

Zpracování vybrané rybí tkáně na kolagenní produkty

Anna Plzáková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Anna Plzáková
Osobní číslo:	T22984
Studijní program:	B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace:	Chemie a analýza potravin
Forma studia:	Kombinovaná
Téma práce:	Zpracování vybrané rybí tkáně na kolagenní produkty

Zásady pro vypracování

- V literární studii se zaměřte na současný stav řešené problematiky a kriticky jej zhodnoťte.
- Navrhněte technologický postup zpracování vybraných rybích kolagenních tkání na kolagenní produkty (želatiny/hydrolysáty).
- Vyhodnoťte stupeň konverze suroviny na připravené produkty. Zaměřte se na charakterisaci připravených produktů. Navrhněte optimální procesní podmínky zpracování rybiho kolagenu na želatiny, respektive hydrolysáty.
- Výsledky měření zpracujte vhodným softwarem, proveďte diskusi a zhodnoťte přínos práce pro vědu a praxi.

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

Seznam doporučené literatury:

1. Simpson, B.K.; Aryee, A.N.A.; Toldrá, F. Byproducts from Agriculture and Fisheries: Adding Value for Food, Feed, Pharma, and Fuels. John Wiley & Sons Ltd.: Chichester, 2020, 722 p.
2. Alipal, J.; Mohd Pu'ad, N.A.S.; Lee, T.C.; Nayan, N.H.M.; Sahari, N.; Basri, H.; Idris, M.I.; Abdullah, H.Z. A review of gelatin: properties, sources, process, applications, and commercialization. *Mater. Today: Proc.* 2021, 42, 240–250.
3. Badway, H.M.R.; Abd El-Moniem, S.M.; Soliman, A.M.; Rabie, M.A. Physicochemical properties of gelatin extracted from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Nile perch (*Lates niloticus*) fish skins. *Zagazig J. Agric. Res.* 2019, 46, 1529–1537.

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

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- 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 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Kolagen a jeho hydrolyzáty nacházejí široké uplatnění v potravinářství, farmacii, medicíně i kosmetice. Vzhledem k rostoucí poptávce po těchto látkách je žádoucí hledat nové, udržitelné a alternativní zdroje kolagenu. Tato práce se zaměřuje na využití vedlejších produktů ze zpracování štiky obecné (*Esox lucius*), konkrétně hlavy, kosti a ploutve, jako suroviny pro přípravu kolagenních hydrolyzátů. V praktické části byly analyzovány vybrané části těla štiky na obsah kolagenu a optimalizovány podmínky enzymatické hydrolýzy za použití enzymu Protamex. Připravené želatiny a hydrolyzáty byly dále hodnoceny z hlediska fyzikálně-chemických vlastností, jako je výtěžnost, schopnost vázat vodu a tuky, emulzifikační kapacita a stabilita. Výsledky ukazují, že štičí odpadní suroviny mají vysoký obsah kolagenu, ale ne všechny vykazují vhodné funkční vlastnosti pro potravinářské využití. Práce rovněž diskutuje možnosti využití vedlejších složek (pigment, tuk) a návrhy pro další optimalizaci procesu.

Klíčová slova: kolagen, kolagenní hydrolyzáty, štika obecná, enzymatické opracování.

ABSTRACT

Collagen and its hydrolysates are widely used in the food, pharmaceutical, medical, and cosmetic industries. Due to the growing demand for these compounds, it is necessary to search for new, sustainable and alternative sources of collagen. This thesis focuses on the use of by-products from the processing of northern pike (*Esox lucius*), specifically heads, bones, and fins, as raw material for the preparation of collagen hydrolysates. In the experimental part, selected fish parts were analyzed for collagen content, and extraction conditions were optimized using the enzyme Protamex. The resulting gelatins and hydrolysates were evaluated for their physicochemical properties, including yield, water- and fat-binding capacity, emulsifying capacity, and stability. The results show that pike processing by-products contain a high amount of collagen, although not all exhibit suitable functional properties for food applications. The thesis also discusses the potential use of side fractions (pigment, fat) and provides suggestions for further process optimization.

Keywords: collagen, collagen hydrolysates, northern pike, enzymatic processing.

Ráda bych poděkovala panu prof. Ing. Pavlovi Mokrejšovi, Ph.D. za trpělivost, a za cenné rady a připomínky během psaní bakalářské práce. Dále děkuji paní laborantce Petře Elšíkové za ochotu a asistenci při práci v laboratoři.

„Jestliže jde vše podle plánu, stala se někde chyba.“ Murphyho zákon

OBSAH

ÚVOD A MOTIVACE	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 KOLAGEN	13
1.1 ROLE KOLAGENU V LIDSKÉM TĚLE	14
1.2 HYDROLYZÁTY A JEJICH FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI	15
1.3 ZPŮSOBY VYUŽITÍ KOLAGENU A KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ	16
2 ŠTIKA OBECNÁ	18
2.1 SPOTŘEBA RYB	20
3 METODY PŘÍPRAVY KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ	22
3.1 ACIDOBAZICKÁ HYDROLÝZA	22
3.2 ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA	23
3.3 FERMENTACE	24
4 VYUŽITÍ TEORETICKÝCH POZNATKŮ PRO NÁVRH EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI	26
II PRAKTICKÁ ČÁST	27
5 MATERIÁLY A METODY	28
5.1 MECHANICKÉ ZPRACOVÁNÍ VSTUPNÍ SUROVINY	28
5.2 VSTUPNÍ ANALÝZA	29
5.2.1 Stanovení obsahu sušiny	29
5.2.2 Stanovení obsahu minerálních látek	30
5.2.3 Stanovení tuku	31
5.2.4 Stanovení celkového obsahu dusíku	32
5.2.5 Stanovení obsahu kolagenu	34
5.3 ZHODNOCENÍ VSTUPNÍ ANALÝZY SUROVIN	35
5.4 VÝSTUPNÍ ANALÝZY	36
5.4.1 Stanovení vodu zadržující kapacity	36
5.4.2 Stanovení tuk vázací kapacity	37
5.4.3 Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze	38
5.4.4 Viskozita a čirost želatinového roztoku	39
6 PŘÍPRAVA KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ	40
6.1 PŘEČIŠTĚNÍ SUROVINY	41
6.2 ODTUČNĚNÍ SUROVINY	42
6.3 DEMINERALIZACE SUROVINY	43
6.4 POSTUP PŘÍPRAVY KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ – ŠTIČÍ HLAVY	44
6.5 ZHODNOCENÍ PRACOVNÍHO POSTUPU	47
6.6 POSTUP PŘÍPRAVY KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ – ŠTIČÍ KOSTRY	48

7	VÝSLEDKY A DISKUZE	49
7.1	HMOTOVÁ BILANCE PROCESU	49
7.2	VÝTĚŽNOST PROCESU	50
7.3	ANALÝZA KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ	52
	ZÁVĚR.....	54
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	56
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	60
	SEZNAM TABULEK	61
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	62
	SEZNAM PŘÍLOH.....	64

ÚVOD A MOTIVACE

Kolagen a jeho hydrolyzáty nacházejí uplatnění v celé řadě průmyslových odvětví – od medicíny a farmacie přes kosmetiku až po potravinářství. Vzhledem k rostoucí poptávce po těchto látkách je nezbytné hledat nové, alternativní a zároveň udržitelné zdroje kolagenu. Mezi nejnovější a perspektivní alternativy patří mořští a sladkovodní živočichové, přičemž vedlejší produkty z jejich zpracování – jako jsou hlavy, kosti či ploutve – představují dosud nedostatečně využívaný materiál s významným potenciálem. Výzkum zaměřený na sladkovodní ryby, jako je štika obecná (*Esox lucius*), umožňuje nejen efektivní zhodnocení lokálně dostupné suroviny, ale zároveň přispívá ke snižování množství biologického odpadu a celkové ekologické zátěže. Vedle environmentálních a ekonomických výhod se kolagen z těchto zdrojů může díky svým specifickým vlastnostem uplatnit i v oblasti výživy a zdravotní prevence – například jako součást podpůrné péče o klouby nebo jako součást vývoje funkčních potravin.

Teoretická část této práce se věnuje kolagenu jako surovině pro přípravu hydrolyzátů, jeho roli v lidském těle a možném využití kolagenových hydrolyzátů. Dále je představena štika a celková spotřeba ryb v České republice na osobu za rok. Tuto část uzavírají samotné metody přípravy kolagenu, konkrétně se jedná o acidobazickou hydrolýzu, enzymatickou hydrolýzu a fermentaci.

Praktická část je zaměřena na přípravu želatin pomocí enzymatické hydrolýzy za využití enzymu Protamex. V této části je podrobně popsán postup přípravy kolagenních hydrolyzátů včetně mechanického zpracování suroviny, vstupní analýzy suroviny a výstupní analýzy připravených kolagenních hydrolyzátů. Vstupní analýza suroviny zahrnuje stanovení obsahu sušiny, minerálních látek, tuku, celkového obsahu dusíku a kolagenu. Výstupní analýza připravených kolagenních hydrolyzátů obsahuje stanovení vodu zadržující kapacity, tuk vázací kapacity, emulzifikační kapacity a stabilitu emulze, viskozitu a čirost želatinového roztoku. Celý tento proces, respektive jeho hmotnostní bilance je zaznamenána ve výsledném grafu, která společně s naměřenými výsledky uzavírají tuto práci.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOLAGEN

Kolagen je fibrilární protein tvořící základní složku extracelulární matrice v pojivových tkáních, jako jsou kůže, vazy, šlachy a kostní struktury. [1] Z hlediska zastoupení představuje přibližně 25–30 % celkového obsahu proteinů u většiny živočichů. [2] Jeho molekulární struktura se skládá ze tří polypeptidových řetězců svinutých do charakteristické trojitě šroubovice (triple helix), přičemž každý řetězec je tvořen opakujícím se tripletovým motivem Gly-X-Y, kde X a Y bývají nejčastěji obsazeny prolinem a hydroxyprolinem. Tyto aminokyseliny významně přispívají k termodynamické stabilitě kolagenní šroubovice. [3] Kolagen se rutinně získává z vedlejších produktů živočišného původu, zejména z hovězích a vepřových tkání, nicméně tyto zdroje jsou spojeny s rizikem přenosu zoonóz (např. bovinní spongiformní encefalopatie, přenosné spongiformní encefalopatie, slintavka a kulhavka) a mohou být problematické z etických či náboženských hledisek.

Vzhledem k těmto omezením roste zájem o alternativní zdroje kolagenu, především o kolagen mořského a sladkovodního (říčního) původu. Tyto typy kolagenu jsou extrahovány z odpadních tkání mořských i vnitrozemských ryb (např. kůže, šupiny, kostry), čímž se zároveň podporuje udržitelné zpracování rybářského odpadu. Kolagen z ryb vykazuje srovnatelné bioaktivní a biochemické vlastnosti s kolagenem savčího původu, přičemž navíc nabízí vyšší biokompatibilitu, nižší imunogenicitu a lepší rozpustnost při nižších teplotách. Jeho využití se tak jeví jako perspektivní nejen z hlediska zdravotní bezpečnosti, ale i environmentální udržitelnosti a širší kulturní akceptovatelnosti. [4]

Kolagen disponuje specifickými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které vycházejí z jeho unikátní molekulární struktury. Je charakteristický vysokou pevností v tahu a značnou odolností vůči mechanickému namáhání, což zajišťuje ochranu tkání před poškozením. Tyto vlastnosti se zvyšují v závislosti na věku a míře zesíťování jeho vláken. [5] Díky své prostorové konformaci a schopnosti vázat vodu se kolagen ve vodním prostředí nerozpouští a zároveň je rezistentní vůči proteolytickým enzymům, jako jsou trypsin, chymotrypsin či pepsin. [6] Jeho stabilita je ovlivněna vnějšími faktory, jako je teplota, pH nebo koncentrace solí a elektrolytů; proces tepelné denaturace probíhá ve dvou fázích při teplotách mezi 5–60 °C. [7] Porovnáme-li tepelnou stabilitu kolagenu z rybí kůže (FSC) a kolagenu z Achillovy šlachy skotu (BAT), výsledky diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) naznačují, že kolagen z ryb vykazuje nižší odolnost vůči vyšším teplotám. Teplotní maximum absorpce tepla, které odpovídá procesu tepelné denaturace, bylo u FSC detekováno při 147 ± 10 °C, zatímco u BAT dosahovalo hodnoty 220 ± 5 °C. U obou typů

kolagenu se uvolňování volné a vázané vody odehrává ve shodném teplotním rozmezí 57–87 °C. Navzdory nižší tepelné stabilitě může být FSC za určitých podmínek vhodnou alternativou k BAT, zejména v případech, kdy následné technologické zpracování nevyžaduje teploty přesahující 147 °C. Tato zjištění rozšiřují možnosti praktického využití rybího kolagenu v aplikacích, kde je prioritou jiný než tepelný typ stability. [8] Rozpustnost kolagenu lze docílit použitím solí, kyselin, zásad nebo specifických enzymů. Zesíťování kolagenových molekul výrazně přispívá ke zvýšení jejich strukturální stability. [7]

Kolagen je základní strukturální protein v lidském těle, přičemž existuje 28 různých typů, které se liší svou strukturou, lokalizací a funkcí. Tyto typy jsou přítomny v široké škále tělesných tkání, včetně kůže, kostí, rohovky, cév, chrupavek, střev, žláz, srdce, ledvin, mozku a kosterních svalů, kde hrají klíčovou roli při poskytování pevnosti, stability a propojení buněk. [9] Kolageny se dělí do dvou hlavních kategorií: fibrilární a nefibrilární. Fibrilární kolageny, jako jsou typy I, II, III, V, XI, XIV a XXVII, tvoří asi 90 % celkového kolagenu v těle a jsou hlavními složkami extracelulární matrix. [10] Mají strukturu tvořenou trojitými šroubovicemi, které se skládají ze tří polypeptidových řetězců, v nichž se pravidelně opakuje sekvence Gly-Pro-Hyp. Tyto šroubovice se spojují do fibril, které poskytují tkáním potřebnou pevnost. Nefibrilární kolageny, které představují asi 10 % celkového kolagenu, se liší od fibrilárních svou strukturou, umístěním i funkcí. Mezi nefibrilární kolageny patří kolageny, které se podílejí na vytváření bazální membrány, síťových struktur nebo kolageny s přerušenými šroubovicemi. Rozmanitost kolagenových typů je způsobena různými molekulárními izofory, kombinacemi α -řetězců, nadmolekulárními strukturami, různými variantami sestřihu mRNA a odlišnými promotory, což umožňuje jejich specifické působení v různých typech tkání. [11]

1.1 Role kolagenu v lidském těle

Kolagen hraje v lidském těle zásadní roli jak na strukturální, tak na biologické úrovni. Představuje základní strukturální bílkovinu, tvořící přibližně jednu čtvrtinu všech tělních proteinů. Je nezbytný pro integritu a funkčnost pojivových tkání, jako jsou kůže, šlachy, kosti, chrupavky, vazy či cévy. V těchto strukturách zajišťuje mechanickou pevnost, pružnost a stabilitu, a zároveň vytváří podpůrné prostředí pro buňky. Kromě své stavební role však kolagen zasahuje i do řady biochemických a buněčných procesů. Při vazbě na integriny a další mediátorové proteiny stimuluje přenos buněčných signálů, podporuje proliferaci a migraci buněk, čímž se aktivně podílí na regeneraci tkání a hojení ran. Kolagen

rovněž interaguje s proteoglykany, čímž posiluje mechanickou odolnost tkání. Jeho syntéza a degradace jsou řízeny komplexní sítí enzymů, včetně kolagenáz a chaperonů, které udržují dynamickou rovnováhu v extracelulární matrix. [12]

Kromě strukturálních a regeneračních funkcí má kolagen i výrazný biologický a imunologický význam. Působí jako ochranný faktor proti patologickým stavům – brání tvorbě nádorových buněk, omezuje metastazování, angiogenezi a přispívá k formování nádorového mikroprostředí. Interakcí s imunitními proteázami C1r a C1s se aktivně podílí na spuštění imunitní odpovědi a zvyšuje efektivitu imunitního systému. Kolagen je rovněž schopen vázat různé ligandy, včetně polyaniontových látek, jako jsou lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL), čímž může přispívat ke snižování jejich koncentrace v krvi. Díky své chemotaktické funkci a schopnosti ovlivňovat buněčnou migraci hraje kolagen zásadní roli v procesech hojení, a to nejen jako fyzická opora, ale i jako aktivní regulační složka buněčné komunikace a imunitní obrany. [13]

1.2 Hydrolyzáty a jejich fyzikálně-chemické vlastnosti

Kolagenové hydrolyzáty vznikají štěpením původních kolagenových molekul na kratší peptidové řetězce, což zajišťuje jejich lepší vstřebatelnost a biologickou účinnost. Tento proces, známý jako hydrolýza, může být realizován buď chemickými činidly, nebo pomocí enzymů – přičemž enzymatická cesta je často upřednostňována díky své selektivitě a šetrnému průběhu. Při výrobě se kolagen nejprve extrahuje (kyselinami nebo zásadami), následně je tepelně upraven za účelem narušení jeho trojitě helikální struktury a poté enzymaticky hydrolyzován například pomocí pepsinu, papainu nebo alkalázy. Výběr konkrétního způsobu zpracování a použitých enzymů přímo ovlivňuje vlastnosti výsledného hydrolyzátu, jako jsou jeho rozpustnost, bioaktivita a vhodnost pro aplikaci v různých průmyslových odvětvích. [12]

Peptidy získané tímto způsobem mají obvykle nízkou molekulovou hmotnost, zpravidla mezi 3 a 6 kDa, což zajišťuje jejich snadnější začlenění do finálních produktů a lepší funkční vlastnosti. Díky této charakteristice se kolagenové hydrolyzáty uplatňují především v kosmetickém, farmaceutickém a potravinářském sektoru. Nižší molekulová hmotnost přispívá k lepší rozpustnosti a antioxidačním účinkům, které jsou žádoucí v produktech pro zdraví a krásu. Na rozdíl od želatiny, která je výsledkem pouze částečné hydrolýzy a obsahuje vyšší molekulové frakce, jsou hydrolyzáty výrazně rozštěpeny a bioaktivnější.

