

Zpracování odpadních kolagenních tkání na želatiny a hydrolysáty

Bc. Anna Skočíková

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. Anna Skočiková
Osobní číslo: T20099
Studijní program: N0722A130001 Inženýrství polymerů
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Zpracování odpadních kolagenních tkání na želatiny a hydrolysáty.

Zásady pro vypracování

- 1. V literární studii se zaměřte na současný stav řešené problematiky a kriticky jej zhodnoťte.*
- 2. Navrhněte technologický postup zpracování vybraných odpadních tkání 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.
Sarbon, N.M.; Nazlin, F.B.; Howell, K. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. Food Hydrocoll. 2013, 30, 143–151.
Rammaya, K.; Ying, V.Q.; Babji, A.S. Physicochemical analysis of gelatin extracted from mechanically deboned chicken meat (mdcm) residue. Int. J. Food Saf. Nutr. Publ. Health 2012, 5, 147–167.

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 zabývá zpracováním odpadního kolagenního separátu z hovězí kůže na želatiny a hydrolyzáty. V teoretické části se zaměřuje na chov a produkci skotu domácího. Podrobněji je popsána porážka dobytka, vedlejší živočišné produkty a jejich využití. Dále jsou uvedeny želatina a kolagen, jejich vlastnosti a aplikace. Praktická část se pak věnuje přípravě kolagenu z kolagenní tkáně z hovězí kůže a následně podmínkám extrakce želatiny, která byla připravena enzymatickým opracováním suroviny. Sledovanými faktory při kondicionování přečištěného kolagenu byly množství enzymu Protamex (0,2-0,3-0,4 %), doba kondicionování (24-48-72 h) a teplota kondicionování (6-12-18 °C). U extrahované želatiny byly provedeny analýzy fyzikálních a funkčních vlastností. Maximální účinnost vyrobených želatin dosahovala 88,5 % a nejvyšší pevnost dosahovala 316 Bloom. Výsledky analýz byly také srovnány s dalšími literárními studiemi. Bylo prokázáno, že za vhodných podmínek lze připravit kvalitní želatinu z kolagenních tkání hovězí kůže.

Klíčová slova: kolagen, želatina, enzym, hovězí kůže, jatečné odpady

ABSTRACT

This diploma thesis deals with the processing of waste collagen separate from bovine plywood into gelatin and hydrolysates. The theoretical part focuses on the breeding and production of domestic cattle. The slaughter of cattle, animal by-products and their use are described in more detail. The following are gelatin and collagen, their properties and applications. The practical part is then devoted to the preparation of collagen from collagen tissue from bovine plywood and subsequently to the conditions of gelatin extraction, which was prepared by enzymatic treatment of the raw material. The factors observed in the conditioning of purified collagen were the amount of Protamex enzyme (0.2-0.3-0.4 %), the conditioning time (24-48-72 h) and the conditioning temperature (6-12-18 °C). The extracted gelatin was analyzed for physical and functional properties. The maximum efficiency of the produced gelatins reached 88.5% and the highest gel strength reached 316 Bloom. The results of the analysis were also compared with other literature studies. It that high-quality gelatin can be prepared from bovine collagen tissues under suitable conditions.

Keywords: collagen, gelatin, enzyme, slaughterhouse waste, bovine shank

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce panu prof. Ing. Pavlovi Mokrejšovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a ochotný přístup. Poděkování patří také paní laborantce Petře Elšíkové za odbornou asistenci v laboratoři. Také bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a veškerou pomoc při studiu.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 SKOT DOMÁCÍ	11
1.1 PRODUKCE SKOTU	11
1.1.1 Světová produkce skotu a hovězího masa.....	11
1.1.2 Produkce skotu a hovězího masa v ČR.....	11
1.2 DĚLENÍ HOVĚZÍCH TKÁNÍ	12
1.3 SLOŽENÍ HOVĚZÍHO MASA	13
1.4 PORÁŽKA SKOTU	14
1.4.1 Omráčení	14
1.4.2 Vykrvení.....	14
1.4.3 Vnější a vnitřní jatečné opracování.....	15
1.4.4 Veterinární prohlídka	15
1.4.5 Zchlazování masa.....	15
1.4.6 Vedlejší živočišné produkty	16
1.4.7 Využití vedlejších živočišných produktů	17
2 KOLAGEN A ŽELATINA	19
2.1 KOLAGEN	19
2.1.1 Složení kolagenu	19
2.1.2 Aplikace kolagenu.....	19
2.2 ŽELATINA.....	21
2.2.1 Vlastnosti želatiny	21
2.2.2 Výroba želatiny	21
2.2.3 Alternativní zdroje k výrobě želatiny.....	22
2.2.4 Aplikace želatiny.....	24
II PRAKTICKÁ ČÁST	27
3 ZHODNOCENÍ LITERÁRNÍ STUDIE A CÍLE PRÁCE	28
4 MATERIÁLY A METODY PRÁCE	29
4.1 PŘÍPRAVA SUROVINY.....	29
4.2 LABORATORNÍ POMŮCKY, CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE	30
4.3 FAKTOROVÉ PLÁNOVÁNÍ EXPERIMENTŮ	31
4.4 ANALÝZA PRODUKTŮ A VSTUPNÍCH SUROVIN	32
5 POSTUP PRÁCE PŘÍPRAVY ŽELATIN	39
5.1 PŘÍPRAVA PŘEČIŠTĚNÉHO KOLAGENU	39
5.2 EXTRAKCE ŽELATIN	41
6 VÝSLEDKY	44
6.1 VLASTNOSTI ŽELATIN.....	44

6.2	EXTRAKČNÍ ÚČINNOST	45
6.2.1	Pevnost gelu	50
6.2.2	Teplot tuhnutí	52
6.2.3	Teplot tání	54
6.2.4	Další vlastnosti	56
6.3	NAVRŽENÍ OPTIMÁLNÍCH PROCESNÍCH PODMÍNEK	57
7	DISKUZE	58
8	VÝZNAM VÝSLEDKŮ PRO PRAXI.....	60
8.1	ZHODNOCENÍ TECHNOLOGICKÉHO PROCESU	60
8.2	NÁVRH NA VYUŽITÍ ŽELATINY.....	60
8.2.1	Potravinářský průmysl	60
8.2.2	Farmaceutický průmysl	61
8.2.3	Kosmetický průmysl	61
8.3	NÁVRH NA POKRAČOVÁNÍ VÝZKUMU	61
	ZÁVĚR	62
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	64
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	72
	SEZNAM OBRÁZKŮ	73
	SEZNAM TABULEK.....	74
	SEZNAM PŘÍLOH.....	75

ÚVOD

Celosvětová živočišná produkce od 60. let minulého století rapidně vzrostla. Produkce hovězího masa se více než zdvojnásobila. Je odhadován nárůst poptávky po produktech živočišné výroby minimálně v příštích třech desetiletích. Při zpracování masa jsou vedlejší produkty využívány jako surovina pro jiné výroby. Jedná se zejména o kůže, rohoviny, tuky, droby, krev, střeva, žlázy, kosti a peří. Nebyla však nalezena žádná studie, která by se zabývala vedlejšími produkty z průmyslově vyráběných masných produktů, jako jsou například hamburgery.

Již více než 2000 let se v domácnostech používají pojivové tkáně a výrobky z nich extrahované jako lepidla. V potravinářství je želatina jedním z hydrokoloidů, které lze použít jako želírovací, zahušťovací nebo stabilizační činidlo. V současnosti se světová produkce želatiny odhaduje na 140 000-160 000 tun ročně.

Diplomová práce pojednává o zpracování odpadních kolagenních tkání na želatiny a hydrolysáty. Konkrétně byla vybrána kolagenní tkáň z hovězí kůže, která je využívána k výrobě hamburgerů. Kolagenní tkáň z hovězí kůže je separována a již dále nezpracovávána. Kolagen je hlavní strukturální složkou vláken bílé pojivové tkáně a je přítomen ve všech tkáních a orgánech. Tvoří téměř 30 % celkové bílkoviny u obratlovců i bezobratlých.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SKOT DOMÁCÍ

Skot domácí je nejrozšířenějším a nejběžnějším druhem přežvýkavců velkého vzrůstu. Je chován především pro produkci mléka, masa, kůže a také pro zajištění tažné síly, hraje významnou roli v recyklaci živin a přeměňuje rostlinnou hmotu na cenné bílkoviny pro lidskou spotřebu [1].

1.1 Produkce skotu

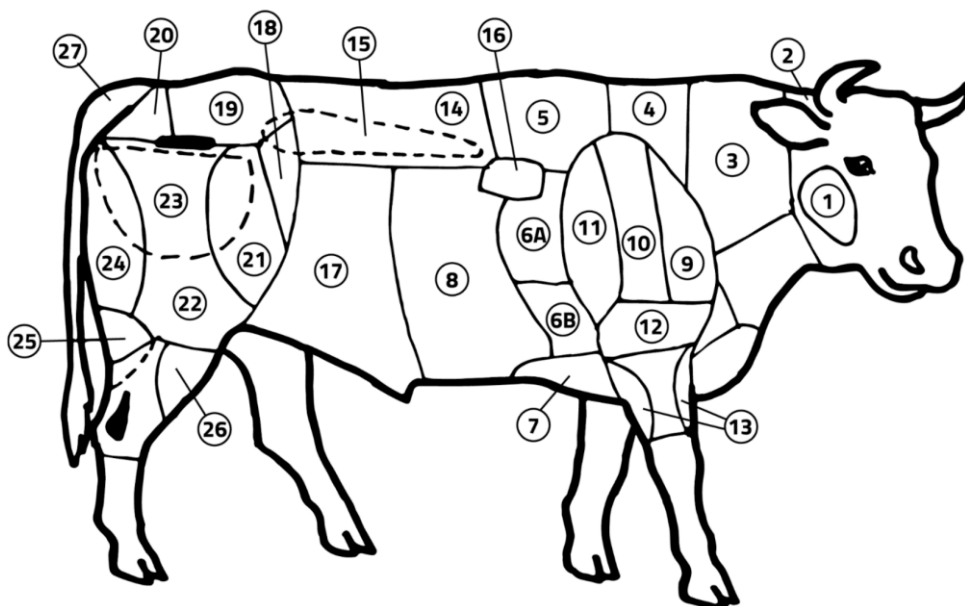
1.1.1 Světová produkce skotu a hovězího masa

Do začátku 60. let minulého století bylo hovězí maso nejčastěji konzumovaným masem na světě. Jeho největšími producenty na světě jsou USA, Nový Zéland, Brazílie, Argentina a Austrálie. Světová populace skotu je asi 1,43 miliard kusů a z toho 260 milionů dojných krav. První příčku v produkci hovězího masa pak drží právě USA, které vyprodukovaly 12,4 milionů tun. To tvoří téměř 21 % celosvětové produkce, která k roku 2020 činí 60,5 milionů tun jatečného hovězího masa. Na druhém místě v produkci hovězího masa je Brazílie s 10,1 milionů tun jatečného hovězího masa, což je téměř 17 % světové produkce. V EU se vyprodukovalo v roce 2020 7,8 miliony tun jatečného hovězího masa, což je ve srovnání s USA o 4,5 milionů tun méně. Na čtvrtém místě je Čína s 6,7 miliony tun jatečného masa. Průměrná roční spotřeba v rozvinutých zemích světa se pohybuje kolem 85 kg hovězího masa na obyvatele. V Kanadě, Francii, Německu, USA a Dánsku převyšuje spotřeba 100 kg za rok na obyvatele [2,3,4].

1.1.2 Produkce skotu a hovězího masa v ČR

V České republice se v roce 2020 výroba jatečného skotu pohybovala kolem 165 tisíc tun živé hmoty. Domácí spotřeba hovězího masa k roku 2020 v ČR činila 133 tisíc tun živé hmoty. Spotřeba hovězího masa v ČR v kilogramech na obyvatele má kolísavý trend. V roce 1995 to bylo 82 kg za rok, avšak v roce 2005 tato spotřeba stoupla na téměř 90 kg a poté klesala až do roku 2013, kdy bylo spotřebováno minimum hovězího masa, a to 75 kg na obyvatele. Od roku 2013 trend opět rostl tak, že v roce 2016 byla spotřebováno 80 kg hovězího masa na obyvatele za rok. Nyní tedy v roce 2022 se udává hodnota 85 kg za rok na obyvatele a předpokladem je dále vzrůstající spotřeba [2,5,6].

1.2 Dělení hovězích tkání



Obrázek 1 Anatomie skotu domácího [7]

1 - líčko	14 - nízký roštěnec
2 - špička krku	15 - svíčková
3 - krk	16 - veverka
4 - podplečí	17 - bok bez kosti
5 - vysoký roštěnec	18 - holubička
6A - žebro vysoké	19 - květová špička
6B - žebro holé	20 - tabulová špička
7 - hrudí	21 - ořech
8 - žebro nízké	22 - spodní šál
9 - kulatá plec	23 - vrchní šál
10 - loupaná plec	24 - váleček
11 - velká plec	25 - karabáček
12 - husička	26 - kliška
13 - kliška	27 - oháňka

Obrázek 2 Popis částí těla skotu domácího [7]

Hovězí maso dělíme do čtyř jakostních tříd. První jakostní třída obsahuje svíčkovou, kýtu, nízký roštěnec, spodní a vrchní šál, malý a velký ořech a špičku. Do druhé jakostní třídy patří vysoké a holé žebro, vysoký roštěnec, péro, velká a střední plec, pleckový štítek, kužel klín a podplečí. Žebro nízké, hrudní, popek, veverka, oponka a oháňka patří do 3. jakostní třídy. Do poslední, tedy 4. třídy, spadá krk, přední a zadní klišky, podkrčí a líčko [7].

Hovězí kliška je sval nacházející se na předloktí skotu a dělíme ji na přední a zadní. Tento druh svalu má velmi tvrdou šlachovitou strukturu, jelikož během celého života zvířete nese celou jeho váhu. Čím je zvíře starší, tím se hovězí kliška stává šlachovitější a tlustší. Vzhledem k vysokému obsahu šlach prochází procesem separace libového masa od vazů a

šlach a je dále použita například do mletých hamburgerových směsí. Tento proces může být ruční i mechanický. Ruční proces je velmi časově náročný a také pracný, zatímco mechanické odstranění šlach a vazů snižuje náklady na pracovní sílu. S těmito šlachami a vazy se často zachází jako s odpady a odvážejí se do kafilerii [9,10,11].

1.3 Složení hovězího masa

Hovězí maso obsahuje 70–75 % vody. Tato hodnota přirozeně vyskytujícího se obsahu vody v maso se může lišit dle typu svaloviny, ročního období, pH masa a stáří zvířete. Obsah bílkovin v hovězím maso se udává v rozmezí 18–22 %. Maso je velmi dobrým zdrojem esenciálních aminokyselin. Aminokyselinové složení bílkovin hlavních druhů masa je uvedeno v Tabulce 1. Pokud jde o esenciální aminokyselinu, zdá se, že hovězí maso má poněkud vyšší obsah leucinu, lysinu a valinu než vepřové nebo jehněčí maso a nižší obsah threoninu. Mohou existovat významnější rozdíly mezi konkrétními umístěními svalů, případně i plemeno a věk zvířat mají důležité vlivy. Bylo popsáno, že obsah argininu, valinu, methioninu, isoleucinu a fenylalaninu se zvyšuje s rostoucím věkem zvířat [12].

Tabulka 1 Složení aminokyselin v maso [12]

Aminokyselina	Hovězí [%]	Vepřové [%]	Jehněčí [%]
Isoleucin	5,1	4,9	4,8
Leucin	8,4	7,5	7,4
Lysin	8,4	7,8	7,6
Methionin	2,3	2,5	2,3
Cystein	1,4	1,3	1,3
Fenylalanin	4,0	4,1	3,9
Threonin	4,0	5,1	4,9
Tryptofan	1,1	1,4	1,3
Valin	5,7	5,0	5,0
Arginin	6,6	6,4	6,9
Histidin	2,9	3,2	2,7
Alanin	6,4	6,3	6,3
Kys. asparagová	8,8	8,9	8,5
Kys. glutamová	14,4	14,5	14,4
Glycin	7,1	6,1	6,7
Prolin	5,4	4,6	4,8
Serin	3,9	4,0	3,9
Tyrozín	3,2	3,0	3,2

Obsah tuku se v hovězím maso liší podle typu svaloviny, stáří zvířete a podle množství krmiva, jež dostává. V mnoha studiích se udává obsah tuku 5-19 %. Tuk v maso se nachází jak mezi svaly, tak uvnitř svalů. Obsahuje také poměrně velké množství minerálních látek,

látek, jako jsou vápník, fosfor, sodík, draslík, chlór, hořčík a také množství stopových prvků, ke kterým patří železo měď, zinek atd [12,13,14].

Tabulka 2 Množství minerálů a stopových prvků v maso [12,14]

Minerály a stopové prvky [mg/100 g]								
	Na	K	Ca	Mg	Fe	P	Cu	Zn
Hovězí maso	69	334	5,4	24,5	2,3	276	0,1	4,3
Vepřové maso	45	400	4,3	26,1	1,4	223	0,1	2,1

1.4 PORÁŽKA SKOTU

Porážka skotu zahrnuje několik fází. První je manipulace před porážkou, pak následuje omráčení, samotná porážka jatečného zvířete, vykrvení, jatečné opracování a veterinární kontrola. Jde o usmrcení jatečného zvířete za účelem využití jeho produktů [15].

1.4.1 Omráčení

K omráčení dochází v omračovacím boxu. K omráčení skotu se využívají tři metody: mechanické, elektrické a chemické. Mechanickou metodou je omráčení penetračním upínacím šroubem, kdy pistole vystřelí kovový šroub do čelní kosti či až do mozku zvířete a okamžitě ho omráčí, či dokonce usmrtí [15].

Druhou metodou je elektrické omráčení, které se nejčastěji používá jak u skotu, tak i u telat a ovcí. Elektrický proud prochází mozkem jatečného zvířete pomocí velkých kleští, a tím dojde k dočasné ztrátě vědomí. Některé systémy mohou procházet i srdcem, tudíž je zvíře nejete omráčeno ale i usmrceno. Rozlišují se také tři druhy elektrického omráčení: elektrokóma, kdy se využívá napětí 70–100 V, elektrošok s napětím 180–220 V a vysokovoltové omráčení s napětím 500–1000 V [15,16,17].

Třetí metodou je metoda chemická, do níž patří omráčení zvířete oxidem uhličitým. Tato metoda se považuje za nejhumánnější metodu a spočívá v tom, že se zvířata nahnaná do omračovacího boxu omráčí se směsí vzduchu a 60–80 % oxidu uhličitého [16,17].

1.4.2 Vykrvení

Vykrvení musí proběhnout ihned po omráčení jatečného zvířete. Může probíhat vertikálně či horizontálně. Vertikální vykrvení je nejhygieničtější systém, kdy se zvíře pověsí za zadní končetiny na hák nebo pohyblivou kolejnici. Poté dojde k proříznutí aorty dutým nožem, což umožní vykrvení bez kontaminace krve z rány do zakryté nádoby. Do 10 sekund od

proříznutí aorty vyteče 40–60 % krve. Horizontální vykrvení by mělo být provedeno na speciálním a čistém stole, aby byly zajištěny hygienické podmínky. Poskytuje rychlejší vykrvení. Pokud má být krev použita na produkty k lidské spotřebě, je nutné, aby se nedotkla vykrvovacího stolu před dosažením sběrné nádoby [15,16,17,18].

1.4.3 Vnější a vnitřní jatečné opracování

K vnějšímu opracování patří opaření a odstranění chlupů z kůže. Opaření se provádí vodou o teplotě přibližně 60 °C po dobu 6 minut. Tím se uvolní folikuly chlupu a ten se poté speciálně tvarovanou škrabkou odstraní. Další metodou odstranění nečistot a chlupů je stažení jatečného zvířete z kůže. To se však provádí, jen pokud je kůže určena na kožené zboží. Zbylé chlupy a nečistoty se též mohou odstraňovat opalováním. Při opalování dochází ke stažení a zpevnění pokožky, a výrazně se tím sníží množství mikroorganismů na kůži. Po opálení se chlupy odstraní stejně jako po opaření společně s černými usazeninami na kůži, která se následně důkladně očistí. Mezi vnitřní jatečné opracování patří tzv. vykolování, což znamená odstranění vnitřností a tělních dutin poraženého zvířete. Vykolení by mělo proběhnout maximálně do 45 minut od omráčení jatečného zvířete, aby se zabránilo kontaminaci svaloviny mikroorganismy. Dále se tělo zvířete rozpůlí, aby bylo možné řádné veterinární zhodnocení nezávadnosti [16,17,18].

