

Zpracování vedlejších bílkovinných produktů z porážky drůbeže

Ing. Petr Mrázek, Ph.D.

Teze disertační práce



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Teze dizertační práce

**Zpracování vedlejších bílkovinných produktů z
porážky drůbeže**

Processing of Poultry By-products from Slaughterhouses

Autor: **Ing. Petr Mrázek, Ph.D.**

Studijní program: P 2808 Chemie a technologie materiálů

Studijní obor: 2808V006 Technologie makromolekulárních látek

Školitel: prof. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.

Oponenti: doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.
prof. Ing. Martina Lichovníková, Ph.D.

Zlín, říjen 2023

© Petr Mrázek

Vydala **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně** v edici **Doctoral Thesis Summary**.
Publikace byla vydána v roce 2023

Klíčová slova: běháky, bíkovinný substrát, biopolymer, biotechnologie, chemická denaturace, drůbeží vedlejší produkty, enzym, extrakce, faktorové experimenty, funkční vlastnosti, hlavy, hydrolyzát, inovativní proces, kolagen, kůže, lipoláza, materiály III. kategorie, pevnost gelu, potravinářské aplikace, proteáza, předúprava, tepelná denaturace, tepelná stabilita, tuk, udržitelnost, vedlejší živočišné produkty, zpracování, želatina

Key words: animal by-products, biopolymer, biotechnology, chemical denaturation, collagen, enzyme, extraction, factorial design, fat, food applications, functional properties, gelatine, gel strength, heads, heat denaturation, hydrolyzate, innovative proces, lipolase, materials III. category, paw, poultry by-products, pre-treatment, processing, protease, protein substrate, skin, stomachs, sustainability, thermal stability

Plná verze disertační práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

ISBN 978-80-7678-195-5

ABSTRAKT

Tato práce pojednává o možnostech využití vedlejších drůbežích produktů jako suroviny pro přípravu želatiny. Při porážce drůbeže a následném zpracování masa vzniká velké množství vedlejších živočišných produktů, např. kůže, kosti, hlavy a jiné, které jsou běžně zpracovávány v kafilériích na masokostní moučku a dále jako krmiva pro domácí mazlíčky. Jedná se o potenciální suroviny s vysokým obsahem bílkovin, zejména kolagenu, z něhož je možné připravit želatiny.

Tradičními zdroji želatin jsou hovězí či vepřové kůže nebo kosti. Želatinu je možné rovněž vyrobit i z alternativních zdrojů, jako jsou kuřecí kůže nebo běháky. Odpad vznikající během zpracování drůbeže může být problematický vzhledem ke svému biologickému původu. Jeho minimalizace a transformace na upotřebitelné produkty je tedy velmi žádoucí.

Příprava želatin z drůbežích vedlejších produktů zahrnuje několik fází. Nejprve je nutné surovinu rozemlít a odstranit doprovodné látky (pigmenty a nekolagenní bílkoviny), např. pomocí roztoků NaCl a NaOH. Další fází je separace tuků. K tomuto účelu je možné použít směs rozpouštědel, např. petrolether a ethanol. Následuje předúprava suroviny a extrakce želatiny. Běžně se využívá alkalická či kyselá předúprava; v této práci byl pro tento účel využit biotechnologický (enzymový) způsob z důvodu větší šetrnosti k životnímu prostředí. Extrakce želatin byla prováděna ve vodě při teplotách 40–80 °C po dobu 30–120 min. Množství enzymu během předúpravy suroviny bylo 0,2–0,8 %. Pro zlepšení efektivity procesu byly využity faktorové experimenty za účelem zjištění vlivu jednotlivých technologických faktorů na výtěžek a kvalitu želatiny.

U připravených vzorků želatin z běháků, hlav a kůží byly stanoveny výtěžky a testovány funkční vlastnosti, z nichž nejdůležitější je pevnost gelu. Bylo dosaženo pevnosti gelu až 350 Bloom, což je hodnota převyšující běžné komerční želatiny vyrobené z hovězích či vepřových tkání. Také výtěžek želatiny byl poměrně vysoký (cca 40 %). Byly testovány další vlastnosti výnamné zejména pro potravinářský průmysl, jako např. viskozita, vaznost vody a tuku, emulzifikační či pěnotvorná kapacita a stabilita, tepelná stabilita gelu, teplota tání a gelace a mikrobiální kontaminace želatin.

Výsledky studie ukázaly, že vlastnosti připravených želatin jsou srovnatelné, nebo v některých případech lepší, než vlastnosti komerčních želatin. Vyvinutý biotechnologický způsob přípravy želatin je konkurenceschopný k běžně používaným metodám v průmyslu. Želatina připravená z drůbežích vedlejších produktů může být alternativou k tradičním vepřovým či hovězím želatinám.

ABSTRACT

This work deals with the possibilities of using poultry by-products as a raw material for the preparation of gelatine. Slaughter of poultry and processing of meat produces a large number of by-products, such as hides, bones, heads and others, which are commonly processed to meat-and-bone meal and as pet food. These are potential raw materials with a high protein content, especially collagen, from which it is possible to prepare gelatines.

Traditional sources of gelatine are beef or pork skins and bones. Gelatine can be prepared from alternative sources, such as chicken skins or feet. Waste generated during poultry processing can be problematic due to its biological origin. Its minimization and transformation into value-added products is therefore highly desirable.

The preparation of gelatine from poultry by-products involves several stages. First, it is necessary to grind the raw material and remove non-collagenous substances (pigments and non-collagenous proteins). This can be achieved using NaCl and NaOH solutions. The next stage is the separation of fats. A mixture of petroleum ether and ethanol solvents is appropriate for this purpose. This is followed by pre-treatment of the raw material and extraction of gelatine. Alkaline or acid pre-treatment is commonly used, but in this work a biotechnological (enzyme) method was used due to the greater environmental friendliness. Gelatine extraction was performed in water at temperatures between 40–80 °C for 30–120 min. The amount of enzyme at pre-treatment of the raw material was 0.2–0.8%. To improve the efficiency of the process, factorial experiments were used to determine the influence of individual technological factors on the yield and the quality of gelatine as well.

The yields of the prepared chicken feet, head and skin gelatine samples were determined and the functional properties were tested; the most important quality indicator is the strength of the gelatin gel. The gel strength of up to 350 Bloom was achieved, which is a higher value than conventional commercial bovine or porcine gelatines have. The yield of gelatine (approx. 40 %) was relatively high. Properties of particular importance to the food industry were tested, such as viscosity, clarity, water and fat binding, emulsifying or foaming capacity and stability, thermal stability of the gel, melting and gelling temperature, and microbial contamination of gelatines.

The results of this study showed that properties of prepared gelatines are comparable or in some cases better than the properties of commercial gelatines, which means that the biotechnological method of gelatine preparation is competitive with commonly used methods in industry, and gelatines prepared from poultry by-products may be an alternative to traditional pork or beef gelatines.

OBSAH

1.	TEORETICKÝ RÁMEC	6
1.1	Kolagen	6
1.2	Želatina	7
2.	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	11
2.1	Vedlejší produkty maso-zpracujícího průmyslu	11
2.2	Drůbeží vedlejší produkty	12
3.	ZHODNOCENÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ A CÍLE PRÁCE	13
4.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	14
4.1	Koncepce práce a plánování experimentů	14
4.2	Použité suroviny	15
4.3	Chemikálie a enzymy	15
4.4	Příprava přečištěného kolagenu	15
4.5	Biotechnologická předúprava a extrakce želatin	18
4.6	Testování funkčních vlastností želatin	20
5.	VÝSLEDKY A DISKUZE	23
5.1	Složení vstupních surovin	23
5.2	Příprava přečištěného kolagenu	23
5.3	Příprava želatin	24
5.3.1	Želatina z kuřecích kůží	24
5.3.2	Želatina z kuřecích hlav	31
5.3.3	Želatina z kuřecích běháků	35
5.4	Porovnání funkčních vlastností kuřecích a komerčních želatin	38
5.4.1	Želatina z kuřecích běháků	38
5.4.2	Želatina z kuřecích kůží	38
6.	PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI	40
7.	ZÁVĚR	40
8.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	43
9.	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	45
10.	SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	46
11.	PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA	47
12.	CURRICULUM VITAE	49

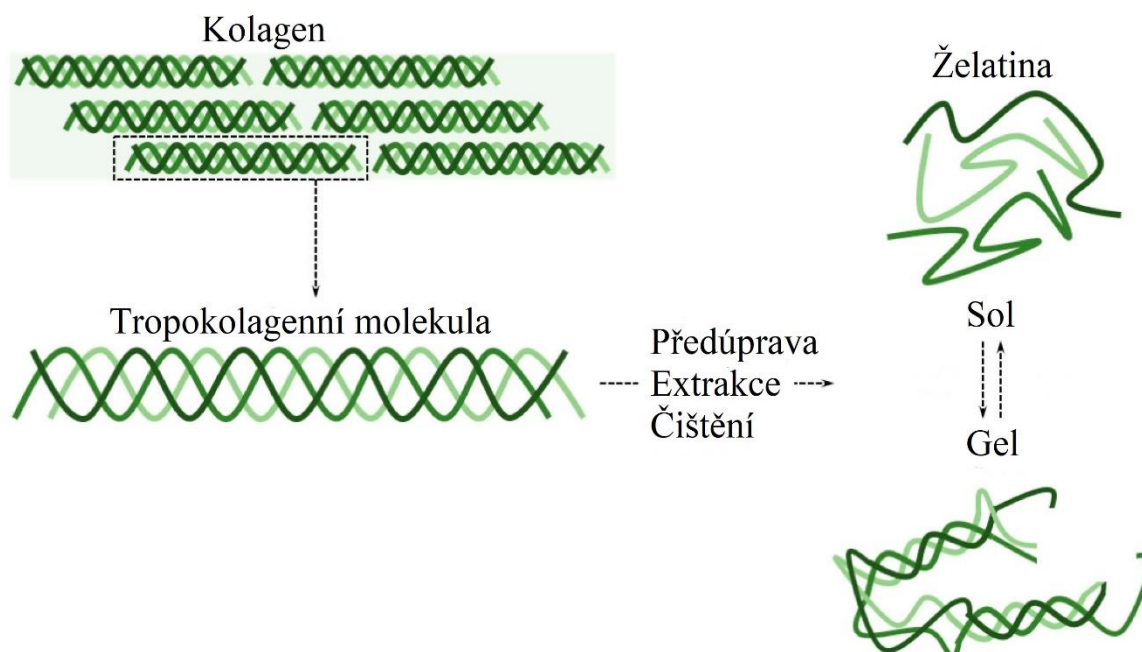
1. TEORETICKÝ RÁMEC

1.1 Kolagen

Želatina je získávána tepelnou denaturací a částečnou hydrolýzou tkání, které obsahují kolagen, což je ve vodě nerozpustný vláknitý protein důležitý pro zachování strukturní integrity a mechanické pevnosti živočišných tkání. Nachází se zejména v kůži, kostech, šlachách, cévách či chrupavkách. Kolagen patří do skupiny skleroproteinů a je to nejdůležitější protein mezi živočišnými bílkovinami a poskytuje ochranu kůže inhibicí absorpce toxinů a patogenů, má široké tkáňové funkce, jako je přežití buněk, proliferace a diferenciace, je zodpovědný za pružnost, pevnost, hydrataci kůže, pomáhá při hojení poškozených kostí nebo cév a tvoří 25–35 % všech živočišných bílkovin jak u obratlovců, tak i bezobratlých; je tedy nejrozšířenějším proteinem živočichů.

Struktura kolagenu typu I zahrnuje 1014 aminokyselinových zbytků, které jsou spojeny peptidovou vazbou. Peptidová vazba mezi jednotlivými aminokyselinami vzniká kondenzací dvou různých aminokyselin a tvoří tak tzv. α -řetězce s molekulární hmotností přibližně 100 kDa. Každý z α -řetězců vytváří levotočivou šroubovici v konformaci polyprolin II. Tři α -řetězce jsou vzájemně stočeny kolem sebe do výsledné pravotočivé super-šroubovice nazvané tropokolagen obsahující koncové globulární domény (telopeptidy), které se dále rozvíjejí. Molekuly tropokolagenu mají délku 300 nm, průměr 1,5 nm, molekulovou hmotnost 330 kDa, jsou stabilizovány hydrofobními a elektrostatickými interakcemi mezi řetězci, vytvářejí hustou síť kolagenních fibril a tvoří základní stavební jednotky kolagenu. (Krishnamoorthi, 2017).

Chemickým působením při teplotách nad 60 °C kolagen denaturuje, vznikají strukturální změny, narušují se intramolekulární vazby, vznikají fyzikálně-chemické změny a výsledkem je přeměna nativního kolagenu na kolagen rozpustný v teplé vodě (želatinu), jak je znázorněno na obr. 2. K tomuto účelu se v průmyslu využívají alkálie nebo kyseliny. Chemická předúprava způsobí porušení intermolekulárního zesíťování a také může hydrolyzovat molekuly kolagenu na její fragmenty. Při extrakci kolagenu dochází k přechodu proteinu z konformace označované jako helix, do stavu nazvaném klubko při teplotách kolem 36 °C. Želatina má nižší molekulovou hmotnost než nativní kolagen, protože je složena ze směsi polypeptidových kolagenních segmentů s molekulovou hmotností v rozmezí 16–150 kDa. Během tvorby želatinového gelu při teplotách pod 30 °C se mění konformace řetězců a vytváří se trojrozměrná síťová struktura velmi podobná nativnímu uspořádání kolagenu (Asghar a Henrickson, 1982).



Obr. 1. Přeměna kolagenu na želatinu

1.2 Želatína

Želatína je široce průmyslově využívaný multifunkční biopolymer, který byl díky svým pozitivním účinkům na lidské zdraví uznán jako funkční potravinu. Aplikace želatiny sahá až do roku 4000 př. n. l., kdy staří Egypťané používali lepidlo založené na želatíně pro spojení částí nábytku. V Anglii za vlády Jindřicha VIII byla želatína používána jako přísada do pokrmů na každé recepci. Koncem 17. století začala komerční výroba želatiny. Po více než sto letech byl výrobní proces vylepšen natolik, že byla vyrobena želatína s vysokou molekulovou hmotností, čímž byla dosažena její vysoká kvalita. V roce 1845 byl udělen patent na výrobu želatinových dezertů, kterých se v současnosti jenom v USA ročně prodá asi 300 milionů kusů (Schrieber a Gareis, 2007). V současné době je celosvětová roční produkce želatiny přibližně 600 000 tun (Grand View Research, 2019).

Tradičními surovinami při výrobě želatiny jsou vepřové a hovězí kůže. Želatína získaná z vepřových kůží představuje 44 % produkce, z hovězích kůží 28 %, z hovězích kostí 27 % a pouze 1 % tvoří želatiny vyrobené z jiných zdrojů. Konzumace vepřové či hovězí želatiny je zakázána v určitých náboženstvích. Alternativní zdroje želatiny, např. vedlejší drůbeží nebo rybí produkty, jsou proto vysoce žádoucí pro produkci halal želatiny (Sarbon, 2015; Bichukale, 2017; Mrázek, 2019).

Produkce želatiny zahrnuje několik kroků: příprava suroviny (čištění a mletí), demineralizace, předúprava, extrakce, filtrace, koncentrace, sterilizace a finalizace (příprava práškové nebo listové želatiny). Při průmyslové výrobě želatiny je živočišná tkáň opracována zředěnými roztoky kyselin či alkálií. Existují dva základní typy chemické předúpravy: kyselá, trvající přibližně 1 den,

nebo alkalická trvající v řádu dnů až měsíců. Základním principem opracování je odstranění nekolagenních bílkovin a dalších nežádoucích látek, jako jsou pigmentů a tuky. Po předúpravě následuje extrakce želatiny při teplotách 50–100 °C, kdy je struktura nativního kolagenu denaturována horkou vodou za vzniku krátkých řetězců molekul kolagenu. Během této fáze procesu přípravy jsou důležité tři faktory: teplota, čas a pH. Vyšší teplota a delší doba působení teploty na surovinu akceleruje proces. Podobný vliv má rovněž použití silnějších kyselin či alkálií během hydrolyzy (předúpravy). Doba extrakce je obvykle 4–7 h a používá se vícefázová extrakce, kdy je postupně zvyšována extrakční teplota. Dalšími kroky jsou čištění a filtrace, deionizace, koncentrace, sterilizace a závěrečnou fází je ochlazení a extrudace želatiny (Schrieber a Gareis, 2007).