Přeměna kolagenu či želatiny na takto upravené formy přináší přidanou hodnotu a umožňuje jejich efektivní využití v moderních biomateriálových a nutričních aplikacích. [13]

1.3 Způsoby využití kolagenu a kolagenních hydrolyzátů

Kolagen získaný z vodních živočichů představuje hodnotný biologický materiál s širokým aplikačním potenciálem, zejména v oblasti biomateriálového výzkumu. Díky zachování trojšroubovicové struktury, která je klíčová pro jeho biologickou funkčnost, nabízí tento typ kolagenu stabilitu a mechanické vlastnosti nezbytné pro tvorbu struktur, jako jsou hydrogely. Tyto materiály lze dále využít například při regeneraci měkkých tkání včetně chrupavek, což z kolagenu činí důležitou součást vývoje nových materiálů v oblasti tkáňového inženýrství a medicíny. Vzhledem k tomu, že se jedná o surovinu získanou z vedlejších produktů rybářského a zpracovatelského průmyslu, její využití navíc přispívá k celkové udržitelnosti a efektivnímu zhodnocení biologického odpadu. [14] Kolagen ze sladkovodních druhů, jako je štika, může rovněž představovat bezpečnější alternativu k savcím kolagenům, a to jak z hlediska dostupnosti, tak i nižšího rizika přenosu patogenů. [9]

Vedle medicínského využití nachází kolagen významné uplatnění i v potravinářském průmyslu, kde je ceněn především pro své funkční a technologické vlastnosti. [15] Může být přidáván do masných produktů, jako jsou párky či šunky, kde slouží jako pojivo a plnivo, čímž přispívá ke zlepšení vaznosti, textury a stability výrobků při tepelném zpracování a skladování. [16] Další perspektivní oblastí je využití kolagenu jako filmotvorného materiálu pro výrobu ekologicky rozložitelných obalů, které mohou částečně nahradit konvenční plastové materiály. Kromě toho se kolagen uplatňuje i při výrobě střev pro uzeniny, kde jeho schopnost vytvářet stabilní, pružné sítě umožňuje efektivní zpracování během kontinuálních technologických operací. Tyto vlastnosti činí z kolagenu univerzální a cennou surovinu s významem jak pro zdravotnictví, tak i pro moderní potravinářství a udržitelný rozvoj. [17]

Kolagen získávaný z ryb, jak sladkovodních, tak mořských, se stále častěji uplatňuje v kosmetickém průmyslu díky svým hydratačním a obnovujícím účinkům. [4] Kolagen z lososí kůže je hojně využíván jako přirozený zvlhčovač, který pomáhá udržet rovnováhu vlhkosti v pokožce a minimalizovat transepidermální ztrátu vody – proces, při němž voda uniká z těla přes kůži do okolního prostředí. Tím se přispívá ke zlepšení elasticity, hebkosti a celkového vzhledu pleti. [18] Studie dále ukazují, že kolagen extrahovaný z kůže karase

může být v kombinaci s přírodními bioaktivními látkami začleněn do hydrogelů, které se uplatňují nejen při hojení ran, ale i v dermokosmetice. [19] Zajímavou formou aplikace jsou rovněž kolagenové nitě – jemná vlákna zaváděná do podkoží, která aktivují tvorbu vlastního kolagenu, zpevňují pokožku a zvyšují její pružnost. Tyto biokompatibilní struktury představují oblíbenou alternativu k invazivním estetickým zákrokům. Rybí kolagen je obecně považován za bezpečnou a účinnou složku kosmetických přípravků díky své dobré snášenlivosti a nízké toxicitě. [20]

2 ŠTIKA OBECNÁ

Štika obecná (*Esox lucius*) představuje vrcholového sladkovodního predátora s výrazně hydrodynamickou morfologií. Tělo má protáhlý tvar, přičemž u mladších jedinců je válcovité, zatímco u větších dospělých jedinců zploštělé ze stran. Hlava je nápadná, s dlouhým, zploštělým rypcem, širokými ústy a silnými zuby umístěnými nejen na čelistech, ale také na patře, vomeru (kost radličná) i jazyku. Relativně velké oči odrážejí adaptaci na vizuálně řízený způsob života typický pro mělké a prosvětlené biotopy. Nepárové ploutve – hřbetní, ocasní a řitní – jsou posunuty do zadní části těla, což optimalizuje schopnost rychlého výpadu směrem ke kořisti. Ocasní ploutev je vykrojená, párové ploutve (břišní a prsní) jsou relativně malé. Tělo pokrývají cykloidní šupiny, přičemž je postranní čára rovná a kompletní. [21]

Tento druh se vyskytuje na velkém území, které zahrnuje většinu Evropy, severní Asii a Severní Ameriku. Přirozeně osidluje diverzifikovaná sladkovodní prostředí, zahrnující jak říční systémy, tak stojaté vody – jezera či tůně. Vyskytuje se rovněž i v mírně slaných (brakických) vodách, například v pobřežních oblastech Baltského moře, kde byly popsány i populace schopné reprodukce v brakickém prostředí. Díky své výrazné ekologické plasticitě osidluje různorodá stanoviště, přičemž výběr konkrétní lokality ovlivňuje dostupnost potravy, struktura prostředí a vhodnost podmínek pro výtěr. [21] Štiky se obvykle rozmisťují v prostředí tak, aby maximalizovaly svůj růst a přežití, přičemž využívají různá stanoviště podle své velikosti a fáze vývoje. [22]

Štika se vyznačuje vrcholovým postavením v potravinovém řetězci a nízkou populační hustotou ve srovnání s nedravými druhy. Pro úspěšný chov či podporu přirozených populací jsou klíčové vhodné habitatové podmínky. Nezastupitelnou roli v životním cyklu štiky hraje vodní vegetace – zejména v období výtěru a raného vývoje, kdy slouží jako úkryt pro jikry i nedospělé jedince. Komplexní vegetační struktury poskytují ochranu před predací a kanibalismem a vytvářejí vhodné mikroklima pro růst. Optimální třecí a odchovné prostředí zahrnuje vegetační pokryv alespoň 35–70 %, přičemž stabilní vodní hladina a dobrá průhlednost vody významně ovlivňují úspěšnost reprodukce. V podmínkách regulovaných vodních ploch se ukazuje, že méně kolísavý vodní režim může mít na vývoj mladých štik příznivější vliv než přirozené výkyvy vodní hladiny. [23]

Dominantní složku potravy štik tvoří jiné ryby. Velikost ulovené kořisti úzce souvisí s velikostí samotného predátora – jedná se o tzv. „predační okno“. Navzdory této adaptabilitě

projevuje štika preferenci ke specifickým velikostem kořisti, v některých případech zvládne dokonce ulovit i větší jedince, než by odpovídalo velikosti její tlamy. [24] Úspěšnost lovu také ovlivňuje chování kořisti, například jejich schopnost vnímat nebezpečí pomocí zraku, čichu nebo jiných smyslů. Kanibalismus je u štik běžným jevem, který může indikovat nedostatek potravy, ale i samotnou konkurencí mezi jedinci. [21] Výzkumy ukázaly, že štika loví stejně úspěšně, ať je kořist sama nebo v hejnu. Změny v potravních zvyklostech během růstu nejsou vždy výrazné a odvíjejí se od dostupnosti potravy v daném prostředí. V období nízké koncentrace výskytu kořisti loví štiky jiné vodní živočichy, jako je hmyz nebo pijavice, což však může vést ke zpomalení jejich vývoje. Byla zaznamenána i schopnost přizpůsobit se výskytu nových druhů, včetně invazních jako je rak červený a schopnost štiky využívat je jako potravu. I přes to, že tento druh dokáže tvořit významnou složku potravy, štiky často nedokážou zabránit populační expanzi raka. Celkově je štika velmi přizpůsobivý dravec, který reaguje na nabídku potravy ve svém okolí. [23]

Štika obecná byla zvolena jako zdroj biologického materiálu na základě svých specifických morfologických a ekologických charakteristik, které z ní činí vhodný model pro analýzu kolagenních struktur. V rámci této práce byly jako suroviny využity nekonzumní části těla – konkrétně hlavy, kosti a ploutve – které představují bohatý zdroj kolagenu, především typu I. Tyto tkáně jsou běžně považovány za vedlejší produkty rybářského a zpracovatelského průmyslu, avšak současně nabízejí významný potenciál pro další využití ve výzkumu a biotechnologiích. Štika jako vrcholový predátor sladkovodních ekosystémů disponuje výrazně vyvinutou opěrnou a pohybovou soustavou, adaptovanou na rychlý výpad a aktivní lov. To se odráží ve struktuře jejích kostí a vazivových tkání, které mohou vykazovat odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti ve srovnání s jinými druhy ryb s odlišným způsobem života. Ekologická plasticita štiky, stejně jako její široké geografické rozšíření, navíc umožňují srovnání vlivu prostředí na kvalitu a charakter kolagenního materiálu. Výběr štiky byl rovněž podmíněn dostupností vzorků z lokálních zdrojů a možností zajištění standardizovaných podmínek odběru.

2.1 Spotřeba ryb

Podle odborníků na lidskou výživu je optimum spotřeby 17 kg ryb na osobu za rok. Spotřeba ryb v České republice v letech 2014–2023 vykazuje mírné kolísání, avšak bez výrazného trendu růstu či poklesu. Celková roční spotřeba ryb na obyvatele se v uvedeném období pohybovala v rozmezí 5,1 až 6,0 kg. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány v roce 2019 (6,0 kg/osobu), zatímco nejnižší spotřeba byla evidována v roce 2016 (5,1 kg/osobu). V posledních letech se spotřeba držela na úrovni přibližně 5,6 až 5,9 kg na osobu ročně. Z této celkové spotřeby ryb tvoří sladkovodní ryby tuzemského původu stabilní, ale poměrně nízký podíl. V letech 2014 až 2019 se jejich spotřeba pohybovala kolem 1,3–1,4 kg na osobu a rok. Od roku 2020 dochází k mírnému poklesu – v roce 2021 klesla na 1,2 kg, v roce 2022 na 1,1 kg a v roce 2023 se opět mírně zvýšila na 1,2 kg. Tento vývoj ukazuje, že ačkoli celková spotřeba ryb zůstává relativně stabilní, podíl domácí sladkovodní produkce na ní mírně klesá. [25]

V České republice byl v období 2020–2023 zaznamenán mírně rostoucí trend v tržní produkci štiky obecné. V roce 2020 dosáhla produkce hodnoty 103 tun živé hmotnosti, v následujícím roce vzrostla na 116 tun, přičemž tato hodnota zůstala stabilní i v roce 2022. V roce 2023 došlo k dalšímu nárůstu, a to na 125 tun. [26]

Naopak sportovní výlov štiky na udici v tekoucích vodách v témže období vykazoval klesající tendenci. V roce 2020 bylo v rámci sportovního rybolovu uloveno 135 tun živé hmotnosti, v roce 2021 již pouze 102 tun a v letech 2022 a 2023 byl zaznamenán shodný objem 94 tun. Tyto údaje odrážejí aktuální vývoj v intenzifikaci chovu štiky, stejně jako změny ve výskytu a dostupnosti této dravé ryby ve volných vodách. [25]

Zvyšování spotřeby masa sladkovodních ryb v České republice lze považovat za multidimenzionální výzvu, která si vyžaduje systematický a koordinovaný přístup všech aktérů napříč celým produkčně-distribučním řetězcem. Za jeden ze stěžejních předpokladů se považuje zajištění kontinuální dostupnosti rybích produktů v průběhu celého roku a jejich efektivní začlenění do běžné nabídky maloobchodních sítí. Z hlediska spotřebitelského chování je nezbytné reflektovat preference související se způsobem technologické úpravy výrobků – preferovány jsou zejména formy s delší trvanlivostí, vyšší mírou opracování a balením přizpůsobeným velikosti běžné domácnosti. Jedním z rozhodujících faktorů při výběru je komfort konzumace, který výrazně ovlivňuje výskyt kostí v rybí svalovině. Je proto žádoucí směřovat k technologickému zpracování suroviny tak, aby byl jejich výskyt

minimalizován, případně zcela eliminován. Zároveň se otevírá prostor pro vyšší zhodnocení méně využívaných částí ryb, které jsou spotřebiteli v kontextu nákupu živé ryby často přehlíženy, přestože mohou mít nutričně i technologicky zajímavý potenciál. [25]

Vedlejší produkty vznikající při zpracování ryb, které dosud nejsou využívány pro lidskou výživu ani jinak hospodárně zhodnoceny, mohou představovat až 50 % živé hmotnosti ryby. Tyto části jsou přitom cenným zdrojem bílkovin, tuků, minerálních látek a vitamínů, a jejich efektivní využití je z hlediska udržitelnosti a ekonomiky zpracování ryb klíčové. Právě na tyto vedlejší produkty a jejich zpracování se zaměřuje tato práce. [27]

3 METODY PŘÍPRAVY KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ

Vedlejší suroviny vznikající při zpracování ryb, zahrnující zejména hlavy, kosti, ploutve a kůži, představují významný zdroj kolagenu a dalších strukturálních bílkovin, jež lze za vhodných podmínek přeměnit na nízkomolekulární bioaktivní peptidy. Tyto peptidy, složené zpravidla z 2–20 aminokyselinových zbytků, vykazují řadu biologicky příznivých účinků, jako jsou antioxidační, antihypertenzní, antimikrobiální či imunomodulační aktivity. Využití těchto surovin přispívá nejen ke snižování potravinového odpadu, ale rovněž představuje udržitelný přístup k produkci vysoce hodnotných látek s potenciálním uplatněním v potravinářství, farmacii či kosmetice. Mezi hlavní technologické přístupy používané k uvolnění těchto peptidů patří acidobazická hydrolýza, enzymatická hydrolýza a fermentace.

Uvedené metody představují klíčové přístupy pro efektivní valorizaci vedlejších surovin rybího původu a poskytují perspektivní základ pro vývoj funkčních složek s využitím v různých průmyslových odvětvích. [28]

3.1 Acidobazická hydrolýza

Acidobazická hydrolýza využívá střídavého působení kyselých a zásaditých roztoků k narušení primární a sekundární struktury bílkovin a uvolnění kolagenu. Proces obvykle začíná ošetřením materiálu zásadou (např. NaOH) za míchání při kontrolované teplotě, jehož cílem je odstranění nekolagenních proteinů a jiných nežádoucích složek. [29] Následně je materiál ošetřen kyselinou (např. HCl), promyt, neutralizován a podroben extrakci v teplé vodě. V některých případech je součástí postupu i odtučnění pomocí organických rozpouštědel a následná dialýza. Takto připravený hydrolyzát lze následně lyofilizovat. Tato metoda je aplikovatelná nejen na kůži, ale také na rybí šupiny, kosti a další skeletální komponenty. [30]

Chemická hydrolýza, ať už kyselá nebo zásaditá, se uplatňuje zejména v případech, kdy je požadován vysoký stupeň rozkladu bílkovin. Výsledné hydrolyzáty přispívají ke zlepšení technologických a funkčních vlastností, jako je emulgační schopnost, pěnivost či viskozita, což umožňuje jejich využití jako potravinářských přídatných látek nebo součástí parenterální výživy díky vysokému obsahu volných aminokyselin. Nevýhodou těchto metod je však obtížná kontrolovatelnost procesu a neselektivní štěpení proteinů, které často vede ke vzniku nežádoucích vedlejších produktů a k vyšší spotřebě chemických činidel. [31]

3.2 Enzymatická hydrolýza

Enzymatická hydrolýza představuje efektivní metodu rozkladu bílkovin, při níž dochází k selektivnímu štěpení peptidových vazeb enzymy s proteolytickou aktivitou. Tento proces umožňuje cílené a kontrolované získávání proteinových hydrolyzátů s požadovanými funkčními vlastnostmi. V posledních letech se enzymatická hydrolýza uplatňuje při zpracování různorodých rostlinných i živočišných surovin. Proteolytické enzymy se získávají z živočišných (např. trypsin, pepsin), rostlinných (papain, bromelain) i mikrobiálních zdrojů, přičemž z hlediska průmyslové dostupnosti a ekonomické výhodnosti dominují enzymy mikrobiálního původu, jako jsou Alkaláza, Flavorzym, Neutráza, Protamex nebo Savináza.

Z technologického hlediska má enzymatická hydrolýza řadu výhod. Na rozdíl od chemických metod nevyužívá kyseliny, zásady ani organická rozpouštědla, čímž eliminuje nežádoucí změny struktury, jako je racemizace aminokyselin. Výsledné hydrolyzáty tak splňují požadavky na bezpečnost a jsou vhodné pro lidskou spotřebu. Funkčnost enzymů je ovlivněna jejich specifitou i podmínkami procesu – zejména koncentrací enzymu a substrátu, pH, teplotou, viskozitou reakční směsi, dobou reakce a dalšími faktory, které ovlivňují aktivitu enzymu a charakter konečných produktů. [30]

Značnou pozornost si získaly bioaktivní peptidy vznikající enzymatickým štěpením, zejména díky svým antioxidačním účinkům. Tyto vlastnosti jsou často spojovány s přítomností specifických aminokyselin, jako jsou histidin, cystein, methionin, leucin nebo tyrosin, které se vyznačují schopností vázat volné radikály. Významnou výhodou enzymatických procesů je také jejich adaptabilita pro různé suroviny a možnost efektivního měřítkování do průmyslové výroby.

Použití komerčních enzymů umožňuje zefektivnit výrobu a současně snížit náklady na finální produkty. Například Sumaya-Martínez a kol. prokázali, že enzymatické zpracování vedlejších produktů kapra obecného (*Cyprinus carpio*) pomocí enzymu Flavorzymu vedlo ke vzniku hydrolyzátů s příznivými nutričními a funkčními vlastnostmi. Úprava technologických parametrů, jako je hodnota pH, umožňuje řídit aktivitu enzymu a ovlivnit vlastnosti výsledných peptidů.

Výroba bioaktivních peptidů prostřednictvím enzymatického štěpení představuje nejen funkčně účinný, ale zároveň i ekologicky šetrný přístup. Vzhledem k rostoucím požadavkům na udržitelnou výrobu a zdraví prospěšné potraviny se tato technologie jeví jako perspektivní

řešení. Výzkum v této oblasti se aktuálně soustředí na optimalizaci enzymatických procesů, vývoj nových enzymů a efektivní purifikační techniky, které umožní širší využití této metody i v ekonomickém měřítku. Enzymatická hydrolýza tak představuje strategický nástroj pro valorizaci vedlejších surovin a inovace v oblasti potravinářství, výživy i zdravotnictví. [31]

V rámci této práce byla zvolena enzymatická hydrolýza s využitím komerčně dostupného enzymu Protamex™, což je proteázový enzym produkovaný bakteriemi rodu *Bacillus*, vyráběný společností Novozymes A/S (Bagsværd, Dánsko). Tento enzym byl speciálně vyvinut pro potravinářské aplikace, zejména pro štěpení bílkovin, a splňuje požadavky na čistotu stanovené Společným výborem expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva i normami Food Chemicals Codex. [32] Optimální reakční podmínky pro jeho použití jsou v rozmezí pH 5,5–7,5 a při teplotě 35–60 °C. Deklarovaná enzymová aktivita činí 1,5 Ansonovy jednotky na gram, přičemž dávkování enzymu při hydrolýze se vyjadřuje v jednotkách AU na kilogram hrubého proteinu ve výchozí surovině. Inaktivace enzymu je zajištěna zahřátím na 85 °C po dobu 10 minut. [33]

3.3 Fermentace

Fermentace je biotechnologický proces, který využívá biochemické mechanismy přirozeně probíhající v různých vývojových fázích organismů. Tento proces se klasifikuje podle fyzikálně-chemických vlastností prostředí, ve kterém probíhá, a to buď jako fermentace v kapalném médiu (ponorná fermentace), nebo jako fermentace na pevném substrátu. Ponorná fermentace se odehrává v tekutém médiu, zatímco fermentace na pevném substrátu využívá pevné médium, které je pouze zvlhčeno pro podporu růstu mikroorganismů. Využití fermentace pro produkci bioaktivních peptidů a zlepšení nutriční kvality potravin se v posledních letech stalo předmětem intenzivního výzkumu, přičemž fermentační procesy umožňují zvýšit výtěžky a biologickou účinnost těchto látek. [30]

Fermentační procesy, které zahrnují mikroorganismy, umožňují štěpení bílkovin přítomných v substrátech, zejména v potravinách, prostřednictvím metabolických drah, při nichž mikroorganismy produkují proteázy a další hydrolytické enzymy. Tímto způsobem vznikají bioaktivní peptidy, které mohou zlepšit nejen nutriční hodnotu potravin, ale i jejich senzorické vlastnosti, jako je chuť a stabilita. Peptidy získané fermentací jsou navíc často lépe stravitelné než původní bílkoviny. K získání těchto peptidů se využívají různé mikroorganismy, například bakterie mléčného kvašení, které vykazují proteolytickou

aktivitu jak na buněčné stěně, tak uvnitř buňky, což umožňuje efektivní štěpení bílkovin v proteinovém médiu.