1.4.4 Veterinární prohlídka

Při veterinární hygienické prohlídce se hodnotí stav vnitřních orgánů, mízních uzlin, srůsty plic pohmatem tak i prohlídkou. Kontrola masa je povinná a je třeba zjistit nezávadnost, bezpečnost a přesné označení dodávky masa. Obecně je veterinární služba povinna provést prohlídku před porázkou, posmrtnou prohlídku, opakovanou kontrolu během zpracování, sanitaci, zařízení a vybavení. Na základě výsledků prohlídky pak označí maso danou skupinou požitelnosti a určí další nakládání s masem [16,19].

1.4.5 Zchlazování masa

Ke zchlazení masa musí dojít co nejdříve po opracování těla, aby se zabránilo fermentačním procesům a bujení mikroorganismů. Po porážce se maso musí zchladit na teplotu +5 °C do 12 hodin při vlhkosti vzduchu 85 %. Pro dlouhodobé skladování je nutné zmrazit maso na teplotu -5 °C po dobu 48 hodin nebo na teplotu -10 °C po dobu 24 hodin. V této teplotě musí být udržováno až do opracování [16,19].

1.4.6 Vedlejší živočišné produkty

Vedlejší živočišné produkty jsou označeny odpady, které dále nejsou určeny pro lidskou spotřebu. Tyto odpady vznikající při zpracování zvířete jsou velkou částí biologického materiálu, jenž musí být dále zpracovány. V legislativách EU jsou vedlejší živočišné produkty myšlena celá mrtvá těla nebo části zvířat. Vedlejší živočišné produkty vznikají porážky zvířete až po finální zpracování potravin. Vznikají především pro porážení zvířete k lidské spotřebě, výrobě produktů živočišného původu, neškodnému odstraňování mrtvých zvířat a prováděním opatření ke tlumení nákaz. Odhaduje se že pouze 54 % skotu je využito k lidské spotřebě a zbytek je považováno za vedlejší živočišný produkt. Je třeba těmito produkty manipulovat odděleně a patřičně je označovat. Odebrání vedlejších živočišných produktů musí proběhnout neprodleně po jejich vzniku. Velká část vedlejších produktů se dále využívá například v kožedělném průmyslu, farmacii a krmivářském průmyslu. Vedlejší produkty se rozdělují do tří kategorií.

Do kategorie 1 jsou zařazeny celá těla zvířat a všechny jejich části podezřelých z infekční nákazy, používaných k vědeckým pokusům a těla zvířat obsahující rezidua, která znečišťují životní prostředí, zvířata ze Zoo zahrad a cirkusů. Dále sem patří specifikovaný rizikový materiál, celá těla tento materiál obsahující a vedlejší živočišné produkty ze zvířat podrobených nezákonnému ošetření. Za specifikovaný rizikový materiál se u skotu považuje lebka bez spodní čelisti, mozek, oči a mícha u zvířat starších než jeden rok. Páteř kromě ocasních obratlů, výběžků krčních, bederních a hrudních obratlů, středové hřebene křížové kosti včetně míšních nervových uzlin u zvířat starších než 2,5 roku, mandle, část tenkého střeva a slepé střevo. Specifikovaný rizikový materiál musí být neprodleně po odebrání označen metylenovou modří. Tento materiál se dále zpracovává tlakovou sterilizací a poté se spálí, zahrabe na povolené skládce nebo přemění na bioplyn.

Ve 2. kategorii jsou materiály jsou považovány za rizikové a jejich zpracování je omezeno. Patří sem nemineralizované guáno (trus), obsah trávicího traktu a hnůj, živočišné produkty prohlášené za nevhodné k lidské spotřebě z důvodu výskytu cizích těles a které byly dovezeny ze zemí nesplňující požadavky kladené v EU. Dále do 2. kategorie spadá drůbež odumřelá ve vejci, oocyty, embrya a sperma, plody, a uhynulá zvířata jinak než porážkou. Materiál z 2. kategorie je možno odstranit po tlakové sterilizaci spálením, zahrabáním na povolené skládce, nebo se dá také využít k výrobě organických hnojiv, půdních přípravků. Pokud jde o hnůj, mléko a mléčné výrobky, mleziva či obsah trávicího traktu je možné tento materiál zkompostovat, nebo bez zpracování aplikovat na půdu.

Do 3. kategorie spadají nejméně rizikové živočišné produkty. Patří sem tedy těla usmrcených, či poražených zvířat vhodných k lidské spotřebě, avšak z obchodních hledisek nejsou k lidské spotřebě určeny. Těla, který nejsou vhodná k lidské spotřebě, ale nevykazují žádné známky onemocnění ani infekčnosti. Dále to jsou drůbeží hlavy, kůže, peří, vlna, rohy srst, paznehty. Jednodenní kuřata usmrcena z důvodů obchodního, odpady ze stravovacích zařízení a vadné živočišné výrobky [19,20,21].

Každá z kategorií musí být jednoznačně a zřetelně identifikovatelná a umožnit tak oddělenou manipulaci. K identifikaci první kategorie vedlejších živočišných produktů, tedy produktů s nejvyšší rizikovostí, se využívá nápis „pouze k neškodnému odstranění“ v černé barvě. U druhé kategorie se využívá barva žlutá s nápisem „není určeno ke krmení zvířat“ a poslední kategorie tedy třetí kategorie je vyznačena nápisem „není určeno k lidské spotřebě“ v zelené barvě [19,21].

1.4.7 Využití vedlejších živočišných produktů

Zaměření na vedlejší produkty je považováno za velmi důležité. Z celkové živé hmotnosti skotu je až 56 % nevyužívaných masných i nemasných složek. Většina z těchto složek je však naprosto vhodná pro lidskou spotřebu, jelikož obsahuje vysoké množství bílkovin, esenciálních aminokyselin, minerálů, vitamínů, antioxidantů a bioaktivních peptidů. Je stále důležitější najít využití pro tyto produkty, obzvláště v situaci, kdy předpokládaná produkce masa bude do roku 2050 až o 200 milionů tun vyšší [22,24,25].

Se stále přísnějšími standardy a omezeními, jak mohou být odpady zlikvidovány jakož i s úrovní znečišťujících látek, které jsou v přijímajícím prostředí považovány za přijatelné, čelí mnoho zpracovatelů masa výzvě, jak zlepšit nakládání s odpady nákladově efektivním způsobem [22,23,24]. K tomu potřebují vyvinout strategie nakládání s odpady založenou na následující hierarchii:

1. předcházení vzniku odpadu a jeho snižování u zdroje
2. využití, opětovné použití a recyklace odpadu
3. zpracování a likvidace odpadu

Anaerobní mikrobiální rozklad biomasy, který se obvykle nazývá „anaerobní digesce“, se používá pro úpravu organických odpadů a odpadních vod. V tomto procesu mikroorganismy degradují organickou hmotu a produkují směsné plyny, jako jsou metan a oxid uhličitý v nepřítomnosti kyslíku. Vzhledem k tomu, že metan je užitečný obnovitelný

zdroj energie, věnuje se anaerobní digesci velká pozornost jako technologie nejen pro zpracování organických odpadů, ale také pro přeměnu biomasy na energii. Anaerobní trávení je technologicky jednoduché, dokáže přeměnit organické materiály (cukry, bílkoviny, lipidy, xenobiotika atd.) z široké škály organických odpadů včetně odpadních vod, pevných odpadů a biomasy na metan. Odpad z jatek je ideálním substrátem pro anaerobní digesci a lze dosáhnout eliminace více než 90 % chemické spotřeby kyslíku. Lipidy představují důležitou část organické náplně v odpadech z jatek [23,24,26].

Kompostování je oblíbená metoda stabilizace odpadních pevných látek ze zpracování masa. V procesu kompostování bakterie a houby oxidují biologicky odbouratelné sloučeniny, jako jsou tuky a bílkoviny a oxid uhličitý, čímž zanechávají stabilní organický zbytek ve formě kompostu. Proces urychlují vysoké teploty a vlhké aerobní podmínky v kompostovací hmotě. Vysoké teploty, které se pohybují od 50 °C do 80 °C, dosažitelné během kompostování, zabíjejí patogeny a pomáhají zajistit bezpečný produkt. Kompostování k vytvoření vyžralého produktu vyžaduje několik týdnů nebo měsíců v závislosti na použitém procesu. Z kompostu z odpadu při zpracování masa lze vyrobit různé produkty, od základního půdního substrátu až po vysoce kvalitní substrát [22,26,27].

Výroba kolagenu, hydrolyzátu a želatiny. Kolagen z odpadů je stále více zajímavý kvůli svému množství v mnoha vedlejších produktech. Namísto výroby krmiva pro domácí zvířata s využitím těchto odpadů je zajímavé přeměnit je na krmivo s vysokým obsahem bílkovin pro lidskou spotřebu. Kůže savců, kosti, pojivová tkáň a rybí kosti, ploutve a šupiny jako hlavní složky vedlejších produktů živočišného původu mohou sloužit jako slibné zdroje kolagenu a želatiny. Želatinu lze získat částečnou hydrolýzou kolagenu. V tomto ohledu přeměna kolagenu/želatiny na potravinářské přísady s vysokou přidanou hodnotou, např. kolagenové hydrolyzáty nebo peptidy s potenciálními bioaktivitami složkami, si získaly velkou pozornost [28].

2 KOLAGEN A ŽELATINA

2.1 Kolagen

2.1.1 Složení kolagenu

Skládá se z 20 aminokyselin. Z devíti aminokyselin esenciálních pro lidský organismus je přítomno velmi málo methioninu a zcela chybí tryptofan. Není to jednotná látka, ale spíše rodina proteinů. K dnešnímu dni je známo 28 typů kolagenu. Kolagen typu I je nejvíce rozsáhlý kolagen, který se nachází v kostech, šlachách, kůži, vazech, rohovce, plicích, cévách a v mnoha dalších tkáních kromě hyalinní chrupavky a mozkového sklivce. Kolagen typu II je převládající složkou hyalinní chrupavky a nachází se také ve sklivci, rohovkovém epitelu a meziobratlových ploténkách. Kolagen typu III je přítomen v relativně elastických tkáních, jako je embryonální kůže, plíce a krevní cévy, a je široce rozšířen ve tkáních obsahujících kolagen I kromě kostí. Je také důležitou složkou ve tkáních plic, jater, sleziny, cév atd. Kolagen typu V se nachází ve spojení s kolagenem typu I v malých množstvích v kostích matrix, játrech, plicích a placentě. Také se nachází ve zvláště vysokých množstvích v rohovce. Kolagen typu XI se nachází v malých množstvích v kloubní chrupavce ve spojení s kolagenem II. Tyto klasické fibrilární kolageny mají dlouhé nepřerušené působíště, kterým je trojitá šroubovice. Vzhledem k tomu, že tyto kolagenové fibrily jsou přítomny téměř všude v lidských tkáních, vyžadují různé genové produkty kolagenu, které vedou ke kvalitativně odlišným fibrilárním formám, což má za následek různé vlastnosti. Ačkoli všechny kolagenové fibrilové struktury obsahují 300 nm trojšroubovicovou strukturu, vyskytují se určité odchylky ve velikosti a složitosti konců molekuly a interakci mezi kolageny ovlivňují mechanické vlastnosti [29,30,32].

2.1.2 Aplikace kolagenu

Kolageny mají obrovské průmyslové využití, z nichž převážná část je v biomedicíně, potravinářském a kosmetickém průmyslu. Kolagen byl považován za vynikající biomateriál pro vývoj obvazových systémů na rány a pro vývoj konstrukcí ve tkáňovém inženýrství díky své výjimečné biokompatibilitě a nízké antigenní schopnosti.

Kolagen lze použít jako potravinářskou přísadu ke zlepšení kvality potravin při zpracování. Kolageny se používají jako potravinářská aditiva pro zlepšení reologických vlastností uzenin nebo jako zajištění dostatečného množství živit v krmivech pro zvířata. Maso obsahující kolagen také zlepšuje technologické vlastnosti a kvalitu produktů. Tepelně stabilní

kolagenová vlákna mohou být přirozenou alternativou místo syntetických emulgátorů v kyselých potravinách a nápojích. Dále se v potravinářství používají k potahování produktů kolagenními filmy jako membrána proti kyslíku, vlhkosti, čímž poskytují strukturální celistvost a delší trvanlivost. Kolagen je také používám pro výrobu střívek na klobásy a jiné pochutiny [32,34].

Kolagen v kosmetických aplikacích. Kolagen představuje jednu z hlavních složek kosmetických přípravků pro své hydratační, regenerační a filmotvorné vlastnosti. Výborná schopnost vázat vodu pomáhá udržovat správný obsah vody v pokožce během dne. Pokožka je zvlhčená a zjemněná. Kromě toho, že je kolagen přírodní zvlhčovač, jeho filmotvorné vlastnosti snižují transepidermální ztrátu vody. Výzkumy prokázaly, že kolagen urychluje hojení ran a napomáhá regeneraci tkáně. Proto je kolagen široce používán v kosmetické oblasti. Lze jej použít jak k péči o pleť, tak i na vlasy. Kolagen je také hlavní složkou několika hydrogelů, které lze použít jako takzvanou „masku krásy“. Tento druh kosmetiky by měl obnovit pružnost pokožky a podporovat účinek proti stárnutí [30,35].

Kolagen v biomedicíně je hojně užíván v léčbě infekce tkání, jako je například infekce rohovky, rakovina jater či jako nosič léčivých látek například antibiotik. V tkáňovém inženýrství se využívá kolagenových scaffoldů jako matrice pro dočasnou mechanickou oporu pro migraci kostních buněk a diferenciaci do skeletu, čímž je podporována osteointegrace s hostitelskou tkání. Kolagen je proto výborným materiálem, jelikož je biokompatibilní a biologicky odbouratelný. Je široce využíván při dodávání léků díky své dostupnosti, biokompatibilitě a biodegradabilitě. Bohaté zdroje extrahovaného živočišného kolagenu byly úspěšně formulovány do mnoha materiálů pro aplikace léků, včetně mikročástic, povlaků, filmů, hydrogelů, pelet a houbiček. Některé příklady běžně používaných aplikačních nositelů na bázi kolagenu zahrnují kapsle vyrobené z želatiny, injektovatelné hydrogely naplněné růstovým faktorem, kolagenové houbičky na popáleniny a chronické rány, rohovkové štíty, formulace nanočástic pro dodávání genů a antibiotické obvazy. Léčebná činidla, která jsou dodávána, se pohybují od malých chemických molekul přes DNA, proteiny, a dokonce i buňky. Většina současných aplikací využívá kolagen jako transportní prostředek nebo biomateriál a využívá jeho strukturálních vlastností. Kromě toho může být kolagen atraktivním místem pro cílení léků, protože je s ním nadměrně experimentováno při běžných chorobných procesech, jako je fibróza plic a jater, sklerodermie a lupenky [30,35,36,37].

2.2 Želatina

Želatina je přírodní polymer, který je vyroben z částečně hydrolyzovaného kolagenu. V průmyslu je z 85 % zastoupena výroba z vepřových a hovězích kůží, kostí a vazovic. Je považována za speciální a jedinečný hydrokoloid, který plní mnoho funkcí a má velmi širokou škálu aplikací. Želatina je lehce stravitelná čistá bílkovina, jenž se skládá z 18 aminokyselin. Největší zastoupení v želatíně mají aminokyseliny Glycin, Prolin a Hydroxyprolin, ostatní aminokyseliny jako je kyselina glutamová a asparagová, alanin, arginin, lysin, serin, leucin, valin, fenylalanin, threonin, isoleucin, histidin, hydroxylysin, methionin a thyrosin jsou v želatíně v menším množství. Kromě tryptofanu obsahuje želatina všechny esenciální aminokyseliny [38].

2.2.1 Vlastnosti želatiny

Jednou z nejzajímavějších vlastností želatiny je schopnost tvořit gel. Několikaprocentní roztok želatiny ve vodě vytváří při teplotách pod 35 °C průhledný elastický gel, který způsobuje uspořádání nativního kolagenu tvořícího síť kolagenových vláken schopných zabudovat do své struktury velké množství vody. Fyzikálně-chemické vlastnosti želatiny mohou být ovlivněny mnoha faktory, včetně typu tkáně, věku a druhu zvířete, použité metody předúpravy a podmínek extrakce. Pevnost želatinového gelu, reologické vlastnosti, tepelná stabilita a konečná aplikace souvisí se složením aminokyselin, mikromorfologií a nanostrukturou. Základními fyzikálními vlastnostmi želatiny jsou průsvitnost, bezbarvost, křehkost, neutrální chuť a zápach. Tato vlastnost činí želatinu jedinečnou, pokud jde o její sensorické aspekty. Transformace mezi roztokem a gelem je termo reverzibilní a želatinový gel má jedinečnou schopnost rozpouštět se v ústní dutině [39,40]

2.2.2 Výroba želatiny

Želatinu je možno vyrobit třemi způsoby. Prvním způsobem je **kyselá** předúprava. Druhým způsobem **zásaditá** předúprava. Třetím způsobem je **enzymatické** opracování.

Kyselá předúprava se provádí při pH mezi hodnotami 1,5-3,0. Nakrájené kůže se namočí na 18–30 hodin do kyselého roztoku v závislosti na tloušťce a velikosti suroviny. Tímto způsobem se vyrábí želatiny Typu A, která má izoelektrický bod při pH 6 až 9. tento typ předúpravy se nejčastěji používá pro méně kovalentně zesítený kolagen nacházející se v kůži prasat a ve vepřových a hovězích kostech [41].

Zásaditá předúprava se provádí při pH mezi 12–13. Nakrájené kůže jsou proprány a namáčeny ve vápenném mléce 2–4 měsíce při teplotě pod 24 °C. Tento proces obnáší zničení rohovinové vrstvy, které by mohly ovlivnit následnou výrobu želatiny a musí také dojít ke zmýdelnění tuků. Díky vysokému pH dochází k likvidaci mikroorganismů a ke konzervaci suroviny. Typ B je alkalická želatina, která má izoelektrický bod při pH 5 a lze ji aplikovat na složitější kolagen nacházející se v hovězí kůži [41].

Enzymatické opracování Využití enzymů při výrobě želatiny ze surovin obsahujících kolagen je jednou z nadějných cest ke zlepšení technologického procesu. Enzymy mají díky své specifčnosti cílené účinky na určité vazby v molekule kolagenu a pomáhají zvýšit rychlost opracování. Nejrozšířenější jsou komerční proteázy z rostlinných zdrojů jako je papain a proteázy z živočišného původu jako je pepsin a trypsin. Také se používají enzymy mikrobiálního původu, které mají oproti enzymům živočišného či rostlinného původu vyšší úroveň katalytické aktivity širší pracovní rozsah pH a teploty, při kterých zůstává enzym stabilní. Nepředstavuje riziko pro životní prostředí, jelikož enzymy neobsahují žádné toxické látky. Díky enzymatickému opracování dochází ke zkrácení doby předúpravy přibližně na jeden den oproti alkalickému způsobu, který může trvat až několik měsíců. Na rozdíl od alkalického způsobu nepotřebuje enzymatická předúprava žádnou úpravu vodného roztoku. Obecně se tedy želatina vyrábí pomocí alkalické, kyselé nebo enzymatické předúpravy suroviny s následnou extrakcí ve vodě při teplotách od 50 °C do 100 °C. Zvýšení teploty extrakce a prodloužení doby extrakce během procesu výroby želatiny obecně vede ke zvýšení výtěžku procesu, doprovázenému zhoršením želírovacích vlastností. Proto by měly být podmínky extrakce, jako je teplota a čas, optimalizovány, aby se dosáhlo jak vysokého výtěžku procesu, tak kvality želatiny [37,40,42].

2.2.3 Alternativní zdroje k výrobě želatiny

Již od 80. let 20. století je snahou nalézt alternativní zdroje k výrobě želatiny. První důvodem bylo propuknutí bovinní spongiformní encefalopatie tedy nemoci šílených krav. Další důvody pro hledání alternativních zdrojů jsou problémy vznikající a lukrativních vegetariánských, halal a košer trhů. Želatiny byla v posledních letech velkým problémem kvůli vznikajícím a lukrativním vegetariánským, halal a košer trhům [37].

Kuřecí vedlejší produkty. Kuřecí hlavy, které obsahují kůži, hřeben, proutí, chrupavky a kosti, mají vysoký obsah kolagenu. Na rozdíl od jiných vedlejších produktů z drůbeže, jako jsou kuřecí nohy a kuřecí kůže, nejsou kuřecí hlavy žádanou surovinou pro jiné

potravinářské aplikace. Drůbežářský průmysl často vyhazuje kuřecí hlavy nebo je přeměňuje na krmivo. Kuřecí kůže je hlavním zdrojem zbytků vedlejších produktů ze zpracování drůbeže, s obecně silnější gelovou pevností a vyšší tepelnou stabilitou než hovězí želatina, což z ní činí dobrou potenciální náhradu za želatinu na bázi savců [43].