Vědecká literatura zmiňuje různé postupy přípravy drůbeží želatiny. Nejrozšířenější je využití kyselého opracování během předúpravy surovin. Např. příprava rozpustného kolagenu 24-h opracováním slepičích běháků slabými kyselými roztoky (0,5 mol/l kyselinou octovou, citrónovou, mléčnou nebo HCl) a enzymem (pepsin) při teplotě 4 °C s relativně nízkými (5,6–8,4 %) výtěžky želatin (Cheng, 2009). Rovněž byla popsána příprava želatiny z kuřecích běháků, které byly opracovány v kyselém prostředí s použitím mírně silnějších roztoků (1,5–4,5 %, v/v) kyselin (octová, citrónová nebo mléčná) při pokojové teplotě po dobu 16–18 h. Při použití mírných teplot extrakce (50–55 °C) a doby extrakce v rozmezí od desítek minut po několik hodin, byla připravena želatina s pevností gelu 120–300 Bloom (pevnost gelu je základní parametr určující kvalitu želatin), což je srovnatelný výsledek s komerčními vepřovými a rybími želatinami. Du a kol. (2013) aplikovali následující postup: běháky byly smíseny s 0,5 mol/l NaOH v poměru 1:10 (v/v) a směs byla protřepávána 6 h při teplotě 4 °C; alkalický roztok byl měněn každé 2 h. Výtěžek želatiny byl 38 %. Huda a kol. (2013) provedli přímou extrakci v 5% kyselině mléčné při velmi nízké teplotě 4–7 °C po dobu 24 h a k neutralizaci použili 1 mol/l NaOH po dobu 15 min při teplotě 10 °C. Výtěžek želatiny byl 28 %. Almeida s Lannesem (2013) opracovávali surovinu 4% kyselinou octovou po dobu 16 h s následnou extrakcí 6 h při teplotě 55 °C. V této studii bylo dosaženo pevnosti gelu 295 Bloom a výtěžku želatiny 8 %. Liu a kol. (2008) použili 5% roztoky různých kyselin (HCl, octové, citronové a mléčné) po dobu 12, 24, 36 a 48 h při teplotě 4–7 °C; následovala neutralizace 0,1 mol/l NaOH a sušení suroviny. Výtěžek želatin byl v rozmezí 8–31 % v závislosti na typu použité kyseliny a doby opracování, přičemž použití kyselin mléčné a octové přineslo velmi podobné výsledky (přibližně 30 %). Také jsou dostupné studie zabývající se dalšími typy vedlejších drůbežích produktů, jako jsou např. kuřecí kůže nebo hlavy. Sarbon a kol. (2015) pro opracování kuřecí kůže použili 0,15% NaOH; 0,15% H₂SO₄ a 0,7% kyselinou citrónovou pokaždé po dobu 120 min. Následná extrakce byla provedena při teplotě 45 °C po dobu 24 h. Výtěžek želatiny byl 16 % a pevnost gelu 335 Bloom, což je více než pevnost gelu běžné komerční hovězí želatiny

(250 Bloom). Du a kol. (2013) zpracovávali drůbeží hlavy 0,015 mol/l roztokem NaHCO₃ po dobu 3 h; 0,1 mol/l NaOH po dobu 6 h a 0,05 mol/l kyselinou octovou po dobu 18 h při teplotě 4 °C a extrahovali při teplotě 50 °C po dobu 18 h, nebo při vyšší teplotě 60 °C a kratší době 6 h. Výsledná želatina měla pevnost gelu 368 Bloom a výtěžek extrakce byl 38 %. Rafieian a kol. (2013) použili pro opracování zbytků z kuřecího separátoru 1% NaCl po dobu 30 min a 3–7% HCl po dobu 24 h při pokojové teplotě. Extrakce probíhala po dobu 4, 7 a 10 h při teplotách 60, 70 a 80 °C; pevnost gelu byla velmi vysoká (520 Bloom).

Hydrolyza (předúprava) kolagenu může být také katalyzována pomocí enzymů, oproti běžně používanému kyselému či alkalickému způsobu. Enzymy jsou bílkoviny, které katalyzují biochemické přeměny ve všech živých organismech. Enzymy zvané peptidázy štěpí peptidovou vazbu mezi molekulami bílkovin. Existují dva základní druhy peptidáz, které se ještě dále dělí na další podskupiny: endopeptidázy a exopeptidázy. Zatímco exopeptidázy štěpí vazby uvnitř kolagenních řetězců, endopeptidázy štěpí vazby na koncích řetězců. Použití enzymů je preferováno před chemikáliemi kvůli relativně vyšší specifčnosti a snadnosti řízení procesu pro dosažení požadované transformace. Za specifických podmínek lze pomocí enzymů vyextrahovat relativně velké množství kolagenního materiálu (Lassoued, 2014).

Faktory ovlivňující fyzikálně-chemické vlastnosti želatiny závisí zejména na aminokyselinovém složení molekul kolagenu, jejich uspořádání, molekulové hmotnosti a její distribuci a další faktory. Mezi základní fyzikální vlastnosti želatiny patří průhlednost, bezbarvost, křehkost (v suchém stavu); želatina je jedlá, bez chuti a zápachu, ale nejdůležitější fyzikálních vlastností želatiny v komerčních aplikacích je schopnost navázat velké množství vody (více jak 10-násobek) a tvořit gel. Přeměna želatinového roztoku na gel je termo-reverzibilní fyzikální proces, přičemž gel má jedinečnou schopnost „tát“ v ústech. Pevnost gelu je rozhodujícím faktorem při určování kvality želatiny a přímo souvisí s její cenou. Podle hodnoty pevnosti, se želatina dělí na želatinu s nízkou (<150 Bloom), střední (150–220 Bloom) nebo vysokou pevností gelu (220–300 Bloom). Pevnost gelu drůbeží želatiny je uváděna ve vědecké literatuře mezi 80–520 Bloom. Nízká pevnost gelu (80 Bloom) byla naměřena u želatiny extrahované z kuřecích běháků (Widyasari, 2014); naopak u želatiny ze zbytků po mechanickém opracování drůbežího masa byly zaznamenány vysoké hodnoty: 294 (Almeida, 2013), 338 (Du, 2014), 520 Bloom (Rafieian, 2015). Viskozita je druhý nejdůležitější parametr želatiny. Viskozita želatiny je důležitá zejména při zpracování želatinového roztoku na finální produkty (např. želatinové kapsle) (Karayannakidis and Zotos, 2014). Vaznost vody (VV) je typická a žádaná vlastnost želatiny v potravinářských výrobcích včetně uzenin, krémů a těsta díky absorpci vody, a tím je dosaženo zahuštění a dosažení požadované viskozity produktů (Simoes, 2014). Vaznost tuku (VT) proteinů

souvisí s hydrofobitou jejich povrchu a úrovní odhalením hydrofobních zbytků uvnitř molekuly (George, 2010). Emulzifikační kapacita (EK) a stabilita (ES) želatiny mají význam zejména v kosmetickém průmyslu při přípravě mastí a krémů. Želatiny a kolagenní hydrolyzáty jsou povrchově aktivní látky a podporují tvorbu emulzí typu olej ve vodě, protože jsou rozpustné ve vodě a mají funkční skupiny jak hydrofilní, tak i hydrofobní (Guillén, 2011). Schopnost tvorby stabilní želatinové pěny je rozhodující faktor při přípravě cukrárenských výrobků jako např. marshmallows nebo šlehaček. Teplota, při které dochází k přeměně želatinového gelu na roztok je definována jako bod tání, a naopak, teplota, při které dochází k přechodu roztoku na gel, je nazývána bodem gelace. Faktory ovlivňující bod tání a gelace jsou např. pevnost gelu, koncentrace, distribuce aminokyselin, zdroj kolagenu, nebo množství iminokyselin. Potravinářská či farmaceutická želatina musí splňovat limity na obsah minerálních látek či těžkých kovů a také nesmí dojít k mikrobiální kontaminaci. Podle potravinářských a farmaceutických standardů nesmí obsah minerálních látek v želatině překročit 2,0 % (Schrieber a Gareis, 2007).

Aplikace

Aplikační možnosti želatiny jsou díky jedinečným vlastnostem velmi široké v mnoha průmyslových odvětvích. V potravinářství se želatina používá např. jako prostředek pro zlepšení elasticity, gelovitosti, krémovitosti, viskozity či stability produktů, nebo jako stabilizátor emulzí, textury či pěny, pěnotvorné činidlo, adhezivum, biodegradabilní film, vodu-vázací a mikroenkapsulační činidlo nebo emulgátor. Vzhledem ke svým cenným vlastnostem je želatina také využívána v biomedicíně a farmacii. Schopnost želatiny zadržovat molekuly vody se s výhodou využívá také v kosmetických či dermatologických přípravcích, např. v šamponech, kondicionérech, rtěnkách, nebo v péči o nehty či pleťových mastech a krémech. Kolagen a jeho deriváty jsou součástí zmíněných produktů, kde plní funkci jako prostředek, který dodává kůži vlhkost a redukuje transepidermální ztráty vlhkosti. Aplikační možnosti želatiny jsou díky jejím jedinečným vlastnostem velmi široké.

2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

2.1 Vedlejší produkty maso-zpracujícího průmyslu

V současnosti je velký význam kladen na maximální využití surovin a z toho vyplývající snižování odpadů napříč průmyslovými odvětvími. To platí zejména pro maso-zpracující průmysl, který stimuluje svůj růst produkcí mnoha lahůdkových produktů a poskytuje rovnováhu mezi zdroji bílkovin ze živočišných zdrojů. Takové produkty představují užitek pro spotřebitele i výrobce, ale také vedou k velkému množství vedlejších živočišných produktů, které běžně představují až 30 % z celkového objemu výroby. Tyto vedlejší produkty mohou být znovu využity maso-zpracujícím průmyslem k zajištění své konkurenceschopnosti oproti dodavatelům rostlinných bílkovin. Podle odhadů je ročně vyprodukováno 20–100 milionů tun potravinářských odpadů po celém světě. Společnosti provozující jatečné podniky se musí zabývat vedlejšími produkty živočišného původu podle metod definovaných směrnicí EU/1069/2009/ES. Vedlejší produkty jsou podle směrnice rozděleny do 3 kategorií. Kategorie 1 zahrnuje např. těla zvířat nebo jejich části podezřelé nebo potvrzené infekcí TSE, těla hospodářských a volně žijících zvířat, pokusná zvířata a další zvířata podezřelá z nákazy chorobou přenosnou na člověka nebo zvířata obsahující specifikovaný rizikový materiál. Kategorie 2 zahrnuje např. hnůj, nemineralizované guáno a obsah trávicího traktu, produkty živočišného původu, které byly prohlášeny za nevhodné pro lidskou spotřebu z důvodu přítomnosti nečistot. Kategorie 3 zahrnuje např. těla a části poražených zvířat, která jsou podle právních předpisů společenství vhodná k lidské spotřebě, ale nejsou určena k lidské spotřebě z komerčních důvodů, těla zvířat poražených na jatkách shledaných jako vhodná k lidské spotřebě nevykazující známky nemoci přenosné na člověka. Lze je využít pro výrobu krmiv, kosmetických, léčivých nebo zdravotnických prostředků v souladu s příslušnými směrnicemi.

Vedlejší produkty maso-zpracujícího průmyslu jsou např. krev, kosti, odřezky masa, kůže, tuková tkáň, rohy, hlavy, kopyta, končetiny nebo vnitřnosti. Ekologická likvidace takového odpadu je velmi nákladná. Vedlejší produkty obsahují důležité živiny, jako jsou bílkoviny, tuky, minerály či vitamíny, které mohou přinést určitý zisk maso-zpracovatelským firmám. Ve vyspělých zemích se vedlejší produkty drůbeže začleňují do krmiv pro domácí mazlíčky nebo doplňkových látek v krmivech pro hospodářská zvířata, naopak, v rozvojových zemích jsou bez užitku skládkovány. Vedlejší živočišné produkty jsou také využívány jako složka kompostu či hnojiv v zemědělství (Martínez–Alvárez, 2015).

2.2 Drůbeží vedlejší produkty

Kuřecí maso je v současné době jedním z nejčastěji konzumovaných druhů masa a jeho spotřeba neustále roste v souvislosti s globálním populačním růstem. Celosvětová spotřeba kuřecího masa vzrostla z 66 milionů tun v roce 2000, 91 v roce 2009, 94 v roce 2013 na přibližně 100 milionů tun v roce 2019. Drůbežářský průmysl je tedy jedním z nejrychleji rostoucích zemědělsko-potravinářských odvětví na světě (FAO, 2019). Drůbeží maso představuje 5,5 % z celkové zemědělské produkce a 12,7 % z produkce maso-zpracujícího průmyslu v EU (Eurostat Statistics, Meat Production, 2017).

Celosvětová spotřeba kuřecího masa se tedy neustále zvyšuje. Tento vzrůst je následkem snížení ceny masa, technologickým pokrokem a zejména růstem populace. Odpad vznikající při zpracování drůbeže, skotu a vepřů způsobuje nadměrnou zátěž pro životní prostředí, pokud je prováděn neadekvátními metodami. Vznikají vážné environmentální problémy, které vedou k degradaci půdy, povrchových a podzemních vod. Příležitost snížit rostoucí objem nedostatečně využívaných vedlejších produktů a jejich ekonomické zhodnocení může být jejich další využití např. jako levné a dostupné alternativy k tradičním surovinám používaným pro výrobu želatiny. Růst drůbežářského průmyslu má za následek zvýšení objemu vedlejších produktů. Jedná se např. o hlavy, nohy, kůže, vnitřnosti, kosti, krev nebo peří, které představují 22–33 % z objemu produkce (viz tab. 1). Tyto vedlejší produkty se považují za odpad běžně zpracovávaný na masokostní moučku, výrobu krmiv pro domácí zvířata nebo hnojiva a jsou důležitými zdroji bílkovin, jako je keratin nebo kolagen, které lze také použít k výrobě hydrolyzátů bílkovin, proteinových izolátů a želatiny. Vedlejšími produkty ve stádiu chovu jsou i podestýlka a hnůj (které lze využít jako hnojivo) a rovněž vedlejší produkty líhně, zejména vaječné skořápky, nevylíhnutá vejce a mrtvá či vyrazená kuřata, která lze ve formě moučky přidávat v množství 3–5 % do krmiv (Jayathilakan, 2012).

Maso-zpracující průmysl generuje díky rostoucí výrobě stále větší množství vedlejších živočišných produktů (až 100 milionů tun/rok celosvětově), které jsou běžně zpracovávány v kafilériích na masokostní moučku. Největší podíl zauímají kuřecí vedlejší produkty (až 33 % produkce), neboť kuřecí maso je v současnosti nejvíce konzumovaným typem masa z důvodu nižší ceny oproti ostatním typům. Vedlejší kuřecí produkty (např. běháky, kůže nebo hlavy) mohou obsahovat významné množství kolagenu, a tedy mohou být potenciální surovinou pro přípravu želatiny, která se vyrábí zpracováním živočišných tkání obsahujících tento protein (zejména vepřové a hovězí kůže nebo kosti). Zpracování vedlejších živočišných produktů na produkt s dalším komerčním využitím představuje další ekonomické zhodnocení suroviny, což zvyšuje konkurenceschopnost zpracovatelských firem. Kuřecí želatina může být alternativou k tradičním savcím želatinám díky podobným vlastnostem v závislosti na typu suroviny a metodě přípravy. Při zpracování tkání na želatinu jsou běžně využívány kyseliny a alkálie. Je tedy žádoucí nahrazení těchto

chemikálií jinými látkami nezatěžující životní prostředí. Určitou alternativou mohou být enzymy, jejichž výhodou je také vyšší specifita, a tedy snadnější řízení procesu. Želatina má v současné době díky svým jedinečným vlastnostem (schopnost vázat vodu či tuk; tvorba emulze, filmu, termoreverzibilního gelu; stabilizace pěny, textury) široké aplikační možnosti v mnoha průmyslových odvětvích (potravinářství, kosmetika, farmacie, medicína). V současnosti také roste poptávka po jiných než savcích typech želatin vzhledem k nemocem skotu či z náboženských důvodů (Islám, Hinduismus, Judaismus). Výroba želatin z alternativních zdrojů použitím alternativního způsobu tedy představuje ideální využití vedlejších živočišných produktů jak z ekonomického, tak i z ekologického hlediska.