Fermentace hraje klíčovou roli i ve zlepšení nutričního profilu potravin. Příkladem je kefir, jehož zdravotní přínosy jsou přičítány nejen obsahu bioaktivních peptidů, ale i dalším biologicky účinným látkám, jako jsou antioxidanty. Významným pokrokem v oblasti fermentace je její využití pro zlepšení kvality bílkovin v různých substrátech, jako je čočka nebo sójová mouka, kdy se pro fermentaci používají specifické bakterie jako *Lactobacillus plantarum* a *Bacillus subtilis*. Tyto procesy mohou výrazně ovlivnit rozpustnost a biologickou aktivitu peptidů. Kromě toho fermentace zlepšuje využitelnost cukrů, vitamínů a minerálních látek a podporuje obsah polyfenolických sloučenin s antioxidačními vlastnostmi. [31]

4 VYUŽITÍ TEORETICKÝCH POZNATKŮ PRO NÁVRH EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI

Teoretická část této práce poskytla ucelený přehled o kolagenu jakožto strukturní bílkovině, jeho biologické funkci, molekulární struktuře, zdrojích a metodách izolace. Zvláštní důraz byl kladen na alternativní suroviny živočišného původu, zejména ryby, které představují ekologicky i ekonomicky zajímavý zdroj kolagenu. Klíčovým zjištěním bylo, že kolagen z vodních živočichů vykazuje odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti než kolagen savců, a to především v nižší tepelné stabilitě a jiné struktuře jednotlivých typů kolagenu, což je nezbytné zohlednit při nastavování extrakčních podmínek.

Tyto poznatky vytvořily základ pro návrh experimentální části práce, která se zaměřuje na využití vedlejších produktů ze štiky obecné (*Esox lucius*) k přípravě želatiny pomocí enzymatické hydrolyzy. Při tvorbě metodického postupu byly brány v potaz klíčové faktory ovlivňující výtěžnost a kvalitu výsledných produktů – zejména teplota a doba extrakce. Dále byly zohledněny specifické vlastnosti jednotlivých částí rybí suroviny, jako jsou hlavy, kosti a ploutve, včetně jejich obsahu kolagenu a tuku.

Na základě získaných teoretických poznatků si praktická část této práce klade za cíl zhodnotit obsah kolagenu ve vybraných částech štiky obecné, konkrétně v hlavách, kostech a ploutvích, a posoudit jejich vhodnost jako suroviny pro přípravu kolagenních hydrolyzátů. Dále se zaměřuje na optimalizaci podmínek extrakce kolagenu s ohledem na specifika rybí suroviny, především její tepelnou citlivost, a vychází přitom z poznatků uvedených v odborné literatuře. Práce si rovněž klade za cíl připravit želatiny a hydrolyzáty a analyzovat jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, jako jsou výtěžnost, schopnost vázat vodu a tuky, emulzifikační kapacita a stabilita. V neposlední řadě se zabývá hodnocením využitelnosti těchto produktů pro potravinářské účely a zvažuje alternativní způsoby zpracování a dalšího využití zbytkového materiálu vzniklého během extrakce.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 MATERIÁLY A METODY

Tato kapitola obsahuje podrobný popis přípravy vstupní suroviny pro následné použití při výrobě kolagenového hydrolyzátu, a také jsou zde obsaženy principy využitých metod, jak při vstupních analytických zkouškách, tak i při výstupních analytických zkouškách.

Používanými materiály byly polypropylenová tkanina s velikostí ok 0,5 μm (dále jen tkanina), drátěné síto s velikostí ok 1 mm (dále jen síto) a polyethylenová nádoba o objemu 10 l (dále jen polyethylenová nádoba). Pro enzymatickou hydrolýzu byl použit proteolytický enzym Protamex, který byl zakoupen od firmy BIOTECH s.r.o.. V rámci této práce byl vytvořen kolagen metodou enzymatické hydrolýzy s využitím enzymu Protamex, který působil na rybí surovinu při teplotě 10 °C po dobu 3 hodin. Hodnota pH byla udržována v rozmezí 6,5-7.

5.1 Mechanické zpracování vstupní suroviny

Vstupní surovinou byly odpadní produkty ze štiky obecné (*Esox lucius*), konkrétně se jednalo o hlavy, kostry a ploutve. Tato surovina byla dále rozdělena na dvě části, hlavy (experimenty č. 1-6) a kostry s ploutvemi (experimenty č. 7-12), se kterými se následně pracovalo odděleně. Suroviny byly zhomogenizovány na mlýnku s šajbou o velikosti 15 mm. Se zhomogenizovanou surovinou se dále postoupilo ke vstupní analýze a následnému zpracování suroviny na kolagen.



Obrázek 1 Proces homogenizace surovin

5.2 Vstupní analýza

Před samotným zpracováním suroviny bylo potřeba zjistit její vstupní hodnoty, díky kterým byl následně sestaven postup přípravy želatin.

5.2.1 Stanovení obsahu sušiny

Pro stanovení obsahu sušiny bylo na analytických vahách do Petriho misek naváženo 10 g suroviny, která byla posléze vložena do sušárny s cirkulací vzduchu na 103 °C a ponechána přes noc vysušit. Následující den byla surovina opětovně zvážena a přepočtena na procentuální obsah sušiny. Výpočet byl proveden dle vzorce 1. [34]

$$\% = \frac{m_k}{m_z} \cdot 100 \quad (1)$$

Kdy:

m_z hmotnost na začátku, navážka / g,

m_k hmotnost na konci / g.

Tabulka 1 Výsledky obsahu sušiny v surovině

Sušina štíčních hlav / %	Sušina kostí a ploutví / %
28,9	28,9
29,2	28,5
26,8	29,2
25,9	28,0
24,2	27,6
Průměrná sušina hlav / %	Průměrná sušina kostí a ploutví / %
27	28,5



Obrázek 2 Sušina štíčních hlav

5.2.2 Stanovení obsahu minerálních látek

Stanovení obsahu minerálních látek bylo provedeno z již vysušené suroviny. Na analytických vahách byl do porcelánových kelímků navážen 1 g suroviny. Kelímek se surovinou byl dále žihán nad plamenem. Po dostatečném vyžihání byl vložen do pece na 650 °C a spálen. Vychladlý popel suroviny byl následně znovu zvážen a přepočten na procentuální obsah minerálních látek. Výpočet byl proveden dle vzorce 1. [34]

Tabulka 2 Výsledky obsahu minerálních látek v surovině

Minerální látky – štičí hlavy / %	Minerální látky – štičí kosti a ploutve / %
27,3	27,2
30,9	23,7
33,6	23,1
31,6	21,2
Průměrný obsah minerálních látek Štičí hlavy / %	Průměrný obsah minerálních látek Štičí kosti a ploutve / %
30,8	22,7



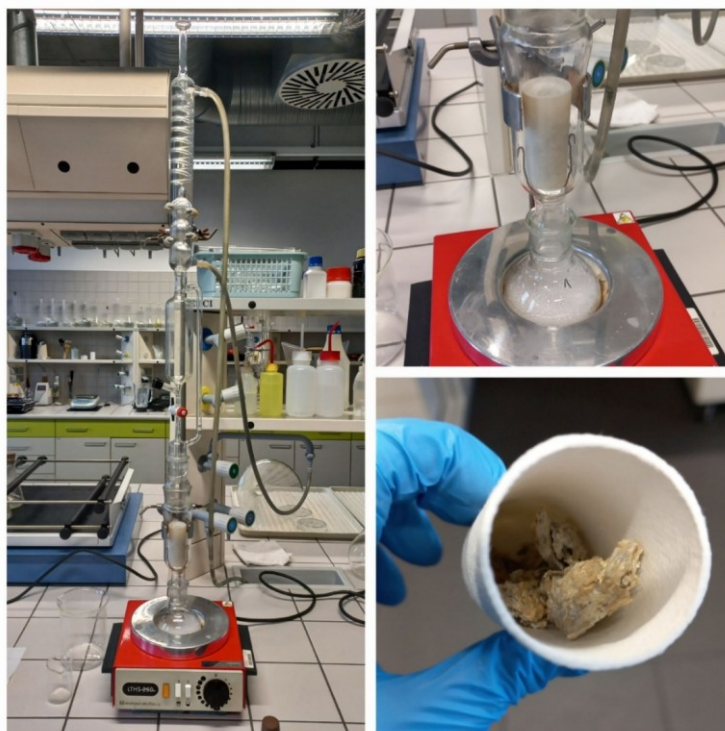
Obrázek 3 Popel ze štičích kostí a ploutví

5.2.3 Stanovení tuku

Stanovení tuku bylo provedeno metodou dle Soxhletha z již vysušené suroviny. Na analytických vahách bylo do patrony naváženo 10 g suroviny. Patrona se surovinou byla následně vložena do destilační aparatury. Toto stanovení probíhalo ve dvou dnech za použití dvou různých rozpouštědel tuku. První den byla destilace prováděna pomocí chloroformu po dobu 7 hodin. Druhý den byla destilace prováděna pomocí ethanolu po dobu 8 hodin. Po skončení druhé destilace byla surovina vysypána z patrony do Petriho misky a ponechána v digestoři přes noc doodpařit zbytky rozpouštědla. Následující den byla surovina opětovně zvážena a byl vypočten procentuální obsah tuku. Výpočet byl proveden dle vzorce 1. [35]

Tabulka 3 Výsledky obsahu tuku v surovině

Obsah tuku – štičí hlavy / %	Obsah tuku – štičí kosti a ploutve / %
5,8	18,7
7,1	20,6
Průměrný obsah tuku Štičí hlavy / %	Průměrný obsah tuku Štičí kosti a ploutve / %
6	19,7



Obrázek 4 Stanovení tuku. Na levé straně Soxhletova aparatura pro stanovení tuku. Vpravo nahoře probíhající extrakce tuku do rozpouštědla. Vpravo dole patrona s vysušenou odtučněnou surovinou.

5.2.4 Stanovení celkového obsahu dusíku

Stanovení celkového obsahu dusíku bylo provedeno metodou dle Kjeldahla. Ke stanovení byl použit zbytek suroviny po analýze tuku a jako srovnávací vzorek, byla použita také sušina výchozí suroviny. Na začátku bylo potřeba vzorek zmineralizovat. Do mineralizační baňky byl na analytických vahách odvážen 1 g suroviny, pipetováno 10 ml koncentrované H_2SO_4 a přidán směsný katalyzátor. Vzniklá směs byla umístěna na topnou desku na $450\text{ }^\circ\text{C}$ a ponechána do doby, než byl obsah baňky vyčiřen. Pro urychlení reakce bylo použito pár kapek 33 % (w/w) peroxidu vodíku. Po vyčiření směsi byla baňka ponechána při pokojové teplotě zchladnout. Chladná směs byla následně kvantitativně přenesena do 100 ml odměrné baňky, doplněna po rysku destilovanou vodou a důkladně promíchána. Do titrační baňky bylo odměrným válcem odměřeno 50 ml 2 % (w/w) H_3BO_3 , do aparatury bylo pipetováno 20 ml připraveného mineralizovaného vzorku a 25 ml 30 % (w/w) NaOH. Destilace byla prováděna po dobu 20 minut od počátku varu vody ve vyvíječi vodní páry. Po skončení destilace byl vzniklý roztok titrován 0,05 mol/l roztokem H_2SO_4 za přítomnosti pěti kapek inikátoru Tashiro. Barevný přechod byl pozorován ze světle zelené do světle růžové. Destilace a následná titrace byla u každého vzorku provedena dvakrát. Výpočet byl proveden dle vzorce 2. [36]

$$N = \frac{V_1 \cdot 0,0014 \cdot 100}{m} \cdot \frac{V_2}{V_3} \cdot f \quad (2)$$

Kdy:

V_1 ... objem odměrného roztoku H_2SO_4 spotřebovaný k titraci / ml,

V_2 ... celkový objem mineralizátu / ml,

V_3 ... objem mineralizátu pipetovaný na stanovení / ml,

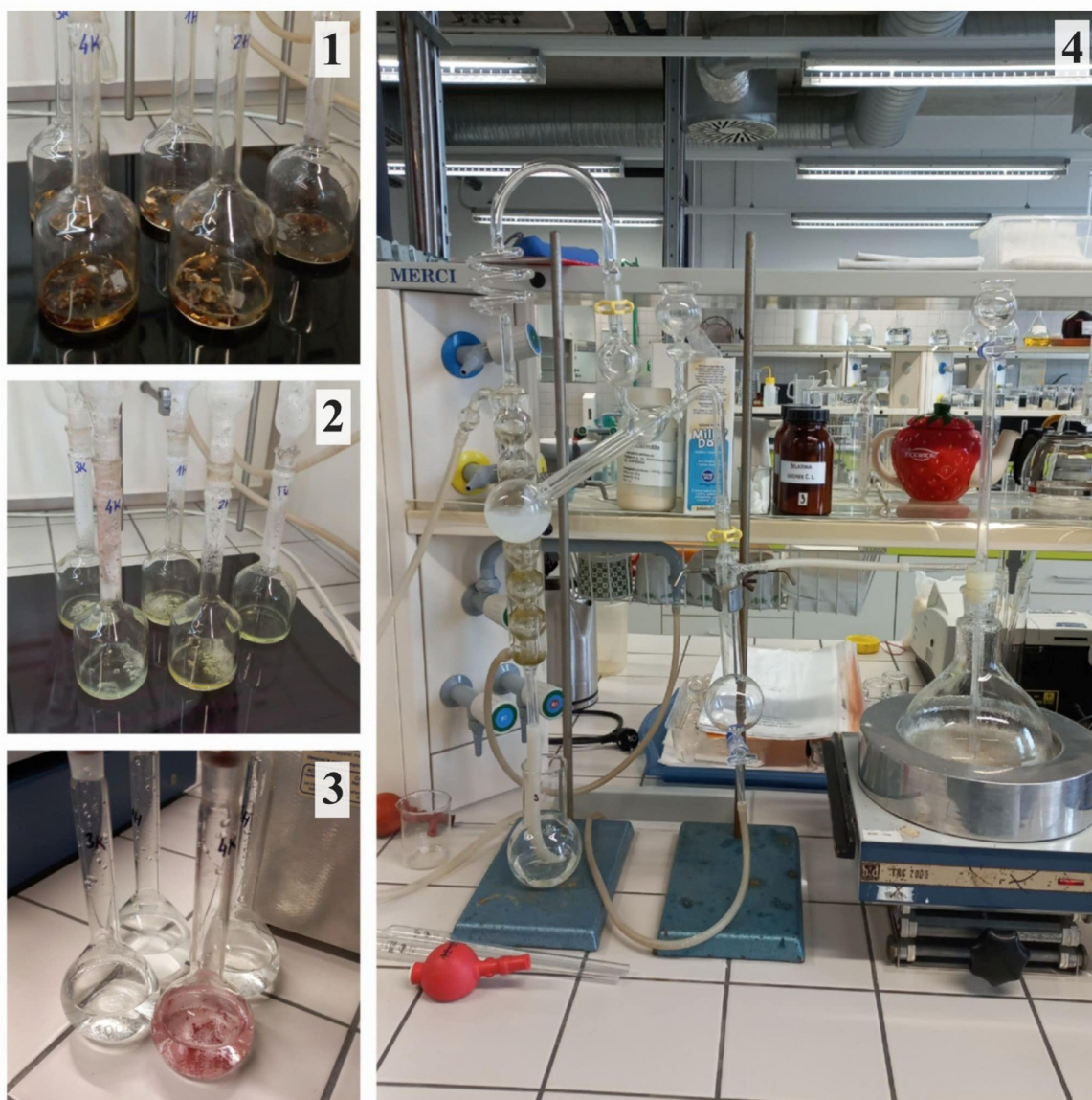
f ... přepočítávací faktor odměrného roztoku H_2SO_4 ($f = 0,9422$),

m ... navážka vzorku / g,

N ... obsah dusíku / %.

Tabulka 4 Výsledky celkového obsahu dusíku v surovině

Obsah dusíku – štíčí hlavy / %		Obsah dusíku – štíčí kostry a ploutve / %	
Soxhlet	9,1	Soxhlet	10,8
	9,0		10,8
Sušina	9,5	Sušina	8,5
	9,6		8,5



Obrázek 5 Stanovení dusíku. Číslo 1 směs vzorku v mineralizační baňce na začátku zahřívání. Číslo 2 vyčištěná směs vzorku v mineralizační baňce. Číslo 3 měřené roztoky vzorků. Číslo 4 destilační aparatura dle Kjeldhala.