Želatina z ryb. Odpad ze zpracování ryb po filetování může tvořit až 75 % celkové hmotnosti úlovku. Asi 30 % takového odpadu tvoří kůže a kosti s vysokým obsahem kolagenu, který lze použít k výrobě rybí želatiny. Extrakce želatiny byla hlášena u tresky obecné, štikozubce, hrudkovité, megrim a tilapie. Výtěžnost a kvalita želatiny je ovlivněna nejen druhem nebo tkání, ze které je extrahována, ale také extrakčním procesem, který může záviset na pH, teplotě a době jak při předúpravě, tak při extrakci [43].

Hmyzí želatina může poskytnout alternativní zdroj, který je přijatelný pro produkty muslimů. V Súdánu je konzumováno velké množství hmyzu zejména saranče pouštní, které jsou v mnoha částech země považovány za nejslavnější vedle *Aspongopus viduatus* (Ploštice melonová) a *Agonoscelis pubescens* (ploštice široková). V některých oblastech Súdánu byly sesbírání brouci extrahovány a získaný olej byl použit k vaření a některým léčebným účelům. Bílkoviny těchto brouků obsahovaly 16 známých aminokyselin, včetně všech esenciálních aminokyselin. Ve srovnání s aminokyselinovým profilem doporučeným FAO/WHO byla hmyzí bílkovina střední kvality díky obsahu esenciálních aminokyselin. K extrakci želatiny z *Aspongopus viduatus* (Ploštice melonová) a *Agonoscelis pubescens* (Ploštice široková) byly použity tři různé metody extrakce, metoda extrakce mírnou kyselinou a destilovanou vodou, metoda extrakce destilovanou vodou a extrakce horkou vodou. Nejvyšší výsledky pevnosti gelu byly extrakcí želatiny horkou vodou, kdy pevnost želatinového gelu z *A. viduatus* poskytl vysoký výtěžek 293 Bloom následovaný *A. pubescens*, 263 Bloom [43,44].

Dalším alternativní zdrojem želatiny je **velbloudí kůže**. Želatina z velbloudí kůže byla vyrobena zásaditým způsobem a poté byla testována. Pevnost gelu této želatiny odpovídala 340 Bloom, což je podobná hodnota jako u želatin z vepřových kůží [45].

Mimo výše zmíněné alternativní zdroje pro výrobu želatiny mají vysoký obsah kolagenu také vedlejší produkty z jatek skotu domácího. K tomuto zdroji však prozatím neexistuje žádná studie zabývající se pojivovými tkáněmi z hovězích produktů. Proto cílem této práce bylo ověřit možnost výroby kolagenu a následné extrakce želatiny z hovězí klišky.

2.2.4 Aplikace želatiny

Želatina je důležitý materiál, který našel uplatnění v různých průmyslových odvětvích. Je možná jednou z nejuniverzálnějších přísad. Používá se v potravinářském průmyslu k ovlivnění texturních vlastností produktu. Želatinové gely, které obsahují nízkou koncentraci želatiny, jsou používány k přípravě filmů či povlaků díky svým funkčním a reologickým vlastnostem. Želatinové gely s vysokou koncentrací želatiny se používají v tkáňovém a materiálovém inženýrství díky jejich vysokým mechanickým vlastnostem. Želatina je vysoce stravitelná s nízkým obsahem kalorií, proto se výborně hodí k doplnění bílkovin v kulturistice, nebo ke snížení sacharidů při léčbě cukrovky či jako lékové a genové transportní systémy [37,43].

Potravinářský průmysl. Želatina je jedinečným želírujícím činidlem. Používá se nejen pro svou termoreverzibilní želatinaci, ale také jako pěnotvorné a emulzifikační vlastnosti a jako stabilizátor. Je také schopná řídit krystalizaci. Tyto vlastnosti jsou používány v cukrárenském průmyslu při výrobě extrudovaných, lisovaných či rekrystalizovaných marshmallows, náplní do oplatek, žvýkaček a nugátů. Při výrobě marshmallows snižuje povrchové napětí cukrové hmoty a tím usnadňuje tvorbu a stabilizaci pěny. Měkké karamelové žvýkačky, nugát, a karamelové náplně v bonbonech jsou vyrobeny z emulgovaného tuku v roztoku cukru. Želatina se v tomto případě používá ke snížení viskozity a ke zlepšení žvýkatelnosti bonbonů, ke kontrole rekrystalizace a ke zlepšení emulzifikace a pěnotvornosti. Koncentrace želatiny pro takové použití se udává v rozmezí 0,5-2,5 %. Želatina se také využívá v tenkých filmech jako předúprava, či adhezivní vrstva pro další vrstva například čokolády. Pro tuto aplikaci se využívá vysoce viskózní želatiny s formotvornými vlastnostmi.

V mléčných výrobcích dochází k procesu, kdy je z kaseinového gelu vytlačena syrovátka v důsledku teplotních výkyvů při skladování nebo následné pasterizace. Želatina snižuje povrchové napětí vodné fáze, nahrazuje emulgátor kasein a funguje také jako stabilizátor, váže syrovátku a vytváří texturu mléčných výrobků jako jsou jogurty, tvarohy, smetanové sýry a další. Ve zmrzlině želatina ovlivňuje velikost a distribuci ledových krystalů, které se zde tvoří. Pro stabilizaci pěny v nadýchaných dezertech se používá želatina s vysokou pevností gelu, nejčastěji želatina typu A, a s velmi dobrou pěnotvorností. Koncentrace želatiny bývá od 0,3 % do 1,0 %. Používá se také ke stabilizaci smetany. K tomuto účelu je používána želatina se střední pevností gelu v koncentraci 0,3-0,5 %. Díky tomu lze našlehat smetanu s 20 % tuku stejně dobře jako 30% smetanu. Želatina se také využívá k

výrobě nízkotučných mléčných výrobků. Je nutné při výrobě nízkotučných výrobků snížit obsah tuku, který je nahrazen vodou. Želatina tedy slouží k navázání vody. Želatina je však tukový emulgátor, což také zlepšuje konzistenci a zvýrazňuje strukturu. Zlepšuje také roztíratelnost sendvičových pomazánek. Koncentrace a síla gelu želatiny určují také kvalitu konečného produktu. Tyto parametry se mohou pohybovat v rozmezí 100–280 Bloom a 0,1–5 % hmotnosti.

Farmaceutický průmysl. Pro farmaceutické aplikace je želatina využívána zejména pro své technologické a biofarmaceutické vlastnosti. Je používána jako zahušťovadlo v kapalných lékových formách, pro zvýšení přilnavosti a viskozity potahovaných tablet a gelotvorná složka v zubním lékařství. Velmi často se také používá v lékařských aplikacích díky její fyziologické kompatibilitě. Také se používá v urgentní medicíně jako náhrada krevní plazmy a při velkých operacích. Želatina se využívá také k mikroenkapsulaci vitamínů A, D a E.

Tvrdé želatinové kapsle se skládají ze dvou válcovitých částí na jednom konci uzavřených. Tyto části do sebe zapadají a vytváří tak hermetický uzavřenou tobolku. Výroba kapsle spočívá v namáčení 28-35 % roztoku želatiny na kovové hroty, kde se vytvoří tenký želatinový film, který se po vytažení z roztoku vysuší. Po vysušení jsou kapsle seříznuty na požadovanou velikost a obě části jdou spojeny tzv. „pre lockem“ dočasným uzavřením. Tyto kapsle není nutné plnit ihned.

Měkké želatinové kapsle jsou zcela uzavřené tobolky. Mohou být bezešvé či opatřeny podélným švem. Jsou vyrobeny a naplněny zejména kapalinami či pastami v jednom kroku. Označení měkké tobolky znamená, že obal kromě želatiny obsahuje také změkčovadlo. Jako změkčovadlo se používá zejména Glycerol, Sorbitol či jejich kombinace. Je však nutné, aby nedocházelo k interakci mezi účinnými látkami a změkčovadlem.

Želatina se používá mimo jiné jako lepidlo při implantaci v mikrochirurgii či k léčbě neprůchodnosti střev. Dále se používají ve stomatologických aplikacích želatinové houby jako hemostatická činidla, jelikož mohou absorbovat až 50násobek své hmotnosti. Houby jsou poté tělem zcela absorbovány.

Fotografie a tisk. Jelikož jsou želatinové roztoky transparentní a bezbarvé, skvěle se hodí pro fotografické aplikace. Působí jako pojivo a brání koagulaci světlo citlivých halogenů stříbra. Mimo jiné je důležitou složkou pro stabilizaci emulzí voda/olej a barevných činidel pro obrazotvorné vrstvy v barevné fotografii. Stejně důležitou schopností je kontrolované

bobtnání želatiny, a tím možné reprodukovatelné vyvolávání fotografií. Pro fotografie je vhodná želatina s pevností gelu 260-280 Bloom a standardní viskozitu vyšší než 5 mPa·s.

Kosmetický průmysl. V kosmetickém průmyslu je želatina využívána k pasivní korekcím barev a k aktivní ochraně a výživě pokožky a vlasů. Užívá se taktéž k orálním aplikacím, jelikož strava obsahující želatinu zlepšuje strukturu a vzhled nehtů, vlasů a pokožky. Zlepšuje schopnost pokožky vázat vlhkost. Ve srovnání s nativním rozpustným kolagenem, hydrolyzáty želatiny jsou polypeptidy s krátkým řetězcem, které v závislosti na použitém způsobu výroby mohou mít různé molekulové hmotnosti. Bylo vědecky prokázáno, že když jsou hydrolyzáty želatiny aplikovány na pokožku, vnější vrstva pokožky pojme více vlhkosti a je schopna ji lépe vázat. Želatinové hydrolyzáty nejsou široce používány pouze v kosmetických a dermatologických přípravcích pro své přímé účinky na pokožku a vlasy. Používají se zejména v přípravcích na čištění pokožky a vlasů jako ochranné koloidy ke zlepšení snášenlivosti povrchově aktivních látek [31].

Technické aplikace. Technická želatina nemusí splňovat přísné regulační požadavky jako želatina farmaceutická, potravinářská či kosmetická. Využívá se k výrobě různých druhů lepidel jako jsou nehořlavá lepidla, pěnová lepidla či pevná lepidla. V obuvnictví se například využívají želatinové válečky k nanášení lepidel. Podobné válečky se využívají k nanášení tiskařských barev na bázi organických rozpouštědel, jelikož želatina dobře odolává agresivním rozpouštědlům. Uplatňuje se také při výrobě hlavičky zápalek, kdy se dřívko od zápalky namočí do chemické směsi s napěněnou želatinou a sušením se pak vytvoří charakteristika zápalka.

Želatina je taktéž vhodná pro oddálení tuhnutí a tvrdnutí sádry, kdy se absorbuje na povrch krystalů a mění jejich velikost a tvar a tím zlepšuje i lesk povrchu při sušení. Technická želatina reguluje viskozitu nízkoteplotních směsí cementu a sádry

Dalším technickým uplatněním želatiny je zpracování papíru a lepenky. Želatina se používá jako lepidlo při restaurování knih, opravě prasklin papíru nebo přelepování. K opravě historických textů, pergamenu a obrazů. Mimo jiné je využívána jako ochranný potah proti korozím. Tvoří ochranný plášť kolem kovu a snižuje stupeň oxidace. Jelikož je šetrná vůči životnímu prostředí, často je používána při geotermálním vrtání [31,44,46].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

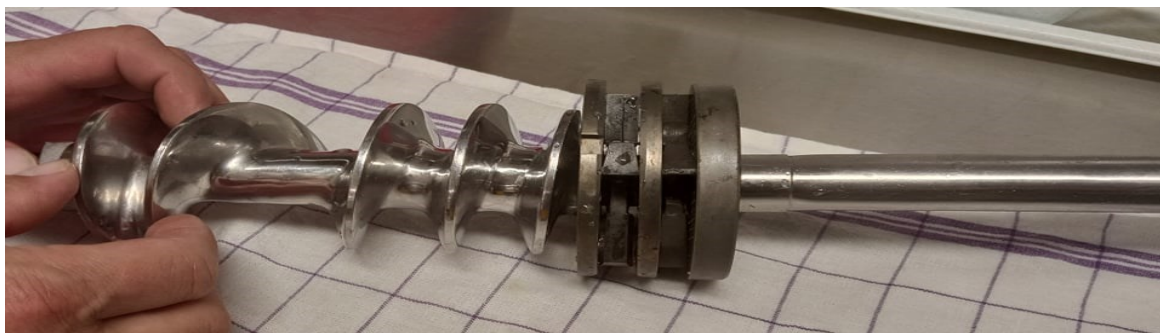
3 ZHODNOCENÍ LITERÁRNÍ STUDIE A CÍLE PRÁCE

Literární studie byla zaměřena na produkci hovězího dobytka ve světě a v České republice a na jeho produkci jatečného vedlejšího odpadu. Dle konceptu cirkulární ekonomiky, je snaha využít co nejvíce částí těla poraženého zvířete. Většina jatečného odpadu je spalováno v kafileriiích, ačkoliv obsahuje velké množství kolagenních tkání, které by se dále využily k přípravě kolagenu. Doposud není známa literární studie zabývající se hovězím masem jako vedlejším živočišným produktem. Konkrétně hovězí kliška obsahuje nejvíce pojivových tkání, jelikož je nejvíce zatěžovanou částí těla zvířete. Byl kladen důraz na možné využití těchto kolagenních tkání pro výrobu želatiny a na její další aplikace s ohledem na výsledné vlastnosti. Cílem experimentální práce bylo posoudit možnosti extrakce kvalitních želatin z kolagenních separátů hovězí klišky. Vstupní surovina byla přečištěna od doprovodných nekolagenních složek a tuku, následně zpracována podmínkami podobnými v průmyslové výrobě želatin. Byly studovány podmínky kondicionování suroviny jako je množství enzymu, doba a teplota kondicionování a byla navržena jejich případná optimalizace. K plánování a vyhodnocování experimentů byla využita metoda faktorových pokusů 2 úrovnový faktorový design tedy tři faktory na dvou úrovních s jedním středovým experimentem. Dále byly prováděny charakterizace želatin a navržení jejich aplikací.

4 MATERIÁLY A METODY PRÁCE

4.1 Příprava suroviny

Surová hovězí kližka byla rozemleta v mlýnu na maso se separační hlavou viz Obrázek 3, která zároveň částečně oddělila kolagenní tkáň od masné složky. Tento mlýnek se skládá ze šneku, dvou kotoučů s ledvinovými průřezy, které byly odděleny nerezovým nožem, dalšího nerezového nože a v neposlední řadě průtlačný kotouč o velikosti oka 3 mm. Uprostřed kotoučů však nebyl trn jako tomu bývá u klasického mlýnku na maso, avšak nacházel se tam další menší šnek, který vytlačel kolagenní tkáň separovanou ledvinovými kotouči viz Obrázek 5. Kolagenní tkáň byla rozemleta na velikost částic cca 3 mm a byla taktéž zhomogenizovaná. Dále se separovaná kolagenní tkáň rozdělila a po 1 kg se rozdělila do vakuových sáčků, byla za vakuována a pote zmrazena.



Obrázek 3 Separční hlava do mlýnu na maso z profilu



Obrázek 5 Mlýn na maso vytlačující masnou složku kolem trubky s kolagenní tkání



Obrázek 4 Separční hlava do mlýnu ze předu

Materiál byl den před zahájením měření vytažen z mrazáku a nechán pozvolna rozmrazován po dobu 24 hodin v lednici. Dále se udělaly analýzy vstupní suroviny. Hodnoty ze vstupní analýzy můžeme vidět v Tabulce 3.

Tabulka 3 Výsledky analýzy vstupní analýzy

Obsah sušiny [%]	Obsah popela* [%]	Obsah tuku* [%]	Obsah čistých bílkovin* [%]	Obsah dusíku* [%]
27,2	2,89	7,21	89,79	14,37

*přepočteno na sušinu

4.2 Laboratorní pomůcky, chemikálie a přístroje

Použité přístroje – Termostat oběhový C10-P5U, sušárna Venticell, mraznička Zanussi, chladnička Elektrolux, Spektrofotometr Helios, Odstředivka Hettich EBA 20 včetně rotoru, Termostat BSK ET618, Laboratorní třepačka LT3, Sestava vařiče a magnetického míchadla IKA C-MAG HS7, digitální třepačka IKA-HS 501, míchačka magnetická 2002 LED IDL, laboratorní váha ,pH metr WTW 526, Topné hnízdo LTHS 250, mixér Tefal BL435831, Analyzátor LFRA Texture 1000, Sušárna Binder E28-TB1, Sušárna Memmert ULP 400, Topná deska CERAN 93020, Mlýnek Braher P22/82 meat mincer, Homogenizátor IKA T 25 digital Ultra-Turrax (IKA-Werke Ltd., Staufen im Breisgau, Ger-many) Muflová pec Labotherm L9/11, váha analytická Kern 250-4A, analytická váha 770-14, plynový kahan, exikátor.

Chemikálie-enzym Protamex [příloha], destilovaná voda, petrolether/ethanol, ethanol, chloroform, 0,2 M NaCl, 0,03 M NaOH, koncentrovaná H₂SO₄, směsný katalyzátor, 2 % roztok H₃BO₃, 30 % roztok NaOH, Tashirův indikátor, 0,02 M H₂SO₄, sójový olej.

Laboratorní sklo a pomůcky - Kuchyňská síta, plastová nádoba o objemu 10 l, plechy, kádinky 10 – 800 ml, odměrné válce 10 ml – 1 l, pipety 5 – 50 ,l, váženky, destilační aparatura, Soxhletova aparatura, destilační přístroj na stanovení dusíku podle Parnase-Wagnera, Ubbelohdeho viskozimetr, Petriho misky, filtrační papíry, nálevky, násypky, polyamidová tkanina, koželužské misky s víčky, skleněné tyčinky, kovové lžičky, pinzety, sirky, Erlenmayerovy baňky, navažovací lodičky, krystalizační misky, Skleněné a plastové zkumavky o průměru 1 cm, žíhací kelímek, Pasteurovy pipety, triangl na žíhací kelímek, lopatky, laboratorní třínožka, sítky na kahan, laboratorní stojany, držáky a kleště, zátky, pipetovací balónky, stopky.

4.3 Faktorové plánování experimentů

Účelem faktorového plánování experimentů je stanovení, který z vlivů má největší význam v působení na daný experiment. Experimenty jsou uspořádány tak, že se sleduje více faktorů působících na výsledek pokusu a provádí se pokusy pro všechny možné varianty kombinací. Pro přehlednost se nejčastěji volí experimenty s faktory o dvou úrovních tedy experimenty 2^n , kde n je počet faktorů. Úplné faktorové experimenty jsou ty, u kterých byla provedena celá škála kombinací. V této diplomové práci se budeme zabývat faktorovým plánováním experimentů na 2 úrovních se 3 faktory + 1 středový, tedy 2^3+1 [47,48].

Tabulka 4 Schéma experimentů faktorového plánování

Experiment č.	Faktor A Množství enzymu [%]	Faktor B Doba kondicionování [h]	Faktor C Teplota kondicionování [°C]
1	0,2	24	6
2	0,2	24	18
3	0,2	72	6
4	0,2	72	18
5	0,4	24	6
6	0,4	24	18
7	0,4	72	6
8	0,4	72	18
9	0,3	48	12
10	0	48	12

Dle hypotézy množství enzymu, doba kondicionování a teplota kondicionování mohou mít významný vliv na extrakci želatinových gelů jak z kvantitativního, tak z kvalitativního hlediska.

4.4 Analýza produktů a vstupních surovin

Stanovení obsahu sušiny – Obsah sušiny byl stanoven u vstupní suroviny. Do koželužské misky bylo naváženo 20 g suroviny. Misky se vzorkem se poté umístily do předem vyhřáté sušárny na teplotu 103 °C, kde se nechaly sušit po dobu 2,5 hodin. Po uplynutí této doby se misky vložily do exikátoru, kde se nechaly ochladit na laboratorní teplotu. Po vyrovnání teplot se misky se vzorkem zvažily hodnoty se zaznamenaly. Poté se misky se vzorkem opět vrátily do sušárny. Tento proces se opakoval dále jen po 20minutových intervalech, dokud nebyly hodnoty konstantní.