Tab. 1. Vedlejší produkty drůbežářského průmyslu a jejich potenciální využití (Jayathilakan, 2012)

Typ produktu	≈ % živé váhy	Použití
hlavy	2,5	drůbeží moučka, želatina
krev	3,5	krevní moučka
žaludek	3,5	potravina, zdroj chitinolytického enzymu
končetiny	3,5	polévka, mazivo
peří	7,5	lůžkoviny, hnojivo, moučka z peří
střeva a žlázy	8,5	masová moučka, hormony, enzymy
kůže	7,0	masné výrobky, želatina
kosti	13,0	masokostní moučka

3. ZHODNOCENÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ A CÍLE PRÁCE

Želatina je v současnosti průmyslově připravována z živočišných tkání s vysokým podílem kolagenu s využitím dvou základních typů chemické předúpravy: kyselé a alkalické. Kyselé opracování trvá přibližně jeden den a jsou k tomuto účelu nejčastěji využívány HCl, H₂SO₄ nebo H₃PO₄. Alkalické opracování trvá v řádu dnů až měsíců a jsou běžně používány NaOH nebo KOH. Výhodou je nízká cena těchto chemikálií, avšak nevýhodou je jejich toxicita; při uvolňování do životního prostředí představují riziko pro člověka i další živočichy. Proto byla zvolena alternativní biotechnologická metoda předúpravy suroviny, která spočívá v opracování suroviny enzymem, jehož cena je vyšší oproti běžně používaným chemikáliím, avšak použité množství je velmi nízké (v řádu desetin procent). Na základě vyhodnocení literární rešerše byly zvoleny jednotlivé cíle práce, které vycházejí ze tří hlavních zjištění: neustále se zvyšující množství drůbežích vedlejších produktů; skutečnost, že tyto produkty mohou obsahovat významné množství kolagenu; neustále rostoucí celosvětová poptávka po želatině.

1. Příprava přečištěného kolagenu

- Zvolit vhodné vedlejší drůbeží produkty, stanovit jejich složení a navrhnout způsob přípravy tkání k dalšímu zpracování. Zvolený typ tkáně podrobit řízenému odbourávání nežádoucích složek a připravit přečištěný kolagen

2. Příprava želatin

- Navrhnout postup zpracování přečištěného kolagenu na želatinu s využitím alternativního způsobu, při kterém by bylo využito minimální množství chemických látek; zvolit vhodné technologické podmínky a provést extrakci želatin z vybraných vedlejších drůbežích produktů s využitím faktorových experimentů

3. Testování funkčních vlastností želatin

4. Návrh optimálních podmínek přípravy želatin

- Sledovat vliv jednotlivých technologických faktorů na výtěžek a funkční vlastnosti želatin a navrhnout optimální technologické podmínky přípravy želatiny z vybraných vedlejších drůbežích produktů

5. Zhodnocení přínosu práce pro vědu a praxi

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Koncepce práce a plánování experimentů

V této práci byly pro plánování experimentů využity tzv. faktorové experimenty, které lze využít pro zjištění významu vlivu jednotlivých technologických faktorů na výtěžek a kvalitu (připravených želatin za účelem optimalizovat proces přípravy želatiny a následně určit nejvhodnější technologické podmínky. Použití této metody umožňuje zkoumat více než jeden faktor na dvou nebo více úrovních. Experimentální návrh obecně zahrnuje kombinace různých úrovní faktorů, což umožňuje vyhodnotit interakce mezi různými faktory, posoudit význam každého faktoru a nalézt nejefektivnější způsob řešení problému s využitím malého počtu experimentů. Faktorové experimenty využívají ortogonalitu, která umožňuje popis jevu bez nutnosti zkoumat všechny varianty řešení. V současné době odborná literatura téměř nenabízí informace o využití faktorových experimentů při optimalizaci přípravy želatin. Potenciální aplikace však již byly popsány v technické praxi, např. v práci Štrause a Dolejše při problematice úpravy vody (Štraus a Dolejš, 2010).

4.2 Použité suroviny

Byly vytypovány 3 druhy vedlejších drůbežích živočišných produktů (kuřecí běháky, kůže a hlavy (Raciola, Česká republika)) s potenciálem dalšího využití na komerční produkty, které bylo nejprve nutné charakterizovat za účelem zjištění jejich složení, tj. stanovit obsah sušiny; v sušině poté podíl bílkovin, tuků a minerálních látek, a také podíl kolagenu z obsahu bílkovin. Výsledky jsou uvedeny v tab. 2 (viz kapitola výsledky a diskuze). Obsah sušiny byl stanoven nepřímou metodou sušením vzorku (AOAC, 2000). Přítomné proteiny byly stanoveny Kjeldahlovou metodou (ISO 937–1978). Množství kolagenu bylo vypočteno z množství hydroxyprolinu (vynásobením hodnoty koeficientem 8) (ISO 3496–1994). Obsah tuku byl stanoven extrakcí dle Soxhleta. Obsah minerálních látek byl stanoven gravimetricky (Nollet a Toldrá, 2015). Pro porovnání vlastností připravených želatin s komerčními byly využity 4 typy komerčních želatin: vepřové D526 a D012119, hovězí D529 a halal (Via Naturae, ČR).

4.3 Chemikálie a enzymy

Chemikálie: NaCl, NaOH, HCl, H₂SO₄, CH₂O₂, petrolether, ethanol, chloroform, acetonitril, Ehrlichovo činidlo (Verkon, Česká republika). Všechny chemikálie byly analytického typu. Enzymy: Lipozyme TL IL - enzym produkovaný imobilizací mikrobiální lipázy z *Thermomyces lanuginous* na granulovaném nosiči ze siliky, lipáza je produkována submerzní fermentací geneticky modifikovaného organismu *Aspergillus oryzae*, deklarovaná aktivita 100 KPU/g (kiloproteázová jednotka/g), optimální pracovní teplota 70 °C a pH 6-9 (Novozymes, Dánsko); Lipex 100 L - lipáza produkovaná submerzní fermentací geneticky modifikovaného kmene *Aspergillus*, aktivita 100 KLU/g, optimální teplota 30 °C a pH 7 (Novozymes, Dánsko); Lipolase - lipáza s *Thermomyces lanuginosus* produkovaná submerzní fermentací geneticky modifikovaného mikroorganismu *Aspergillus oryzae*, aktivita 100 KPU/g, optimální teplota 30 °C a pH 11 (Novozymes, Dánsko); Polarzyme 6.0 T - proteolytická serinendoproteáza vyrobená fermentací mikroorganismů, které nejsou přítomny v konečném produktu s enzymatickou aktivitou 6 KPU/g, optimální teplota 10-60 °C a pH 7-11 (Novozymes, Dánsko)

4.4 Příprava přečištěného kolagenu

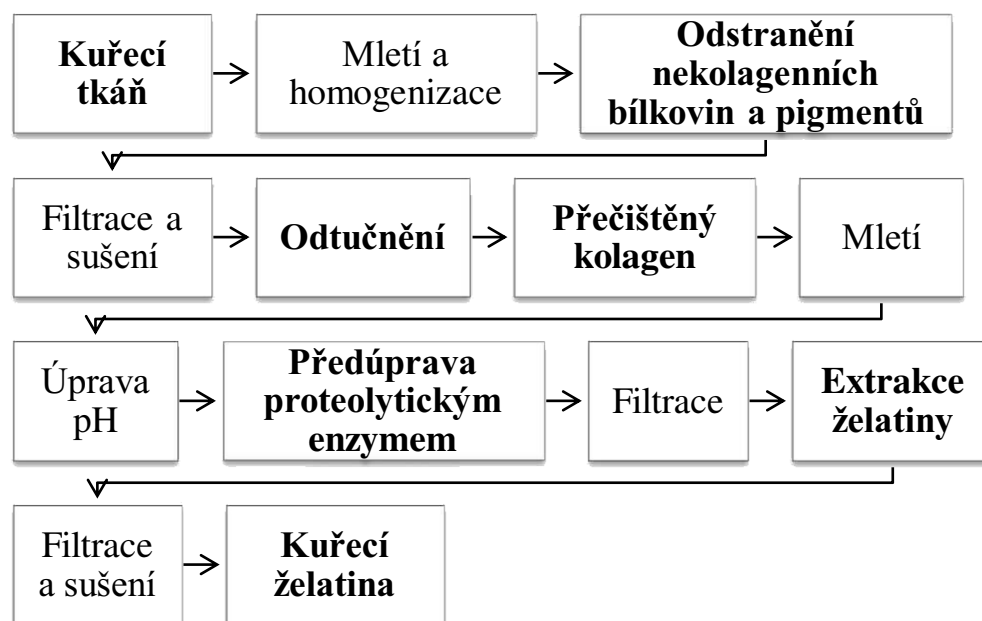
Na základě výsledků jednotlivých stanovení byly zvoleny vhodné suroviny (kuřecí běháky, kůže a hlavy) a navržen postup její přípravy pro další zpracování a následnou extrakci želatiny (obr. 2). Postup byl navržen na základě literární rešerše a předběžných experimentů. Příprava tkáně z vedlejších produktů pro další zpracování na kolagenní produkty sestává z 3 hlavních fází: mletí a homogenizace, odstranění nekolagenních bílkovin a pigmentů a odtučnění suroviny.

Mletí a homogenizace

V jatečném zařízení byla surovina očištěna, ochlazena, a následovalo skladování max. po dobu 36 h při teplotě 0–5,0 °C. Pro mletí a homogenizaci suroviny byl navržen dvoustupňový postup, pro který byla použita průmyslová řezačka masa. Surovina byla zmrazena na teplotu –4,0 až –2,0 °C; pro počáteční fázi mletí byla použita řezací deska s prvky ve tvaru ledvin; ve druhé fázi kruhová deska s prvky o průměru 3 mm. Poté byla surovina zmrazena na teplotu –36,0±2,0 °C a skladována při teplotě –20,0±2,0 °C. Před dalším zpracováním byla surovina rozmrazena po dobu 12 h při teplotě 10,0±2,0 °C.

Odstranění nekolagenních bílkovin a pigmentů

Proces probíhal ve třech krocích s použitím destilované vody a dvou různých roztoků. Surová tkáň byla nejprve důkladně propláchnuta vodou po dobu 5 min. Během této fáze byly odstraněny albuminy. Poté byla surovina smíšena s 1 mol/l roztokem NaCl v poměru 1:10 (w/v) a opracována při teplotě 5,0±2,0 °C po dobu 6 h. Poté byla surovina znovu opracována po dobu 3 h 1 mol/l roztokem NaCl. Po filtraci byla surovina smíšena s 0,5% roztokem NaOH v poměru 1:10 (w/v) a následovalo další opracování při teplotě 5,0±2,0 °C po dobu 18 h. Nakonec byla surovina přefiltrována a propláchnuta.



Obr. 2. Schématický postup přípravy želatiny z kuřecí tkáně

Odtučnění

Pro účely odtučnění byly otestovány 3 potenciálně vhodné metody odstranění nežádoucích tuků: odtučnění roztokem NaHCO₃, lipolytickými enzymy a rozpouštědly. Metody odtučnění byly testovány na dvou typech vedlejších drůbežích produktů: kuřecí běháky a kůže.

Odtučnění kuřecích běháků

Nejprve byla testována metoda popsaná v práci Du a kol. (2013) s mírnou modifikací. Surovina byla smíšena se 150 mmol/l roztokem NaHCO₃ v poměru 1:5 (w/v) a třepána 4 h při pokojové teplotě. Opracovaná surovina byla přesušena po dobu cca 24 h při teplotě 35 °C. Dále byl otestován lipolytický enzym Lipolase 100 T. Účinnost odtučnění byla studována faktorovými schémata 2² s jedním centrálním experimentem a jedním opakováním, přičemž sledovanými faktory byly přídavek enzymu a doba odtučňování. Surovina byla smíšena s des. vodou v poměru 1:5, byl přidán enzym v množství podle rozpisu experimentů (faktor A - tab. 3, kapitola výsledky a diskuze). pH bylo upraveno na hodnotu 7,0±0,3. Směs byla třepána při teplotě 12 °C po stanovenou dobu, viz rozpis experimentů (faktor B). Opracovaná surovina byla přefiltrována a sušena při teplotě 35 °C po dobu 24 h. Při dalších experimentech bylo použito celkem 8 typů rozpouštědel. Surovina byla nejprve přesušena při teplotě 35 °C po dobu cca 48 h a smíšena s rozpouštědlem, nebo směsí v poměru 1:10 (w/v); směs rozpouštědel byla připravena jejich smícháním v objemovém poměru 1:1. Směs suroviny s rozpouštědlem byla třepána po dobu celkem 32 h při pokojové teplotě ve 4 cyklech. Po každém cyklu následovala výměna použitého rozpouštědla za čerstvé. Výsledky uvádí tab. 4 (viz výsledky a diskuze).

Odtučnění kuřecích kůží

Surovina byla smíšena s 0,1 mol/l roztokem NaHCO₃ v poměru 1:5 (w/v) a třepána po dobu 1 h při pokojové teplotě. Poté byla surovina přefiltrována a celý proces byl 4x opakován. Opracovaná surovina byla přesušena cca 24 h při teplotě 35 °C. Při enzymovém způsobu byly testovány 3 typy lipolytických enzymů: Lipex 100L, Lipozyme TL IL a Lipolase. Surovina byla smíšena s destilovanou vodou v poměru 1:10 (w/v) a přidán enzym v množství 2,0 % (vztaženo na hmotnost sušiny suroviny, w/w) v případě enzymu Lipex 100 L[®], 4,0 % (w/w) v případě enzymu Lipozyme TL IL a 5,0 % (w/w) v případě enzymu Lipolase. pH bylo upraveno na hodnotu 7,0±0,3 (Lipex 100 L a Lipozyme TL IL), nebo 11,0±0,3 (Lipolase). Poté byla směs třepána při pokojové teplotě (Lipex 100 L), 40,0±2,0 °C (Lipozyme TL IL), při teplotě 30,0±2,0 °C (Lipolase) po dobu 72 h; 2x denně byla směs přefiltrována a přidán čerstvý enzym. Nakonec byla surovina propláchnuta a vysušena při teplotě 35,0 °C. Při rozpouštědlovém způsobu byla surovina nejprve přesušena při teplotě 35,0±2,0 °C. Byla zvolena kombinace petrolether+etanol, jehož účinnost se osvědčila při zpracování kuřecích běháků. Směs rozpouštědel byla připravena smícháním v poměru 1:1. Surovina byla s rozpouštědly smíšena v poměru 1:10 (w/v) a třepána po dobu 72 h při teplotě 23,0±2,0 °C. Nakonec byla směs rozpouštědel odfiltrována. Konečným produktem přípravné fáze zpracování suroviny byl kuřecí přečištěný kolagen, u kterého byl stanoven obsah sušiny a výsledek použit při výpočtu výtěžku připravených želatin. Výsledky jsou uvedeny v tab. 5 (viz výsledky a diskuze).