5.2.5 Stanovení obsahu kolagenu

Stanovení obsahu kolagenu bylo provedeno za použití zbytku suroviny po analýze tuku. Do kádinky bylo na analytických vahách naváženo 5 g suroviny a odměřeno 150 ml 0,1 mol/l NaOH. Následně byla směs zahřívána při teplotě 95 °C po dobu 45 minut. Horká směs byla přefiltrována přes síto a promyta vodou. Tuhý podíl byl dán do sušárny s cirkulací vzduchu na teplotu 103 °C přes noc. Následující den byla surovina opětovně zvážena a byl vypočten procentuální obsah kolagenu. Výpočet byl proveden dle vzorce 1. [34]

Tabulka 5 Výsledky obsahu kolagenu v surovině

Obsah kolagenu – štičí hlavy / %	Obsah kolagenu – štičí kosti a ploutve / %
93,1	82,8
94,7	82,0
Průměrný obsah kolagenu / %	Průměrný obsah kolagenu / %
93,9	82,4



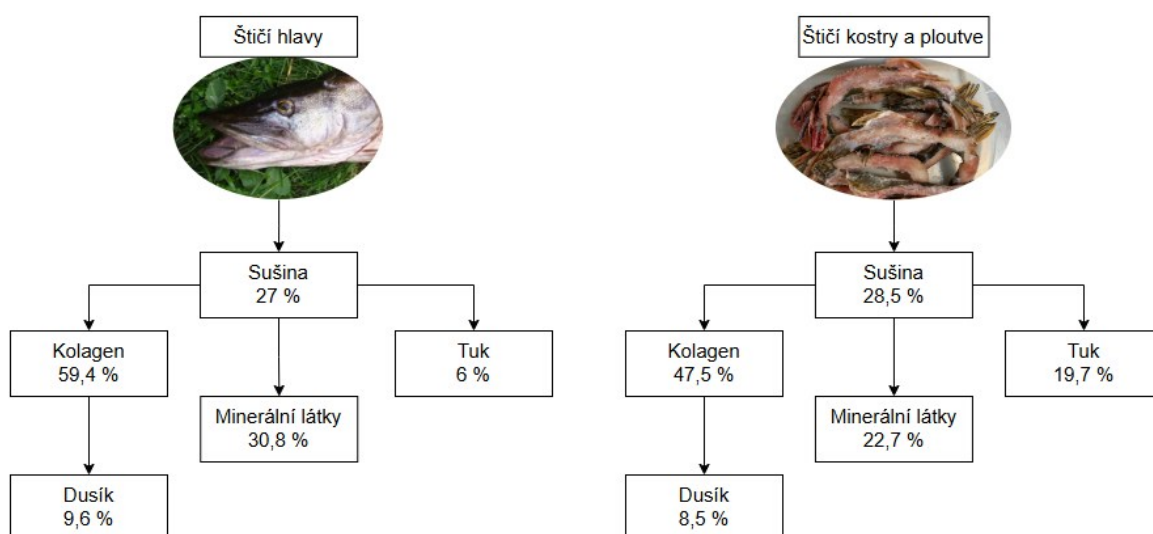
Obrázek 6 Zahřívání suroviny v 0,1 mol/l roztoku NaOH

5.3 Zhodnocení vstupní analýzy surovin

Na základě dříve uvedených analytických metod byla provedena komplexní charakterizace obou surovin, tedy štičích hlav a štičích koster a ploutví. Byly získány hodnoty obsahu sušiny, minerálních látek, tuku (stanoveného extrakční metodou dle Soxhletha), kolagenu a dusíku (stanoveného metodou dle Kjeldahla). Získaná data umožňují kvantitativní srovnání základních složek jednotlivých surovin a tvoří výchozí podklad pro jejich další zpracování v rámci přípravy želatin.

Z výsledků vstupní analytické charakterizace suroviny štičí hlavy bylo stanoveno její následující složení. Obsah sušiny byl kvantifikován na 27 %. V rámci této sušiny byl identifikován obsah tuku ve výši 6 %, minerálních látek 30,8 % a kolagenu 59,4 %. U kolagenové frakce byl dále stanoven obsah dusíku, který činil 9,6 %.

Analogická vstupní analýza byla také provedena u suroviny štičí kostry a ploutve. Obsah sušiny byl v tomto případě stanoven na 28,5 %, přičemž bylo zjištěno 19,7 % tuku, 22,7 % minerálních látek a 47,5 % kolagenu. Obsah dusíku v kolagenové složce dosáhl hodnoty 8,5 %.



Obrázek 7 Grafické znázornění složení vstupních surovin

5.4 Výstupní analýzy

Vybrané želatiny připravené jak ze štičích hlav, tak z koster a ploutví byly následně podrobeny výstupním analýzám kvality. Jako jedno z hlavních kritérií pro výběr želatiny byla skutečná hmotnost vyrobené želatiny. Dále je uveden výčet i postup provedených analýz.

5.4.1 Stanovení vodu zadržující kapacity

Pro stanovení vodu zadržující kapacity byl do plastové zkumavky navážen na analytických vahách 1 g suroviny, ke kterému bylo přidáno 25 ml destilované vody. Tato směs byla následně po dobu pěti minut protřepávána. Po uplynutí požadované doby byla směs ve zkumavce umístěna do centrifugy na 5 000 otáček po dobu 30 minut. Po odstředění byl ze zkumavky pipetou odstraněn supernatant a následně byl proveden výpočet vodu zadržující kapacity dle vzorce číslo 3.[37]

$$WHC = \frac{V_2}{V_1} \cdot 100 \quad (3)$$

Kdy:

V_1 ... celkový původní objem směsi / ml,

V_2 ... objem absorbované vody / ml,

WHC ... vodu zadržující kapacita / %.



Obrázek 8 Stanovení vodu zadržující kapacity

5.4.2 Stanovení tuk vázací kapacity

Pro stanovení tuk vázací kapacity byl do plastové zkumavky na analytických vahách navážen 0,1 g suroviny a 10 g sójového oleje. Zkumavka se směsí byla důkladně protřepána a ponechána po dobu 30 minut při pokojové teplotě stát. Po uplynutí požadované doby byla zkumavka se směsí umístěna do centrifugy na 2 500 otáček po dobu 30 minut. Po odstředění byl ze zkumavky odstraněn supernatant, který byl následně zvážen a byl proveden výpočet tuk vázací kapacity dle vzorce číslo 4. [38]

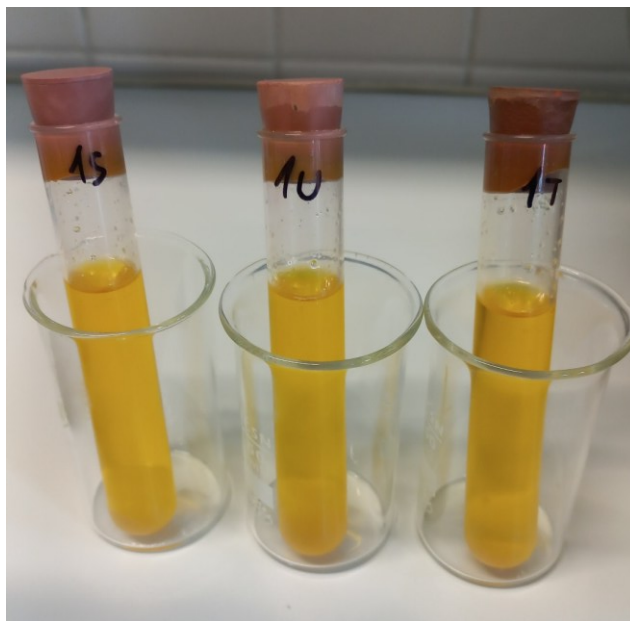
$$FBC = (m_1 - m_2) \cdot 10 \quad (4)$$

Kdy:

m_1 ...navážka sójového oleje / g,

m_2 ... hmotnost odebraného supernatantu / g,

FBC ... tuk vázací kapacita / g/g.



Obrázek 9 Stanovení tuk vázací kapacity

5.4.3 Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze

Ke stanovení emulzifikační kapacity bylo do plastové zkumavky na analytických vahách naváženo 0,05 g suroviny a přidáno 5 ml destilované vody. Touto směsí bylo důkladně promícháno a následně bylo přidáno 5 ml sójového oleje a opětovně promícháno. Zkumavka s důkladně promíchanou směsí byla vložena do centrifugy na 1 000 otáček po dobu pěti minut. Po odstředění byla za pomoci pravítka změřena výška emulze a celková výška směsi. Následně byla vypočtena emulzifikační kapacita dle vzorce číslo 5. Po tomto výpočtu byly zkumavky se směsí umístěny do vodní lázně o teplotě 55 ± 1 °C po dobu pěti minut. Posléze byly zkumavky umístěny znovu do centrifugy na 2 000 otáček po dobu 5 minut. Po odstředění byla za pomoci pravítka znovu změřena výška emulze a celková výška směsi. Následně byla vypočtena stabilita emulze dle vzorce číslo 6. [39]

$$EC = \frac{h_{E1}}{h_{C1}} \cdot 100 \quad (5)$$

Kde:

h_{E1} ... výška emulze / cm,

h_{C1} ... celková výška směsi ve zkumavce / cm,

EC ... emulzifikační kapacita / %.

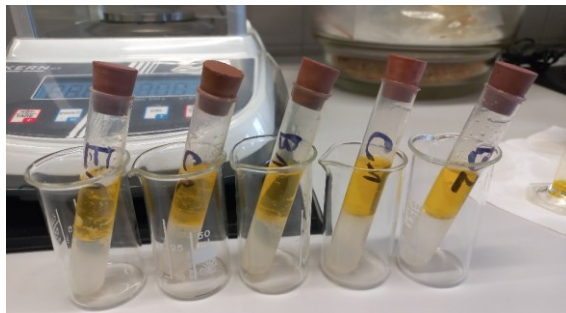
$$ES = \frac{h_{E2}}{h_{C2}} \cdot 100 \quad (6)$$

Kde:

h_{E2} ... výška emulze / cm,

h_{C2} ... celková výška směsi ve zkumavce / cm,

ES ... stabilita emulze / %.



Obrázek 10 Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze

5.4.4 Viskozita a čírost želatinového roztoku

Ke změření těchto dvou veličin bylo zapotřebí vytvořit želatinový roztok. Pro naše účely byl vytvořen želatinový roztok o koncentraci 6,67 % (w/w). Tento roztok byl umístěn do vodní lázně o teplotě 45 ± 1 °C, kde byl temperován.

Měření viskozity bylo provedeno na Ubbelohdeho viskozimetru. Želatinový roztok byl přelit do nejširší kapiláry viskozimetru, ten byl poté umístěn do kovového držáku a následně ponořen do předem vytemperované vodní lázně o teplotě 60 ± 1 °C. Za pomoci pipetovacího balónku bylo provedeno měření viskozity, kde se sledoval čas průtoku želatinového roztoku mezi dvěma ryskami. Z naměřených hodnot byla vypočtena kinematická viskozita, dle vzorce číslo 7, a poté byla dle vzorce číslo 8 vypočtena i dynamická viskozita. [40]

Měření čírosti želatinového roztoku bylo provedeno ihned po měření viskozity. Želatinový roztok byl přelit do kyvety s měrnou dráhou 10 mm a proměřen při vlnové délce 640 nm. [40]

$$v = K \cdot \left(t - \frac{B}{t} \right) \quad (7)$$

Kde:

K ... konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou ($K = 0,5$),

t ... aritmetický průměr změřených průtokových dob / s,

B ... korekční konstanta pro kinetickou energii ($B = 2,8$),

v ... kinematická viskozita / mm²/s.

$$\eta = v \cdot \rho \quad (8)$$

Kde:

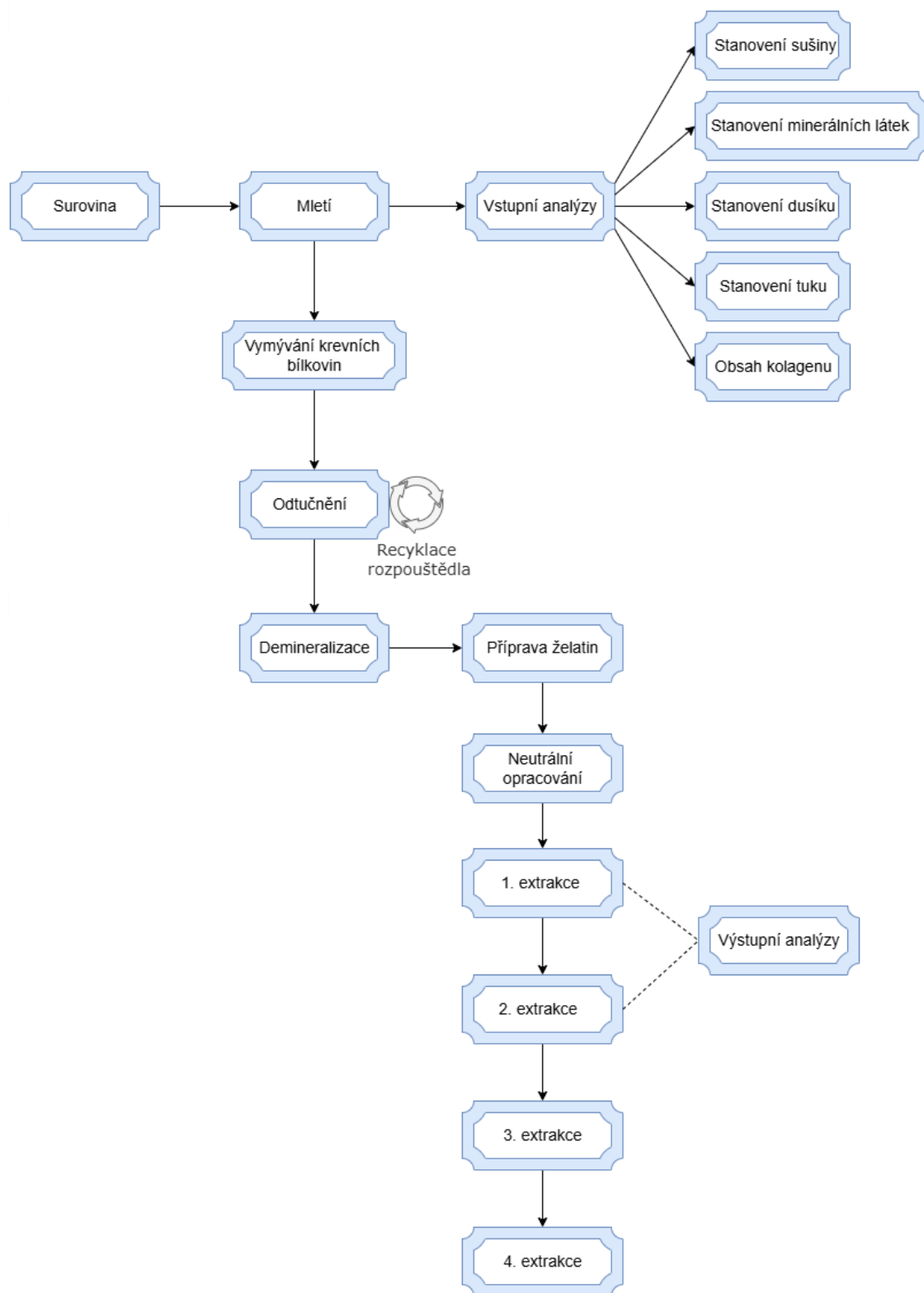
v ... kinematická viskozita / mm²/s,

ρ ... hustota želatinového roztoku (1,005 g/cm³),

η ... dynamická viskozita / mPas·s.

6 PŘÍPRAVA KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ

Tato kapitola obsahuje podrobný popis postupu práce, dle kterého byly z obou surovin vytvořeny želatiny.



Obrázek 11 Schéma vybraného postupu přípravy kolagenních hydrolyzátů

6.1 Přechištění suroviny

Na začátku bylo potřeba surovinu zbavit krevních bílkovin, albuminu a globulinu, to bylo provedeno postupným promýváním a opracováním v několika různých roztocích. Nejprve byla surovina důkladně promývána na sítu pod proudem tekoucí vody podobu pěti minut. Poté byla surovina přemístěna do polyethylenové nádoby, kde byla opracována roztokem NaCl o koncentraci 0,2 mol/l v poměru 1:6. V tomto roztoku byla surovina ponořena po dobu 1,5 hodiny. Po uplynutí požadované doby byla surovina promyta vodou na sítu a znovu přemístěna do polyethylenové nádoby. Pro další opracování byl využit roztok NaOH o koncentraci 0,03 mol/l v poměru 1:6. V tomto roztoku byla surovina ponořena po dobu 45 minut. Po uplynutí požadované doby byla surovina promyta vodou na sítu. Pro zvýšení efektivity procesu odstranění krevních bílkovin byl tento krok opakován a proveden celkem 4x. Po posledním opracování roztokem NaOH byla promytá surovina rozprostřena na plechy a byla dána do sušárny, s cirkulací vzduchu na 35 °C po dobu 36 hodin, vysušit.



Obrázek 12 Promývání suroviny na sítu s tkaninou

6.2 Odtučnění suroviny

Vysušená surovina byla dále odtučněna na třepacím zařízení, při laboratorní teplotě, za pomoci směsného rozpouštědla petrolether/ethanol v poměru 1:1. Reakce probíhala po dobu 2 dnů. V průběhu procesu odtučňování bylo toto rozpouštědlo 2x vyměněno. Po ukončení odtučňování byla přefiltrovaná surovina rozprostřena na plech a přenesena do digestoře, kde se nechalo volně přes noc doodpařit zbylé rozpouštědlo. Odtučněná surovina byla dále rozemleta na menší částice za pomoci kuchyňského mixeru. Souběžně s odtučněním suroviny byla prováděna i destilace dříve použitého rozpouštědla.



Obrázek 13 Odtučnění suroviny. Vlevo proces odtučňování na třepacím zařízení. Vpravo vysušená odtučněná surovina.

6.3 Demineralizace suroviny

Rozemletá surovina byla smíchána s roztokem HCl o koncentraci 1 % (w/w) v poměru 1:10 a ponechána na třepacím zařízení při teplotě 10 °C po dobu 48 h. Pro dostatečnou demineralizaci byl roztok HCl po 24 hodinách vyměněn. Po uplynutí požadované doby byla surovina důkladně promyta na sítu vodou a následně rozprostřena na plech, který byl vložen do sušárny, s cirkulací vzduchu na teplotu 35 °C po dobu 36 hodin, kde proběhlo vysušení. Demineralizovaná surovina byla dále rozemleta na menší částice za pomoci kávového mlýnku.



Obrázek 14 Demineralizace suroviny. Vlevo proces demineralizace. Vpravo vysušená demineralizovaná surovina.

Do tohoto okamžiku byly vstupní suroviny zpracovávány za použití stejného postupu, pro další zpracování bylo ale potřeba jejich rozdělení a poukázat tak na rozdíly při samotné přípravě kolagenních hydrolyzátů.