Obsah sušiny v % se pak vypočetl podle vzorce:

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

Sobsah sušiny [%]

m_0 hmotnost vzorku před vysušením [g]

mhmotnost vzorku po vysušení [g]

Stanovení popelovin – Stanovení obsahu popelovin se provádělo u sušiny ze vstupní suroviny a také u 2. frakce experimentu č. 1 a č.8. Žihací kelímek byl nejprve vyžihán bez přídavku vzorku v Muflové peci při teplotě 650 °C po dobu 1 hodiny. Poté byl kelímek z pece vytažen na keramickou destičku, kde byl schlazen a poté byl přesunut do exikátoru. Zde byl ponechán, aby se snížila jeho teplota na teplotu laboratorní. Poté do něj byl navážen 1 g daného vzorku. Kelímek se vzorkem byl dále žihán nad kahanem, cca 45 minut a poté byl vložen do vyhřáté Muflové pece na 650 °C. Po hodině byl kelímek se vzorkem vytažen na keramickou destičku, poté do exikátoru, zvážen a hodnota hmotnosti popela byla zaznamenána. Tento proces se opakoval dále již jen po 20minutových intervalech, dokud nebyla hmotnost popela konstantní.

Obsah popela v % se pak vypočetl dle vzorce:

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

Pobsah popela [%]

m_0 hmotnost navážky vzorku [g]

mhmotnost zpopelněného vzorku [g]

Stanovení tuku – Obsah tuku byl stanoven ze sušiny vstupní suroviny. Destilace byla provedena ve dvou dnech, kdy první den se použilo jako rozpouštědlo chloroform a druhý den se použil ethanol. Destilační baňka o objemu 250 ml byla zvážena spolu s varnými kamínky a bylo přidáno 150 ml chloroformu. Do extrakční patry bylo naváženo 5 g vzorku a patrona byla utěsněna vatou. Tato patrona byla poté vložena do extrakční aparatury. Extrahování tuku chloroformem probíhalo 8 hodin, poté bylo čisté rozpouštědlo předestilováno a baňka s extrahovaným tukem zazátkována. Druhý den se do destilační baňky s tukem přidalo 150 ml ethanolu a opět se zpusťilo extrahování tuku na dobu 7 hodin. Následně se oddestilovalo čisté rozpouštědlo a destilační baňka s tukem se umístila do sušárny vyhřáté na teplotu 103 °C, kde se odpařil zbytek rozpouštědla. Poté se baňka umístila do exikátoru a po ochlazení se zvážila.

Výsledné množství tuku bylo přepočteno na procentuální obsah tuku ve vstupní surovině dle vzorce:

$$T = \frac{m}{m_0} \cdot 100 [\%]$$

Tobsah tuku [%]

m_0 hmotnost navážky vzorku [g]

mhmotnost vzorku po extrakci [g]

Stanovení celkového obsahu dusíku a čistých bílkovin – Obsah dusíku se stanovil metodou podle Kjeldahla. Do mineralizační baňky byl navážen 1 g vzorku sušiny ze vstupní suroviny a bylo přidáno 12 ml koncentrované H_2SO_4 společně se směsným katalyzátorem. Mineralizační baňka se směsí byla vložena do mineralizační aparatury vyhřáté na 450 °C. Mineralizace probíhala do vyčerení kapaliny. Ke zkrácení doby mineralizace byl použit 33 % peroxid vodíku. Obsah mineralizační baňky byl poté smíchán s destilovanou vodou v odměrné 100 ml baňce po rysku a byl tak vyroben mineralizát. Do předlohy předem vyhřátého Parnas-Wagnerova přístroje byl vlit 2 % roztok H_3BO_3 , mineralizát byl vlit do nálevky a následoval ho 30 % roztok NaOH. Docházelo k destilaci amoniaku vodní parou do předlohy. Po skončení destilace byl do předlohy přidán Tashirův indikátor a tato směs byla titrována $0,02 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ roztokem H_2SO_4 do slabě růžové zbarvení [49].

Obsah organického dusíku v % byl vypočten dle vzorce:

$$N = \frac{V_1 \cdot 0,0014 \cdot 100}{n} \cdot \frac{V_2}{V_3} \cdot f \text{ [%]}$$

V_1 objem odměrného roztoku H_2SO_4 spotřebovaný na titraci [ml]

V_2 celkový objem mineralizátu [ml]

V_3 objem mineralizátu pipetovaný na stanovení [ml]

fpřepočítávací faktor odměrného roztoku H_2SO_4 ($c = 0,05 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)

nnavážka vzorku [g]

N.....Obsah organického dusíku [%]

Obsah čistých bílkovin v % byl pak vypočten dle vzorce:

$$B = N \cdot F \text{ [%]}$$

BObsah čistých bílkovin [%]

FUniverzální přepočítávací faktor ($F = 6,25$)

N.....Obsah organického dusíku [%]

Stanovení pevnosti gelu – Podle zvolené metody bylo naváženo dané množství želatiny do stanovené nádoby a bylo přidáno odpovídající množství destilované vody. Želatina poté bobtnala 1 hodinu při laboratorní teplotě. Po uplynutí této doby byla želatina rozpuštěna za stálého míchání při teplotě $\pm 45 \text{ }^\circ\text{C}$ ve vodní lázni. Následně byl želatinový roztok ponechán asi 30 minut při laboratorní teplotě a poté vložen do lednice o teplotě $10 \text{ }^\circ\text{C}$. Pokud se želatinový roztok po 16–18 hodinách přeměnil v želatinový gel bylo provedeno měření na přístroji STEVENS-LFRA texture analyser. Byla zjišťována síla potřebná k penetraci povrchu želatinového gelu sondou do hloubky 4 mm rychlostí 1 mm/s. Naměřená hodnota se udává v jednotkách Bloom či gram.

Tabulka 5 Přepočítávací faktory pro stanovení pevnosti gelu želatinového gelu

Metoda	Navážka želatiny [g]	Navážka vody [g]	Přepočítávací faktor	Nádoba
A	7,5	104,5	1	Standardní nádoba
B	3,0	42,0	1,263	Nádoba o 1/2 objemu
C	1,5	21,0	1,637	Nádoba o 1/4 objemu
D	0,9	13,0	2,530	Nádoba o 1/8 objemu
E	0,7	10,7	2,757	Nádoba o 1/16 objemu

Stanovení viskozity – Byla měřena viskozita želatinového roztoku o koncentraci 6,67 hm.%. Měření bylo provedeno pomocí Ubbelohdeho viskozimetru. Nádoba s želatinovým gelem po měření pevnosti gelu byla rozpuštěna ve vodní lázni při teplotě $\pm 45^\circ\text{C}$. Tento roztok byl poté umístěn do Ubbelohdeho viskozimetru temperovaného v termostatu na teplotu 60°C . Roztok se nechal 5 minut taktéž temperovat na stanovenou teplotu. Po vytemperování se začal měřit průtok 100 ml želatinového roztoku ve viskozimetru a zaznamenávána doba tohoto průtoku [50].

Poté se vypočetla kinematická viskozita dle vztahu:

$$v = K \cdot t - \frac{B}{t} [\text{mm}^2/\text{s}]$$

vkinematická viskozita [mm^2/s]

Kkonstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou (0,5)

t aritmetický průměr změřených průtokových dob [s]

Bkonstanta ke korekci na kinetickou energii určená z rozměrů viskozimetru (2,8)

A zní pak viskozita dynamická dle vztahu:

$$\eta = v \cdot \rho [\text{mPa} \cdot \text{s}]$$

η ... dynamická viskozita [$\text{mPa} \cdot \text{s}$]

v ... kinematická viskozita [mm^2/s]

ρ ... hustota želatinového roztoku ($1,005 \text{ g/cm}^3$)

Stanovení čirosti – Čirost želatinového roztoku byla stanovena na spektrofotometru pro roztok želatiny o koncentraci 6,67 hm.% při teplotě $45\text{--}50^\circ\text{C}$. Vlnová délka pro toto měření byla stanovena na 640 nm a přístroj byl kalibrován na destilovanou vodu. Vzorek želatinového roztoku byl vlit do 1 cm kyvety, vložen do kalibrovaného přístroje s nastavenou vlnovou délkou 640 nm.

Stanovení teploty tání – Po stanovení pevnosti gelu byl do kapiláry o průměru 2–4 mm odebrán želatinový gel o výšce sloupce 0,5 – 1 cm. Výška sloupce se označila fixem, kapilára se uložila do lednice na Petriho misce a nechala se chladit při 5°C . Na topné desce byla nachystána kádinka o objemu 150 ml s magnetickým míchadlem. Do držáku na topné desce se umístila velká skleněná zkumavka a zapustila se do kádinky. Do kádinky

i zkumavky se vlila destilovaná voda. Teplotní čidlo bylo provlečeno kartonovým čtvercem, který představoval držák na kapiláru. Kapilára se umístila do kartonového čtverce a do zkumavky společně s teplotním čidlem. Zpusťilo se zahřívání topné desky na 50 °C a taktéž se uvedlo do pohybu magnetické míchadlo. V moment, kdy dojde k pohybu želatinového sloupce v kapiláře se odečte teplota na teplotním čidle a zaznamená se teplota tání želatinového gelu [51,52].

Stanovení teploty tuhnutí – Želatinový roztok po stanovení viskozity byl umístěn do úzké skleněné zkumavky a umístěn do držáku na topné desce. Na topné desce byla kádinka o objemu 150 ml, do které se následně zkumavka s želatinovým roztokem a teplotním čidlem umístila. Jakmile klesla teplota na teplotním čidle na 30 °C do kádinky, v níž byla ponořena zkumavka, studenou vodu. Ve chvíli, kdy se studená voda dotkla stěn zkumavky, bylo započato měření teploty tuhnutí želatinového gelu. Do želatinového roztoku byly vhažovány kovové kuličky o hmotnosti 0,1 g a v okamžiku, kdy kulička uvízla v želatinovém gelu, byla zaznamenána teplota na teplotním čidle. Tato teplota byla teplota tuhnutí želatinového gelu [53].

Stanovení vodu zadržující kapacity (WHC) - Do plastové zkumavky bylo naváženo 0,5 g vzorku želatiny spolu s 12,5 ml destilované vody. Zazátkovaná zkumavka se důkladně protřepala po dobu 5 minut při teplotě 25 °C. Dále bylo vložena do odstředivky a při 5 000 otáčkách za minutu se nechala odstředit po dobu 30 minut. Po odstředění byl ze zkumavky odpipetován supernatant, který se zvažil a odpočítala se absorbovaná voda [54].

$$WHC = \frac{m}{m_0} \cdot 100 [\%]$$

WHC.....vodu zadržující kapacita [%]

m_0 celková původní hmotnost [g]

m hmotnost absorbované vody [g]

Stanovení tuk vázací kapacity (FBC) - Bylo naváženo 0,1 g vzorku želatiny a 10 g sójového oleje. Zkumavka se zazátkovala, důkladně protřepala a nechala se odstát po dobu 30 minut při teplotě 25 °C. Následně byla odstředěna při 2 500 otáčkách za minutu po dobu 30 minut. Po uplynutí této doby byl odpipetován supernatant, který se dále zvažil a odpočítal se absorbovaný olej [55].

$$FBC = \frac{m}{m_0} \cdot 100 [\%]$$

FBC.....tuk zadržující kapacita [%]

m_0 celková původní hmotnost [g]

m hmotnost absorbovaného oleje [g]

Stanovení pěnotvorné kapacity (FC) a stability pěny (FS) - Do vysoké 50 ml kádinky bylo naváženo 0,5 g vzorku želatiny společně s 25 ml destilované vody. Následně byla kádinka zahřívána ve vodní lázni o teplotě 60 °C za stálého míchání, aby se želatina rozpustila a vytvořila homogenní želatinový roztok. Po rozpouštění byla kádinka s roztokem umístěna do aparatury. Homogenizátor se umístil pod hladinu roztoku a započalo se šlehání při 10 000 otáčkách za minutu po dobu 5 minut. Po ukončení šlehání byl změřen objem v ml a byla vypočtena pěnotvorná kapacita. Roztok se následně nechal odstát po dobu 30 minut a opět se změřil objem v ml. Poté byla vypočtena stabilita pěny [56].

$$FC = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \cdot 100 [\%]$$

$$FS = \frac{V_2 - V_0}{V_0} \cdot 100 [\%]$$

FC.....Pěnotvorná kapacita [%]

FS.....Stabilita pěny [%]

V_0 Původní objem roztoku [ml]

V_1 Celkový objem po našlehání [ml]

V_2 Celkový objem po 30 minutách stání [ml]

Stanovení emulzifikační kapacity (EC) a stability emulze (ES) - Želatina o hmotnosti 0,05 g společně s 5 ml destilované vody byly přidány do plastové zkumavky a důkladně protřepány. Poté se přidal sójový olej o objemu 5 ml, zkumavka se zazátkovala a důkladně protřepala po dobu 1 minuty. Poté byla zkumavka umístěna do odstředivky a po dobu 5 minut byla odstředována při 1 000 otáčkách za minutu. Po odstředění se pravítkem změřila výška emulze a celkového obsahu zkumavky a vypočetla se emulzifikační kapacita. Následně se zkumavka umístila do vodní lázně a při teplotě 55 °C se zde ponechala po dobu 5 minut. Po zahřátí se opět zkumavka odstředila při 2 000 otáčkách za minutu po dobu 5 minut. Posléze se opět pravítkem změřila výška emulze a vypočetla se stabilita emulze [57].

$$EC = \frac{v}{v_0} \cdot 100 [\%]$$

$$ES = \frac{v_2}{v_1} \cdot 100 [\%]$$

EC.....emulzifikační kapacita [%]

ES.....Stabilita emulze [%]

v..... výška emulze [mm]

v₀ výška celkového obsahu [mm]

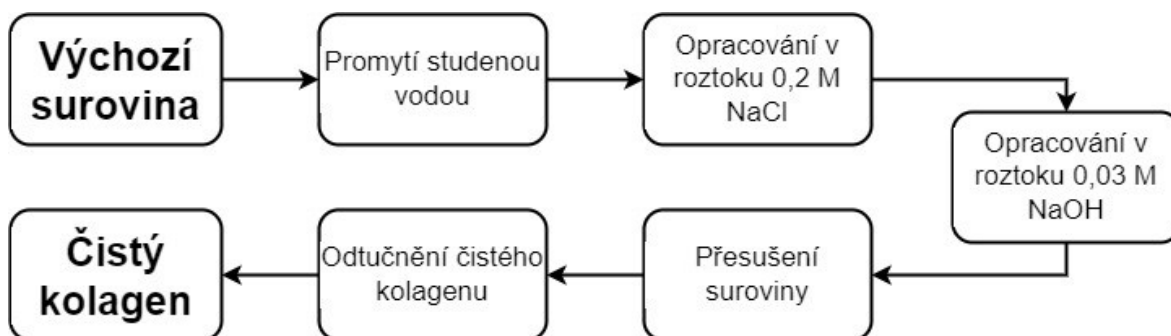
v₁ výška emulze před ohřátí a odstředění [mm]

v₂ výška emulze po ohřátí a odstředění [mm]

5 POSTUP PRÁCE PŘÍPRAVY ŽELATIN

Postup práce se skládá ze dvou částí. První část byla příprava přečištěného kolagenu a z něj pak druhá část příprava hydrolyzátu a želatin.

5.1 Příprava přečištěného kolagenu



Obrázek 6 Schéma přípravy přečištěného kolagenu

Promytí ve studené vodě

Rozmražená surová kolagenní tkáň z hovězí klišky byla vložena do kuchyňského síta a promývána studenou vodou z kohoutku po dobu cca 2 minuty. Poté byla vložena do plastové kýblu se studenou vodou a ponechána ve vodě alespoň 5 minut. Po této době byla opět promyta na kuchyňském sítu studenou vodou po dobu alespoň 2 minut. Tímto procesem se odstranily albuminy

Opracování tkáně v roztoku 0,2 M NaCl

Tkáň se smíchala s 0,2 M roztokem NaCl v poměru 1:6 v plastovém kýblu a s občasným promícháním byla opracovávána po dobu 1,5 hodin při pokojové teplotě v laboratoři. Po uplynutí této doby byla surovina přefiltrována přes síto a opět promývána studenou vodou. Tímto se odstranila část globulinů.

Opracování tkáně v 0,03 M roztoku NaOH

Na opracování chloridem sodným bylo navázáno opracování v 0,03 M roztoku hydroxidu sodného, což mělo za následek odstranění další části globulinů. V tomto procesu byla tkáň vložena opět do plastového kýblu s roztokem 0,03 M NaOH v poměru 1:6 a za občasného míchání byla opracovávána po dobu 45 minut. PO této době se surovina přefiltrovala přes síto, promyla se studenou vodou z kohoutku a smíchala se s čerstvým roztokem 0,03 M NaOH. Celý tento postup se opakoval celkem třikrát. Po posledním cyklu se surovina

přefiltrovala přes síto s jednou vrstvou tkaniny a byla opět promyta studenou vodou nejméně 5 minut.

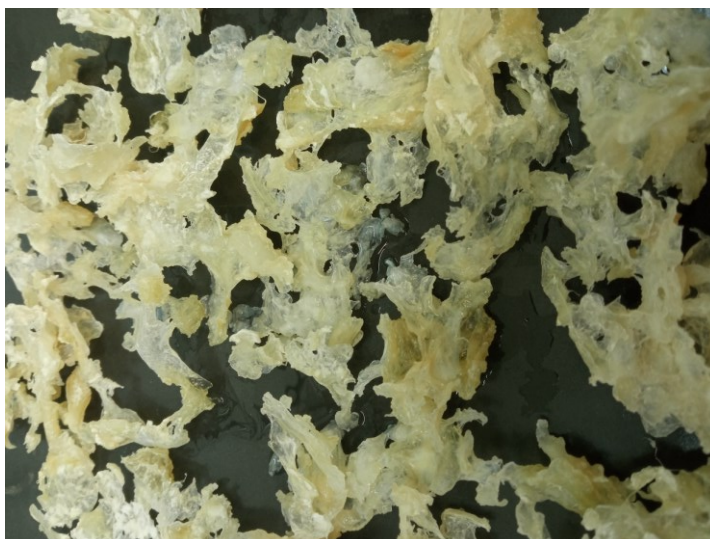
Přesušení suroviny

Surovina se po řádném odstranění albuminů a globulinů umístila do sušárny s cirkulací vzduchu a při teplotě 45 °C byla vysušena.

Odtučnění čistého kolagenu

Rozpouštědla petrolether a ethanol byla smíchána v poměru 1:1. Tato směs byla pak společně s kolagenní tkání vložena do Erlenmayerovy baňky v poměru 1:6 (tkáň: rozpouštědlo) a umístěna na třepačku. Odtučnění probíhalo při pokojové teplotě cca 2 dny tak, že ráno, odpoledne a večer bylo rozpouštědlo vždy vyměněno za čerstvé. Po ukončení odtučňovacích cyklů byla surovina přefiltrována, rozložena na plech a ponechána v digestoři k vysušení. Po vysušení se čistý kolagen rozemlel na velikost částic přibližně 3 mm a uschoval v temnu a suchu.

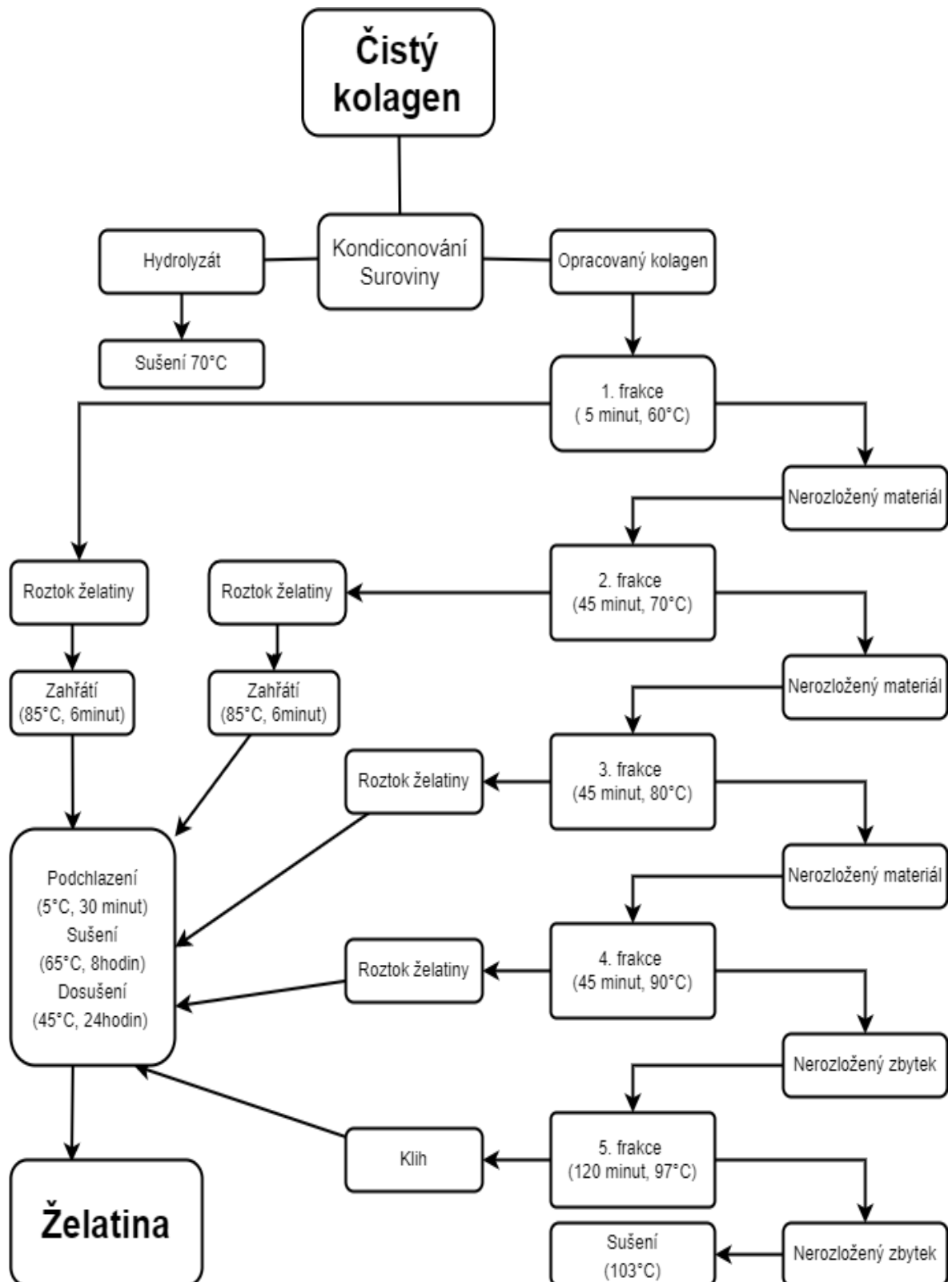
U přečištěného kolagenu se stanovil obsah sušiny, jenž činil 86 %. Tento parametr je velmi důležitý, neboť se na něj vypočítalo množství enzymu potřebného ke kondicionování suroviny.