4.5 Biotechnologická předúprava a extrakce želatin

Poté co byl připraven kuřecí přečištěný kolagen, který byl podroben procesu mletí s využitím analytického laboratorního mlýnku na velikost částic 1–2 mm, proces pokračoval dalšími dvěma fázemi: předúpravou suroviny, po které následovala extrakce želatiny, jak znázorňuje postup uvedený na obr. 2. Pro odtučnění suroviny byla zvolena kombinace rozpouštědel petrolether a etanol, která se ukázala jako nejefektivnější během experimentů. Pro předúpravu byl navrhnut biotechnologický (enzymový) způsob, který zatím není v průmyslu používán. Výhodou této metody je, že nedochází k zatěžování životního prostředí chemickými látkami, dále velmi malé množství enzymu (desetiny %), nízká cena (při nízkém dávkování), mírné reakční podmínky (neutrální pH, pokojová teplota) a celková technologická nenáročnost procesu. Pro tento účel byl využit enzym Polarzym 6.0 T[®]. Tento enzym je široce využíván pro komerční i výzkumné účely (detergenty, kosmetika, potravinářství, organická chemie). Cena takového enzymu je 40 US dolarů za 1 kg. Surovina byla smísena s destilovanou vodou v poměru 1:20 (w/v), pH směsi bylo upraveno na hodnotu $7,5 \pm 0,3$ a byl přidán enzym. Množství enzymu bylo vztaženo na sušinu suroviny. Poté byla směs třepána po stanovenou dobu, přefiltrována a surovina propláchnuta destilovanou vodou. Po předúpravě následovala extrakce želatiny. Opracovaná surovina byla znovu smísena s destilovanou vodou v poměru 1:20 (w/v) a směs zahřáta na stanovenou extrakční teplotu a po stanovenou dobu probíhala extrakce želatiny za stálého míchání suroviny. Po dokončení extrakce byla směs přefiltrována a poté byl získaný želatinový roztok znovu zahříván na teplotu $100,0 \pm 1,0$ °C po dobu 5 min. Tento krok byl důležitý pro inaktivaci zbytkového množství enzymu, který byl použit při předúpravě suroviny. Následovalo sušení želatinového roztoku v tenké vrstvě při teplotě $52,0$ °C $\pm 1,0$ °C po dobu cca 24 h. Hmotnost želatiny byla využita pro výpočet výtěžku želatiny. Výsledným produktem byl želatinový film. Želatinový prášek byl připraven rozemletím želatinového filmu na velikost částic 1–2 mm.

Faktorové experimenty

První surovinou použitou pro extrakci želatiny byly kuřecí kůže. Nejprve byly provedeny předběžné experimenty, kdy byl otestován vliv teploty na výtěžek želatiny, pevnost gelu a viskozitu želatinového roztoku a další vlastnost. Byly testovány extrakční teploty 40 až 80 °C při konstantní době enzymové předúpravy (20 h); množství enzymu během předúpravy bylo stanoveno na 0,5 %; doba extrakce byla 60 min. Technologické podmínky byly navrženy na základě předběžných experimentů. Výsledky jsou uvedeny v tab. 6 a 7 (viz kapitola výsledky a diskuze).

Poté byly provedeny kombinované faktorové experimenty, při kterých byl sledován vliv 4 technologických faktorů (nezávisle proměnných) na dvou a více

úrovních. Sledovanými technologickými parametry nezávisle proměnnými byly: faktor A – množství enzymu při předúpravě suroviny (min. hodnota: 0,2 a max. hodnota: 0,8 %), faktor B – teplota první extrakce (50 až 80 °C ± 0,5 °C), který je podle dosavadního výzkumu nejdůležitější faktor ovlivňující vlastnosti želatiny; proto bylo zkoumáno celkem 7 úrovní tohoto faktoru, faktor C – doba první extrakce (30 a 120 minut) a faktor D – teplota druhé extrakce (60 až 90 °C ± 0,5 °C). Studovanými závisle proměnnými veličinami byly pevnost a teplota tání želatinového gelu, teplota gelace a viskozita želatinového roztoku. Extrakce želatiny byla v tomto případě dvoustupňová, tak aby byla surovina efektivněji zpracována. Nejprve byla provedena první extrakce po dobu podle faktoru B; poté byl želatinový roztok odfiltrován a probíhala druhá extrakce, přičemž teplota extrakce byla zvýšena o 10 °C (faktor D). Doba druhé extrakce byla konstantní 60 min. Takový čas by měl zajistit optimální poměr mezi výtěžkem a kvalitou. Pokud by opět byly sledovány dvě úrovně, znamenalo by to navýšení počtu experimentů na příliš vysoký počet. Výhodou faktorových experimentů je právě nízký počet experimentů nutných k dosažení požadovaných výsledků. Výsledky jsou uvedeny v tab. 8 (kapitola výsledky a diskuze).

Dále byla připravena želatina z kuřecích hlav. Byl studován vliv 3 faktorů: faktor A – množství enzymu (0,4 a 1,6 %), faktor B – doba enzymové předúpravy (18 a 48 h) a faktor C – doba 1. extrakce želatiny (1 a 4 h). Byl proveden centrální experiment se středními hodnotami faktorů a experiment se středními hodnotami faktorů a nulovým množstvím enzymu (faktor A). Extrakční teplota byla konstantní: 80,0 °C ± 2,0 °C. Sledovanými závisle proměnnými veličinami byly výtěžek hydrolyzátu, výtěžek 1. extrakce želatiny, pevnost gelu, viskozita, teplota tání a obsah minerálních látek. Výsledky jsou uvedeny v tab. 9 (viz kapitola výsledky a diskuze).

Poslední testovanou surovinou byly kuřecí běháky. Byly navrženy faktorové experimenty, kdy byly sledovanými 3 faktory: faktor A – množství enzymu při předúpravě suroviny (0,2 a 0,8 %), faktor B – doba enzymové předúpravy suroviny (24 a 120 h) a faktor C – doba extrakce želatiny (1 a 4 h). Teplota extrakce byla konstantní (80,0 °C ± 2,0 °C). Nakonec byl proveden centrální experiment se středními hodnotami faktorů. Studovanými závisle proměnnými veličinami byly pevnost gelu, viskozita želatinového roztoku a množství minerálních látek v želatině. Technologické podmínky byly určeny na základě předběžných experimentů. Následovaly optimalizační experimenty, kdy byly upraveny hodnoty faktorů: množství enzymu bylo 0,1 a 0,4; doba extrakce byla 15 a 45 min. Množství enzymu bylo konstantní (20 h). Také byl proveden centrální experiment se středními hodnotami obou faktorů. Výsledky jsou uvedeny v tab. 10 (kapitola výsledky a diskuze). Pro vyhodnocení vlivu jednotlivých technologických faktorů byl použit statistický program Minitab 18.

4.6 Testování funkčních vlastností želatin

Stanovení výtěžku a testování vlastností želatin

Poté, co byly připraveny a zváženy vzorky želatin, bylo možné vypočítat výtěžek želatinu podle následujícího vzorce:

$$\xi = \frac{m_1}{m_2} \cdot 100 \quad (1)$$

ξ - výtěžek želatinu (%), m_1 - hmotnost vysušené želatinu, m_2 - hmotnost sušiny přečištěného kolagenu

Pevnost gelu

Z připravené kuřecí želatinu byl připraven gel postupem podle GMIA – Standardized Methods for the Testing of Edible Gelatine (2019): 7,5 g želatinu bylo smíseno s 105 ml destilované vody ve stanovené nádobce a ponecháno bobtnat po dobu 1–3 h. Následovalo zahřátí na teplotu 60 °C po dobu max. 10 min; byl připraven 6,67% želatinový roztok, ponechán vychladnout při pokojové teplotě a poté vychlazen při teplotě 10,0 °C±0,1 °C po dobu 16–18 h. Pevnost byla změřena přístrojem Stevens LFRA Texture Analyzer.

Teplota tání

Teplota tání byla stanovena dle mírně modifikované metody popsané Schrieberem a Gareisem (2007). Byl připraven želatinový roztok (viz stanovení pevnosti gelu), přenesen do kapiláry, která byla chlazena při teplotě 10 °C po dobu 3 h, poté umístěna do zkumavky, která byla umístěna do kádinky vyhřívané na teplotu 55 °C. Teplota tání želatinu byla stanovena v momentě kdy tlak vody vytlačil želatinový roztok z kapiláry.

Teplota gelace

Teplota gelace byla stanovena modifikované metody popsané Schrieberem a Gareisem (2007). Želatinový roztok byl připraven výše popsaným způsobem, převeden do zkumavky a byla měřena jeho teplota. Jakmile teplota klesla na 30 °C, byla kádinka ochlazená na 5 °C. Poté byly do zkumavky vhazovány ocelové kuličky (hmotnost 0,10 g) vždy při poklesu teploty o 0,5 °C. Teplota gelace byla stanovena jakmile kulička uvízla uvnitř či na povrchu vytvořeného gelu.

Viskozita

Viskozita želatinového roztoku byla změřena dle metody popsané v GMIA (2019). Roztok želatinu byl změřen pomocí Ubbelohdeho viskozimetru při teplotě 60,00±0,1 °C.

Vaznost vody

Vaznost vody (VV) byla stanovena podle metody popsané Nasrinem a kol. (2015). Vzorek želatiny (1 g) byl rozdispergován v 25 ml destilované vody ve zkumavce vířením po dobu 5 min při pokojové teplotě. Poté byla směs odstředěna při 3000 ot/min po dobu 30 min. Supernatant byl zfiltrován a vzorek zvážen.

VV byla vypočtena podle vzorce:

$$VV = \frac{m_1}{m_0} \quad (2)$$

VV - vaznost vody ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), m_1 - hmotnost vzorku po analýze (g),
 m_0 - hmotnost vzorku před analýzou (g)

Vaznost tuku

Vaznost tuku (VT) byla stanovena podle metody Li a kol. (2009). Vzorek želatiny (0,1 g) byl rozdispergován v 10 ml slunečnicového oleje ve zkumavce a promíchán vířením po dobu 1 min a ponechán stát 30 min při pokojové teplotě. Poté byla směs odstředěna při 3000 ot/min po dobu 30 min. Volný olej byl dekantován a VT byla vypočtena následujícím vzorcem:

$$VT = \frac{m_1}{m_0} \quad (3)$$

VT - vaznost tuku ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), m_1 - hmotnost vzorku po analýze (g),
 m_0 - hmotnost vzorku před analýzou (g)

Emulzifikační vlastnosti

Emulzifikační kapacita a stabilita byly stanoveny podle metody Neto a kol. (2001). 5 ml želatinového roztoku v koncentraci $10 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ bylo homogenizováno s 5 ml slun. oleje po dobu 1 min. Poté byla směs odstředěna při 1100 ot/min po dobu 5 min. Emulzifikační kapacita byla stanovena podle vzorce:

$$EK = \frac{V_1}{V_0} \cdot 100 \quad (4)$$

EK - emulzifikační kapacita (%), V_1 - výška vrstvy emulze v odměrném válci (mm), V_0 - výška celého objemu kapliny v odměrném válci (mm)

Poté byla emulze zahřáta ve vodní lázni na teplotu $55 \text{ }^\circ\text{C}$ a následovalo odstředění při 1100 ot/min po dobu 5 min. Emulzifikační stabilita byla vypočtena vzorcem:

$$ES = \frac{V_2}{V_1} \cdot 100 \quad (5)$$

ES - emulzifikační stabilita (%), V_2 - výška vrstvy emulze po zahřátí (mm),
 V_1 - výška vrstvy emulze v odměrném válci (mm)

Pěnotvorné vlastnosti

Pěnotvorné vlastnosti byly stanoveny podle metody popsané Sathem a kol. (1982). 0,6 g želatiny a 30 ml destilované vody bylo smíseno a zahřáto na teplotu 60 °C. Pěna byla připravena homogenizací roztoku při 10 000 ot/min po dobu 5 min. Napěněný želatinový roztok byl přenesen do odměrného válce a pěnotvorná kapacita (PK) byla vypočtena pomocí vzorce:

$$PK = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \cdot 100 \quad (6)$$

PK - pěnotvorná kapacita (%), V_1 - objem napěněné kapaliny (ml),
 V_0 - původní objem kapaliny (ml)

Poté byla stanovena pěnotvorná stabilita. Princip je založen na měření objemu napěněného roztoku želatiny po 30 min; pěnotvorná stabilita (PS) byla vypočtena podle vzorce:

$$PS = \frac{V_2 - V_0}{V_0} \cdot 100 \quad (7)$$

PS - pěnotvorná stabilita (%), V_2 - objem napěněné kapaliny po 30 min (ml),
 V_0 - původní objem kapaliny (ml)

Obsah minerálních látek

Obsah minerálních látek byl vypočten gravimetricky (Nollet a Toldrá, 2015).

Statistická analýza

Všechny analýzy byly provedeny třikrát; lineární regrese, 1-sample a 2-sample t-testy na hladině významnosti p 0,05 byly aplikovány s využitím statistického softwaru Minitab 18 pro Windows.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Složení vstupních surovin

V této kapitole jsou popsány výsledky charakterizace 3 typů vedlejších drůbežích produktů (kuřecí kůže, hlavy a běháky). Výsledky jsou uvedeny v tab. 2. Detailnější informace popisuje patent Mokrejše a kol., z roku 2019 a články Mrázka a kol., z roku 2018 a 2020 (kap. 11G, 11K a 11M).

Tab. 2. Složení kuřecích kůží, hlav a běháků

Typ kuřecí tkáň	Sušina (%±SD)	Proteiny (%±SD) ^a	Kolagen ^b (%±SD) ^{a, b}	Tuk (%±SD) ^a	Min. látky (%±SD) ^a
kůže	53,6±1,5	16,5±1,3	92,6±0,1	85,0±2,4	0,90±0,3
hlavy	23,0±0,1	51,3±0,5	88,8±1,0	33,9±0,4	16,8±0,1
běháky	35,5±3,0	48,3±0,4	82,8±0,7	34,8±0,8	16,1±0,2

^a vztaženo na sušinu suroviny ^b z celkového obsahu proteinů

5.2 Příprava přečištěného kolagenu

Tato kapitola popisuje další zpracování vybraných surovin (kuřecích běháků a kůží), u kterých byla provedena separace nekol. bílkovin a pigmentů a poté byly otestovány 3 způsoby odtučnění. Detailnější informace popisuje článek Mrázka a kol., z roku 2018 (kap. 11H). Běháky byly odtučněny 3 způsoby: NaHCO₃, enzymově (Lipolase 100 T) a rozpouštědly. Při použití roztoku NaHCO₃ obsah tuku v surovině přesahuje 25 % a je tedy pro další využití neefektivní. Výsledky a rozpis experimentů enzymového způsobu jsou uvedeny v tab. 3. faktor A představuje množství použitého enzymu (%) a faktor B je doba odtučňování (h).

Tab. 3. Rozpis experimentů a obsah zbytkového tuku v kuřecích běhácích

	Faktor A*	Faktor B	Tuk (%)
1	1,0	18	26,5
2	1,0	48	28,5
3	2,5	18	26,1
4	2,5	48	26,0
5	1,75	33	23,8

* vztaženo na hmotnost sušiny suroviny

Při experimentech byly využity jednoduché faktorové experimenty podle schématu 2². Z výsledků je patrné, že enzym Lipolase 100 T vykazuje jen velmi malou účinnost odtučnění. Posledním způsobem bylo použití rozpouštědel. Tab. 4 znázorňuje výsledky experimentů. Nejvyšší účinnosti odtučnění suroviny bylo dosaženo při použití směsi petroletheru a etanolu.

Tab. 4. Typy rozpouštědel a podíl zbytkového tuku v kuřecích běhácích

Rozpouštědlo (směs)	Tuk (%)	Rozpouštědlo	Tuk (%)
petrolether+etanol	4,97	butylalkohol	7,66
petrolether+aceton	6,41	aceton	7,74
pentan	6,67	petrolether	7,93
hexan	6,95	choroform	8,42
diethylether	7,56	etanol	21,3

Kuřecí kůže byly odtučňovány roztokem NaHCO₃, enzymově (Lipozyme TL IL, Lipex 100 L, Lipolase), rozpouštědly a jejich kombinací. Výsledky uvádí tab. 5. Nejlepší výsledek byl dosažen při použití směsi petroletheru a etanolu

Tab. 5. Metody odtučnění a podíl zbytkového tuku v kuřecích kůžích

Způsob odtučnění	Tuk (%±SD)
0,1 mol/l roztok NaHCO ₃	81,2±3,3
Lipex 100 L [®] (přídavek 2 %)	62,0±2,9
Lipozyme TL IL [®] (přídavek 4 %)	68,7±4,1
Lipolase [®] (přídavek 5 %)	48,3±4,7
petrolether+ethanol	14,5±3,8
Lipex 100 L [®] (přídavek 2 %)+aceton	18,1±3,5
0,1 mol/l roztok NaHCO ₃ +Lipolase [®] (přídavek 1 %)	70,3±4,3

5.3 Příprava želatin

5.3.1 Želatina z kuřecích kůží

Tato kapitola popisuje výsledky studie přípravy želatiny z kuřecích kůží, detailnější informace popisují články Mrázka a kol., z roku 2018 až 2020 (kap. 11A, 11F, 11J a 11L).