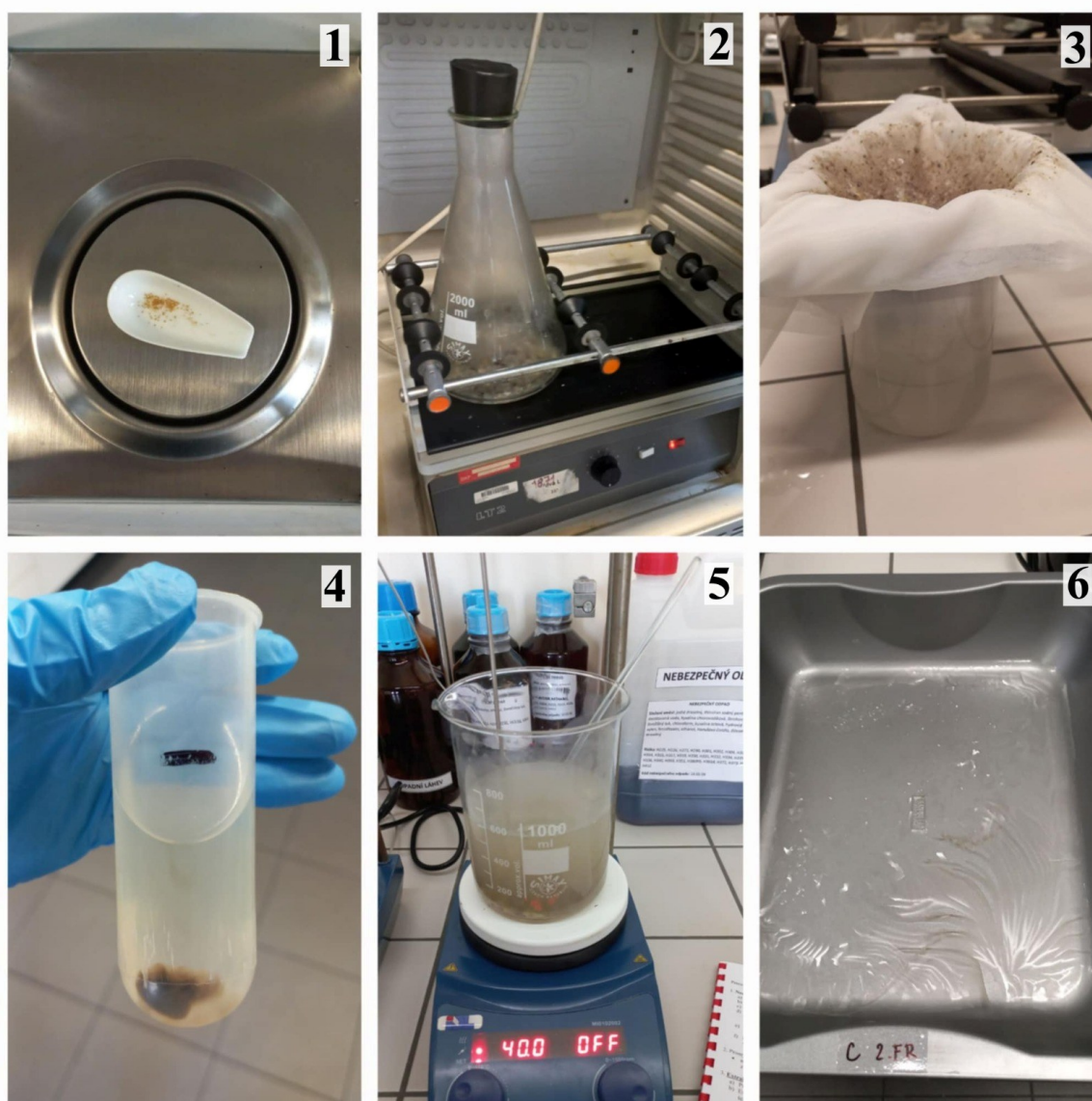
6.4 Postup přípravy kolagenních hydrolyzátů – štičí hlavy

Rozemletá demineralizovaná surovina byla smísena s destilovanou vodou v poměru 1:10 a dána na třepací zařízení, při laboratorní teplotě, po dobu 20 minut, poté bylo pomocí 20 % roztoku NaOH upraveno pH směsi na rozmezí 6,5-7,0. Do směsi byl přidán proteolytický enzym Protamex v množství 0,1 % (přepočteno na sušinu demineralizované suroviny). Tato směs byla následně ponechána na třepacím zařízení při teplotě 10 °C po dobu 3 hodin. V průběhu třepání bylo potřeba dvakrát doupravit pH směsi, aby stále odpovídalo danému rozmezí.

Po uplynutí požadované doby byla směs přefiltrována na sítu s tkaninami. Filtrát, obsahuje hydrolysát, byl rozlit na plech s nepřilnavou fólií a dán do sušárny, s cirkulací vzduchu na 70 °C přes noc, vysušit. Zbylá surovina na sítu byla důkladně promyta pitnou vodou po dobu 3 minut, tím došlo vymytí většiny enzymu.

Následně byly postupně provedeny 4 extrakce suroviny za vzniku 4 želatinových frakcí. Surovina byla vždy smísena s destilovanou vodou v poměru 1:15 a poté extrahována. První extrakce byla provedena při teplotě 40 ± 2 °C po dobu 20 minut. Druhá extrakce byla provedena při teplotě dle faktoru A po dobu dle faktoru B (viz tabulka č. 6). Třetí extrakce byla provedena při teplotě 70 ± 2 °C po dobu 20 minut. Čtvrtá, poslední extrakce byla provedena při teplotě 90 ± 2 °C po dobu 30 minut. Během extrakce bylo směsí mícháno, při první a druhé extrakci ručně, při třetí a čtvrté extrakci za pomoci magnetického míchadla. Zároveň byla měřena doba ohřevu směsi na požadovanou teplotu. Horká směs byla následně umístěna do centrifugy na 4 000 otáček/min po dobu 4 minut, kde došlo k rozdělení směsi na tenkou vrstvu tuku, želatinu a pigment. Supernatant byl poté přefiltrován přes tkaninu, čímž došlo k oddělení tuku od želatiny.

Takto připravená želatina byla vložena na 30 minut do lednice, a poté dána do sušárny s cirkulací vzduchu na 40 °C přes noc vysušit. Následující den byla teplota na sušárně zvýšena na 65 °C, při kterých byly želatiny dosušeny. Souběžně s enzymatickou přípravou želatin byla provedena i jedna kontrolní příprava želatiny bez přidání enzymu. Jedná se o experiment číslo 3.



Obrázek 15 Příprava kolagenních hydrolyzátů. Číslo 1 navážka enzymu. Číslo 2 proces třepání v lednici. Číslo 3 filtrování směsi. Číslo 4 zkumavka s odděleným pigmentem. Číslo 5 proces zahřívání směsi. Číslo 6 vysušená želatina na plechu.

Tabulka 6 Naměřená doba ohřevu směsi na požadovanou teplotu, surovina štíčí hlavy

Experiment	Faktor A / °C	Faktor B / min	1. frakce / min	2. frakce / min	3. frakce / min	4. frakce / min
1	45	15	6:10	15:31	26:37	37:08
2	45	35	11:00	6:18	36:52	22:27
3	55	15	11:06	10:00	15:37	1:31:01
4	55	35	15:37	9:04	20:59	51:58
5	55	15	3:20	10:00	8:37	12:23
6	50	25	6:10	10:32	11:29	-

V tabulce výše (č. 6) byly zaznamenány naměřené časy ohřevu směsi na požadovanou teplotu. Při první extrakci by se hodnoty měly pohybovat blízko sebe, tady tomu však bohužel nebylo. Při čtvrté extrakci by naměřený čas měl být také podobný, ale zde byly pozorovány ještě markantnější rozdíly. Domnívám se, že byly tyto rozdíly způsobené nepravidelným ručním mícháním směsi, při první extrakci a nízkým výkonem magnetického míchadla, při čtvrté extrakci. Zároveň mohlo naměřené časy také ovlivnit použití rozdílných topných desek.

6.5 Zhodnocení pracovního postupu

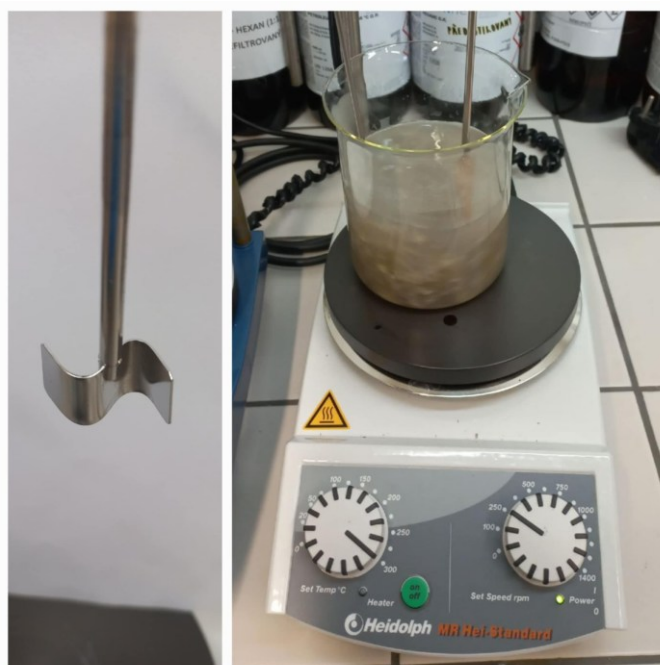
Zde bylo provedeno zpětné zhodnocení pracovního postupu při přípravě želatin ze štičích hlav a následné doporučení úprav pro pracovní postup při přípravě želatin ze štičích koster.

Mezi silné stránky byla zařazena samotná jednoduchost postupu přípravy želatin a také vysoká výtěžnost u jednotlivých frakcí želatin.

Mezi slabé stránky byla zařazena různá doba ohřevu při první extrakci (Tabulka č. 6), která byla nejspíše způsobená používáním odlišných topných desek a také nepravidelným ručním mícháním směsi. I přes použití magnetického míchadla nebyly ani při následujících extrakcích čas vyhřátí nijak podobný.

Po zhodnocení silných a slabých stránek bylo navrženo následující zlepšení pracovního postupu:

- Pro ohřev směsi používat jednu konkrétní topnou desku.
- K míchání využívat automatické hřídelové míchadlo.
- Pro urychlení ohřevu přidávat pro třetí a čtvrtou extrakci teplou destilovanou vodu.



Obrázek 16 Optimalizované parametry. Vlevo použitý typ hřídelového míchadla. Vpravo vybraná topná deska.

6.6 Postup přípravy kolagenních hydrolyzátů – štičí kostry

K přípravě želatin ze štičích koster byl použit stejný postup jako u štičích hlav, avšak zároveň byl optimalizován na základě navrhovaných zlepšení. Pro třetí extrakci byla použita destilovaná voda o teplotě 50 ± 1 °C a pro čtvrtou extrakci byla použita destilovaná voda o teplotě 60 ± 1 °C. Souběžně s enzymatickou přípravou želatin byla provedena i jedna kontrolní příprava želatiny bez přidání enzymu. Jedná se o experiment číslo 9.

Tabulka 7 Naměřená doba ohřevu směsi na požadovanou hodnotu, surovina štičí kosti a ploutve

Experiment	Faktor A / °C	Faktor B / min	1. frakce / min	2. frakce / min	3. frakce / min	4. frakce / min
7	45	15	4:54	7:00	5:00	12:27
8	45	35	6:25	3:18	5:35	9:25
9	55	15	6:04	6:12	4:48	11:58
10	55	35	3:01	9:48	5:25	8:58
11	55	15	2:41	6:59	5:11	9:09
12	50	25	6:50	6:43	6:05	10:34

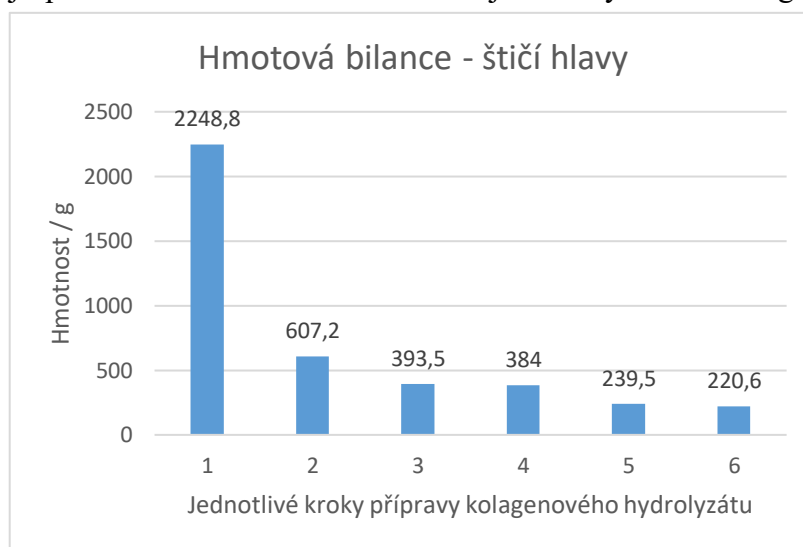
V tabulce výše (č. 7) byly zaznamenány naměřené časy ohřevu směsi na požadovanou teplotu po provedené optimalizaci přípravného procesu. Naměřené hodnoty u frakcí 1 a 4 se již nacházejí v akceptovatelném tolerančním rozmezí, což potvrzuje účinnost provedené optimalizace přípravářských podmínek. Optimalizací tedy došlo ke sjednocení parametrů mezi jednotlivými frakcemi.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

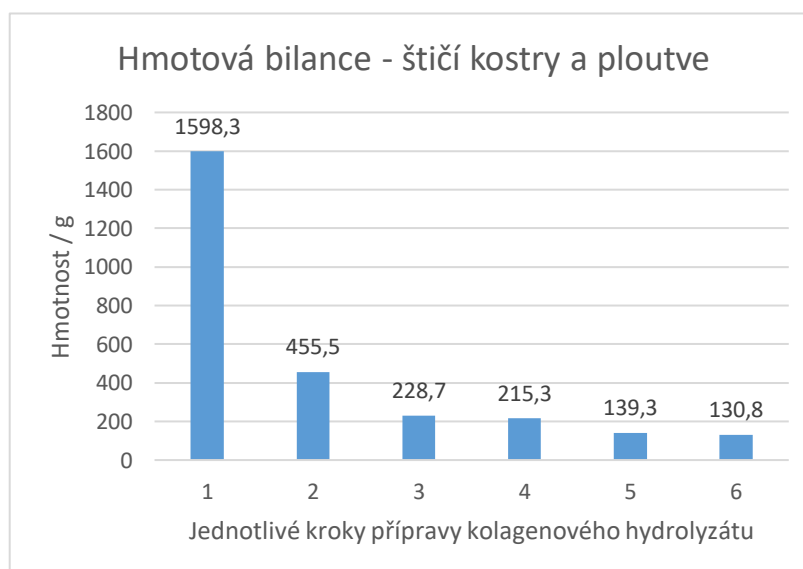
Tato kapitola obsahuje souhrnné výsledky provedených testů, ale i celkové zhodnocení pracovního postupu a navrhuje možné další úpravy a optimalizace pro následné výzkumy.

7.1 Hmotová bilance procesu

V průběhu úprav surovina až do fáze přípravy želatin byl sledován hmotnostní úbytek výchozí suroviny. Naměřené hodnoty byly následně zaznamenány a znázorněny v grafech, které poskytují přehled o změnách hmotnosti v jednotlivých technologických krocích.



Obrázek 18 Graf hmotové bilance, surovina štičí hlavy



Obrázek 17 Graf hmotové bilance, surovina štičí kosti a ploutve

Legenda: 1 výchozí hmotnost suroviny, 2 sušina výchozí suroviny, 3 přečištění suroviny, 4 odtučnění suroviny, 5 demineralizace suroviny, 6 sušina demineralizované suroviny.

Na obrázku č. 17 je znázorněn vývoj hmotnosti u štičích hlav, zatímco na obrázku č. 18 jsou zachyceny odpovídající hodnoty pro štičí kostry a ploutve. Následující popis se vztahuje k oběma grafickým záznamům. Pod číslem 1 je uvedena výchozí hmotnost zhomogenizované suroviny. Číslem 2 je označena hmotnost sušiny této zhomogenizované suroviny, tedy její skutečná výchozí hmotnost. Číslem 3 je vyznačena hmotnost po odstranění krevních bílkovin a následném vysušení. Pod číslem 4 je uvedena hmotnost po odtučnění a sušení. Číslem 5 je znázorněna hmotnost po demineralizaci a následném vysušení. Číslem 6 je označena hmotnost sušiny demineralizované suroviny, která je považována za skutečnou výchozí hmotnost pro přípravu želatin.

Na základě získaných údajů bylo zjištěno, že z přibližně 2,2 kg štičích hlav může být získáno přibližně 220 g demineralizovaného kolagenu. V případě štičích koster a ploutví bylo z výchozí hmotnosti 1,6 kg získáno přibližně 130 g demineralizovaného kolagenu.

7.2 Výtěžnost procesu

Tady bude tabulka se souhrnnými výsledky želatin. Srovnat to s literaturou, třeba to, co jsem našla ten jiný způsob. Při vstupní analýze surovin bylo zjištěno, že odpadní produkty štičky obecně obsahují významné množství kolagenu – hlavy obsahovaly 59,4 % a kosti s ploutvemi 47,5 %. Tyto hodnoty potvrzují, že jde o suroviny s vysokým potenciálem pro výrobu kolagenních hydrolyzátů. Zároveň překvapil vysoký obsah tuku v kostech a ploutvích (19,7 %), což může ovlivňovat jak výtěžnost, tak technologické vlastnosti extraktů.

Během přípravy kolagenních hydrolyzátů se ukázalo, jak zásadní roli hrají extrakční podmínky, zejména doba zahřívání směsi na požadovanou teplotu. Největší komplikace se vyskytly při extrakci ze štičích hlav (experimenty 1–6), kde ohřev trval déle a byl méně kontrolovatelný. Tato část experimentu proto sloužila k optimalizaci podmínek pro druhou surovinu – štičí kosti a ploutve (experimenty 7–12). Optimalizace vedla ke stanovení stabilních extrakčních podmínek: použití jedné konkrétní topné desky, hřídelového míchadla a předehřáté destilované vody při třetí a čtvrté extrakci. Tato opatření se promítla do stabilizace a zkrácení doby ohřevu, která se dostala do akceptovatelného rozmezí.

Souhrnná výtěžnost procesu je uvedena v tabulce 8. Experimenty 1–6 byly provedeny ze štičích hlav a experimenty 7–12 z kostí a ploutví. Experimenty 3 a 9 byly navíc provedeny

jako slepé zkoušky bez přidavku enzymu, a sloužily tak pro ověření významu enzymatické hydrolýzy.

Tabulka 8 Výtěžnost procesu

Ex.	H / %	1. fr / %	2. fr / %	3. fr / %	4. fr / %	Pigment / %	Tuk / %	NP / %
1	11,8	15,5	8,1	5	3,1	2	0	46,7
2	12,1	19,9	6,9	3,1	0,9	1,6	0	49,6
3	6,5	5,9	6,5	4,3	7,5	3,1	0	64,2
4	11,8	12,7	14,9	2,8	1,9	0,9	0	49,9
5	18,4	23,4	3,3	2	2,6	1	0	40,8
6	11,8	18,4	4,6	2,3	-	0	0	59,6
7	8	19,2	4,3	1,1	2,7	4,8	3,2	55,9
8	6,9	13,3	5,3	1,1	2,7	2,7	2,7	57,5
9	3,4	4,3	4,3	4,3	6,4	2,1	3,2	67,1
10	8	13,3	5,3	1,1	1,6	2,7	2,7	60,2
11	7,5	16	4,3	1,1	1,6	2,7	2,1	55,9
12	7,5	14,4	5,9	1,6	2,1	2,7	2,7	58,5

Nejvyšší výtěžnost želatinových frakcí (součet 1.–4. frakce) byla dosažena v experimentu 4 (32,3 %) u štičích hlav a v experimentu 7 (27,3 %) u štičích kostí a ploutví. Nejnižší výtěžnost byla zaznamenána u slepého experimentu 3 (24,2 %) pro štičí hlavy a u experimentu 9 (19,3 %) u štičích kostí a ploutví, což potvrzuje účinnost enzymu při rozkladu bílkovin.