Obrázek 7 Přečištěný a odtučnění kolagen

5.2 Extrakce želatin

Extrakce želatin probíhala dle uvedeného schématu na Obrázku 8.



Obrázek 8 Schéma přípravy želatin

Kondicionování suroviny

Pro přípravu želatiny byl čistý kolagen kondicionován při pH 6,5 – 7,0 v destilované vodě s přidavkem proteolytického enzymu Protamex 0,2 – 0,4 hm. % na sušinu (faktor A). Tato směs se nechala třepat na třepačce po dobu 24–72 hodin (faktor B) při teplotě 6–8 °C (faktor C). Jelikož optimální pH pro správnou funkci enzymu je v rozmezí 6,5-7,0, byla prováděna průběžná kontrola pH v době kondicionování. Po uplynutí doby kondicionování (faktor B) byla směs přefiltrována přes síto, kapalina (hydrolyzát) byla rozlita na plech a vysušena při 70 °C. Materiál zachycen na sítu byl důkladně promyt studenou vodou pro odstranění co možná největšího množství enzymu.

Extrakce 1. frakce želatiny

Promytý materiál byl smíchán s vodou v poměru 1:10 a extrahován při teplotě 60 °C po dobu 5 minut a intenzivně míchán. Po uplynutí doby extrakce byl materiál přefiltrován přes síto se třemi vrstvami tkaniny. Kapalina byla dále ještě zahřáta na teplotu 85 °C po dobu 6 minut, dále byla rozlita na plech a vysušena v sušárně nejprve při teplotě 65 °C po dobu 8 hodin a poté na 40 °C do úplného vysušení.

Extrakce 2. frakce želatiny

Nerozložený materiál po první extrakci byl smíchán s vodou v poměru 1:10 a extrahován při teplotě 70 °C po dobu 45 minut. Po extrakci byla směs přefiltrována přes síto se třemi vrstvami tkaniny. Kapalina byla dále zahřáta na teplotu 85 °C po dobu 6 minut. Následně byl želatinový roztok rozlit na plech a sušen v sušárně nejprve při teplotě 65 °C po dobu 8 hodin, poté se teplota snížila na 40 °C a želatina byla sušena do sucha.

Extrakce 3. frakce želatiny

Nerozložený materiál z extrakce druhé frakce želatiny se smíchal s destilovanou vodou v poměru 1:10 a byl extrahován při teplotě 80 °C po dobu 45 minut. Po extrakci byl želatinový roztok opět přefiltrován přes síto se třemi vrstvami tkaniny, na níž se uchytil nerozložený materiál a želatinový roztok přelit na plech a dán sušit nejprve při teplotě 65 °C po dobu 8 hodin a poté při teplotě 40 °C.

Extrakce 4. frakce želatiny

Nerozložený materiál po extrakci z třetí frakce byl smíchán s destilovanou vodou v poměru 1:10 a extrahován při teplotě 90 °C po dobu 45 minut. Po extrakci byla sem přefiltrována

přes síto se třemi vrstvami tkaniny a želatinový roztok byl přelit na plech a vysušen stejně jako předchozí frakce.

Extrakce 5. frakce želatiny (Klih)

Nerozložený zbytek z extrakce čtvrté frakce byl opět smíchán s destilovanou vodou v poměru 1:10 a extrahován při teplotě 97 °C po dobu 120 minut. Po uplynutí této doby byla směs naposled přefiltrována přes síto se třemi vrstvami tkaniny a klih byl přelit na plech a vysušen při teplotě 65 °C po dobu 8 hodin a poté byla teplota snížena na 45 °C pro úplně vysušení. Nerozložený zbytek byl vysušen při 103 °C. Připravená želatina z každé frakce byla rozdrcena a uschována pro další charakterizaci.

6 VÝSLEDKY

6.1 Vlastnosti želatin

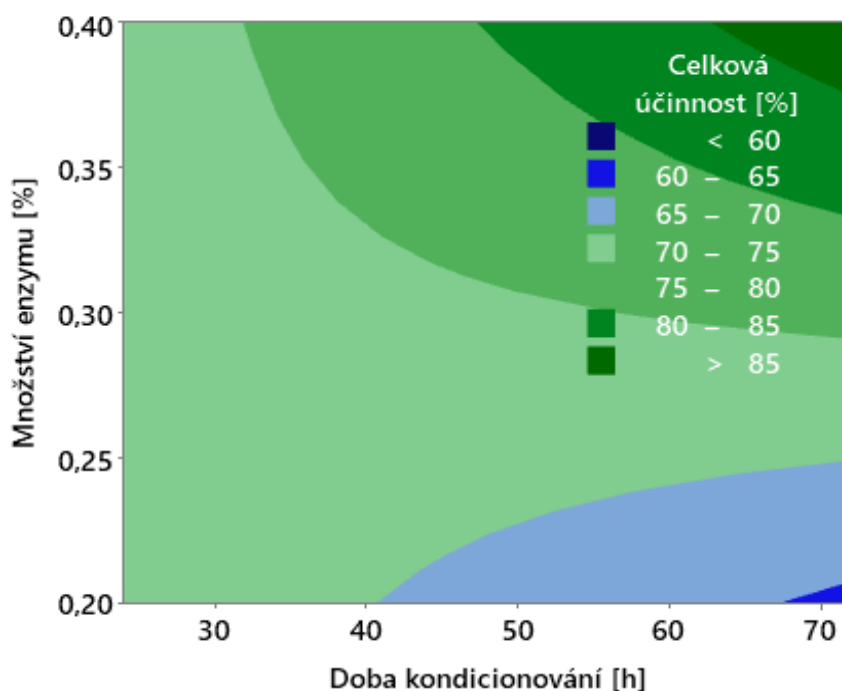
Bylo provedeno 9 experimentů dle metodiky faktoru 2^3+1 středový. Množství enzymu, faktor A, byl stanoven v rozmezí 0,2–0,3–0,4 %. Dále byla stanovena doba kondicionování, jako faktor B, která byla 24–48–72 hodin. Třetím faktorem, tedy faktor C, byla dána teplota kondicionování 6–12–18 °C. Taktéž byl proveden slepý pokus tedy experiment bez přídavku enzymu při době kondicionování 48 hodin a teplotě 12 °C.

Tabulka 6 Výsledné výtěžky dílčích frakcí včetně bilance hmotnosti

Experiment č.	Faktor A – Množství enzymu [%]	Faktor B – Doba kondicionování [h]	Faktor C – Teplota kondicionování [°C]	Výtěžek hydrolyzátu [%]	Výtěžek 1. frakce želatiny [%]	Výtěžek 2. frakce želatiny [%]	Výtěžek 3. frakce želatiny [%]	Výtěžek 4. frakce želatiny [%]	Výtěžek 5. frakce klišu [%]	Celková účinnost [%]	Nerozložený zbytek [%]	Bilanční chyba [%]
1	0,2	24	6	5,0	10,1	37,0	3,4	5,0	11,5	72,0	25,7	2,4
2	0,2	24	18	3,4	16,2	29,9	4,7	5,7	14,4	74,3	20,8	4,9
3	0,2	72	6	5,2	6,8	22,4	4,8	5,1	15,7	59,9	38,0	2,1
4	0,2	72	18	5,0	7,2	28,9	6,1	3,3	17,8	68,3	29,3	2,3
5	0,4	24	6	4,8	10,5	30,7	4,6	5,1	13,3	68,9	28,6	2,5
6	0,4	24	18	7,4	25,7	21,1	5,4	5,3	11,1	75,9	20,6	3,5
7	0,4	72	6	6,9	34,4	28,0	3,2	4,2	11,9	88,5	9,9	1,6
8	0,4	72	18	8,5	31,0	30,0	3,5	1,5	13,0	87,5	10,7	1,8
9	0,3	48	12	4,3	6,0	6,4	9,1	4,7	15,7	46,3	51,4	2,4
10	0	48	12	2,5	1,3	1,0	1,9	5,8	22,2	34,7	64,0	1,3

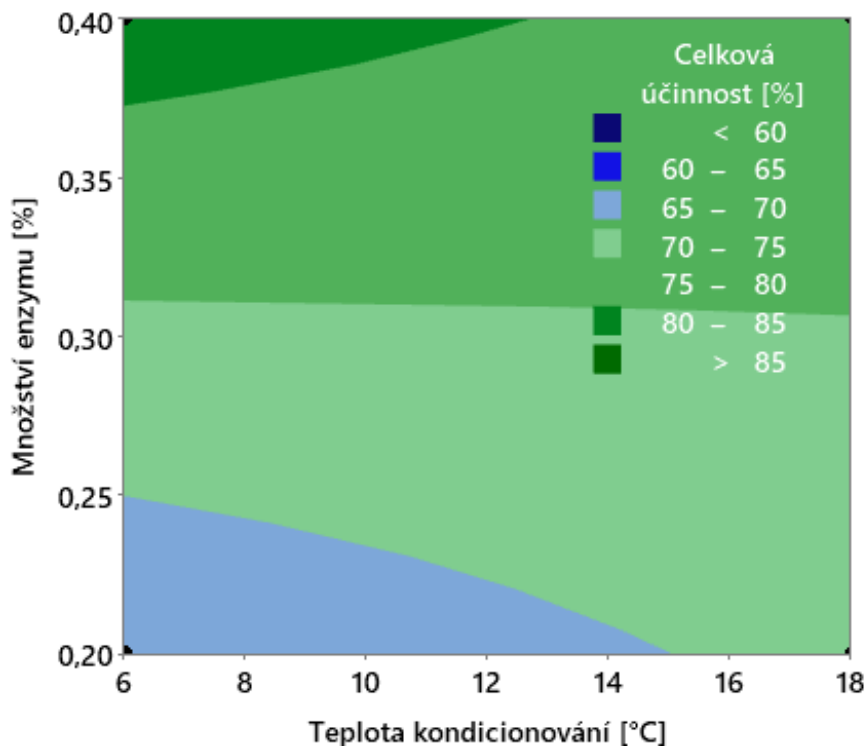
Můžeme si povšimnout z Tabulky 6, že nejnižší výtěžnost hydrolyzátu, první, druhé i třetí frakce byla u experimentu 10, což byl slepý pokus bez použití enzymu. Tento experiment měl největší výtěžnost u 4. frakce (5,8 %), 5. frakce neboli klihu (22,2 %) a u nerozloženého zbytku (64,0 %). Největší výtěžek hydrolyzátu bylo u experimentu 8, který činil 8,5 %, s extrakčními podmínkami faktor A-0,4 %, faktor B-72 hodin a faktor C-18 °C. Výtěžek 1. frakce byl největší u experimentu 7, kde se podařilo vyextrahovat 34,4% želatiny. Ještě o něco vyšší výtěžek byl experimentu 1, avšak to již byla druhá frakce. Výtěžnost této frakce byla 37 %. Experiment 9 měl největší výtěžnost ve 3. frakci a to 9,1 %.

6.2 Extrakční účinnost

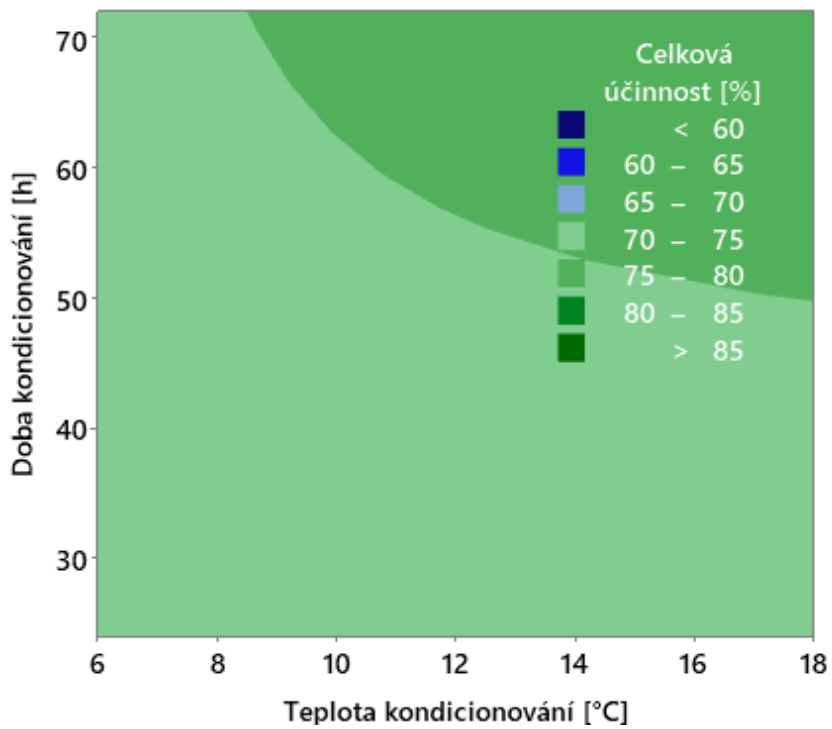


Obrázek 9 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na celkovou účinnost

Z Obrázku 9 je patrné, že při snižujícím množství enzymu a delší době kondicionování se celková účinnost snižuje. Při použití 0,2 % enzymu a době kondicionování 72 hodin byla účinnost tedy nejnižší, zatímco při zvyšování množství enzymu a delší době kondicionování tedy při použití 0,4 % enzymu po dobu kondicionování 72 hodin byla celková extrakce želatin nejvyšší.



Obrázek 10 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na celkovou účinnost



Obrázek 11 Vrstevnicový graf vlivu doby kondicionování a teploty kondicionování na celkovou účinnost

Vrstevnicový graf vlivu faktoru množství enzymu (faktor A) a teplotě kondicionování (faktor C) na celkovou účinnost extrakce želatiny znázorňuje Obrázek 10. Lze pozorovat nejnižší účinnost při teplotě kondicionování (faktor C) 6 °C a množství enzymu 0,2 %. Nejvyšší účinnost byla opět při použití 0,4 % enzymu, avšak při teplotě pouhých 6 °C.

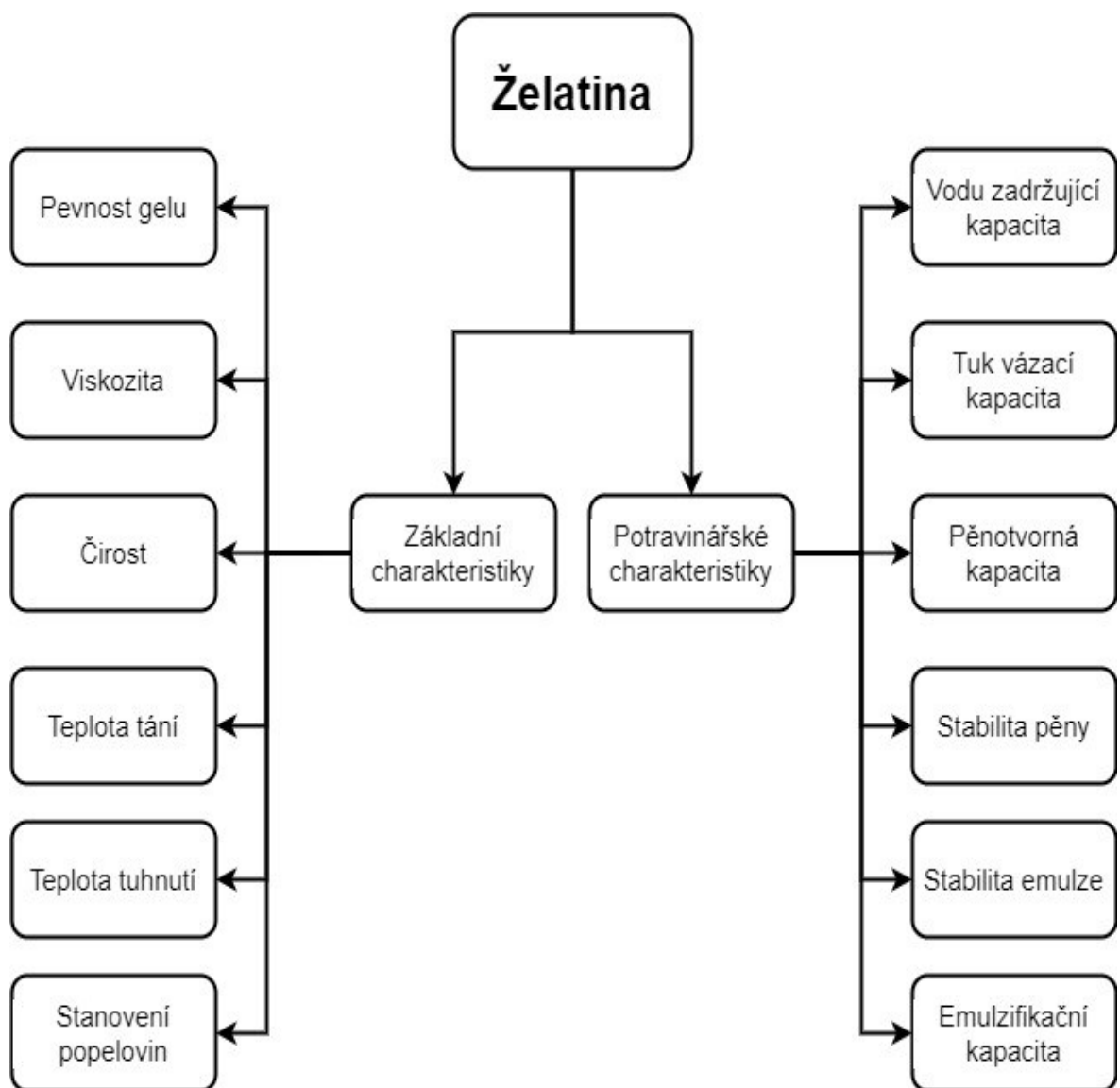
Na Obrázku 11 lze pozorovat, že při teplotě kondicionování cca 8 °C je pro 70% účinnost potřebná doba kondicionování 70 hodin. Pokud se však teplota zvýší na 18 °C, pak je možné dosáhnout 70% účinnosti již po 50 hodinách kondicionování

Rovnice účinnosti:

$$\text{Účinnost [\%]} = 53,1 + 0,057 \text{ Faktor } C + 0,068 \text{ Faktor } B + 57,9 \text{ Faktor } A$$

Dále byly vyjádřeny tzv. p-hodnoty. Pro množství enzymu, faktor A, byla p-hodnota rovna 0,161, pro faktor B 0,652 a pro faktor C 0,924. Jelikož ani jedna hodnota nebyla nižší než 0,05 lze konstatovat malý vliv faktorů na pevnost gelu. Významnost faktorů byla zhodnocena dle p-hodnot. Faktory s p-hodnotou nižší než 0,05 mají markantnější vliv na vlastnosti gelu s 95% pravděpodobností [40].