Nejprve byly provedeny základní experimenty, kdy byl sledován vliv extrakční teploty na výtěžek a kvalitu želatin. Bylo provedeno 5 základních experimentů, ve kterých byla zvolena extrakční teplota 40–80 °C. Čas extrakce byl konstantní 60 min. Sledované veličiny byly vliv teploty na výtěžek, pevnost gelu, viskozitu, vaznost vody a tuku a emulzifikační a pěnotvornou kapacitu a stabilitu. Výsledky experimentů jsou uvedeny v tab. 6 a 7.

Vliv extrakční teploty na funkční vlastnosti želatin

Při všech experimentech byly zaznamenány vysoké hodnoty pevnosti gelu kuřecích želatin. Pevnost klesala s rostoucí teplotou extrakce s výjimkou teploty 60 °C, kdy byl zaznamenán náhlý pokles pevnosti gelu. Tato skutečnost může být způsobena vyšší teplotou extrakce, která má za následek zkrácení délky

kolagenních řetězců, což se projeví nižší molekulovou hmotností želatiny. Pokles při 60 °C může rovněž souviset s velmi vysokým výtěžkem extrakce, jelikož se obecně předpokládá souvislost mezi pevností gelu a výtěžkem extrakce: vyšší výtěžek extrakce, nižší pevnost gelu. Vyšší výtěžek extrakce je pravděpodobně způsoben vyšší úrovní hydrolýzy, což vede ke snížení pevnosti gelu. Nejvyšší pevnost (352 Bloom) mezi testovanými želatinami byla zaznamenána u želatiny extrahované z kuřecí kůže při teplotě 40 °C.

Tab. 6. Výtěžek a funkční vlastnosti želatin z kuřecí kůže extrahovaných při různých teplotách

	ET (°C)	PG±SD (Bloom)	V±SD (mPa.s)	VV±SD (g/g)	VT±SD (g/g)
1	40	354±3	5,2±1,5	3,85±0,30	0,97±0,20
2	50	352±1	4,4±1,9	3,99±0,15	1,15±0,25
3	60	252±4	2,7±0,1	4,59±0,19	1,26±0,22
4	70	312±1	3,0±0,2	5,00±0,19	1,06±0,07
5	80	306±2	5,7±0,1	5,58±0,18	0,87±0,08
<i>p</i> -hodnota		1,000	0,939	0,002	0,622

ET–extrakční teplota, V–viskozita, VV–vaznost vody, VT–vaznost tuku

Tab. 7. Funkční vlastnosti želatin z kuřecí kůže extrahovaných při různých teplotách

	ET (°C)	EK±SD (%)	ES±SD (%)	PK±SD (%)	PS±SD (%)
1	40	50,00±7,86	72,50±3,54	48,89±1,92	38,89±3,91
2	50	43,27±1,65	87,50±0,85	35,56±3,85	33,33±3,25
3	60	37,50±5,89	81,67±2,36	17,78±2,09	8,89±0,94
4	70	36,84±0,87	85,71±0,91	20,00±1,77	4,44±0,19
5	80	35,09±2,48	84,52±1,68	61,11±3,62	5,56±0,62
<i>p</i> -hodnota		0,019	0,290	0,904	0,030

ET–extrakční teplota, EK–emulzifikační kapacita, ES–emulzifikační stabilita, PK–pěnotvorná kapacita, PS–pěnotvorná stabilita

Vztah mezi viskozitou a teplotou extrakce: viskozita mírně klesala se zvyšující se extrakční teplotou. Viskozita klesala mezi teplotami 50 °C a 60 °C. Při teplotě 60 °C hodnoty dosáhly minima. Mezi teplotami 60 °C a 70 °C byl pozorován vzestupný trend. Při 80 °C však viskozita vzrostla mírně nad hladinu registrovanou při 40 °C. Viskozita želatinových roztoků byla nejvyšší při teplotě 80 °C a nejnižší při 60 °C. Tento jev lze vysvětlit předpokladem, že při teplotě 60 °C je úroveň hydrolýzy nejvyšší a kolagenní řetězce mají nejnižší

molekulovou hmotnost, což vede k nižší viskozitě. Tato domněnka byla prokázána nejvyšším výtěžkem želatiny zjištěným při této extrakční teplotě. Rafieian a kol. (2011) uvedli viskozitu kuřecí želatiny vyrobenou ze zbytků z kuřecího mechanického odkostovače 5,85 mPa.s, což je hodnota srovnatelná s výsledkem experimentu č. 5. (5,7 mPa.s). Bichukale a kol. (2018) zjistili viskozitu želatiny z drůbeží kůže a kostí v rozmezí 3,83–9,10 mPa.s. Viskozita želatin připravených z kuřecí kůže je tedy srovnatelná s údaji jiných studií.

Vliv extrakční teploty na vaznost vody (VV): VV rostla téměř lineárně se zvyšující se extrakční teplotou. VV želatiny byla v posledních několika letech testována. Omar a Sarbon (2016) studovali vliv metody sušení na funkční vlastnosti a antioxidační aktivitu hydrolyzátu připraveného z želatiny z kuřecí kůže a zaznamenali hodnotu VV 8,4 ml.g⁻¹. Dhakal a kol. (2018) zkoumali optimální podmínky extrakce kolagenu z kuřecích běháků s využitím enzymové hydrolýzy (papain) a stanovili VV 1,9 ml.g⁻¹. Výsledky této studie se tedy významně neliší oproti výsledkům jiných studií.

Vztah mezi vazností tuku (VT) a extrakční teplotou: VT rostla se zvyšující se extrakční teplotou, dokud nedosáhla vrcholu při 60 °C; pak klesala na mírně nižší hodnotu, než byla pozorována při teplotě 40 °C. To může pramenit ze skutečnosti, že při teplotě extrakce 60 °C je rychlost hydrolýzy nejvyšší, což má za následek více hydrofobních zbytků vystavených vazbám s molekulami tuku. Bylo provedeno několik studií za účelem stanovení VT želatiny. Li a kol. (2009) zkoumali složení aminokyselin a funkční vlastnosti želatiny z jačích (*Bos grunniens*) kostí a uvedly VT pouze 0,21–0,29 ml.g⁻¹, což je výrazně méně než v této studii. Dhakal a kol. (2018) uvádějí VT 5,3 ml.g⁻¹, což je naopak výrazně více oproti této studii.

Vliv teploty extrakce na emulzifikační kapacitu (EK): mezi extrakčními teplotami 40 °C a 60 °C dochází ke snížení EK. EK však zůstává téměř stabilní od 60 °C do 80 °C. Tento trend může být způsoben změnami struktury želatiny, které jsou ovlivněny nárůstem teploty. Průměrná emulzifikační stabilita (ES) byla významně vyšší než průměrná EK. ES stoupá mezi teplotami 40 °C a 50 °C a kolísá od 50 °C do 80 °C. Nejvyšší emulzifikační kapacita a stabilita byly zaznamenány při extrakčních teplotách 40 °C a 50 °C. Bylo provedeno několik studií pro stanovení emulgačních vlastností. Li a kol. (2009) uvedli EK 57,3 %, což je mírně vyšší než EK želatiny z kuřecí kůže extrahované při teplotě 40 °C. Omar a Sarbon (2016) se zabývali vlivem metody sušení na funkční vlastnosti a antioxidační aktivitu hydrolyzátu želatiny z kuřecí kůže a zjistili EK a ES želatiny 56 %, což je velmi podobné výsledkům Li a kol. (2009).

Vztah mezi pěnotvornou kapacitou (PK) a teplotou extrakce: Z tab. 7 vyplývá, že mezi teplotami 40 a 60 °C dochází k prudkému poklesu PK. Od 60 °C do 70 °C zůstává PK stabilní a následuje prudký nárůst mezi 70 a 80 °C. Toto chování lze vysvětlit skutečností, že úroveň hydrolýzy je pravděpodobně nejvyšší při teplotě 60 °C (jak již bylo zmíněno); proto kolagenní molekuly obsahují kratší řetězce a nejsou schopny vytvořit stabilní pěnu. Průměr pěnotvorné stability

(PS) se významně neliší od průměru PK. Hodnoty PS byly mírně nižší při 50 °C ve srovnání s PK; pokles PS je však patrnější při 40 °C, 60 °C a 70 °C ve srovnání s PK a velmi výrazný rozdíl byl zaznamenán při teplotě 80 °C. Je zřejmé, že zvyšující se teplota způsobuje pokles PS. Nejvhodnější teplota extrakce pro nejlepší pěnotvorné vlastnosti se ukázala teplota 40 °C vzhledem k velmi vysoké hodnotě PK a nejvyšší hodnotě PS. Bylo provedeno několik studií za účelem zkoumání pěnotvorných vlastností. Dhakal a kol. (2018) uvedly PK 16,7 % a PS 11,7 %, což je srovnatelný výsledek s exp. 3 v této studii.

Poté byly provedeny faktorové experimenty na kuřecích kůžích. Výsledky jsou uvedeny v tab. 8.

Vliv faktorů na výtěžek želatiny

Výtěžek želatiny při 1. extrakci je v rozmezí 16,8–23,6 %, přičemž nejnižší výtěžek byl zaznamenán při min. úrovních faktorů (množství enzymu 0,2; teplota extrakce 50 °C; doba extrakce 30 min), a naopak nejvyšší byl zjištěn při max. úrovních faktorů (0,8 %/80 °C/120 min). Výsledky tak byly podle předpokladů, protože hladina hydrolyzy kolagenu je při mírnějších podmínkách nižší (dochází tedy k menšímu narušení a uvolnění kolagenních řetězců, které jsou pak k dispozici pro extrakci) a naopak. Rozdíl ve výtěžku mezi min. a max. podmínkami je 6,8 %. Zvýšení teploty extrakce z 50 na 80 °C znamená zvýšení výtěžku želatiny o 1,7–5 %. Zvýšení množství enzymu z 0,2 na 0,8 % během předúpravy představuje zvýšení výtěžku v rozmezí 1,1–3,8 % a prodloužení doby extrakce zvyšuje výtěžek v rozmezí 0,3–3,3 %.

Vliv faktorů na výtěžek CSG při 1. extrakci: nejvyšší vliv na výtěžek má faktor B (teplota extrakce), přičemž závislost výtěžku na teplotě je téměř lineární; avšak rozdíl v hodnotách je relativně nízký. Výtěžek želatiny při 2. extrakci se pohybuje v rozmezí 3,11–8,81 %. Rozdíl mezi hodnotami je 5,7 %, tedy o něco nižší než při 1. extrakci. Součet výtěžků 1. a 2. extrakce je v rozmezí 20,8 (exp. č. 8) až 31,5 % (exp. č. 21). To znamená, že v závislosti na podmínkách s využitím 2-stupňové extrakce lze získat velké množství CSG.

V nedávné době bylo provedeno několik studií zabývajících se vlivem technologických podmínek na výtěžek kuřecí želatiny. Sompie a Triasih (2018) testovali vliv extrakční teploty na výtěžek a vlastnosti želatiny z kuřecích steh s výsledkem 12,3 až 14,1 %, což je méně než v této studii. Taufik a kol. (2010) provedl výzkum vlivu extrakční teploty na výtěžek želatiny z kuřecích steh s výsledkem mezi 15,3 až 16,5 %, což je srovnatelné s exp. č. 1 v této studii. Du a kol. (2013) studoval vlastnosti želatiny z kuřecích hlav s výtěžkem 24,8 %, což je srovnatelné s exp. č. 28. Sarbon a kol. (2013) připravil želatinu z kuřecí kůže s výtěžkem 16,1 %, což je srovnatelné s exp. č. 1 v této studii. Ve všech studiích byla použita podobná extrakční teplota, avšak mnohem delší čas extrakce se srovnatelnými výsledky. Ukázal se významným vliv enzymu, který nebyl použit v žádné ze srovnávaných studií.

Tab. 8. Rozpis a výsledky faktorových experimentů přípravy želatin z kůží

	A	B	C	1. VŽ	1. PG	1. V	1. T _m	1. T _g	D	2. VŽ	2. PG	2. V	2. T _m	2. T _g
1	0,2	50	30	16,8	190	4,06	38,3	20,5	60	5,21	175	2,71	34,9	15,0
2	0,2	55	30	17,2	189	3,76	38,1	20,0	65	5,35	172	2,65	34,8	14,5
3	0,2	60	30	17,5	187	3,18	37,8	19,5	70	5,62	171	2,43	34,4	14,5
4	0,2	65	30	17,8	172	3,92	37,3	19,0	75	5,71	170	2,15	35,1	14,5
5	0,2	70	30	17,1	163	3,38	37,2	19,0	80	6,01	159	2,16	33,9	14,0
6	0,2	75	30	18,2	163	3,12	37,1	18,5	85	8,42	120	2,13	33,1	14,0
7	0,2	80	30	18,5	162	3,54	36,5	18,0	90	7,63	111	2,45	32,1	13,0
8	0,2	50	120	17,1	182	3,53	37,3	19,5	60	3,71	153	2,51	33,5	14,5
9	0,2	55	120	17,8	178	3,82	37,0	19,0	65	3,72	133	2,71	32,9	14,5
10	0,2	60	120	18,1	145	4,02	37,1	18,5	70	3,91	137	2,39	31,7	14,0
11	0,2	65	120	18,5	134	3,51	37,0	18,0	75	4,13	111	2,51	31,5	14,0
12	0,2	70	120	19,3	134	3,91	37,0	18,0	80	4,37	95	2,73	31,3	13,5
13	0,2	75	120	19,5	133	4,02	36,2	17,0	85	6,91	83	2,49	31,3	13,0
14	0,2	80	120	19,8	126	3,40	35,1	16,5	90	6,79	81	2,39	30,1	12,0
15	0,8	50	30	17,9	145	4,03	37,8	18,5	60	3,18	125	2,93	31,2	14,0
16	0,8	55	30	18,0	139	4,01	37,5	18,5	65	3,72	122	2,88	30,1	14,0
17	0,8	60	30	18,5	135	3,21	36,8	17,5	70	5,23	105	2,77	29,9	13,5
18	0,8	65	30	19,0	130	3,53	35,2	17,0	75	6,02	95	2,39	29,2	13,5
19	0,8	70	30	19,1	127	3,51	35,1	17,0	80	7,06	91	2,12	26,8	13,0
20	0,8	75	30	20,8	125	3,22	34,7	16,0	85	7,91	75	2,33	26,1	13,0
21	0,8	80	30	22,7	117	3,03	34,5	15,0	90	8,81	77	2,27	25,7	12,0
22	0,8	50	120	18,6	110	3,94	36,3	17,5	60	3,52	67	1,75	30,9	13,0
23	0,8	55	120	19,9	107	3,02	35,7	17,0	65	3,11	63	1,73	29,5	13,0
24	0,8	60	120	20,1	91	3,91	35,3	17,0	70	3,53	67	1,81	29,1	13,0
25	0,8	65	120	20,7	87	3,18	35,0	16,5	75	4,43	57	1,65	28,7	12,5
26	0,8	70	120	22,4	85	3,15	34,7	15,0	80	7,15	51	1,61	26,3	12,0
27	0,8	75	120	22,2	80	3,13	34,5	14,0	85	6,47	50	1,51	25,1	12,0
28	0,8	80	120	23,6	75	2,31	34,2	13,5	90	7,69	52	1,41	25,1	11,5

A–faktor A (množství enzymu–%), B–faktor B (extrakční teplota 1. stupně extrakce–°C), C–faktor C (doba extrakce 1. stupně extrakce–min), D–faktor D (extrakční teplota 2. stupně extrakce–°C), 1. VŽ–výtěžek želatiny 1. stupeň extrakce (%), 1. PG–pevnost gelu želatiny extrahované v 1. stupni extrakce (Bloom), 1. V–viskozita želatiny extrahované v 1. stupni extrakce (mPa.s), 1. T_m–bod tání želatiny extrahované v 1. stupni extrakce (° C), 1. T_g–bod gelace želatiny extrahované v 1. stupni extrakce (° C), 2. VŽ–výtěžek želatiny 2. stupně extrakce, 2. PG–pevnost gelu želatiny extrahované ve 2. stupni extrakce, 2. V–viskozita želatiny extrahované ve 2. stupni extrakce, 2. T_m–bod tání želatiny extrahované ve 2. stupni extrakce, 2. T_g–bod gelace želatiny extrahované ve 2. stupni extrakce

Vliv faktorů na pevnost gelu

Pevnost gelu CSG (kuřecí kožní želatina) při 1. extrakci je v rozmezí 190–75 Bloom, přičemž nejvyšší pevnost byla měřena při exp. č. 1 a nejnižší při exp. č. 28. Podle předpokladů pevnost gelu klesá s vyššími hodnotami faktorů. Tento trend je tedy v přímém kontrastu k výtěžku želatiny. Zvýšení množství enzymu z 0,2 na 0,8 % znamená snížení pevnosti gelu o 36–72 Bloom. Zvýšení teploty extrakce z 50 na 80 °C představuje pokles o 28–56 Bloom a prodloužení doby extrakce z 30 na 120 minut znamená snížení o 8–48 Bloom.