Vedle hydrolyzátů byly zaznamenány i další potenciálně využitelné složky – pigment a tuk. Nejvyšší výtěžnost pigmentu byla zjištěna právě u slepých pokusů (experimenty 3 a 9), kde docházelo k nižší hydrolýze, a tedy menšímu uvolnění rozpuštěných proteinů. Tuk byl izolován hlavně ze vzorků připravených z kostí a ploutví, přičemž jeho obsah dosahoval až 3,2 %, což je množství hodné dalšího zvažování.

Specifickou složkou procesu byl nerozložený podíl (NP), tedy zbytková surovina, která zůstává po ukončení všech extrakčních kroků. Tento podíl obsahuje převážně nerozpustné bílkoviny a je potenciálně využitelný v krmivářství. Nejvyšší hodnoty NP byly opět zaznamenány u slepých pokusů (experimenty 3 – 64,2 % a 9 – 67,1 %), což potvrzuje, že

bez enzymu zůstává velká část suroviny nerozložená. U enzymatických pokusů se NP pohyboval nejčastěji mezi 40 a 60 %, což odráží částečné využití suroviny a zároveň prostor pro budoucí zhodnocení zbytků.

Z výše uvedeného je patrné, že výtěžnost nelze přímo porovnávat mezi oběma typy surovin, neboť se jedná o biologicky a technologicky odlišné matrice, které mají společného pouze původce – štika obecnou. Přesto je možné říci, že dosažené výtěžnosti byly vysoké a nad očekávání: u štičích hlav v průměru 31,5 % a u štičích kostí a ploutví 22,7 %. Tyto hodnoty ukazují, že i odpadní části ryb mohou sloužit jako bohatý zdroj cenných bílkovin a dalších složek.

7.3 Analýza kolagenních hydrolyzátů

V rámci výstupní analýzy kolagenních hydrolyzátů byly hodnoceny funkční vlastnosti jednotlivých frakcí získaných z různých experimentů (Ex.). Hodnocené parametry zahrnovaly schopnost vázat vodu (WHC), tuk (FBC), emulzifikační kapacitu (EC), stabilitu emulze (ES), kinematickou (ν) a dynamickou viskozitu (η) a transmitanci (T). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 9.

Tabulka 9 Výstupní analýza kolagenních hydrolyzátů

Ex.	Frakce	WHC / %	FBC / g/g	EC / %	ES / %	ν / mm ² /s	η / mPas·s	T / %
2	1	5,6	3,5	47,7	47,6	2,40	2,412	2,1
	2	5,2	5	50,8	49,2	-	-	3,0
4	1	5,2	5,1	46,7	46,7	1,96	1,970	5,4
	2	4,8	5,8	44,6	46,0	2,50	2,513	4,6
5	1	4,8	7,5	47,7	47,6	2,46	2,472	7,2
7	1	6,4	4,8	46,9	50,0	-	-	-
8	1	5,2	4,2	48,4	46,9	-	-	-
10	1	5,6	7,7	46,9	48,3	-	-	-

Nejvyšší vodu vázací kapacitu (WHC) vykazovala frakce 1 z experimentu 7 (6,4 %), nejvyšší tuk vázací kapacita (FBC) vykazovala frakce 1 experimentu 10, nejvyšší emulzifikační kapacitu (EC) vykazovala frakce 2 experimentu 2 a nejvyšší stabilitu emulze (ES) vykazovala frakce 1 experimentu 7. Tyto výsledky naznačují celkem dobré funkční

vlastnosti testovaných frakcí. Z hlediska použití v potravinářství se nejlépe jeví experimenty 2 (frakce 2) a 7 (frakce 1), mohly by být využity jako stabilizátory nebo emulgátory.

U experimentů 2, 4 a 5 byly připraveny roztoky s cílem měřit pevnost gelu. Nicméně tyto roztoky neztuhly, což znemožnilo provedení plánovaných měření. Vzhledem k tomu, že roztoky byly již připraveny, byly využity k měření kinematické a dynamické viskozity a transmitance. Na základě této zkušenosti nebyly u zbývajících experimentů roztoky připravovány.

Absence želatinace může být způsobena několika faktory. Jedním z nich je vysoký stupeň hydrolýzy kolagenu, který vede ke zkrácení polypeptidových řetězců a tím k neschopnosti tvorby trojitých helixů, jež jsou klíčové pro gelaci. Studie publikovaná v časopise *Advanced Engineering Materials* uvádí, že během hydrolýzy dochází k přeměně trojité helixové struktury kolagenu na náhodné smyčkové struktury, což snižuje schopnost tvorby gelu. [41]

Dalším faktorem může být oxidace želatiny, která vede ke změnám v aminokyselinovém složení, snížení obsahu trojitých helixů a zvýšení hydrofobicity, což omezuje schopnost tvorby stabilního gelu. [42] Také pH roztoku hraje významnou roli v procesu gelace. Studie publikovaná v časopise *Journal of General Physiology* ukazuje, že změny pH mohou ovlivnit viskozitu a schopnost tvorby gelu u želatinových roztoků. [43]

Vzhledem k těmto faktorům je pravděpodobné, že kombinace vysokého stupně hydrolýzy, oxidace a nevhodného pH vedla k neschopnosti tvorby gelu u experimentů 2, 4 a 5. Celkově se mezi jednotlivými frakcemi a experimenty projevily znatelné rozdíly, což potvrzuje, že podmínky extrakce a frakcionace mají významný vliv na funkční vlastnosti výsledných hydrolyzátů.

ZÁVĚR

Tato práce byla zaměřena na přípravu kolagenu, kdy jako surovina byla použita Štika obecná (*Esox lucius*), konkrétně se jednalo o zpracování odpadních částí – hlavy, kosti a ploutve. Zvoleným postupem přípravy kolagenních hydrolyzátů bylo enzymatické opracování za využití enzymu Protamex. Cílem práce bylo mimo potvrzení hypotézy o množství extrahovatelného kolagenu v odpadních tkáních štiky, také optimalizace tohoto procesu a testování kvality kolagenu z hlediska možného použití v potravinářských výrobcích a průmyslu.

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že zvolené metody přípravy želatiny ze zbytků štiky obecné, konkrétně z hlav, kostí a ploutví, nevedly k přípravě želatin. Získané kolagenové hydrolyzáty vykazovaly velmi nízkou schopnost vázat vodu (v průměru 5,35 %) a tuky (5,45 g/1 g), což je ve srovnání s komerční želatinou (12 % pro vodu a 60 g/g pro tuky) nízké hodnoty. Naopak emulzifikační kapacita (47,46 %) a stabilita emulze (47,79 %) byly poměrně dobré, i když stále nižší než hodnoty komerční želatiny. Tyto výsledky nasvědčují tomu, že zvolený způsob zpracování není pro daný typ suroviny ideální. Je však nutno dodat, že výsledky mohly být ovlivněny i nízkým množstvím výchozího materiálu a malým výtěžkem hotového produktu, což komplikovalo provádění některých testů. Do budoucna by bylo vhodné optimalizovat podmínky enzymatického opracování přímo pro tuto surovinu.

Na druhou stranu bylo potvrzeno, že zbytky štiky obsahují poměrně vysoký podíl kolagenu – v hlavách se jednalo o 59,4 % a v kostech a ploutvích o 47,5 %, což naplnilo počáteční očekávání. Průměrná výtěžnost želatin ze štičích hlav činila 31,5 %, zatímco z kostí a ploutví 22,7 %. Zároveň byly při extrakci z těchto částí zjištěny i vedlejší produkty – u hlav to bylo celkem 8,6 % pigmentu a 0 % tuku, zatímco z kostí a ploutví se získalo 17,7 % pigmentu (což je významná hodnota s možným potenciálem pro další výzkum, např. využití v barvivech) a 16,6 % tuku. V případě kostí a ploutví byl postup přípravy částečně optimalizován – použila se specifická topná deska, hřidelové míchadlo a během třetí a čtvrté extrakce se přidávala teplá destilovaná voda. Přesto bylo nutné čelit celé řadě technických potíží. Závěrem lze říci, že přestože kolagen ze štiky obecné představuje zajímavý alternativní zdroj, zvolený způsob jeho využití prostřednictvím želatin pro potravinářské účely vyžaduje další vývoj, optimalizaci a testování na větším vzorku.

V budoucím výzkumu by bylo vhodné zaměřit se na použití různých typů enzymů a porovnat jejich účinnost při extrakci kolagenu ze štiky obecné. Zároveň by bylo přínosné hlouběji analyzovat jednotlivé kroky technologického postupu z pohledu průmyslové aplikace – například ověřit, zda je skutečně nutné kompletně odstraňovat tuk a minerální látky, nebo zda jejich částečná přítomnost může být technologicky i ekonomicky výhodnější. Další směr výzkumu by mohl spočívat v optimalizaci procesních podmínek s cílem zjistit, zda je vůbec možné získat želatinu vhodné kvality z kolagenu štičího původu, a to právě kombinací různých parametrů. V této souvislosti je důležité zohlednit nejen výtěžnost a kvalitu produktu, ale i časovou a ekonomickou náročnost jednotlivých variant, což by umožnilo zhodnotit celkovou efektivitu navrženého postupu z hlediska možného uplatnění v potravinářském nebo jiném zpracovatelském průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] M.D. Shoulders, R.T. Raines, Collagen structure and stability, *Annu. Rev. Biochem.* 78 (2009) 929–958.
- [2] D.J. Prockop, K.I. Kivirikko, Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy, *Annu. Rev. Biochem.* 64 (1995) 403–434.
- [3] J.A. Ramshaw, N.K. Shah, B. Brodsky, Gly-X-Y tripeptide frequencies in collagen: a context for host-guest triple-helical peptides, *J. Struct. Biol.* 122 (1998) 86–91.
- [4] A.L. Alves, A.L.P. Marques, E. Martins, T.H. Silva, R.L. Reis, Cosmetic Potential of Marine Fish Skin Collagen, *Cosmetics*. 4 (2017).
- [5] D.E. Birk, P. Bruckner, Collagen Suprastructures, in: J. Brinckmann, H. Notbohm, P.K. Müller (Eds.), *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2005, pp. 185–205.
- [6] M. Meyer, Processing of collagen based biomaterials and the resulting materials properties, *BioMedical Engineering OnLine*. 18 (2019) 24.
- [7] K. Gelse, E. Pöschl, T. Aigner, Collagens—structure, function, and biosynthesis, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55 (2003) 1531–1546.
- [8] M. Gauza-Włodarczyk, L. Kubisz, S. Mielcarek, D. Włodarczyk, Comparison of thermal properties of fish collagen and bovine collagen in the temperature range 298–670 K, *Materials Science and Engineering: C*. 80 (2017) 468.
- [9] A. Owczarzy, R. Kurasinski, K. Kulig, W. Rogóż, A. Szkudlarek, M. Maciążek-Jurczyk, Collagen - structure, properties and application, *Engineering of Biomaterials*. (2020) 17–23.
- [10] S. Ricard-Blum, The collagen family, *Cold Spring Harb Perspect. Biol.* 3 (2011) a004978.
- [11] A. León-López, A. Morales-Peñaloza, V.M. Martínez-Juárez, A. Vargas-Torres, D.I. Zeugolis, G. Aguirre-Álvarez, Hydrolyzed Collagen-Sources and Applications, *Molecules*. 24 (2019) 4031. doi: 10.3390/molecules24224031.
- [12] C.E. Larder, M.M. Iskandar, S. Kubow, Collagen Hydrolysates: A Source of Bioactive Peptides Derived from Food Sources for the Treatment of Osteoarthritis, *Medicines (Basel)*. 10 (2023) 50. doi: 10.3390/medicines10090050.
- [13] W. Al Hajj, M. Salla, M. Krayem, S. Khaled, H.F. Hassan, S. El Khatib, Hydrolyzed collagen: Exploring its applications in the food and beverage industries and assessing its impact on human health – A comprehensive review, *Heliyon*. 10 (2024).

- [14] M.J. Seixas, E. Martins, R.L. Reis, T.H. Silva, Extraction and Characterization of Collagen from Elasmobranch Byproducts for Potential Biomaterial Use, *Marine Drugs*. 18 (2020).
- [15] A. Irastorza, I. Zarandona, M. Andonegi, P. Guerrero, K. de la Caba, The versatility of collagen and chitosan: From food to biomedical applications, *Food Hydrocoll.* 116 (2021) 106633.
- [16] Y. Maki, M. Annaka, Gelation of fish gelatin studied by multi-particle tracking method, *Food Hydrocoll.* 101 (2020) 105525.
- [17] C. Tang, K. Zhou, Y. Zhu, W. Zhang, Y. Xie, Z. Wang, H. Zhou, T. Yang, Q. Zhang, B. Xu, Collagen and its derivatives: From structure and properties to their applications in food industry, *Food Hydrocolloids*. 131 (2022).
- [18] J. Igielska-kalwat, E. Kilian-pięta, M. Siedlecki, Application of the upcycling trend using ultrafiltrate of water from the production of collagen from fish skin in hair care cosmetics, *Intern J of Cosmetic Sci.* 47 (2024) 190.
- [19] M. Siaghi, A. Karimizade, A. Mellati, M. Saeedi, F. Talebpour Amiri, S. Kalhori, S. Shahani, Luteolin-incorporated fish collagen hydrogel scaffold: An effective drug delivery strategy for wound healing, *Int. J. Pharm.* 657 (2024) 124138.
- [20] J. Zhang, P. Han, H. Yuan, Y. Tang, X. Xiao, Clinical application of absorbable collagen thread and cosmetic suture technique in emergency treatment of children's facial trauma, *J Paediatrics Child Health*. 58 (2022) 2039.
- [21] J.F. Craig, Pike : Biology and Exploitation, 1st ed., Chapman & Hall, Dordrecht, 1996.
- [22] R.W. Griffiths, N.K. Newlands, D.L.G. Noakes, F.W.H. Beamish, Northern pike (*Esox lucius*) growth and mortality in a northern Ontario river compared with that in lakes: influence of flow, *Ecol. Freshwat. Fish*. 13 (2004) 136–144.
- [23] J.F. Craig, S. Science+business, J.M. Farrell, C. Skov, M. Mingelbier, T. Margenau, J.E. Cooper, A short review of pike ecology, *Hydrobiologia*. 601 (2008) 5.
- [24] D. Claessen, A.M. de Roos, L. Persson, Dwarfs and Giants: Cannibalism and Competition in Size-Structured Populations, *Am. Nat.* 155 (2000) 219–237.
- [25] Ministerstvo zemědělství, Situační výhledová zpráva - ryby 2024,.
- [26] Český statistický úřad, Spotřeba potravin, (2024).
- [27] propagační oddělení UTB, Zbytky z kapra do koše? Ani náhodou! Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. (2022).
- [28] C. Huang, C. Wu, J. Yang, Y. Li, J. Kuo, Evaluation of iron-binding activity of collagen peptides prepared from the scales of four cultivated fishes in Taiwan, *J. Food Drug Anal.* 23 (2015) 671–678.

- [29] T. Wang, C. Hsieh, C. Hung, C. Jao, M. Chen, K. Hsu, Fish skin gelatin hydrolysates as dipeptidyl peptidase IV inhibitors and glucagon-like peptide-1 stimulators improve glycaemic control in diabetic rats: A comparison between warm- and cold-water fish, *Journal of Functional Foods*. 19 (2015) 330–340.
- [30] R. Abuine, A.U. Rathnayake, H. Byun, Biological activity of peptides purified from fish skin hydrolysates, *Fish Aquatic Sci.* 22 (2019).
- [31] J.O. Onuh, M. Selvamuthukumar, Y.V. Pathak, *Bioactive Peptides: Production, Bioavailability, Health Potential, and Regulatory Issues*, CRC Press, 2021.
- [32] B. Liaset, R. Nortvedt, E. Lied, M. Espe, Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex™ protease,.
- [33] H. Herpandi, A. Rosma, W.A.W. Nadiah, N.A. Febrianto, N. Huda, Optimization of enzymatic hydrolysis of skipjack tuna by-product using protamex ®: a response surface approach, *J. Fundam and Appl Sci.* 9 (2018).
- [34] C38-1AOAC Official Method 935.46Gelatin, in: G.W. Latimer Jr. (Ed.), *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, Oxford University Press, 2023, pp. 0.
- [35] AOAC Official Method 2003.05Crude Fat in Feeds, Cereal Grains, and Forages: Randall/Soxtec/Diethylether Extraction-Submersion Method, in: G.W. Latimer Jr. (Ed.), *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, Oxford University Press, 2023, pp. 0.
- [36] AOAC Official Method 955.04Nitrogen (Total) in Fertilizers: Kjeldahl Method, in: G.W. Latimer Jr. (Ed.), *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, Oxford University Press, 2023, pp. 0.
- [37] O.L. Torres-Vargas, M. Gaytan-Martinez, C. Fernanda, B.M. Millán-Malo, M.E. Rodriguez-Garcia, Changes in the physicochemical properties of isolated starch and plantain (*Musa AAB Simmonds*) flours for early maturity stage, *Heliyon*. 9 (2023).
- [38] F. Li, D. Jia, K. Yao, Amino acid composition and functional properties of collagen polypeptide from Yak (*Bos grunniens*) bone, *LWT - Food Science and Technology*. 42 (2009) 945.
- [39] V.Q. Neto, N. Narain, J.B. Silva, P.S. Bora, Functional properties of raw and heat processed cashew nut (*Anacardium occidentale*, L.) kernel protein isolates, *Nahrung*. 45 (2001) 258.
- [40] A. Gelatin, P.B. Leiner, *Gelatin Manufacturers Institute of America Members as of January 2012*,.
- [41] Y. Mosleh, W. de Zeeuw, M. Nijemeisland, J.C. Bijleveld, P. van Duin, J.A. Poulis, The Structure–Property Correlations in Dry Gelatin Adhesive Films, *Adv. Eng. Mater.* 23 (2021) 2000716.

[42] X. Wanjun, Y. Qingqing, Z. Yaqi, F. Yu, C. Qiaoyu, G. Ruichang, B. Yulong, Insight into the mechanism of the decrease in mechanical strength and water-holding capacity of gels made from oxidized gelatin, *Int. J. Biol. Macromol.* 258 (2024) 128842.