Vyextrahovaná želatina byla dále charakterizována základními charakteristikami a potravinářskými charakteristikami. Jednotlivá stanovení byla provedena u 1. frakce i 2. frakce želatinového gelu. Mezi základní charakteristiky patří stanovení pevnosti gelu, stanovení viskozit želatinového roztoku, stanovení teploty tuhnutí želatinového gelu, stanovení teploty tání želatinového gelu a stanovení čirosti. Do potravinářských charakteristik, které byly provedeny pouze u 2. frakcí želatin, byla zařazena vodu zadržující kapacita (WHC), tuk vázací kapacita (FBC), pěnotvorná kapacita (FC), stabilita pěny (FS), emulzifikační kapacita (EC) a stabilita emulze (ES). Přesný popis těchto analýz byl popsán výše.



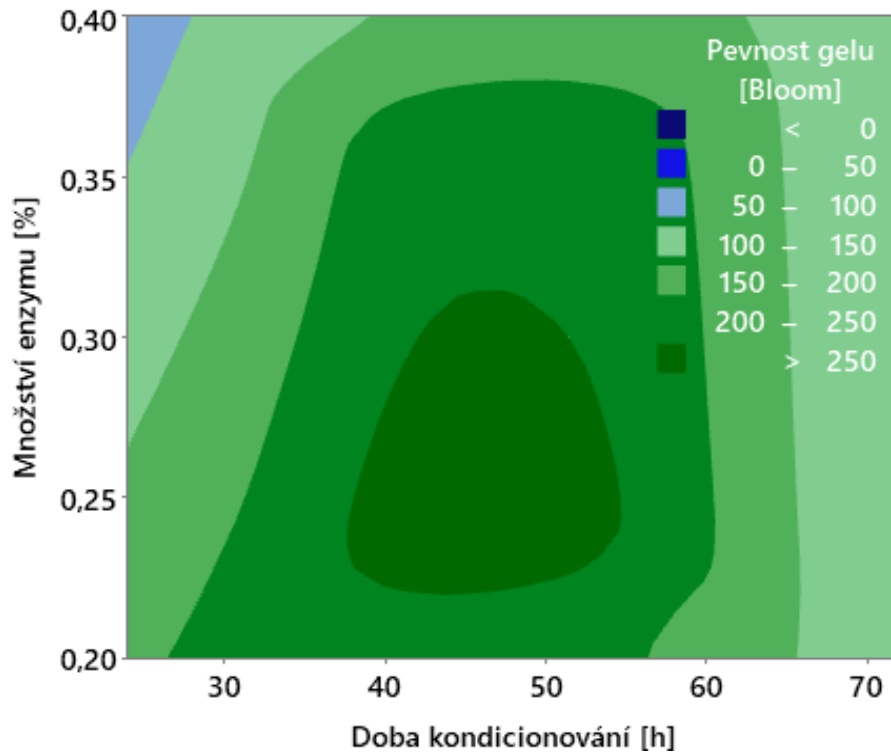
Obrázek 12 Schéma stanovovaných charakteristik želatin

Tabulka 7 Souhrn základních charakteristik 1. a 2. frakcí želatin

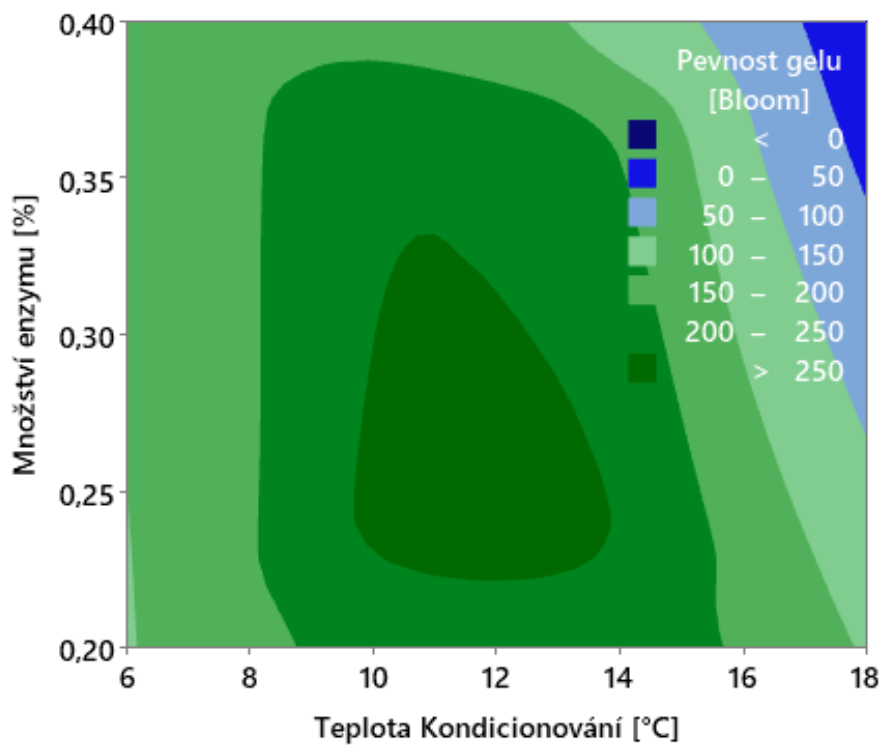
	Pevnost gelu [Bloom]	Viskozita [mPa·s]	Teplota tuhnutí [°C]	Teplota tání [°C]	Čírost [%]	Popeloviny [%]
Experiment 1						
1. frakce	-	0,91	-	-	0,81	-
2. frakce	87	1,63	15,3	27,5	0,87	0,23
Experiment 2						
1. frakce	-	0,83	-	-	0,95	-
2. frakce	288	2,83	19,9	29,9	0,94	-
Experiment 3						
1. frakce	-	0,68	-	-	0,97	-
2. frakce	204	2,09	18,1	28,3	1,48	-
Experiment 4						
1. frakce	-	0,78	-	-	0,45	-
2. frakce	-	1,10	-	-	1,07	-
Experiment 5						
1. frakce	-	0,71	-	-	0,88	-
2. frakce	125	1,72	13,0	28,7	1,03	-
Experiment 6						
1. frakce	-	0,71	-	-	0,48	-
2. frakce	23	1,32	8,1	25,9	1,23	-
Experiment 7						
1. frakce	-	0,88	-	-	0,87	-
2. frakce	198	2,06	14,8	28,0	1,89	-
Experiment 8						
1. frakce	-	1,26	-	-	0,64	-
2. frakce	-	0,88	-	-	0,68	0,20
Experiment 9						
1. frakce	254	6,11	17,6	31,4	2,17	-
2. frakce	275	5,48	20,0	31,8	1,33	-
3. frakce	316	8,06	20,7	32,9	0,56	-
4. frakce	197	5,69	19,6	29,8	1,95	-
5. frakce	-	0,88	-	-	9,35	-

V Tabulce 7. si můžeme povšimnout, že téměř žádná želatina 1. frakce, kromě experimentu 9, nevytvořila gel. Nejvyšší hodnoty pevnosti gelu vykazovaly frakce experimentu 9. Jako u jediného experimentu vytvořila gel i želatina z 1. frakce a to 254 Bloom. Želatina z 2. frakce též vytvořila gel s o něco vyšší pevností 275 Bloom a úplně nejvyšší pevnost vytvořila 3. frakce a to 316 Bloom. Želatina 4. frakce sice gel vytvořila, avšak měla téměř dvakrát menší pevnost gelu než želatinový gel z 3. frakce. Můžeme tedy konstatovat, že při 3. frakci dosáhla kvalita želatiny svého maxima a dále klesala. Analýzy dalších frakcí experimentů nebyly provedeny z časových důvodů.

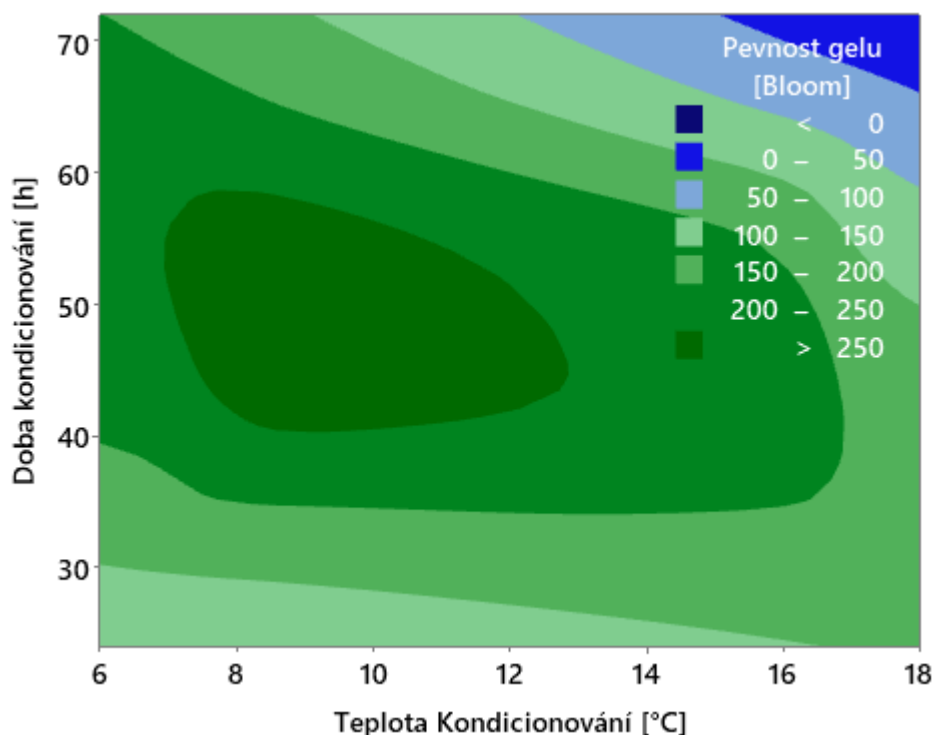
6.2.1 Pevnost gelu



Obrázek 13 Vrstevníkový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na pevnost želatinového gelu



Obrázek 14 Vrstevníkový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na pevnost želatinového gelu



Obrázek 15 Vrstevnicový graf vlivu doby kondicionování a teploty kondicionování na pevnost želatinového gelu

Na Obrázku 13 je patrné, že nejvyšší pevnost gelu odpovídá centrálnímu (středovému) experimentu s množstvím enzymu 0,3 %, a době kondicionování 48 °C. Tento trend se opakuje i na Obrázku 14, kde je vrstevnicový graf závislosti množství enzymu na teplotě kondicionování. I zde můžeme pozorovat nejvyšší pevnosti gelu u centrálního (středového) experimentu při teplotě kondicionování 48 hodin s množstvím enzymu 0,3 %.

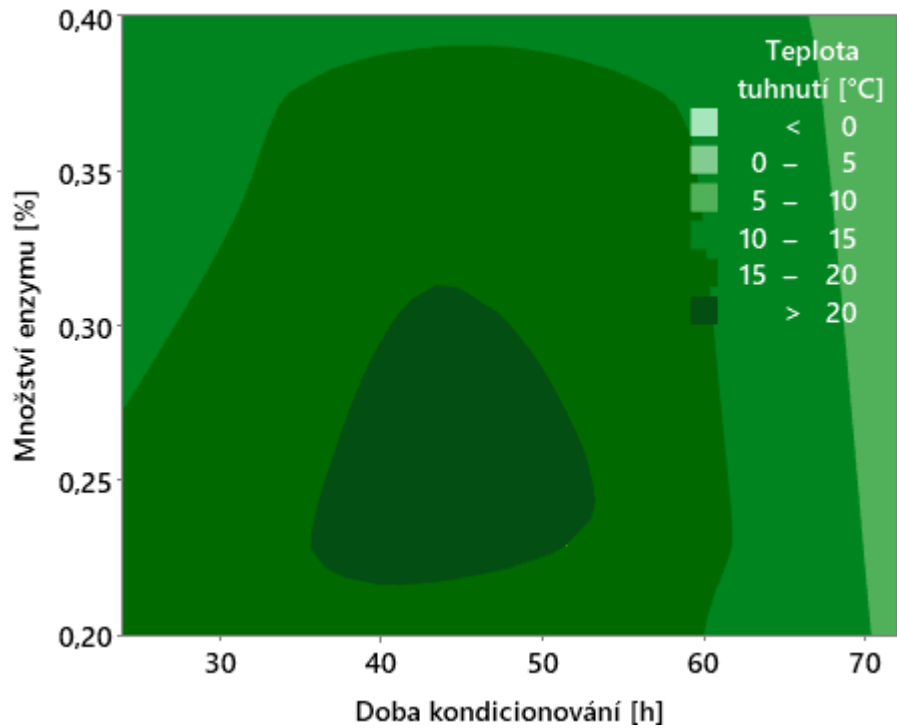
Vrstevnicový graf vlivu faktoru B a faktoru C na pevnost želatinového gelu je na Obrázku 15. Pevnost gelu je nejvyšší v oblasti doby kondicionování od 42 hodin do cca 58 hodin a v oblasti teploty kondicionování od 7,2 do 13 °C.

Rovnice pevnosti gelu:

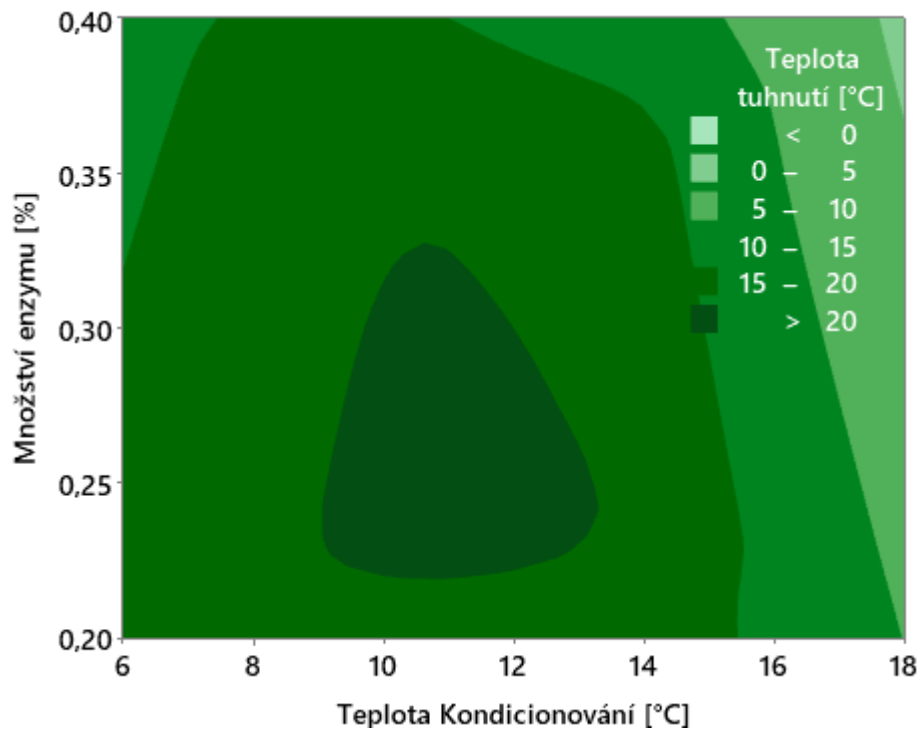
$$\text{Pevnost gelu [Bloom]} = 324 - 6,31 \text{ Faktor C} - 0,63 \text{ Faktor B} - 291 \text{ Faktor A}$$

Dále byly vyjádřeny tzv. p-hodnoty. Pro faktor A byla p-hodnota rovna 0,537, pro faktor B 0,745 a pro faktor C 0,429. Jelikož ani jedna hodnota nebyla nižší než 0,05 lze konstatovat malý vliv faktorů na pevnost gelu.

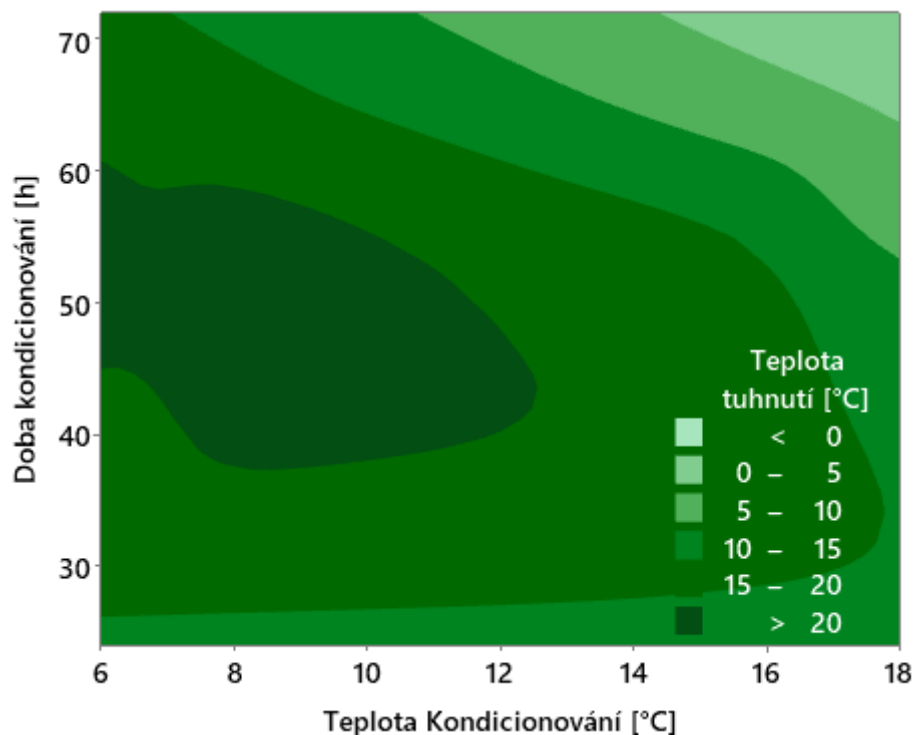
6.2.2 Teplot tuhnutí



Obrázek 16 Vrstevníkový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na teplotu tuhnutí želatinového gelu



Obrázek 17 Vrstevníkový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na teplotu tuhnutí želatinového gelu



Obrázek 18 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na teplotu tuhnutí želatinového gelu

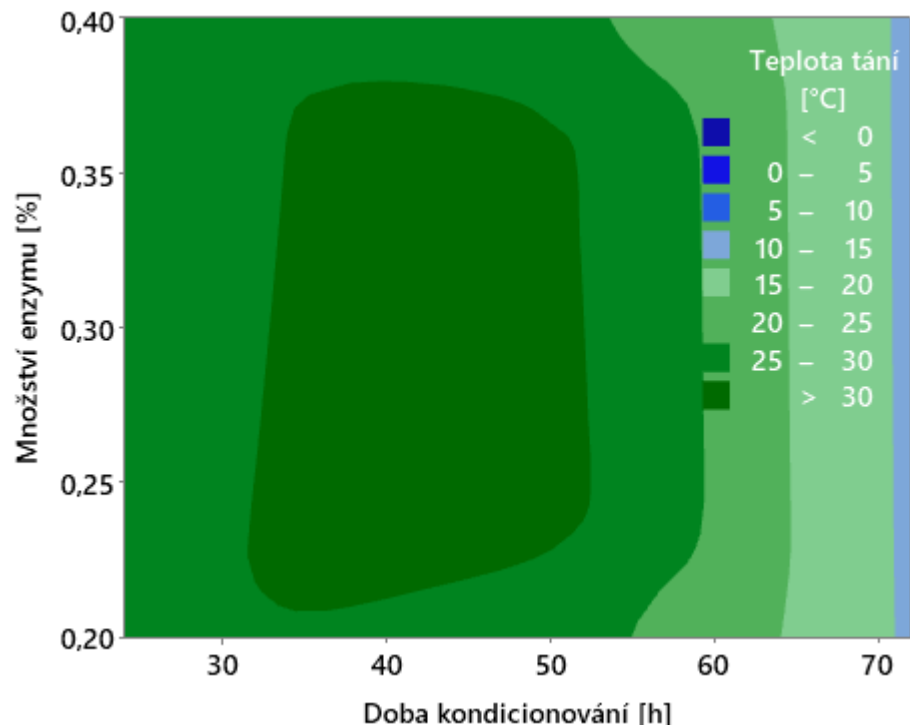
Vliv množství enzymu a doby kondicionování na teplotu tuhnutí, jenž vidíme na Obrázku 16, má trend klesající teploty tuhnutí s prodlužující se dobou kondicionování. Nejvyšší hodnoty teploty tuhnutí se nacházejí v hodnotách centrálního experimentu s dobou extrakce 48 hodin. Množství enzymu má podobný trend jako doba kondicionování, tedy se zvyšujícím se množstvím teplota tuhnutí lehce klesá. Nejvyšší hodnoty teploty tuhnutí jsou při množství enzymu 0,3 %. Velmi podobný trend můžeme také vidět na Obrázku 17, kde je vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teplotě kondicionování na teplotě tuhnutí. Nejvyšší hodnoty teploty tuhnutí se nacházejí opět ve středních hodnotách teploty kondicionování tedy při teplotě 12 °C a poté teplota tuhnutí pozvolna klesá. V neposlední řadě lze na Obrázku 18 pozorovat vliv doby kondicionování a teploty kondicionování na teplotě tuhnutí želatinového gelu. Nejvyšší teplota tuhnutí byla při době kondicionování 45-60 hodin při teplotě 6-13 °C.