Vliv jednotlivých technologických faktorů na pevnost gelu CSG extrahované při 1. extrakci: nejvyšší vliv na pevnost má faktor A (množství enzymu), přičemž efekt ostatních faktorů je mírně nižší a zároveň srovnatelný. Pevnost gelu je výrazněji ovlivněna změnou technologických podmínek než výtěžek, rozdílem mezi min. a max. výtěžkem je 6,8 %, zatímco pokles pevnosti gelu za nejnáročnějších podmínek je až 39,5 %. Pevnost gelu CSG připravené při 2. extrakci je v rozmezí 175–52 Bloom. Druhá extrakce tedy představuje snížení pevnosti gelu o 15 až 51 Bloom. S menším množstvím enzymu (exp. č. 1–11), nebo kratší extrakční dobou a nižší teplotou (15–17) je možné 2. extrakcí připravit další kvalitní CSG se střední pevností gelu. Pevnost gelu drůbeží želatiny byla nedávno studována a je uváděna v rozmezí od 185 do 355 Bloom. Kim a kol. (2012) připravil želatinu z kuřecí kůže a stanovil pevnost gelu 218–270 Bloom. Vyšší pevnost gelu ve srovnání s touto studií byla dosažena za použití mnohem delší doby extrakce. Widyasari a kol. (2014) extrahoval želatinu z kuřecích běháků s pevností gelu 185 Bloom, což je hodnota srovnatelná s exp. č. 3 této studie. Almeida a Lannes (2013) extrahovali želatinu z kuřecích běháků s pevností gelu 295 Bloom, což je vyšší hodnota než v této studii. Du a kol. (2013) extrahoval želatinu z kuřecích hlav s výsledkem 248 Bloom, tedy opět vyšší pevností gelu.

Vliv faktorů na viskozitu

Viskozita želatinového roztoku je v rozmezí 4,06–2,31 mPa.s v 1. stupni extrakce. Stejně jako u pevnosti gelu byla tedy naměřena nejvyšší hodnota viskozity při exp. č. 1 a nejnižší při exp. č. 28; pokles viskozity s náročností extrakčních podmínek však není tak zřetelný jako v případě pevnosti gelu. Pro viskozitu však platí podobná hypotéza. Delší řetězce kolagenu jsou schopné vytvářet komplikované zapleteniny s větší odolností vůči toku.

Vliv jednotlivých technologických faktorů na viskozitu CSG extrahovanou při 1. extrakci: viskozita klesá s vyššími hodnotami technologických faktorů, podobně jako pevnost gelu, což znamená, že existuje určitá spojitost. Velmi výrazný vliv má extrakční teplota, vliv množství enzymu je méně významný a doba extrakce má velmi malý vliv na viskozitu želatiny. Viskozita CSG při 2. extrakci je mezi 2,99–1,15 mPa.s, což znamená, že použití většího množství enzymu v kombinaci s delší extrakční dobou (exp. č. 22–28) představuje želatinu s velmi nízkou viskozitou. Sompie a Triasih (2018) stanovili viskozitu

želatiny z kuřecích stehen v rozmezí 6,52–7,02 mPa.s, což je více ve srovnání s touto studií. Taufik a kol. (2010) uvádí viskozitu želatiny z kuřecích běháků 6,5–7,7 mPa.s, což jsou srovnatelné výsledky s prací Sompie a Triasih. Rafienian a kol. (2015) extrahoval želatinu ze zbytků kuřecího vykostovače a zveřejnil viskozitu želatiny 5,85 mPa.s, což je ve srovnání s touto studií opět vyšší hodnota.

Vliv faktorů na teplotu tání a gelace

Teplota tání je mezi 38,3–34,2 °C při první extrakci. Opět došlo k poklesu teploty tání s náročností parametrů procesu, ale pokles je velmi nízký. Želatiny s nižší pevností gelu mají tedy nižší teplotu tání a naopak. Uspořádanější gelová struktura, která se tvoří při mírnějších procesních podmínkách úzce souvisí s vyšší pevností struktury, která tak taje při vyšších teplotách. Vyšší množství enzymu znamená pokles o 0,5–2,4 °C. Zvýšení teploty extrakce z 50 na 80 °C představuje pokles v rozmezí 1,8–3,3 °C. Prodloužení doby extrakce má za následek pokles o 0,2–1,8 °C.

Vliv jednotlivých technologických faktorů na teplotu tání CSG extrahované při 1. extrakci: teplota tání podle předpokladů klesá s náročností podmínek extrakce, stejně jako s pevností gelu a viskozitou, neboť se jedná o další parametr spojený s gelovačnými vlastnostmi želatiny. Extrakční teplota má velmi významný vliv, podobně jako množství enzymu, a vliv doby extrakce má méně výrazný vliv na teplotu tání želatiny. Rozdíl mezi min. a max. hodnotou je však relativně malý (38,3 vs 34,2 °C), takže teplota tání není na rozdíl od pevnosti nebo viskozity neí tak výrazně ovlivněna technologickými podmínkami extrakce. Teplota tání CSG při 2. extrakci je v rozmezí 34,9–25,1 °C, přičemž pokles oproti 1. extrakci je 2,2–9,4 °C, přičemž pokles byl výraznější při vyšších hodnotách procesních faktorů. Důvodem je pravděpodobná souvislost s tepelnou historií vzorku v první extrakci. Avšak, zvýšení teploty o 10 °C v druhé extrakci má pravděpodobně významnější vliv, jelikož kolagen v kuřecí kůži je velmi mladý (35 dnů) a tudíž velmi citlivý na změny teploty. Druhá extrakce má tedy výrazně vyšší účinek na teplotu tání želatiny než extrakce první. Teplota tání byla studována např. v práci Bichukale a kol. (2018), který připravil CSG s bodem tání 31,9–33,0 °C, což je srovnatelné s CSG extrahovanou při 2. extrakci v exp. č. 6–12 této studie. Všechny CSG extrahované při 1. extrakci mají vyšší teplotu tání. Xin a kol. v současné studii (2021) zkoumal gelační vlastnosti želatiny a stanovil bod tání želatiny z kůže tilápie (31 °C) a CSG (38 °C), což je srovnatelné s nejlepšími výsledky této studie. Bod tání rybí želatiny je srovnatelný s některými CSG extrahovanými při 2. extrakci v této studii. Rahman a kol. (2012) uvádí teplotu tání želatiny z kuřecích běháků (CFG) 26,7 °C, což je výrazně nižší hodnota ve srovnání s výsledky této studie a srovnatelná pouze se želatiny extrahovanými při 2. extrakci při náročnějších technologických podmínkách. Choe a Kim (2018) také extrahoval CFG při různých teplotách (65, 75, 85 a 95 °C) s výsledky 38,5, 37,8, 36,5 a 36,4 °C.

Teplota gelace želatiny z 1. extrakce je 20,5–13,5 °C. Stejně jako u předchozích stanovení dochází k poklesu, který je výraznější ve srovnání s bodem tání. Pro bod gelace platí podobná hypotéza jako pro bod tání. Při mírnějších podmínkách extrakce je želatina pravděpodobně tvořena organizovanější sítí vláken a má schopnost tvořit gel ve vodném roztoku při vyšší teplotě okolí než želatina připravená při náročných podmínkách extrakce. Vyšší množství enzymu má za následek pokles o 1,5–3,0 °C. Zvýšení extrakční teploty z 50 na 80 °C představuje pokles v rozmezí 2,5–4,0 °C a prodloužení doby extrakce pokles o 0,5–2,0 °C. Vliv jednotlivých technologických faktorů na bod gelace CSG extrahované při 1. extrakci: teplota gelace i teplota tání s náročností extrakčních podmínek klesá. Extrakční teplota má nejvýznamnější účinek, podobně jako množství enzymu a doba extrakce má méně výrazný vliv na bod gelace CSG. Vliv technologických faktorů je tedy velmi podobný jako u teploty tání. Teplota gelace CSG při 2. extrakci je v rozmezí 15,0–11,5 °C. Druhá extrakce má tedy méně významný vliv na bod gelace CSG než první, což znamená nižší pokles mezi 1. a 2. extrakcí v rozmezí 2,0–5,5 °C. Teplota gelace CSG byla studována například v práci Sarbona a kol. (2013) s výsledkem 25 °C. Studie vedená Xin a kol. (2021) zkoumá bod gelace CSG a tilapie s výsledky 22 a 14,5 °C, tedy srovnatelnou hodnotu s nejlepším výsledkem této studie. Bod gelace rybí želatiny je výrazně nižší a srovnatelný s CSG extrahovanou při 2. extrakci v této studii, což obecně potvrzuje horší gelační vlastnosti rybí želatiny.

5.3.2 Želatina z kuřecích hlav

Tato kapitola popisuje výsledky studie přípravy želatiny z kuřecích hlav. Detailnější informace jsou popsány v článku pana Gála a kol., z roku 2020 (kap. 11B). Rozpis a výsledky experimentů jsou znázorněny v tab. 9.

Vliv faktorů na výtěžek želatiny

Doba enzymové předúpravy nemá významný vliv na výtěžek želatiny. U srovnávacího pokusu (19,7 %) byl výtěžek želatiny o 10 % nižší než u centrálního pokusu (29,7 %), i bez přídavku enzymu lze tedy získat poměrně značné množství želatiny. Největší vliv na účinnost extrakce mělo množství enzymu (faktor A) a doba extrakce (faktor C), jak ukazuje tab. 9. Obr. 3 znázorňuje, že vyšší množství enzymu i delší doba extrakce způsobují zvýšení výtěžku. Výtěžek první frakce byl v rozmezí 19,7–35,8 % a rostl s delší dobou extrakce, což je v souladu se studií Taufika a kol. (2010), který se zabýval vlivem extrakční teploty na vlastnosti želatiny z běháků s výtěžkem mezi 15,3–16,5 %, tedy nižší oproti současné studii; to může být způsobeno nižší extrakční teplotou. Du a kol. (2013) se zabýval jako jeden z mála studií vlastností želatin extrahovaných z kuřecích a krůtích hlav s 31,2 % výtěžkem první frakce želatiny (krůtí hlavy) a 24,8 % výtěžkem (kuřecí hlavy); srovnatelně s touto studií. Sarbon a kol. (2013), který zkoumal želatinu připravenou z kuřecí kůže, zaznamenal výtěžek pouze 16,1%, tedy méně, než

v této studii. Podle Widyasari a Rawdkuen (2014) je výtěžek želatiny z běháků pouze 12,6 %. Rozdílné výsledky ve výtěžcích lze připsat např. rozdílné struktúře použitých tkání, stejně jako i odlišným technologickým podmínkám použitých v procesech příprav želatin, zejména extrakční teploty a doby extrakce.

Tab. 9. Rozpis a výsledky faktorových experimentů přípravy želatin z hlav

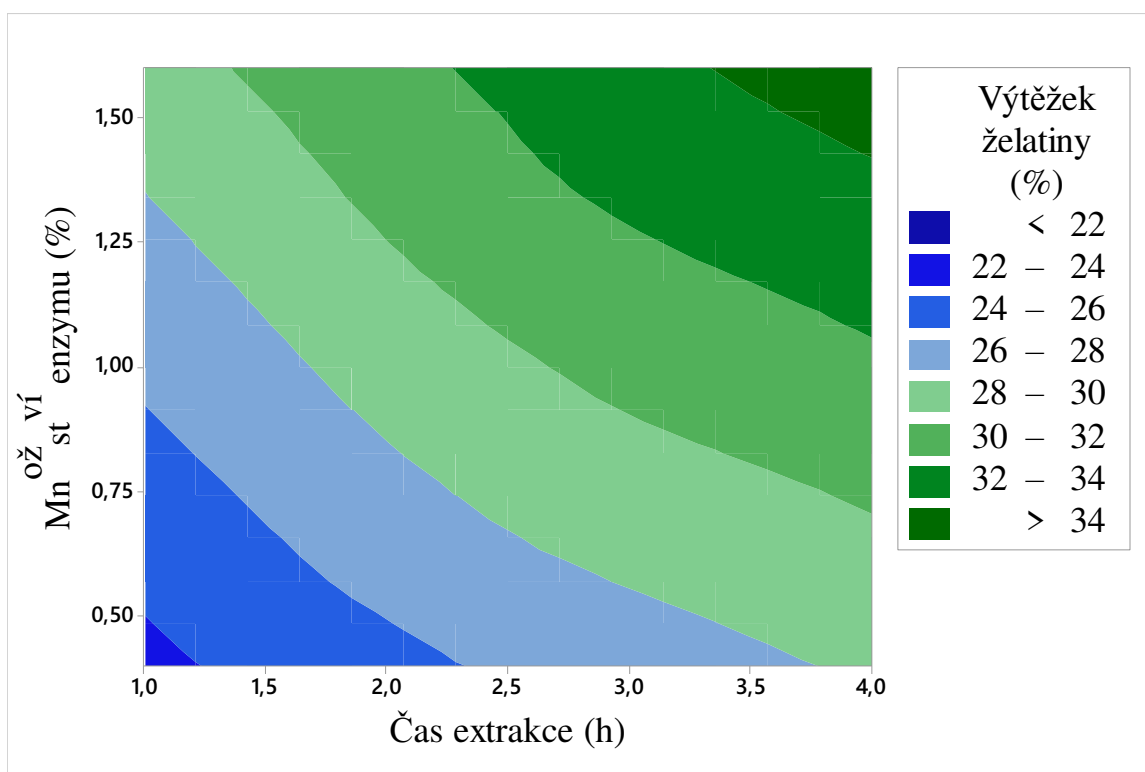
	A^a (%)	B (h)	C (h)	VŽ (%)	PG±SD (Bloom)	V±SD (mPa.s)	ML±SD (%)	T_m (° C)
1	0,4	18	1	20,4	355±2	9,5±0,1	2,3±0,02	41,5
2	0,4	18	4	27,7	211±3	4,210,1	2,9±0,03	38,8
3	0,4	48	1	26,6	248±1	5,8±0,2	2,5±0,01	39,3
4	0,4	48	4	28,8	219±3	3,8±0,1	3,5±0,03	42,2
5	1,6	18	1	29,9	207±2	2,0±0,2	2,8±0,02	38,6
6	1,6	18	4	34,2	162±2	1,4±0,1	3,3±0,02	34,9
7	1,6	48	1	28,4	135±1	1,9±0,1	3,0±0,01	37,5
8	1,6	48	2,5	35,8	113±1	6,8±0,1	2,4±0,01	35,4
9	1	33	2,5	29,7	245±2	5,4±0,3	2,1±0,02	34,5
10	0	33	2,5	19,7	246±3	5,4±0,3	2,1±0,03	38,8

a–vztaženo na hmotnost sušiny suroviny, A–faktor A (množství enzymu), B–faktor B (doba enzymové předúpravy), faktor C (doba extrakce želatiny), VŽ–výtěžek želatiny, PG–pevnost gelu, V–viskozita, ML–obsah minerálních látek, T_m–bod tání želatiny

Vliv faktorů na pevnost gelu

Na pevnost gelu má nejvýraznější vliv množství enzymu, zatímco doba extrakce má vliv méně významný, jak ukazuje obr. 4. Nicméně, pevnost gelu klesá se zvyšujícími se hodnotami všech sledovaných faktorů. Výsledky naznačují, že snížení pevnosti gelu je zřejmě způsobeno štěpením peptidových vazeb v molekulách kolagenu během enzymové předúpravy suroviny i extrakce želatiny. Vyšší množství enzymu také nejspíš přispívá k zintenzivnění tohoto procesu. Tímto štěpením dochází ke snížení molekulové hmotnosti, což se projeví zeslabením gelové sítě. Nejvyšší pevnost gelu (355 Bloom) byla naměřena u exp. č. 1, což je o 110 Bloom více než u srovnávacího pokusu. V experimentu s horními limity faktorů (č. 8) byla naopak zaznamenána nejhorší pevnost gelu (113 Bloom). V ostatních experimentech byla pevnost gelu v rozmezí 135 až 248 Bloom, což představuje kvalitní želatiny se střední až vysokou pevností gelu. Pevnost gelu byla ve studii Du a kol. (2013) v případě krutí želatiny 369 Bloom, což je srovnatelný výsledek s experimentu č. 1 (355 Bloom) v současné studii. Pevnost gelu kuřecí želatiny byla 248 Bloom, tedy srovnatelná s výsledkem experimentu č. 3 současné studie. Sarbon a kol. (2013) dosáhli hodnotu pevnosti gelu kuřecí kožní želatiny 355 Bloom, tedy srovnatelnou s exp. č. 1 současné studie. Sompie a Triasih (2018) dosáhli

pevnosti gelu želatiny z běháků 78 Bloom, tedy výrazně méně než v této studii. Widyasari a Rawdkuen (2014) studovali pevnost gelu želatiny z kuřecích běháků s výsledky 79 a 185 Bloom v závislosti na extrakčních podmínkách, tedy opět nižší hodnoty, než v současné studii.