[43] J. BELLO, H.R. BELLO, J.R. VINOGRAD, The mechanism of gelation of gelatin. The influence of pH, concentration, time and dilute electrolyte on the gelation of gelatin and modified gelatins, *Biochim. Biophys. Acta.* 57 (1962) 214–221.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Proces homogenizace surovin.....	28
Obrázek 2 Sušina štičích hlav.....	29
Obrázek 3 Popel ze štičích kostí a ploutví	30
Obrázek 4 Stanovení tuku.	31
Obrázek 5 Stanovení dusíku.....	33
Obrázek 6 Zahřívání suroviny v 0,1 mol/l roztoku NaOH.....	34
Obrázek 7 Grafické znázornění složení vstupních surovin	35
Obrázek 8 Stanovení vodu zadržující kapacity	36
Obrázek 9 Stanovení tuk vázací kapacity	37
Obrázek 10 Stanovení emulzifikační kapacity a stability emulze	38
Obrázek 11 Schéma vybraného postupu přípravy kolagenních hydrolyzátů	40
Obrázek 12 Promývání suroviny na sítu s tkaninou	41
Obrázek 13 Odtučnění suroviny.	42
Obrázek 14 Demineralizace suroviny.....	43
Obrázek 15 Příprava kolagenních hydrolyzátů.....	45
Obrázek 16 Optimalizované parametry.	47
Obrázek 18 Graf hmotové bilance, surovina štičí kosti a ploutve	49
Obrázek 17 Graf hmotové bilance, surovina štičí hlavy	49

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Výsledky obsahu sušiny v surovině.....	29
Tabulka 2 Výsledky obsahu minerálních látek v surovině.....	30
Tabulka 3 Výsledky obsahu tuku v surovině.....	31
Tabulka 4 Výsledky celkového obsahu dusíku v surovině.....	33
Tabulka 5 Výsledky obsahu kolagenu v surovině.....	34
Tabulka 6 Naměřená doba ohřevu směsi na požadovanou teplotu, surovina štičí hlavy	46
Tabulka 7 Naměřená doba ohřevu směsi na požadovanou hodnotu, surovina štičí kosti a ploutve	48
Tabulka 8 Výtěžnost procesu.....	51
Tabulka 9 Výstupní analýza kolagenních hydrolyzátů	52

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

°C	stupeň celsia
AU	Ansonn unit, Ansonnova jednotka
B	korekční konstanta pro kinetickou energii
BAT	bovine Achilles tendon, kolagen z Achillovy šlachy skotu
DSC	differential scanning calorimetry, diferenciální skenovací kalorimetrie
EC	emulzifikační kapacita
ES	stabilita emulze
Ex.	experiment
f	přepočítávací faktor
FAO	food and agriculture organisation, organizace pro výživu a zemědělství
FBC	tuk vázací kapacita
fr.	frakce
FSC	fish skin collagen, kolagen z rybí kůže
g/l	gram na litr
Gly	glycin
h	výška
H.	hydrolyzát
Hyp	hydroxyprolin
K	konstanta viskozimetru
kDa	kilo Dalton, jednotka molekulové hmotnosti
kg	kilogram
LDL	low density lipoproteins, lipoproteiny s nízkou hustotou
m	hmotnost, navážka
min	minut
mm	milimetr

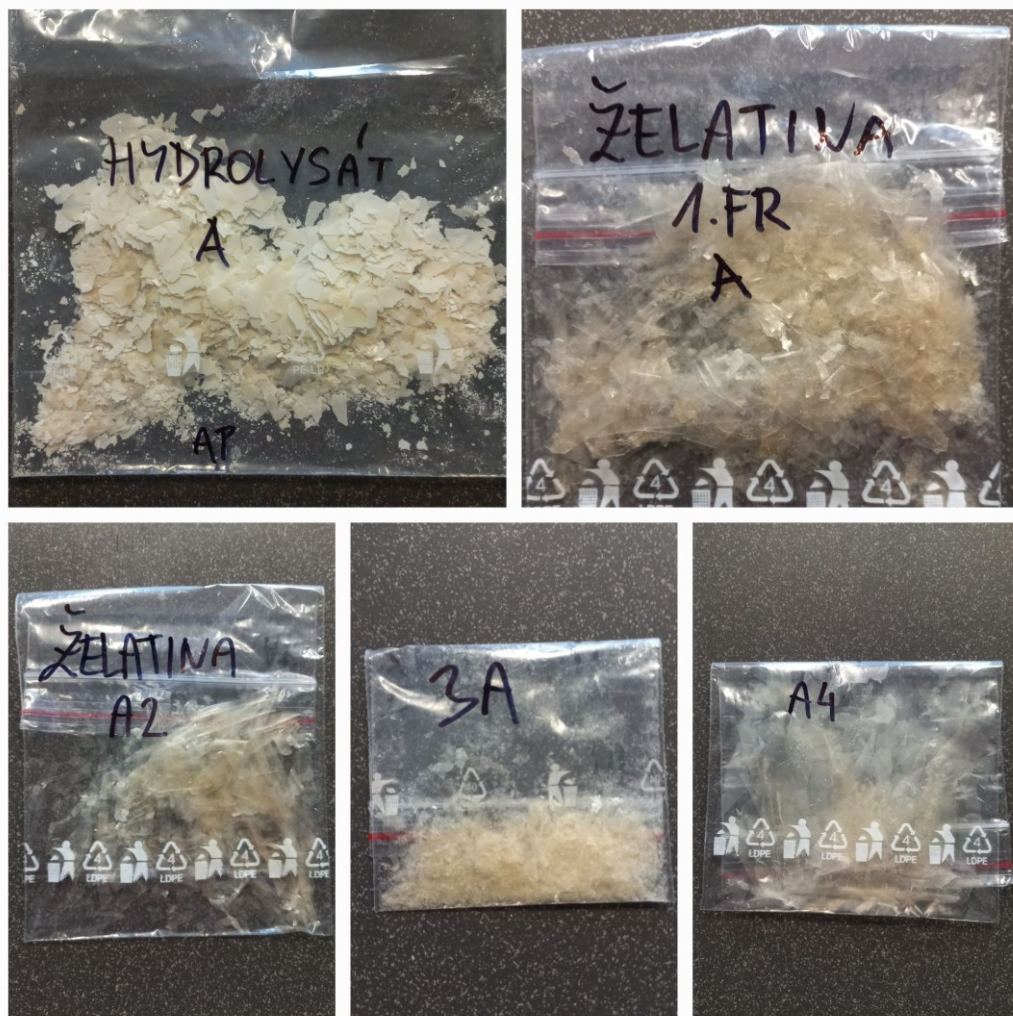
mm^2/s	milimetr čtvereční za sekundu
mol/l	mol na litr
$\text{mPas}\cdot\text{s}$	milipascal za sekundu
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
N	obsah dusíku
nm	nanometry
NP	nerozložený podíl
Pro	prolin
s	sekunda
t	čas
T	transmitance
V	objem
w/w	hmotnostní zlomek
WHC	vodu zadržující kapacita
WHO	world health organisation, světová zdravotnická organizace
η	dynamická viskozita
μm	mikrometr
ν	kinematická viskozita
ρ	hustota

SEZNAM PŘÍLOH

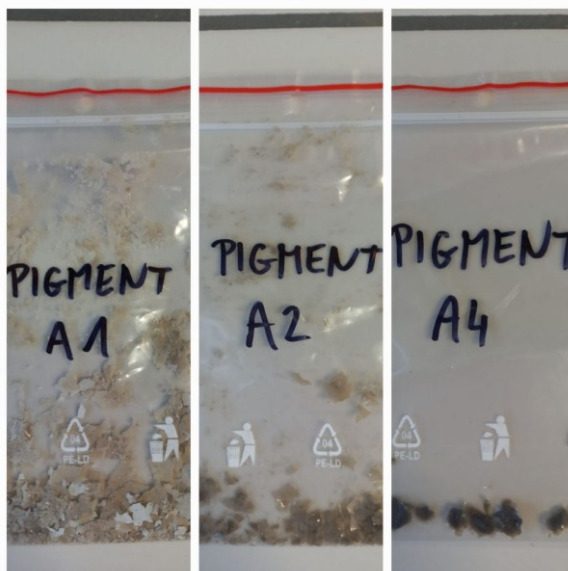
Příloha P I:	Produkty experiment 1
Příloha P II:	Produkty experiment 2
Příloha P III:	Produkty experiment 3
Příloha P IV:	Produkty experiment 4
Příloha P V:	Produkty experiment 5
Příloha P VI:	Produkty experiment 6
Příloha P VII:	Produkty experiment 7
Příloha P VIII:	Produkty experiment 8
Příloha P IX:	Produkty experiment 9
Příloha P X:	Produkty experiment 10
Příloha P XI:	Produkty experiment 11
Příloha P XII:	Produkty experiment 12