Rovnice teploty tuhnutí:

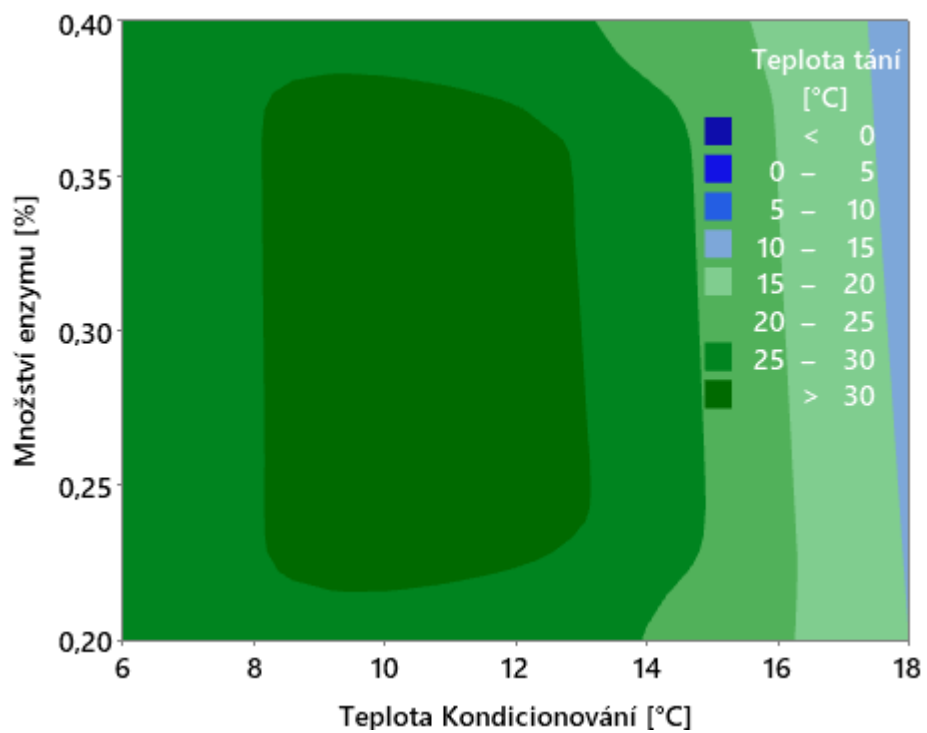
$$\text{Teplota tuhnutí [°C]} = 32,7 - 0,690 \text{ Faktor C} - 0,122 \text{ Faktor B} - 21,6 \text{ Faktor A}$$

Pro faktor A byla p-hodnota rovna 0,419, pro faktor B 0,287 a pro faktor C 0,153. Jelikož ani jedna hodnota nebyla nižší než 0,05 lze konstatovat malý vliv faktorů na tepotu tuhnutí želatinového gelu.

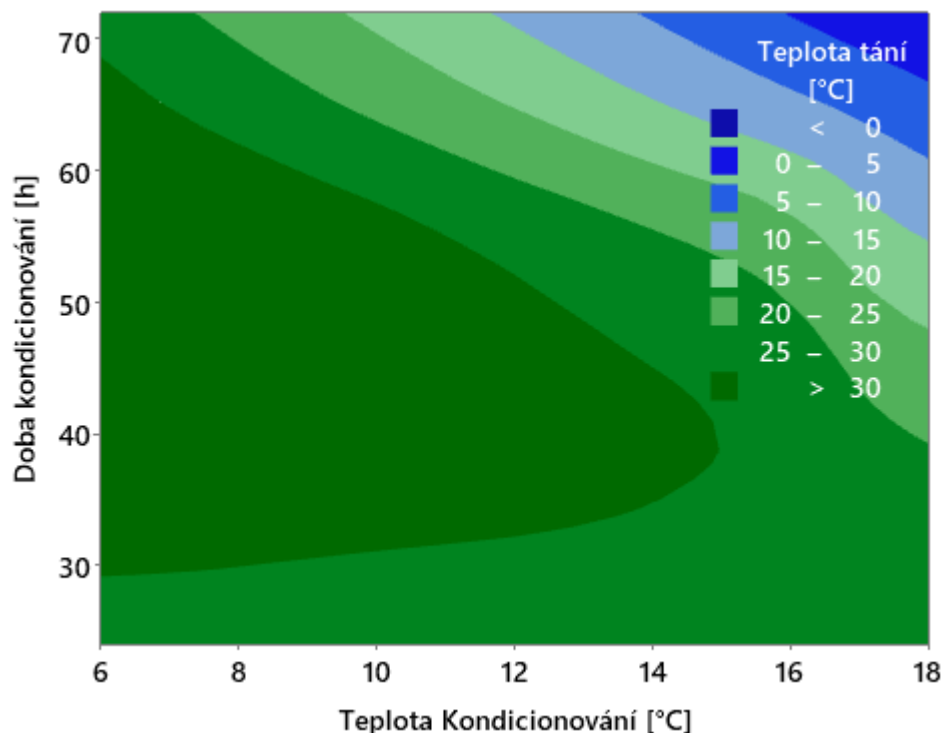
6.2.3 Teplot tání



Obrázek 19 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na teplotu tání želatinového gelu



Obrázek 20 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na teplotu tání želatinového gelu



Obrázek 21 Vrstevnicový graf vlivu doby kondicionování a teploty kondicionování na teplotu tání želatinového gelu

Na Obrázku 19 je vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na teplotě tání. Nejvyšší teplota tání byla v rozmezí doby kondicionování 32-52 hodin při množství enzymu 0,21-0,38 %. Vliv teploty kondicionování na teplotu tání želatinového gelu je znázorněn na Obrázku 20. Je patrné že nejvyšší teplota tání byla v rozmezí teploty kondicionování 8,5-13 °C. Nejnižší teplota tání je pak při nejvyšší době kondicionování 72 °C a nejvyšší teplotě kondicionování 18 °C, což můžeme pozorovat na Obrázku 21.

Rovnice teploty tání:

$$\text{Teplota tání}[\text{°C}] = 51,5 - 1,183 \text{ Faktor C} - 0,290 \text{ Faktor B} - 4 \text{ Faktor A}$$

Pro faktor A byla p-hodnota rovna 0,913, pro faktor B 0,104 a pro faktor C 0,099. Jelikož ani jedna hodnota nebyla nižší než 0,05 lze konstatovat malý vliv faktorů na tepotu tuhnutí želatinového gelu.

6.2.4 Další vlastnosti

Tabulka 8 Souhrn potravinářských zkoušek 2. frakcí želatin

Experiment číslo	Emulzifikační kapacita EC [%]	Stabilita emulze ES [%]	Vodu vázací kapacita WHC [%]	Tuk vázací kapacita FBC [%]	Pěnotvorná kapacita FC [%]	Stabilita pěny FS [%]
1	53,33	59,38	60,24	9,70	40	0
2	50,00	59,38	62,43	10,39	52	0
3	52,42	58,46	64,36	10,58	32	0
4	50,00	56,67	52,74	6,23	4	0
5	51,61	59,38	59,93	5,48	32	0
6	54,10	63,64	52,39	7,56	24	4
7	55,00	60,61	60,86	6,82	36	0
8	53,28	64,62	53,64	4,27	16	4
9	55,08	55,38	71,31	4,22	36	24

V Tabulce 8 jsou uvedeny výsledky potravinářských zkoušek 2. frakcí želatin. Jako první je uvedena emulzifikační kapacita (EC). Nejvyšší hodnotu emulzifikační kapacity 55,08 % vykazuje želatina experimentu 9, který byl kondicionován při středních podmínkách tj. 0,3 % enzymu, době kondicionování 48 hodin a teplotě 12 °C. Tento vzorek měl nejvyšší hodnotu také u vody vázací kapacity (WHC) 71,3 % a stability pěny (FS) 24 %. Nejvyšší stabilitu emulze (ES) vykazovala želatina experimentu 8 a to 64,6 %. Tento vzorek byl kondicionován po dobu 72 hodin při teplotě 18 °C s množstvím enzymu 0,4 %. Co se týče tuk vázací kapacity (FBC), tak nejvyšší hodnotu, tedy 10,6 %, vykazovala želatina experimentu 3, jenž byl kondicionován po dobu 72 hodin při teplotě 6 °C s množstvím enzymu 0,2 %. A poslední potravinářskou zkoušku, pěnotvornou kapacitu (FC), vykazovala želatina experimentu 2 vyrobeného při podmínkách kondicionování 0,2 % enzymu, dobu kondicionování 24 hodin při teplotě kondicionování 18 °C. Potravinářské zkoušky byly provedeny pouze u 2. frakcí želatin z časových důvodů.

6.3 Navržení optimálních procesních podmínek

Cílem této diplomové práce bylo rovněž navržení optimálních podmínek pro přípravu želatin s co možná nejvyšší kvalitou. Podle zvolené faktorové metodiky bylo provedeno 9 experimentů. Tyto experimenty se lišily v použití množství enzymu, faktor A (0,2–0,3–0,4 %), dobou kondicionování, faktor B (24–48–72 hodin), a teplotou kondicionování, faktor C (6–12–18 °C). Byly zkoumány vlivy těchto faktorů na pevnost gelu, účinnosti extrakce, teplotě tání a tuhnutí, viskozitě, čirosti, vodu vázací kapacitě, tuk vázací kapacitě, pěnotvornosti, stabilitě pěny, emulzifikační schopnosti a stabilitě emulze. Kvalita želatiny je většinou určována dle pevnosti gelu, popřípadě dle teploty tání želatinového gelu.

Pevnost gelu byla nejvyšší u 3. frakce experimentu 9 s 0,3 % enzymu a dobou kondicionování 48 hodin při teplotě 12°C. Tato pevnost gelu činila 316 Bloom. Velmi dobré kvality želatiny bylo dosaženo také u 1. frakce experimentu 9 (pevnost gelu 254 Bloom), 2. frakce experimentu 9 (pevnost gelu 275 Bloom). Dalším experimentem s velmi dobrou kvalitou želatinového gelu byl experiment 2, konkrétně 2. frakce, s množstvím přidaného enzymu 0,2 %, dobou kondicionování 24 hodin při teplotě 18°C. Pevnost gelu 2. frakce experimentu 2 byla 288 Bloom. Teplota tání byla nejvyšší u 3. frakce experimentu 9, která činila 32,9 °C. První i druhá frakce experimentu 9 měly taktéž poměrně vysokou teplotu tání a to 31,4 °C pro první frakci a 31,8 pro druhou frakci.

Dle grafického znázornění výše lze stanovit optimální podmínky pro nejvyšší pevnost želatinového gelu. Optimální množství enzymu (faktor A) je v rozmezí 0,23-0,31 %, doba kondicionování (faktor B) byla optimální od 40 do 59 hodin a teplota kondicionování od 9,8-14 °C. Pro teplotu tání želatinového gelu pak byly optimální podmínky množství enzymu 0,21-0,38 %, doba kondicionování 31-53 hodin a teplota kondicionování 8,5-13 °C.

Nejvyšší hodnota extrakční účinnosti byla 88,5 % pro experiment 7 s procesními podmínkami 0,4 % enzymu, doba kondicionování 72 hodin a teplota kondicionování 6 °C. Tento trend odpovídá i grafickému znázornění optimálních podmínek pro extrakční účinnost. Optimální množství enzymu bylo 0,35-0,4 %, doba kondicionování 50-72 hodin. Optimální teplota kondicionování byl v rozmezí 6-12 °C.

7 DISKUZE

Zhang a kol. testovali extrakci želatin ze šupin Amura bílého. Jejich výzkum spočíval v enzymové předúpravě kolagenu s množstvím enzymu Proteáza 0,22 %, době kondicionování 5,5 hodin a teplotě 30 °C. Následně byla želatina extrahována při 60 °C po dobu 6 hodin. Vyextrahovaná želatina měla pevnost gelu 276 Bloom, teplotu tání 26,9 °C a teplota tuhnutí želatinového gelu pak 20,8 °C [58].

Další studie se zabývala extrakcí želatin z kuřecích kůží. Kondicionování suroviny probíhalo nejprve v roztoku hydroxidu sodném po dobu 2 hodin a následně v roztoku kyseliny citronové také po dobu 2 hodin. Extrakce byla provedena při teplotě 45 °C přes noc. Výtěžek extrahované želatiny činil 16 %. Ačkoliv výtěžnost byla poměrně nízká, pevnost želatinového gelu byla významně vyšší a to 355 Bloom. Teplota tání pak odpovídala hodnotě 33,5 °C a teplota tuhnutí 24 °C [59].

Wen-Gan a kol. se zabývali extrakcí želatin z kůže Velemloka čínského (*Andrias davidianus*). Po předúpravě nejprve hydroxide sodným a poté kyselinou octovou byl výtěžek želatiny extrakcí horkou vodou o teplotě 60 °C po dobu 8 hodin pouze 17,63 % Želatina vykazovala termoreverzibilní vlastnosti s pevností gelu 192,5 Bloom, teplotou gelovatění 4,98 °C a teplotou tání 18,04 °C [60].

Byla také provedena studie, která se zabývala extrakcí želatin z kůže velblouda. Této studii se věnoval Al-Hassan. Želatina byla extrahována z kůží velbloudů za použití zahřívání a zásadité předúpravy. Proces extrakce byl proveden namáčením pokožky v 1,3 M hydroxidu vápenatém po dobu 48 hodin při teplotě místnosti (25 °C), následovaným promytím vodou, neutralizací 4% síranem amonným a poté extrakcí destilovanou vodou při teplotě 75 °C po dobu 3 h, poté 90 °C po dobu 2 h. Výtěžek želatiny byl 39,6 % s vlastnostmi jako pevnost gelu 97,5 Bloom, bod tání 19,8 °C a bod gelovatění 13,15 °C [61].

Další studie se zabývala extrakcí želatiny z kachních nohou. Kachní nohy byly nejprve odtučněny v butanolu. Po procesu odtučnění byl vzorek promýván po dobu asi 5 minut, aby se odstranil veškerý zbývající butanol. Pomleté kachní nohy byly ošetřeny v kyselém roztoku, což byla 0,1 M kyselina octová. Poté byl před extrakčním procesem neutralizován tekoucí vodou z vodovodu. Želatina byla extrahována v destilované vodě při 75 °C po dobu 2 hodin. Výtěžek želatiny z želatiny kachních nohou je 3,97 %. Pevnost gelu želatiny byla 334,17 Bloom [62].

Tabulka 9 Porovnání želatinových vlastností s ostatními literárními studii

Zdroj	Surovina	Předúprava	Výtěžnost [%]	Pevnost gelu [Bloom]	Teplota tání [°C]	Teplota tuhnutí [°C]
DP 2. frakce	Hovězí kliška	Enzym Protamex	88,5	275	31,8	20,0
[58]	Kůže Amura bílého	Enzym Proteáza	-	276	26,9	20,8
[59]	Kuřecí kůže	NaOH pak Kys. cit	16,5	355	33,5	24
[60]	Kůže Velemloka čínského	NaOH pak Kys. octová	17,63	192	18,04	4,98
[61]	Kůže velblouda	Ca(OH) ₂	39,6	98	19,8	13,15
[62]	Kachní nohy	Kys. octová	3,97	334.	-	-

V Tabulce 9 je patrné, že největší výtěžnost želatiny bylo z hovězí klišky z této DP 88,5 % a nejnižší výtěžek želatiny byl z kachních nohou pouze 3,97 %. Ačkoliv bylo vytěženo nejméně želatiny z kachních nohou její pevnost gelu byla poměrně vysoká celých 334 Bloom. Pevnost želatinového gelu z hovězí klišky, který činila 275 Bloom, by se dala srovnat s pevností želatiny z kůže Amura bílého, jenž byla 276. Nejvyšší pevnost z výše uvedených želatin měla želatina z kuřecích kůží, která vykazovala pevnost 355 Bloom. Teplota tání želatiny z kuřecí kůže byla nejvyšší a to 33,5 °C, avšak teplota tání želatin z hovězí klišky byla pouze o 1,7 °C nižší. Želatina z hovězí klišky ztuhla při 20,0 °C, což je srovnatelné s želatinou z kůže Amura bílého. Nejnižší teplotu tuhnutí však měla želatina z kůže Velemloka čínského.

8 VÝZNAM VÝSLEDKŮ PRO PRAXI

8.1 Zhodnocení technologického procesu

Tato diplomová práce se zabývala přípravou kolagenu a extrakcí želatiny z hovězí kližka. Kondicionování již přečištěného kolagenu probíhalo enzymatickým opracováním. Bylo použito množství enzymu 0,2-0,3-0,4 %, doba kondicionování byla stanovena 24-48-72 hodin a teplota kondicionování 6-12-18 °C.

K hlavním výhodám enzymatického opracování patří:

- Zkrácení doby zpracování (alkalická předúprava trvá i několik měsíců, zatímco enzymatická pouze den)
- Snížení množství vody při zpracování, jelikož nepotřebuje žádnou úpravu vodného roztoku
- Šetrnější k životnímu prostředí (biotechnologie), neobsahuje žádné toxické látky
- Vyšší výtěžek
- Extrakce pěti frakcí želatin
- Poměrně rozsáhlý počet použitelných druhů enzymů (trypsin, pepsin, proktáza, neutrasa)
- Potřebná nižší teplota k opracování [40]

8.2 Návrh na využití želatiny

Lze připravit želatiny o čtyřech jakostních třídách: 0-100; 100-200; 200-300; 300 a více Bloom.

8.2.1 Potravinářský průmysl

Želatina o pevnosti gelu 0-100 Bloom, či hydrolyzáty se mohou používat ke snížení kalorické hodnoty, avšak ponechání množství bílkovin, u potravin určených jako nízko kalorické. Tyto potraviny s oblibou využívají lidé se záměrem snížení hmotnosti.

Želatina o pevnosti gelu 100-200 Bloom se používá do nízko tučných mléčných výrobků kde je nutná absorpce přebytku vody. Jen díky vodu vázací kapacitě želatiny je možná výroba sýrů o nízkém obsahu tuku.

Želatina o pevnosti gelu 200-300 Bloom se používá ve zmrazených koláčích v koncentraci 0,25 % a také do zmrzliny do 0,5 % ke stabilizaci emulze. Také se používá ke stabilizaci pěny v pěnových dezertech. Mimo jiné se osvědčila k přípravě aspiků a náplní do pečiva a sladkých koláčů.

8.2.2 Farmaceutický průmysl

Želatina o pevnosti gelu 100-200 Bloom se využívá především k výrobě měkkých lékových kapslí a želatina o pevnosti gelu 200-300 Bloom se používá k výrobě tvrdých kapslí.

Želatina o pevnosti gelu 300 a více Bloom se využívá k biotechnologiím jako je například 3D tisk. 3D tisk se stále více používá k vytváření biostruktur v oblasti tkáňového inženýrství, především pro kosti a ortopedické tkáně, stejně jako krevní cévy, srdeční chlopně, muskuloskeletální tkáně, játra, nervy a kůži. Bioinženýrské želatinové scaffoldy umožňují kontrolované uvolňování široké škály biomolekul [3].

8.2.3 Kosmetický průmysl

Hydrolyzát a želatina o pevnosti gelu 0-100 Bloom se adsorbují na keratin vlasů, tento efekt se zesílí, když jsou vlasy poškozené. Filmotvorné hydrolyzáty také vytvářejí ochrannou vrstvu kolem jednotlivých vlasů. Proteinové povrchově aktivní látky vyrobené z hydrolyzátu želatiny a rostlinných mastných kyselin, jako je kokosový olej, kombinují optimální dermatologickou kompatibilitu s vynikajícími čisticími vlastnostmi.

8.3 Návrh na pokračování výzkumu

Pokračování výzkumu extrakce želatiny z hovězí kličky by mohlo být zaměřené na úpravě extrakčních podmínek. Dále by bylo vhodné rozšířit charakterizaci vlastností vyrobené želatiny například zjištěním aminokyselinového spektra, nebo stanovení sensorických zkoušek jako je lepivost, zápach a elasticita. V závislosti na pevnosti gelu by bylo dobré také udělat zkoušky v poloprovozu.

ZÁVĚR

Diplomová práce na téma Zpracování odpadních kolagenních tkání na želatiny a hydrolyzáty byla rozdělena na teoretickou a experimentální část.