Obr. 3. Vliv množství enzymu a doby extrakce na výtěžek želatiny

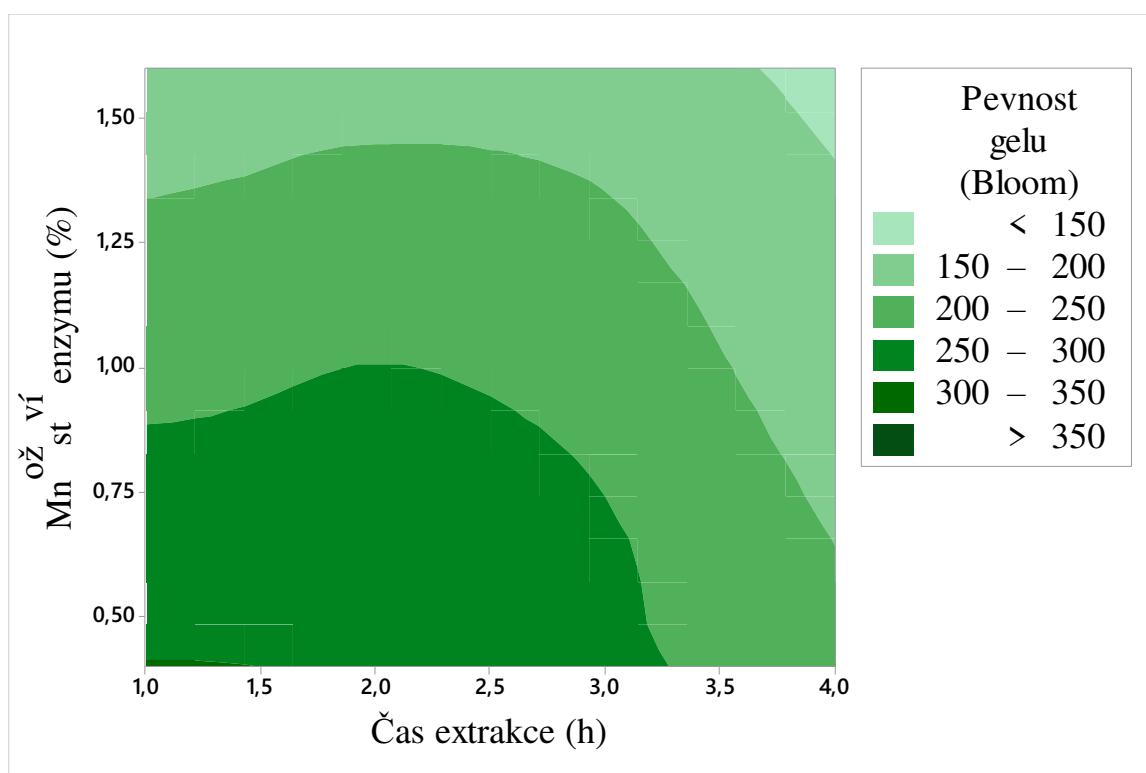
Vliv faktorů na viskozitu

Nejvyšší viskozita byla naměřena, stejně jako nejvyšší pevnost gelu, u exp. č. 1 (9,45 mPa.s). To naznačuje, že pevnost gelu i viskozita jsou charakteristiky, které spolu úzce souvisí. Viskozita klesá s rostoucími hodnotami všech faktorů, přičemž podobný trend byl zaznamenán i v případě pevnosti želatinového gelu. Želatina s vyšší viskozitou pravděpodobně obsahuje delší kolagenní řetězce způsobující zvýšení odporu proti toku, než želatina s nižší viskozitou. Nejnižší viskozita želatiny byla naměřena u experimentu č. 7 (1,41 mPa.s). Vyšší množství enzymu i doba extrakce mají negativní vliv na viskozitu želatinového roztoku. Sompie a Triasih (2018) naměřil viskozitu želatiny z běháků 6,52 mPa.s, zatímco Taufik a kol. (2010) 6,29 to 7,22 mPa.s tedy srovnatelné hodnoty se současnou studií. Rafieinan a kol., (2011) optimalizoval proces extrakce ze zbytků z odkostovače kuřat naměřil 5,85 mPa.s, tedy opět podobná hodnota, jako v této studii (exp. č. 3).

Vliv faktorů na další parametry želatin

Množství anorg. pevných látek v želatině bylo v rozmezí 2,12–3,92 %, takže pouze u 3 experimentů byly mírně překročeny tyto standardy, ale další snížení podílu těchto látek je možné např. použitím iontoměníčů. Du a kol. (2013)

naproti tomu dosáhl extrémně nízkého obsahu anorganických pevných látek (0,03 u kuřecích a 0,06 % u krůtích hlav). Sarbon a kol. (2013) hlásil obsah 0,4 %, tedy opět výrazně méně než v této studii, což může být v obou případech způsobeno např. menší koncentrací NaOH použitého při procesu předúpravy suroviny. Připravené želatinové roztoky vykazovaly pH v rozsahu 7,02 až 7,17, což splňuje standardy pro komerční želatinu (3,8 až 7,6 - European Pharmacopoeia, 2016). Widyasari and Rawdkuen (2014) naměřili pH mírně nižší (6,13 až 6,49). Teplota tání želatinového gelu byla obecně vyšší u vzorku s nižším obsahem enzymu (0,4 %) a byla v rozmezí 39 až 42 °C, naopak při použití enzymu v množství 1,6 % byla teplota tání v rozmezí přibližně 35 až 39 °C, tedy mírně nižší. Druhá extrakce poskytla poměrně dobré výtěžky v rozmezí 5,55 až 10,6 %; kvalita želatin byla nižší, což se projevilo horší pevností gelu (<150 Bloom) a viskozitou (<2,85 mPa.s).



Obr. 4. Vliv množství enzymu a doby extrakce na pevnost gelu

Návrh optimálních technologických podmínek pro přípravu želatin z kuřecích hlav

Při návrhu optimálních podmínek se vycházelo z vlivu faktorů na výtěžek a pevnost gelu. Cílem bylo připravit želatinu s vysokou pevností gelu. Konstantní faktory byly doba enzymové předúpravy (24 h) a množství enzymu (0,8 %). Doba první extrakce byla 45 a 120 min. Teplota první extrakce byla 80 °C. Doba druhé extrakce byla 1 a 4 h a teplota 95 °C. Tab. 10 znázorňuje výsledky experimentů. Tyto výsledky potvrdily význam doby extrakce na kvalitu želatin, jelikož pevnost gelu želatinu extrahované po dobu 45 min byla 277 Bloom, zatímco při době extrakce 120 min byla pevnost pouze 140 Bloom. Výtěžek

extrakce byl o 7% nižší při 45-minutové extrakci v porovnání s 120-min. Výtěžky z druhé extrakce byly více jak 10 %, což potvrzuje vysoký vliv teploty na výtěžnost želatiny.

Tab. 10. Rozpis optimalizačních experimentů a výsledky (želatina z hlav)

	A^a (%)	B (h)	C (h)	VŽ (%)	PG±SD (Bloom)	V±SD (mPa.s)
11	0,8	24	45	22,6	277±2	9,5±0,1
12	0,8	24	120	29,9	211±3	2,6±0,1

a–vztaheno na hmotnost sušiny suroviny, A–faktor A (množství enzymu), B–faktor B (doba enzymové předúpravy), faktor C (doba extrakce želatiny), VŽ–výtěžek želatiny, PG–pevnost gelu, V–viskozita

5.3.3 Želatina z kuřecích běháků

V této kapitole jsou popsány výsledky studie přípravy želatiny z kuřecích běháků. Detailnější informace popisuje článek pana Mokrejše a kol., z roku 2019 (kap. 11C). Pro přípravu želatiny z kuřecích běháků byly využity faktorové experimenty typu 2³ s jedním centrálním experimentem a jedním opakováním (tab. 11). Studovanými technologickými faktory byly: množství enzymu vztahené na hmotnost sušiny suroviny (faktor A–min. hodnota 0,2 % (w/w), střední hodnota 0,5 % (w/w) a max. hodnota 0,8 % (w/w)); doba enzymové předúpravy (faktor B–24 h, 72 h a 120 h) a doba extrakce želatiny (faktor C–1 h, 2,5 h a 4 h). Extrakční teplota byla konstantní 80 °C. Sledovanými závisle proměnnými veličinami byly výtěžek želatiny, pevnost gelu, viskozita želatinového roztoku a množství minerálních látek v želatině.

Vliv faktorů na výtěžek a kvalitu želatin

Účinek faktorů množství enzymu a doba extrakce želatiny) na výtěžek želatiny je znázorněn na obr. 5. Je patrné, že se zvyšujícím se přídatkem enzymu a současně prodloužením doby extrakce roste výtěžek želatiny. Tento trend je patrný zejména u použití nižšího množství enzymu (0,4 %) a kratší doby extrakce (2,5 h). Množství enzymu nad 0,5 %, nebo doba extrakce delší než 2,5 h nepřináší významný nárůst výtěžku. Minimálního výtěžku (21 %) je dosaženo na dolních limitech faktorů, tj. 0,2% množství enzymu a doba extrakce 1 h. Maximální výtěžek (38 %) pak odpovídá přibližně 0,7% množství enzymu a době extrakce 2,5 h. Další prodloužení doby extrakce nevede k nárůstu výtěžku. Výtěžky želatin jsou srovnatelné s podobně zaměřenými studii. Almeida a kol. (2013) extrahovali kuřecí běháky a dosáhli výtěžku 36 %. Du a kol. (2013) zpracovávaly kuřecí a krocán hlavy a dosáhly výtěžků 31 % (kuřecí hlavy) a 38 % (krocán hlavy). Sarbon a kol. (2013) dosáhl 16% výtěžku želatiny z kůže.

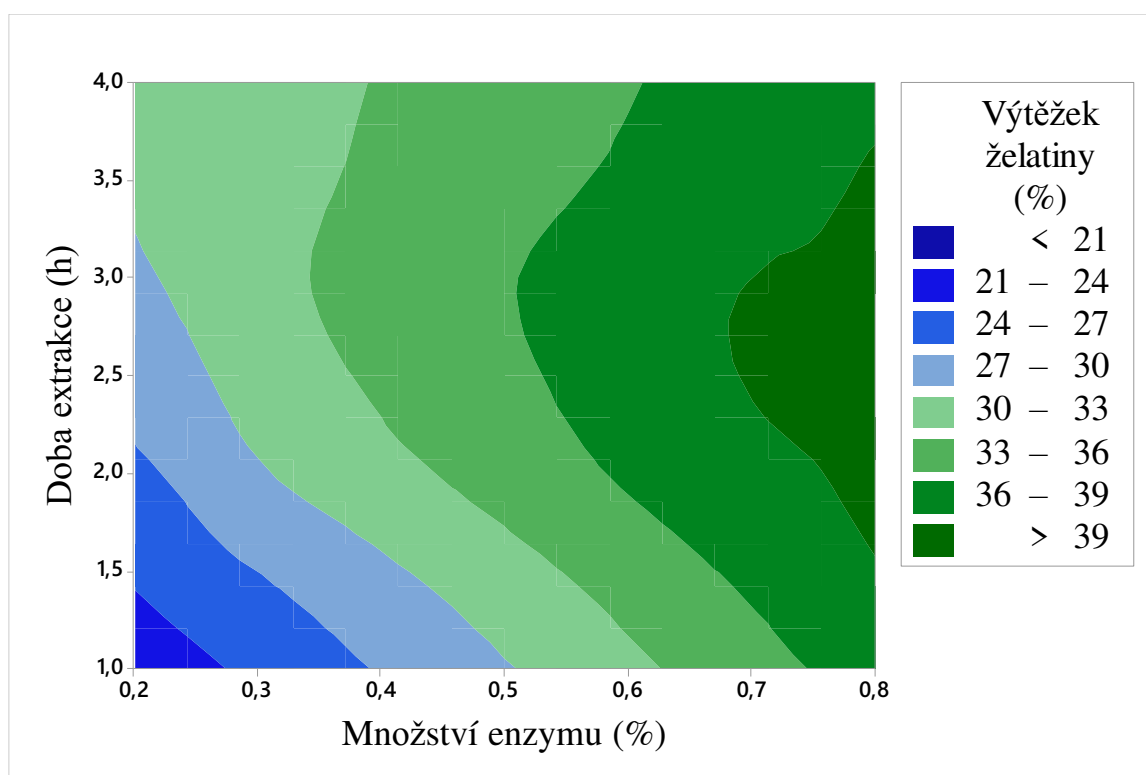
Vliv množství enzymu a doby enzymového opracování na pevnost gelu: při použití navržených technologických parametrů lze dosáhnout vysoké pevnosti gelu u všech připravených želatin (220 až 280 Bloom). Na dolním limitu

sledovaných faktorů lze připravit želatinu s pevností 280 Bloom a výtěžkem 21 %. Téměř dvojnásobného výtěžku (38 %) a horními limity faktorů (0,8% množství enzymu a 120-h enzymová předúprava suroviny) nedojde k významnému poklesu pevnosti gelu (220 Bloom).