PŘÍLOHA P I: PRODUKTY EXPERIMENT 1

Hydrolyzát a želatiny

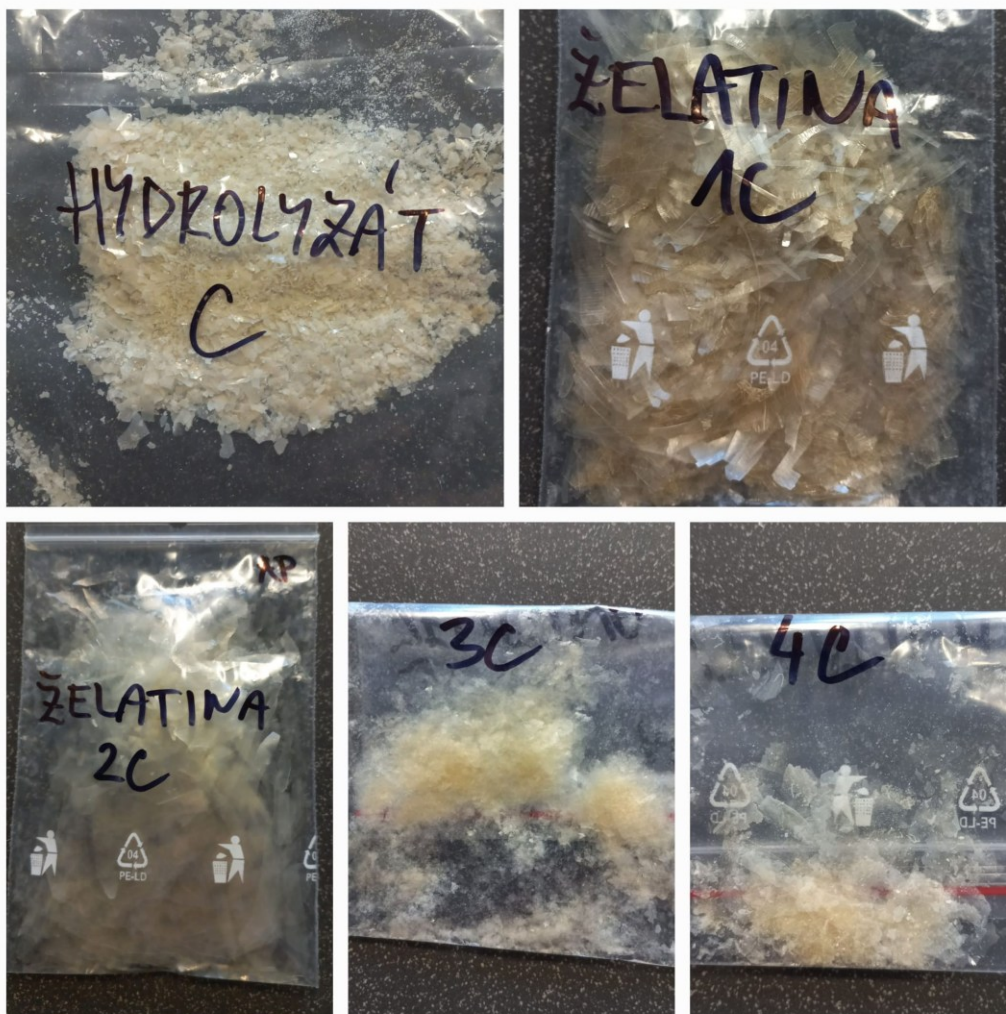


Pigment



PŘÍLOHA P II: PRODUKTY EXPERIMENT 2

Hydrolyzát a želatiny

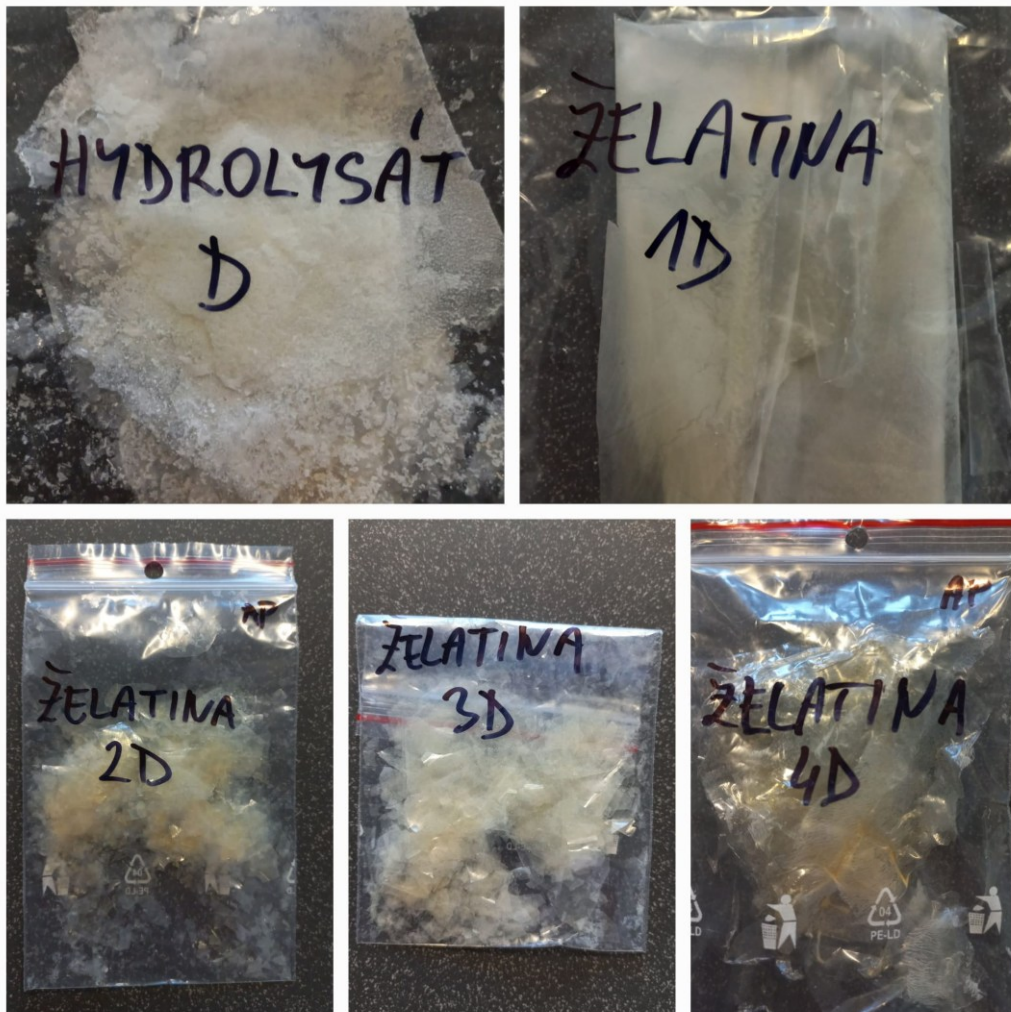


Pigment



PŘÍLOHA P III: PRODUKTY EXPERIMENT 3

Hydrolyzát a želatiny



Pigment

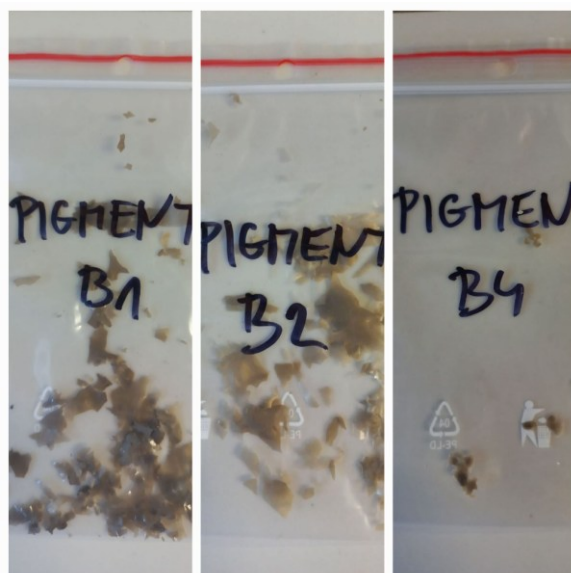


PŘÍLOHA P IV: PRODUKTY EXPERIMENT 4

Hydrolyzát a želatiny



Pigment

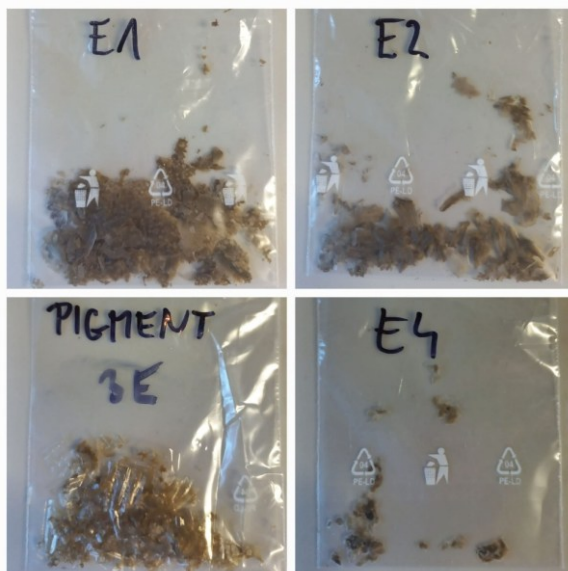


PŘÍLOHA P V: PRODUKTY EXPERIMENT 5

Hydrolyzát a želatiny

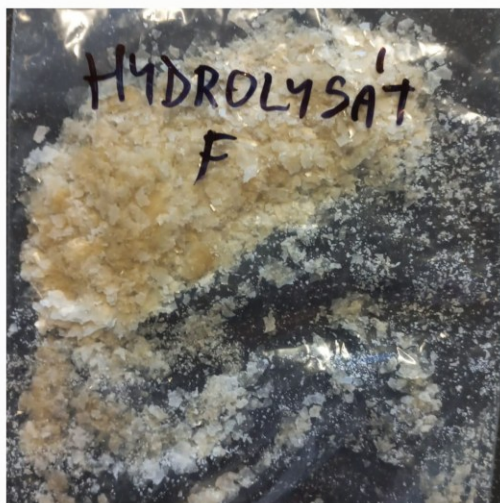


Pigment



PŘÍLOHA P VI: PRODUKTY EXPERIMENT 6

Hydrolyzát a želatiny



PŘÍLOHA P VII: PRODUKTY EXPERIMENT 7

Hydrolyzát a želatiny

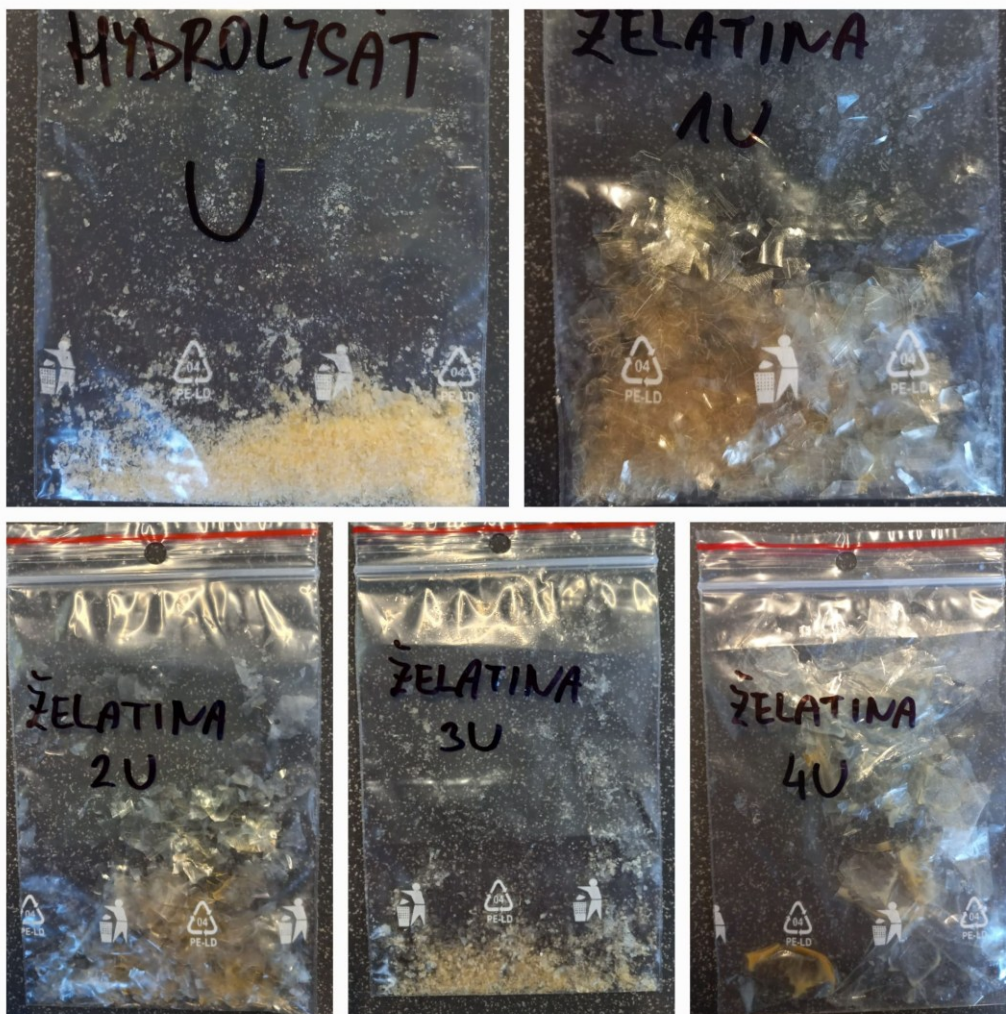


Pigment

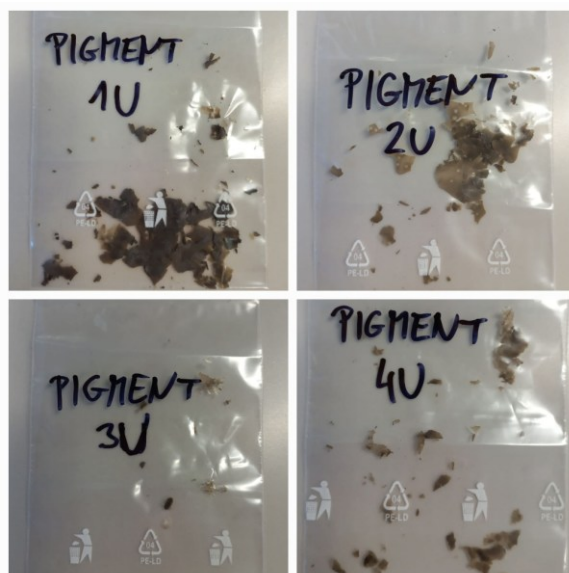


PŘÍLOHA P VIII: PRODUKTY EXPERIMENT 8

Hydrolyzát a želatiny

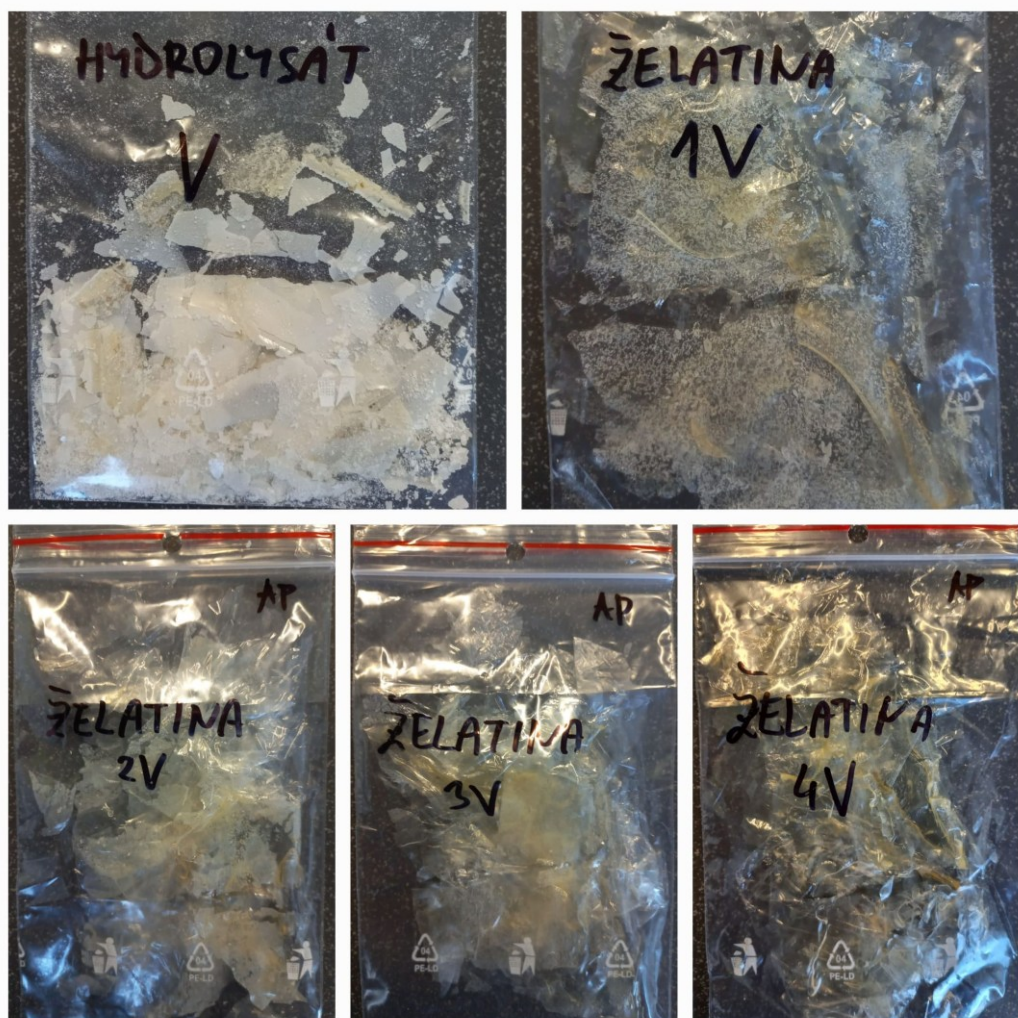


Pigment

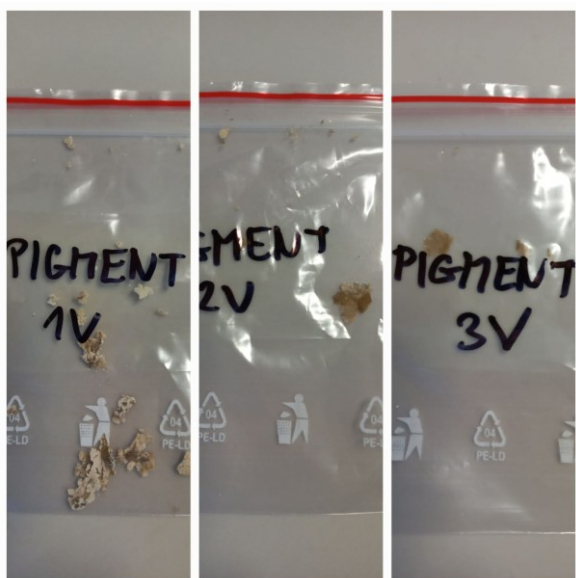


PŘÍLOHA P IX: PRODUKTY EXPERIMENT 9

Hydrolyzát a želatiny

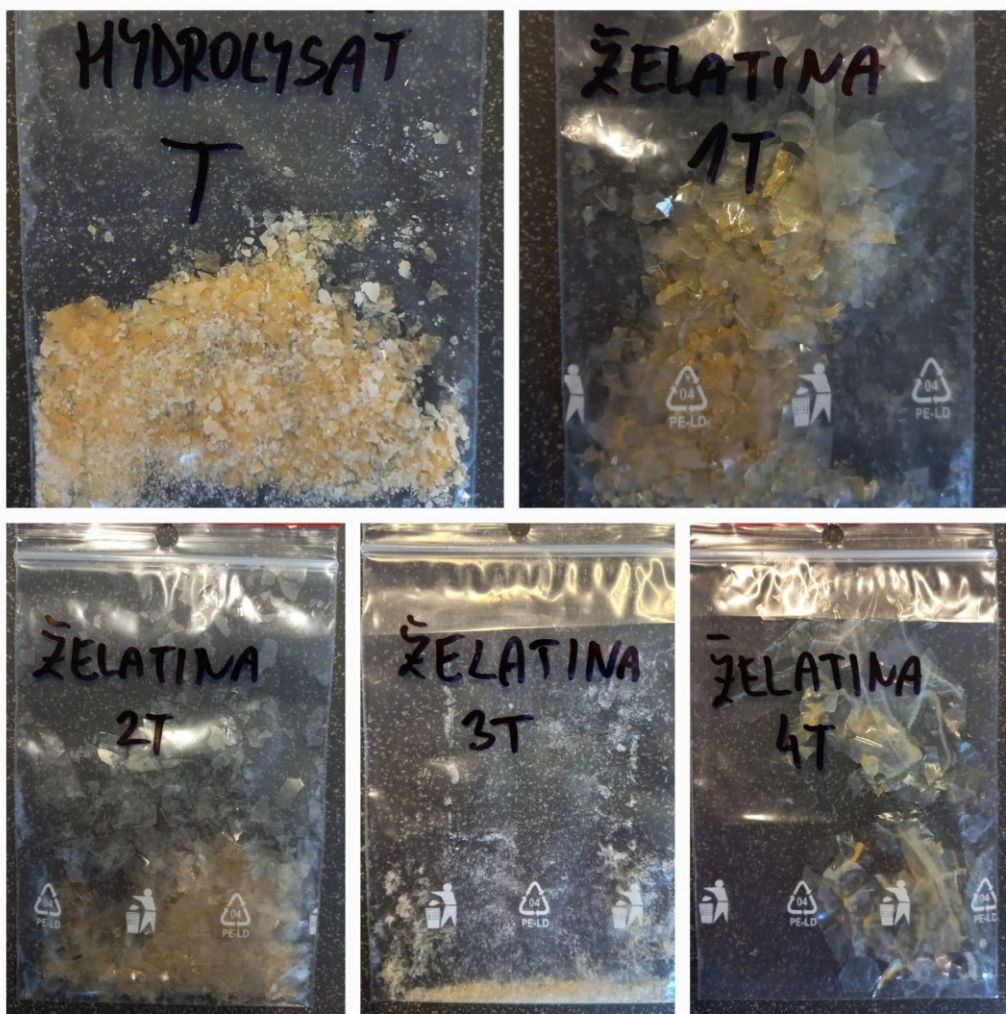


Pigment



PŘÍLOHA P X: PRODUKTY EXPERIMENT 10

Hydrolyzát a želatiny

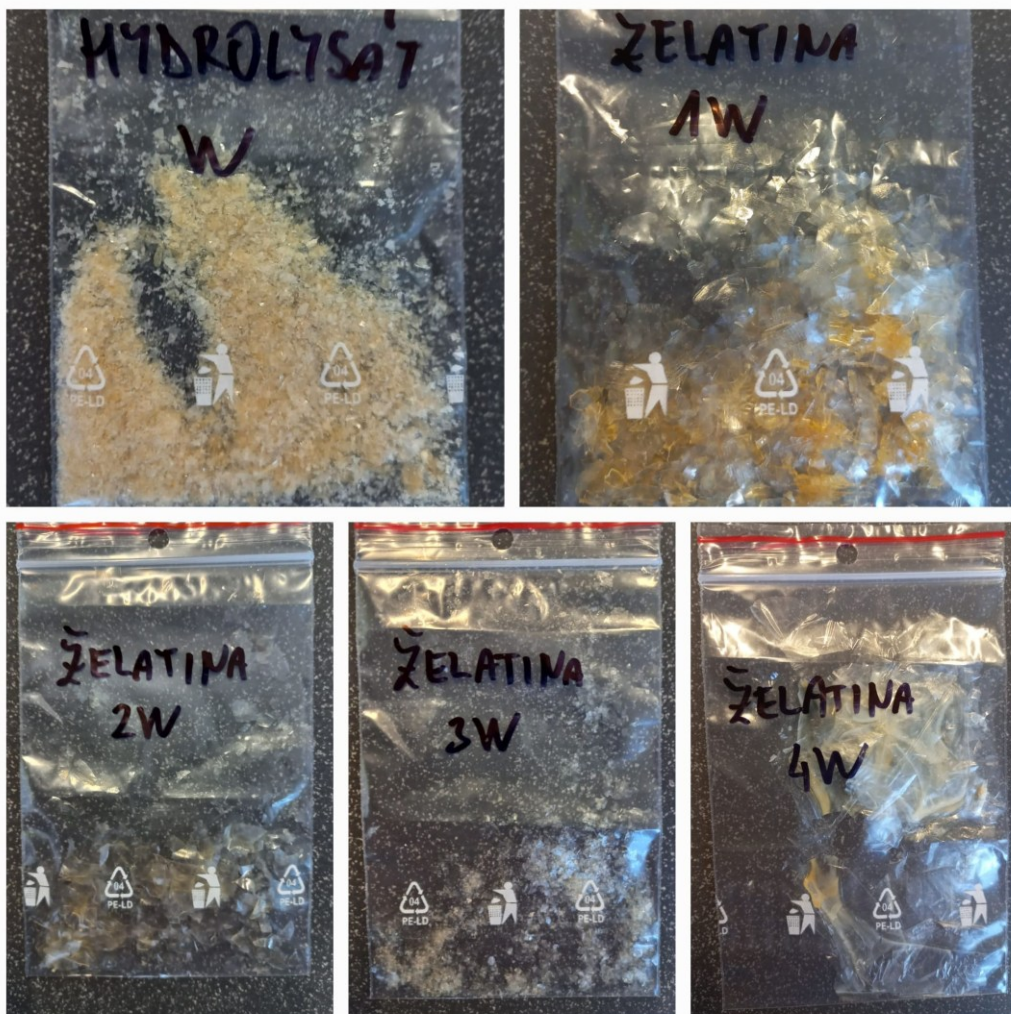


Pigment



PŘÍLOHA P XI: PRODUKTY EXPERIMENT 11

Hydrolyzát a želatiny

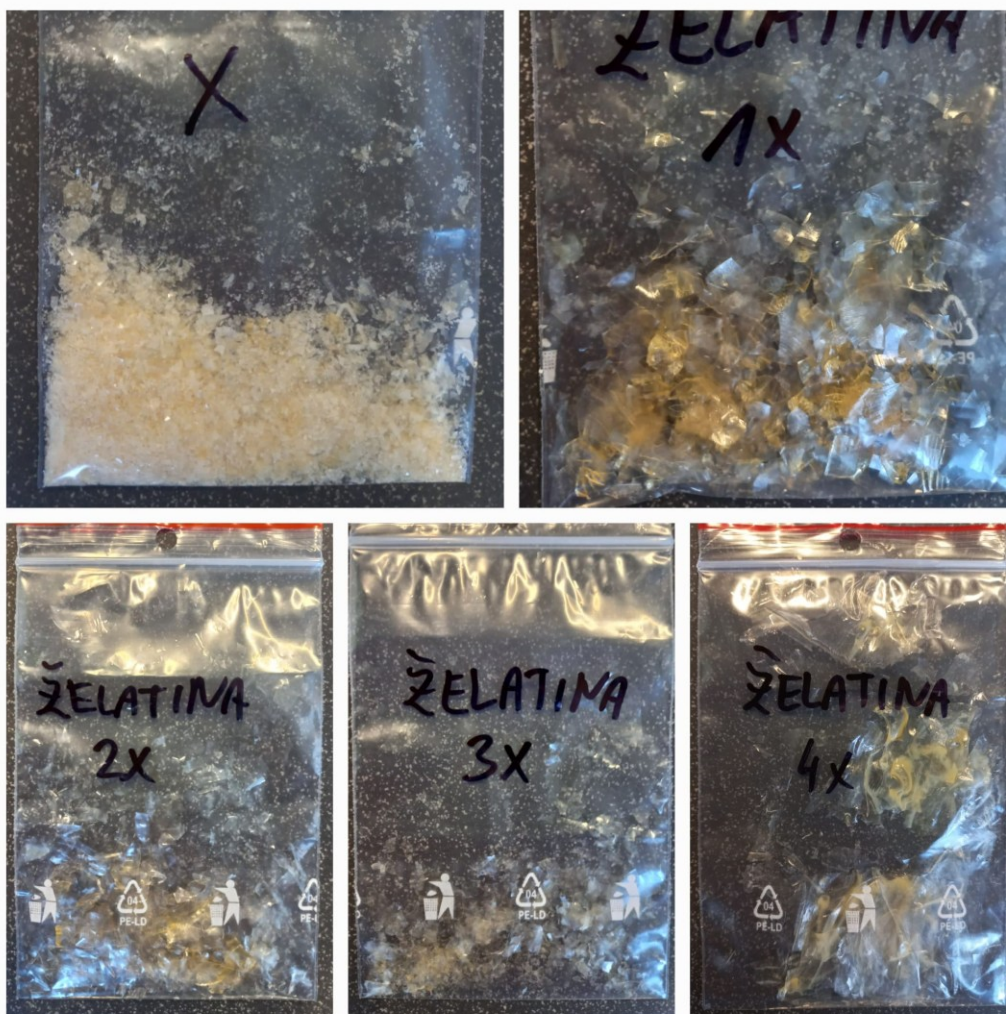


Pigment



PŘÍLOHA P XII: PRODUKTY EXPERIMENT 12

Hydrolyzát a želatiny



Pigment