Teoretická část je zaměřena na vývoj chovu a produkce skotu domácího ve světě a v České republice, dělení hovězího masa a jeho složení. Dále je detailně popsána porážka skotu od omráčení až po využití vedlejších živočišných produktů. Poslední kapitola teoretické části je zaměřena na kolagen a želatinu. Jsou detailněji popsány vlastnosti kolagenu a želatiny a jejich aplikace. Největší důraz byl kladen na využití želatiny a kolagenu v oblasti potravinářství a farmacie.

V experimentální části byl kladen důraz na posouzení možnosti extrakce kvalitních želatin z kolagenních separátů kolagenní kližky. Byly sledovány tři procesní faktory, faktor A, množství enzymu (0,2-0,3-0,4 %), faktor B, doba kondicionování (24-48-72 hodin) a faktor C, teplota kondicionování (6-12-18 °C). Kvalita želatina byla posuzována dle pevnosti gelu, celkové účinnosti extrakce hydrolyzáatů, želatin a klišů.

K plánování a vyhodnocování experimentů byla využita metoda faktorových experimentů 2 úroňový faktorový design tedy tři faktory na dvou úrovních s jedním středovým experimentem. Dále byly prováděny charakterizace želatin a navržení jejich aplikací. Metodika práce pojednávala o úplném faktorovém pokusu o třech faktorech na dvou úrovních s jedním středovým experimentem. Tedy 2^3+1 centrální experiment.

Hovězí kližka byla nejprve nakrájena a na masovém mlýnu se speciální separační hlavou byla odseparovaná kolagenní tkáň od masné hmoty. Kolagenní část pak byla promývána ve studené vodě, aby se odstranily albuminy a dále opracovávána roztokem NaCl o koncentraci 0,2 mol/l pro odstranění globulinů. Další část globulinů byla odstraněna opracováním kolagenní tkáně roztokem NaOH o koncentraci 0,03 mol/l. Následně byl kolagen odtučněn směsí rozpouštědel petroether/ethanol. Dále byl kolagen kondicionován s množstvím enzymu podle faktoru A, doby kondicionování faktoru B a tepoty kondicionování faktoru C. Následně došlo k extrakci želatiny, která obnášela zahřívání želatiny ve vodě v teplotním rozsahu 60-97 °C. Dále byly želatinové frakce podrobeny analýzám jako je pevnost gelu, viskozita, čirost, teplota tání, teplota tuhnutí, vodu zadržující kapacita, tuk zadržující kapacita, pěnotvorná kapacita a stabilita pěny, emulzifikační kapacita a stabilita emulze želatinového gelu.

Bylo provedeno celkem 9 experimentů, u kterých **celková účinnost extrakce** želatin byla v rozmezí od 7,2 % (0,2 % množství enzymu Protamex, 72 h doby kondicionování, 18 °C teploty kondicionování) do 34,4 % (0,4 % množství enzymu Protamex, 72 h doby kondicionování, 6 °C teploty kondicionování). **Pevnost želatinového gelu** se pohybovala v intervalu od 23 Bloom (0,4 % množství enzymu Protamex, 24 h doby kondicionování 18 °C teploty kondicionování) do 316 Bloom, což byla 3. frakce experimentu 9 (0,3 % množství enzymu Protamex, 48 h doby kondicionování 12 °C teploty kondicionování). **Viskozita** byla nejvyšší u 3. frakce experimentu 9 s hodnotou 8,1 mPa·s. Nejvyšší **teplotu tání** (32,9 °C) a **teplotu tuhnutí** (20,7 °C) vykazovala opět 3. frakce experimentu 9. Nejvyšší **čirost** tedy 9,35 % vykazoval kliš z experimentu 9.

Dle programu Minitab 21 byly stanoveny optimální podmínky kondicionování suroviny pro dosažení maximální výtěžnosti, které byly následovné: optimální množství enzymu je v rozmezí 0,3-0,4 %, doba kondicionování v intervalu 48-72 hodin a teplota kondicionování v rozmezí od 6-13 °C. Těmto podmínkám vyhovuje experiment 7, který měl výtěžnost 88,5 %. Avšak pevnost gelu byla optimální v intervalu množství enzymu Protamex od 0,23 do 0,33 %, v rozmezí doby kondicionování 40-59 hodin a teploty kondicionování od 10 do 14 °C. Těmto optimálním podmínkám vyhovuje experiment 9 o pevnosti gelu 3. frakce želatin 316 Bloom.

V této diplomové práci bylo prokázáno, že za daných optimálních technologických podmínek je možné z kolagenního separátu z hovězí klišky, jakožto vedlejší produkt při přípravě masa na hamburgery, vyrobit kvalitní želatinu se širokou škálou uplatnění od potravinářského průmyslu pře farmaceutický až po technický průmysl.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] The Food and Agriculture Organization of the United Nations [online], 2010. Italy: FAO [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.fao.org/livestock-systems/global-distributions/cattle/en/>
- [2] HUDETZOVÁ, Kateřina, 2021. Komoditní karta Skot prosinec 2021 [online]. Česká republika: eAgri [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/zivocisna-vyroba/zivocisne-komodity/skot/>
- [3] Agroportal24h [online], 2019. Hradec Králové: Miroslav Fojt [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.agroportal24h.cz/clanky/vykrm-skotu-druhy-michacich-krmnych-vozu-a-zarizeni>
- [4] ULMANNOVÁ, Zdenka, 2009. Hovězí maso [online]. Praha: Granville [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.cz-test.cz/clanek/hovezi-maso>
- [5] Chov skotu [online], 2020. Česká republika: Český statistický úřad [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/statistiky>
- [6] OTRUBOVÁ, Marcela, 2018. Vývoj cen hovězího masa [online]. Česká republika: Agropress [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.agopress.cz/vyvoj-cen-hoveziho-masa/>
- [7] HORÁK, Karel, 2022. Anatomie hospodářských zvířat [online]. Choťovice: Maso z Choťovic [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <http://masonafarme.cz/produkt/hovezi-klizka/>
- [8] Tepelně opracované masné výrobky [online], 2022. Brno: Mendelova univerzita [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=5692&typ=html
- [9] FARRER, Angela, 2022. What Is Beef Shank? [online]. San Francisco: Delighted Cooking [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.delightedcooking.com/what-is-beef-shank.htm>
- [10] Maso, jeho dělení a použití 2 [online], 2016. Kralupy nad Vltavou: Bidfood Czech Republic [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.bidfood.cz/o-nas/novinky/maso-jeho-deleni-pouziti-2-hovezi-maso>

- [11] CAMPBELL, R.E. et al., 1996. Low-Fat Ground Beef from Desinewed Shanks With Reincorporation of Processed Sinew. *Journal of Food Science* [online]. 61(6), 1285-1288 [cit. 2022-05-08]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.1996.tb10980.x
- [12] LAWRIE, R.A., 1998. *Lawrie's meat science* [online]. 6. Cambridge: Woodhead Publishing [cit. 2022-05-08]. ISBN 9781855733954. Dostupné z: <https://app-knovel-com.proxy.k.utb.cz/kn/resources/kpLMS00002/toc>
- [13] PEREIRA, Paula Manuela de Castro Cardoso a Ana Filipa dos Reis Baltazar VICENTE, 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science* [online]. 93(3), 586-592 [cit. 2022-05-08]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2012.09.018
- [14] BELTRÁN, José Antonio a Marc BELLÉS, 2019. Effect of Freezing on the Quality of Meat. *Encyclopedia of Food Security and Sustainability* [online]. Elsevier, 493-497 [cit. 2022-05-08]. ISBN 9780128126882. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.22461-X
- [15] CROSS, H. Russell, 2022. Meat processing [online]. *Encyclopædia Britannica* [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/technology/meat-processing/Livestock-slaughter-procedures>
- [16] ČERNÁ, Lenka, 2011. Typy porážkových linek a jejich vliv na kvalitu vepřového masa. České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce Pavel Smetana.
- [17] Slaughter Factfile [online], 2022. Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.rspca.org.uk/adviceandwelfare/farm/slaughter/factfile>
- [18] SHERIDAN, J.J. et al., 1991. Guidelines for slaughtering, meat cutting and further processing. Itálie: [1] The Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISBN 9251029210.
- [19] ČESKO. Vyhláška č. 287/1999 Sb., Ministerstva zemědělství o veterinárních požadavcích na živočišné produkty. In: *Zákony pro lidi.cz* [online]. © AION CS 2010-2022 [cit. 8. 5. 2022]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1999-287>

- [20] JŮZL, Miroslav a Šárka NEDOMOVÁ, 2015. Jakost živočišných produktů: (skriptum). Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 9788075092052.
- [21] Prohlídka jatečných zvířat a masa [online], 2011. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/ivbp/prohlidka-jatecnich-zvirat-a-masa1>
- [22] HENCHION, Maeve, Mary MCCARTHY a Jim O'CALLAGHAN, 2016. Transforming Beef By-products into Valuable Ingredients: Which Spell/Recipe to Use?. *Frontiers in Nutrition* [online]. 3 [cit. 2022-05-09]. ISSN 2296-861X. Dostupné z: doi:10.3389/fnut.2016.00053
- [23] CUETOS, María José et al., 2008. Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste (SHW) at laboratory scale: Influence of co-digestion with the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *Biochemical Engineering Journal* [online]. 40(1), 99-106 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1369703X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bej.2007.11.019
- [24] MHD SARBON, Norizah, Farah BADI a Nazlin K. HOWELL, 2013. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids* [online]. 30(1), 143-151 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.009
- [25] KOSSEVA, Maria R. a Colin WEBB, 2013. Concluding Remarks and Future Prospects. *Food Industry Wastes* [online]. Elsevier, s. 295-303 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780123919212. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-391921-2.00027-5
- [26] MUNASINGHE-ARACHCHIGE, S.P. et al., 2021. Biofertilizer recovery from organic solid wastes via hydrothermal liquefaction. *Bioresource Technology* [online]. 338 [cit. 2022-05-09]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2021.125497
- [27] ROGERS, Robert et al., 2001. *Meat Science and Applications* [online]. New York: CRC Press [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780429207846. Dostupné z: doi:10.1201/9780203908082
- [28] FU, Yu et al., 2019. Exploration of collagen recovered from animal by-products as a precursor of bioactive peptides: Successes and challenges. *Critical Reviews in Food*

- Science and Nutrition [online]. 59(13), 2011-2027 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2018.1436038
- [29] BALASUBRAMANIAN, Preethi et al., 2013. Collagen in Human Tissues: Structure, Function, and Biomedical Implications from a Tissue Engineering Perspective. Polymer Composites – Polyolefin Fractionation – Polymeric Peptidomimetics – Collagens [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, s. 173-206 [cit. 2022-05-09]. Advances in Polymer Science. ISBN 978-3-642-34329-2. Dostupné z: doi:10.1007/12_2012_176
- [30] LIU, Xinhua et al., 2019. Recent advances of collagen-based biomaterials: Multi-hierarchical structure, modification and biomedical applications. Materials Science and Engineering: C [online]. 99, 1509-1522 [cit. 2022-05-09]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2019.02.070
- [31] SCHRIEBER, Reinhard a Herbert GAREIS, 2007. Gelatine handbook: Theory and Industrial Practice. Weinheim: Wiley-VCH. ISBN 9783527315482.
- [32] WANG, Feng, Yaqin HUANG a Jin NIU. Collagen-Derived Materials [online]. [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: doi:10.1002/9783527834525
- [33] Ee, Shu Chee, Nazamid Saari, Faridah Abas, Ariffin Ismail, Muhammad Abu Bakar and Jamilah Bakar. “Properties of chicken head gelatins as affected by extraction method.” (2019).
- [34] HASHIM, P. et al., 2015. Collagen in food and beverage industries. International Food Research Journal. Malaysie, 22(1), 1-8. ISSN 2231-7546.
- [35] AN, Bo, Yu-Shan LIN a Barbara BRODSKY, 2016. Collagen interactions: Drug design and delivery. Advanced Drug Delivery Reviews [online]. 97, 69-84 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2015.11.013
- [36] SIONKOWSKA, Alina et al., 2020. Collagen Based Materials in Cosmetic Applications: A Review. Materials [online]. 13(19) [cit. 2022-05-09]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma13194217
- [37] ALIPAL, J. et al., 2021. A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. Materials Today: Proceedings [online]. 42, 240-250 [cit. 2022-05-09]. ISSN 22147853. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2020.12.922

- [38] Hages, spol.s r.o.: Potravinářské ingredience [online], 2020. Rudná u Prahy: Hages [cit. 2022-05-06]. Dostupné z: <https://www.hages.cz/produkty.htm>
- [39] XIN, Ying et al., 2021. Comparative study on the gel properties and nanostructures of gelatins from chicken, porcine, and tilapia skin. *Journal of Food Science* [online]. 86(5), 1936-1945 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.15700
- [40] MRÁZEK, Petr et al., 2022. Biotechnological preparation of chicken skin gelatine using factorial design of experiments. *Food Bioscience* [online]. 47 [cit. 2022-05-09]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2022.101702
- [41] HAUG, I.J. a K.I. DRAGET, 2009. Gelatin. *Handbook of Hydrocolloids* [online]. Elsevier, s. 142-163 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9781845694142. Dostupné z: doi:10.1533/9781845695873.142
- [42] DERKACH, Svetlana R. et al., 2022. Characterization of Fish Gelatin Obtained from Atlantic Cod Skin Using Enzymatic Treatment. *Polymers* [online]. 14(4) [cit. 2022-05-09]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym14040751
- [43] WANGTUEAI, Sutee a Athapol NOOMHORM, 2009. Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida* spp.) scales. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 42(4), 825-834 [cit. 2022-05-09]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2008.11.014
- [44] MARIOD, A.A., Adam H.F a H.F ADAM, 2013. Review: gelatin, source, extraction and industrial applications [online]. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 12(2) [cit. 2022-05-08]. ISSN 1644-0730. Dostupné z: https://www.food.actapol.net/pub/1_2_2013.pdf
- [45] AHMED, Mohammed Asif et al., 2020. Extraction and characterization of gelatin from camel skin (potential halal gelatin) and production of gelatin nanoparticles. *Saudi Journal of Biological Sciences* [online]. 27(6), 1596-1601 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1319562X. Dostupné z: doi:10.1016/j.sjbs.2020.03.022
- [46] LV, Lin-Chen et al., 2019. Fish gelatin: The novel potential applications. *Journal of Functional Foods* [online]. 63 [cit. 2022-05-09]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2019.103581

- [47] ŠTRAUSOVÁ, Klára a Petr DOLEJŠ, 2010. W&ET TEAM. Faktorové plánování a hodnocení experimentů při úpravě vody: Sborník konference Pitná voda. České Budějovice, s. 95-100. ISBN 9788025468548.
- [48] BENEŠ, Milan a Jiří LIKEŠ, 1957. Pokroky matematiky, fyziky a astronomie: Faktorové experimenty v průmyslovém výzkumu [online]. 2(1), 18 - 30 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <http://dml.cz/dmlcz/137166>
- [49] MOKREJŠ, Pavel, 2008. Návod k laboratorním cvičením z předmětu Aplikace přírodních polymerů. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-807-3186-753.
- [50] Official procedures of the Gelatin Manufacturers Institute of America, Inc.: Standard testing methods for edible gelatin, 2019. Gelatin manufacturers institute of America [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <http://www.gelatin-gmia.com/>
- [51] 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
- [52] 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
- [53] NINAN, George, Joseph JOSE a Zynudheen ABUBACKER, 2011. Preparation and characterization of gelatin extracted from the skins of Rohu (*Labeo Rohita*) and Common Carp (*Cyprinus Carpio*). Journal of Food Processing and Preservation [online]. 35(2), 143-161 [cit. 2022-05-09]. ISSN 01458892. Dostupné z: doi:10.1111/j.1745-4549.2009.00467.x
- [54] 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

- [55] 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
- [56] 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
- [57] Neto, V. Q., Narain, N., Silva, J. B., Bora, P. S. 2001. Functional Properties of Raw and Heat Processed Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.) Kernel Protein Isolates. *Nahrung/Food*, vol. 45, no. 4, p. 258-262. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20010801\)45:4<258::AID-FOOD258>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20010801)45:4<258::AID-FOOD258>3.0.CO;2-3)
- [58] ZHANG, Fengxiang, Shiyong XU a Zhang WANG, 2011. Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. *Food and Bioprocess Technology* [online]. 89(3), 185-193 [cit. 2022-05-11]. ISSN 09603085. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbp.2010.05.003
- [59] MHD SARBON, Norizah, Farah BADI a Nazlin K. HOWELL, 2013. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids* [online]. 30(1), 143-151 [cit. 2022-05-11]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.009
- [60] JIN, Wen-Gang et al., 2019. *Journal of Aquatic Food Product Technology* [online]. 28(8) [cit. 2022-05-11]. ISSN 1049-8850. Dostupné z: doi:10.1080/10498850.2019.1652716
- [61] AL-HASSAN, A.A., 2020. Gelatin from camel skins: Extraction and characterizations. *Food Hydrocolloids* [online]. 101 [cit. 2022-05-11]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105457
- [62] NIK MUHAMMAD, Nik Aisyah et al., 2018. Effects of acid type extraction on characterization and sensory profile of duck feet gelatin: towards finding bovine gelatin alternative. *Journal of Food Measurement and Characterization* [online]. 12(1), 480-486 [cit. 2022-05-11]. ISSN 2193-4126. Dostupné z: doi:10.1007/s11694-017-9661-8

- [63] KEENAN, T.R., 2012. Gelatin. Polymer Science: A Comprehensive Reference [online]. Elsevier, 237-247 [cit. 2022-05-12]. ISBN 9780080878621. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-444-53349-4.00265-X
- [64] POPPE, J., 1992. Gelatin. Thickening and Gelling Agents for Food [online]. Boston, MA: Springer US, 98-123 [cit. 2022-05-12]. ISBN 978-1-4613-6577-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-3552-2_5

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

S	Obsah sušiny [%]
P	Obsah popela [%]
T	Obsah tuku [%]
N	Obsah organického dusíku [%]
B	Obsah čistých bílkovin [%]
N	Obsah organického dusíku [%]
ν	Kinematická viskozita [mm^2/s]
η	Dynamická viskozita [$\text{mPa} \cdot \text{s}$]
WHC	Vodu zadržující kapacita [%]
FBC	Tuk zadržující kapacita [%]
FC	Pěnotvorná kapacita [%]
FS	Stabilita pěny [%]
EC	Emulzifikační kapacita [%]
ES	Stabilita emulze [%]

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Anatomie skotu domácího [7]	12
Obrázek 2 Popis částí těla skotu domácího [7]	12
Obrázek 3 Separační hlava do mlýnu na maso z profilu	29
Obrázek 4 Separační hlava do mlýnu ze předu	29
Obrázek 5 Mlýn na maso vytlačující masnou složku kolem trubky s kolagenní tkání	29
Obrázek 6 Schéma přípravy přečištěného kolagenu	39
Obrázek 7 Přečištěný a odtučněný kolagen	40
Obrázek 8 Schéma přípravy želatiny	41
Obrázek 9 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na celkovou účinnost	45
Obrázek 10 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na celkovou účinnost	46
Obrázek 11 Vrstevnicový graf vlivu doby kondicionování a teploty kondicionování na celkovou účinnost	46
Obrázek 12 Schéma stanovovaných charakteristik želatin	48
Obrázek 13 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na pevnost želatinového gelu	50
Obrázek 14 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na pevnost želatinového gelu	50
Obrázek 15 Vrstevnicový graf vlivu doby kondicionování a teploty kondicionování na pevnost želatinového gelu	51
Obrázek 16 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na teplotu tuhnutí želatinového gelu	52
Obrázek 17 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na teplotu tuhnutí želatinového gelu	52
Obrázek 18 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na teplotu tuhnutí želatinového gelu	53
Obrázek 19 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a doby kondicionování na teplotu tání želatinového gelu	54
Obrázek 20 Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty kondicionování na teplotu tání želatinového gelu	54
Obrázek 21 Vrstevnicový graf vlivu doby kondicionování a teploty kondicionování na teplotu tání želatinového gelu	55

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Složení aminokyselin v mase [12]	13
Tabulka 2 Množství minerálů a stopových prvků v mase [12,14].....	14
Tabulka 3 Výsledky analýzy vstupní analýzy	30
Tabulka 4 Schéma experimentů faktorového plánování.....	31
Tabulka 5 Přepočítávací faktory pro stanovení pevnosti gelu želatinového gelu.....	34
Tabulka 6 Výsledné výtěžky dílčích frakcí včetně bilance hmotnosti	44
Tabulka 7 Souhrn základních charakteristik 1. a 2 frakcí želatin	49
Tabulka 8 Souhrn potravinářských zkoušek 2. frakcí želatin	56
Tabulka 9 Porovnání želatinových vlastností s ostatními literárními studii	59

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Produktový list-enzym Protamex

PŘÍLOHA P I: PRODUKTOVÝ LIST-ENZYM PROTAMEX