERBAŞ, 2017. Extraction and physicochemical characterization of broiler (*Gallus gallus domesticus*) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin. Poultry Science [online]. 96(11), 4124-4131 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00325791. Dostupné z: doi:10.3382/ps/pex237

[46] ABEDINIA, Ahmadreza, Fazilah ARIFFIN, Nurul HUDA a Abdorreza Mohammadi NAFCHI, 2017. Extraction and characterization of gelatin from the feet of Pekin duck (*Anas platyrhynchos domestica*) as affected by acid, alkaline, and enzyme pretreatment. International Journal of Biological Macromolecules [online]. 98, 586-594 [cit. 2022-05-01]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.139

[47] CHOE, J a H Y KIM, 2018. Effects of chicken feet gelatin extracted at different temperatures and wheat fiber with different particle sizes on the physicochemical properties of gels. Poultry Science [online]. 97(3), 1082-1088 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00325791. Dostupné z: doi:10.3382/ps/pex381

[48] ERGE, Aydın a Ömer ZORBA, 2018. Optimization of gelatin extraction from chicken mechanically deboned meat residue using alkaline pre-treatment. LWT [online]. 97, 205-212 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2018.06.057

- [49] JAMILAH, B a K.G HARVINDER, 2002. Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry* [online]. 77(1), 81-84 [cit. 2022-05-01]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(01)00328-4
- [50] LIU, Hai Ying, Ding LI a Shi Dong GUO, 2008. Extraction and properties of gelatin from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 41(3), 414-419 [cit. 2022-05-01]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2007.03.027
- [51] MRÁZEK, Petr, Robert GÁL, Pavel MOKREJŠ, Jana ORSAVOVÁ a Dagmar JANÁČOVÁ, 2022. Biotechnological preparation of chicken skin gelatine using factorial design of experiments. *Food Bioscience* [online]. 47 [cit. 2022-05-01]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2022.101702

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

VŽP	Vedlejší živočišné produkty
TSE	Přenosná spongiformní encefalopatie
SRM	Specifický rizikový materiál
NaCl	Chlorid sodný
NaOH	Hydroxid sodný
HCl	Kyselina chlorovodíková
H ₂ SO ₄	Kyselina sírová
RSM	Response surface methodology – metoda plochy odezvy
UV	ultrafialové záření
EXP	číslo experimentu
E	Množství enzymu
t	Doba opracování
T	Teplota při opracování
GS	Pevnost želatiny
KM	kinematická viskozita
MP	Teplota tání
GP	Teplota tuhnutí
T	Transmitance
WHC	Vodu zadržující kapacita
FBC	Tuk vázací kapacita
FC	Pěnotvorná kapacita
FS	Stabilita pěny
EC	Emulzifikační kapacita
ES	Stabilita emulze
NA	Neměřeno

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Výchozí surovina – Jelení šlachy	42
Obrázek 2 Blokové schéma přípravy želatin z jeleních šlach	49
Obrázek 3 Závislost účinnosti extrakce na podmínkách kondicionování.....	54
Obrázek 4 Závislost účinnosti extrakce pro 1. frakci na podmínkách kondicionace	55
Obrázek 5 Závislost pevnosti 1. frakce na podmínkách kondicionace.....	56
Obrázek 6 Závislost pevnosti 2. frakce na podmínkách kondicionace.....	58
Obrázek 7 Závislost teploty tání 2. frakce na podmínkách kondicionace	59
Obrázek 8 Závislost teploty tuhnutí 2.frakce na podmínkách kondicionace	60
Obrázek 9 Závislost FC 2.frakce na podmínkách kondicionace	61
Obrázek 10 Závislost WHC 2. frakce na podmínkách kondicionace	61

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Parametry pro měření pevnosti želatinového gelu.....	44
Tabulka 2 Účinnost extrakce u experimentů 1-9	53
Tabulka 3 Vlastnosti želatin 1. frakce	55
Tabulka 4 Vlastnosti želatin 2. frakce	57

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Produktový list – Enzym Protamex

PŘÍLOHA P I: PRODUKTOVÝ LIST – ENZYM PROTAMEX