Tab. 11. Rozpis a výsledky faktorových experimentů přípravy želatin z běháků

	A^a (%)	B (h)	C (h)	VŽ (%)	PG±SD (Bloom)	V±SD (mPa.s)	ML±SD (%)
1	0,2	24	1	20,1	295±2	6,9±0,1	1,35±0,02
2	0,2	24	4	27,4	273±3	6,5±0,1	0,61±0,03
3	0,2	120	1	24,1	266±1	5,9±0,2	1,66±0,01
4	0,2	120	4	33,5	263±3	5,2±0,1	0,88±0,03
5	0,8	24	1	36,5	241±2	5,1±0,2	0,93±0,02
6	0,8	24	4	37,9	235±2	4,7±0,1	0,77±0,02
7	0,8	120	1	38,3	228±1	3,7±0,1	1,61±0,01
8	0,8	120	4	39,1	206±1	3,1±0,1	1,32±0,01
9	0,5	72	2,5	35,4	249±2	6,5±0,3	1,53±0,02

a–vztaheno na hmotnost sušiny suroviny, A–faktor A (množství enzymu), B–faktor B (doba enzymové předúpravy), faktor C (doba extrakce želatiny), VŽ–výtěžek želatiny, PG–pevnost gelu, V–viskozita, ML–obsah minerálních látek



Obr. 5. Vliv množství enzymu a doby extrakce na výtěžek želatiny

Výsledky podobných výzkumů nabízejí srovnatelné, nebo lepší výsledky pevnosti želatinových gelů. Almeida a kol. (2013) dosáhly pevnosti gelu 295 Bloom u želatiny vyrobené z kuřecích běháků. Du a kol. (2013) připravili želatinu z kuřecích hlav z pevností 333 až 368 Bloom. Želatina připravená z kuřecích kůží ve studii Sarbon a kol. (2013) měla pevnost 355 Bloom. Nejvyšší hodnota viskozity (6,5 mPa.s) není ovlivněna změnou technologických faktorů při použití nízkého množství enzymu (0,2–0,3 %) a krátké doby enzymové předúpravy (30–90 h). Je také patrné, že zvýšení množství enzymu (nad 0,4 %) a doby enzymové předúpravy přináší postupný pokles viskozity až na 3,5 mPa.s. Všechny připravené želatiny obsahovaly velmi malé množství minerálních látek (0,61–1,66 %).

Optimalizace procesu

Studie vlivu technologických faktorů na výtěžek a kvalitu želatin přinesly následující výsledky: vyšší množství enzymu (faktor A) a delší doba extrakce (faktor C) má za následek zvýšení výtěžku želatiny; vyšší množství enzymu (faktor A) a delší doba enzymové předúpravy (faktor B) naopak představuje pokles pevnosti gelu; nejvyšší pevnost gelu byla sledována při použití dolních limitů faktorů (0,2% množství enzymu, doba enzymové předúprava 24 h a doba extrakce 1 h). Cílem optimalizace procesu bylo připravit želatinu s velmi vysokou pevností. Doba enzymové předúpravy byla nastavena konstantní (20 h) a byl sledován vliv množství enzymu (0,1 a 0,4 %) a doby extrakce (15 a 45 min) na kvalitu a výtěžek připravených želatin. Byly použity faktorové experimenty typu 2²; jejich rozpis a výsledky jsou znázorněny v tab. 12. Obsah minerálních látek ve vzorcích želatin připravených při optimalizačních experimentech v rozmezí 1,23–1,94 %. Viskozita želatin byla 6,8–7,3 mPa.s.

Tab. 12. Rozpis a výsledky optimalizačních experimentů přípravy želatiny z běháků

	A ^a (%)	C (min)	VŽ (%)	PG±SD (Bloom)	V±SD (mPa.s)	ML±SD (%)
10	0,1	15	17,0	325±2	7,3±0,1	1,31±0,02
11	0,1	45	18,9	315±3	7,2±0,1	1,23±0,03
12	0,4	15	20,6	308±1	6,9±0,2	1,94±0,01
13	0,4	45	21,2	301±3	6,8±0,1	1,58±0,03
14	0,25	30	19,8	310±2	6,9±0,3	1,45±0,02

a–vztaženo na hmotnost sušiny suroviny, A–faktor A (množství enzymu), C–faktor C (doba extrakce želatiny), VŽ–výtěžek želatiny, PG–pevnost gelu, V–viskozita, ML–obsah minerálních látek

Želatinu s velmi vysokou pevností gelu lze připravit vhodnou volbou množství enzymu (faktor A) a doby extrakce želatiny (faktor C). Pokud se použije nízké množství enzymu (0,15 %) a krátký extrakční čas (20 minut), je

možné připravit vysoce kvalitní želatinu v rozsahu 320–325 Bloom s výtěžkem 17,5–18 %. Zvýšením množství enzymu na horní limit (0,4 %) a prodloužením doby extrakce (45 minut) dochází ke zvýšení výtěžku želatiny na 21 % při současné dostatečně vysoké pevnosti gelu (cca 300 Bloom). Takové podmínky lze označit jako optimální pro přípravu želatiny z tohoto typu tkáně (kuřecí běháky).

5.4 Porovnání funkčních vlastností kuřecích a komerčních želatin

Kapitola ukazuje výsledky srovnání připravených s komerčními želatinami; detailnější informace jsou popsány v článku Mrázka a kol., (2020 - kap. 11E a 11I). Tab. 13 a 14 zobrazují naměřené hodnoty viskozity, vaznosti vody a tuku, a pěnotvorné a emulzifikační vlastnosti přip. želatin z kuřecích běháků (CFG) a kůží (CSG) a komerčních želatin hovězí (B288) a vepřové (P273).

5.4.1 Želatina z kuřecích běháků

Želatina extrahovaná při teplotě 80 °C po dobu 45 min byla zvolena jako výchozí pro srovnání s komerční vepřovou a hovězí želatinou, neboť tyto podmínky zajistily dostatečně vysoký výtěžek extrakce při zachování vysoké pevnosti gelu i viskozity želatinového roztoku. Pevnost gelu komerčních želatin je 273 Bloom (hovězí) a 288 Bloom (vepřová). Je patrné, že hodnota viskozity CFG (želatina z kuřecích běháků) je téměř 4-násobně vyšší oproti vepřové želatině a více jak 2-násobná oproti hovězí želatině. VV (vaznost vody) je srovnatelná s hodnotou hovězí želatiny a VT (vaznost tuku) je mírně nižší oproti vepřové želatině. T_m (teplota tání) CFG je o několik stupňů vyšší oproti komerčním želatinám a T_g (teplota gelace) je srovnatelná. Byly naměřeny srovnatelné hodnoty EK (emulzifikační kapacita) CFG oproti komerčním želatinám. ES (emulzifikační stabilita) CFG je mírně nižší, než v případě hovězí želatiny. Hodnota PK (pěnotvorná kapacita) je výrazně vyšší, avšak CFG nevykazovala vůbec žádnou PS (pěnotvorná stabilita).

5.4.2 Želatina z kuřecích kůží

Želatina extrahovaná při teplotě 40 °C (CSG) po dobu 60 min byla zvolena jako výchozí želatina pro srovnání s komerční potravinářskou hovězí a vepřovou želatinou, protože tato želatina má vysokou pevnost gelu, emulzifikační kapacitu, pěnotvornou kapacitu a stabilitu i viskozitu. Viskozita CSG je o 53 % a 31 % vyšší než viskozita želatiny vepřové a hovězí. T_m (teplota tání) CSG je mírně vyšší oproti komerčním želatinám a T_g (teplota gelace) je srovnatelná. Podobný trend byl zjištěn i v případě CFG. VV želatiny CSG je o 67 % a 15 % nižší než VV hovězí a vepřové želatiny. VT CSG je vyšší o 57 % a 27 % než VT vepřové a hovězí želatiny. EK CSG je o 15 % nižší oproti želatině hovězí, zatímco je o 39 % vyšší, než hodnota vepřové želatiny, což jsou srovnatelné

výsledky. ES želatiny CSG je o 30 % nižší než ES vepřové želatiny a o 23 % nižší než u hovězí želatiny. FK CSG želatiny je o 27 % a 13 % nižší než PK vepřové a hovězí želatiny; zatímco PS je vyšší o 63 % a 66 % oproti vepřové a hovězí želatině, což jsou vynikající výsledky. Kromě toho je PS v komerčních želatinách 4,3-krát nižší než PK, zatímco u CSG je pouze 1,3-krát nižší.

Tab. 13. Pevnost gelu, viskozita, vaznost vody (VV), vaznost tuku (VT), teplota tání (T_m) a gelace (T_g) komerčních a kuřecích želatin

Želatina	PG (Bloom)	V±SD (mPa.s)	VV±SD (g/g)	VT±SD (g/g)	T_m±SD (°C)	T_g±SD (°C)
B273	273	3,54±0,17	6,42±0,26	0,71±0,06	33,5±0,1	19,5±0,2
P288	288	2,43±0,05	4,43±0,26	0,42±0,11	32,2±0,3	19,0±0,1
CFG	301	9,09±2,29	6,11±0,14	0,32±0,05	37,0±0,1	19,0±0,3
CSG	354	5,15±1,51	3,85±0,30	0,97±0,20	36,1±0,2	20,5±0,2

Tab. 14. Emulzifikační kapacita (EK), emulzifikační stabilita (ES), pěnotvorná kapacita (PK) a pěnotvorná stabilita (PS) komerčních a kuřecích želatin

Želatina	EK±SD (%)	ES±SD (%)	PK±SD (%)	PS±SD (%)
B273	57,67±4,04	88,89±11,11	55,10±1,71	13,17±0,23
P288	30,67±4,04	94,44±9,62	62,23±3,87	14,40±1,91
CFG	48,51±3,51	81,25±8,79	87,91±1,71	0
CSG	50,00±7,86	72,50±3,54	48,89±1,92	38,89±11,71

B273–hovězí želatina (pevnost gelu 273 Bloom), P288–vepřová želatina (pevnost gelu 288 Bloom, CFG–želatina z běháků, CSG–želatina z kůží

6. PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI

Vedlejší drůbeží produkty, které vznikají při porážce a zpracování drůbežího masa jsou produkovány v neustále se zvyšujícím množství, vzhledem k rostoucí poptávce po drůbežím mase související s globálním růstem populace. Takové produkty (např. kuřecí kůže, běháky či hlavy) obsahují bílkovinu kolagen, kterou lze vhodným postupem z tkáně vyextrahovat a připravit tak želatinu. Želatina je produkt s přidanou hodnotou s širokými možnostmi uplatnění např. v potravinářském, farmaceutickém nebo kosmetickém průmyslu. Tradičně je želatina vyráběna z vepřových nebo hovězích zdrojů, v poslední době je na trhu k dispozici také rybí želatina, zatímco drůbeží želatinu evropský či americký trh nenabízí. Zatímco hovězí nebo vepřová želatina není akceptována některými náboženstvími, drůbeží želatina nemá v tomto směru žádná omezení. Rovněž nemoci skotu mohou způsobovat jisté obavy spotřebitelů. Při výrobě želatiny jsou tradičně využívány chemické látky, jako jsou alkálie či kyseliny, které zatěžují životní prostředí. Využití biochemického procesu při přípravě želatiny, při kterém jsou chemikálie nahrazeny enzymem, představuje oproti tomu moderní ekologickou alternativu výroby želatiny. Další výhodou oproti velmi rozšířenému alkalickému opracování suroviny, které trvá v řádu několika dnů až měsíců, je enzymové opracování výrazně kratší. I přes relativně vyšší ceny enzymů je tento proces levnější, neboť je použito pouze velmi malé množství enzymu. Jak ukázaly dosavadní výsledky této studie, připravené kuřecí želatiny nabízejí srovnatelné vlastnosti s běžnými komerčními želatinami, a tudíž mohou najít uplatnění na trhu. Při studii byly využity faktorové experimenty, které umožňují nalezení ideálních technologických parametrů použitých při extrakci želatiny, jako je např. doba nebo teplota extrakce, a tedy navržení optimálních technologických podmínek procesu tak, aby bylo dosaženo optimální kvality želatiny a současně výtěžku.

7. ZÁVĚR

Práce se zabývá využitím drůbežích vedlejších produktů a jejich přeměnou na komerčně využitelný produkt, konkrétně želatinu, která je pro své výjimečné gelační, emulgační, pěnotvorné a další vlastnosti hojně využívána v mnoha průmyslových odvětvích, např. v potravinářství, farmacii či kosmetice. Bylo vytipováno několik druhů vedlejších produktů s potenciálem vysokého obsahu kolagenu, proteinu, který je základní surovinou pro přípravu želatiny. Konkrétně se jedná o kůže, běháky, hlavy, u kterých byly provedeny testy za účelem zjištění obsahu sušiny, obsahu bílkovin, tuků a minerálních látek v sušině a podílu kolagenu z obsahu bílkovin. Pro detailnější studium dalšího zpracování a testování byly zvoleny kuřecí běháky (nízký obsah tuku, snadnost zpracování) a kůže (nízký obsah minerálních látek, vhodnost pro potravinářské aplikace), u kterých bylo nejprve nutné provést separaci doprovodných látek (nekolagenní bílkoviny, pigmenty a tuky).

Na základě rešerší byl navržen proces přečištění kolagenu odstraněním pigmentů a nekolagenních bílkovin z tkáně opracováním v roztocích NaCl a NaOH; následně byly testovány možné metody odtučnění, např. využití rozpouštědel nebo lipolytických enzymů. Jako nejúčinnější se ukázal proces odtučnění pomocí směsi rozpouštědel petrolether a ethanol v poměru 1:1. Poté co bylo provedeno přečištění suroviny, následovala předúprava tkáně s využitím proteolytických enzymů, a nakonec finální extrakce želatiny ve vodě při zvýšené teplotě. Kvalita připravených kuřecích želatin byla hodnocena zejména podle pevnosti želatinového gelu, ale také byly testovány další funkční vlastnosti želatin: vaznost vody a tuku, emulzifikační a pěnotvorné vlastnosti a viskozita želatinového roztoku.

S využitím faktorových experimentů byly připraveny želatiny z kuřecích běháků (CFG); byl sledován vliv množství enzymu při předúpravě, doby předúpravy a doby extrakce na pevnost gelu, viskozitu a obsah minerálních látek. Byly navrženy optimální technologické podmínky (množství enzymu 0,4 %, doba předúpravy 20 h, doba extrakce 45 min při teplotě extrakce 80 °C) zajišťující vysokou pevnost gelu (cca 300 Bloom) i viskozitu (cca 7 mPa.s) želatin při poměrně vysokém výtěžku (cca 20 %). Obsah minerálních látek <2 % splňuje farmaceutické standardy pro čistotu želatin. U CFG připravené podle optimálních podmínek byly otestovány další funkční vlastnosti (vaznost vody a tuku, emulzifikační/pěnotvorná kapacita/stabilita, teplota tání a teplota gelace). Rovněž byla otestována tepelná stabilita CFG gelu při různých teplotách a relativních vlhkostech. Byly rovněž otestovány běžně dostupné komerční savčí želatiny (vepřové a hovězí) a výsledky byly porovnány. Při všech měřeních byly zjištěny srovnatelné anebo lepší hodnoty CFG oproti komerčním želatinám.

Další část výzkumu probíhala na kuřecích hlavách (CHG). Byl sledován vliv 3 faktorů: doby enzymové předúpravy, množství enzymu a doby extrakce na výtěžek a vlastnosti želatin. Teplota extrakce byla 80 °C. Byly navrženy optimální technologické podmínky (množství enzymu 0,8 %, doba předúpravy 24 h, doba extrakce 45 min při teplotě extrakce 80 °C) zajišťující vysokou pevnost gelu (cca 277 Bloom) i viskozitu (cca 9,5 mPa.s) při výtěžku 23 %.

Poté byl výzkum zaměřen na přípravu želatin z kuřecích kůží (CSG). Nejprve byly provedeny základní experimenty, ve kterých byl sledován vliv extrakční teploty (40–80 °C) na funkční vlastnosti želatin. Nejvyšší vaznost tuku byla dosažena při teplotě 60 ° (1,26 g/g), zatímco nejvyšší pevnost gelu byla dosažena při teplotě 40 °C a 50 °C (cca 350 Bloom). Naopak nejvyšší viskozita (5,7 mPa.s), vaznost vody (5,58 g/g) a pěnotvorná kapacita (61,2 %) byly dosaženy při teplotě 80 °C. Byly provedeny testy tepelné stability CSG gelu a výsledky porovnány s komerčními želatinami, přičemž byly naměřeny vyšší, nebo srovnatelné hodnoty CSG a komerčních želatin.

V další fázi byly navrženy kombinované faktorové experimenty, ve kterých byla připravena CSG 2-stupňovou extrakcí a byl sledován vliv 4 faktorů (množství enzymu během předúpravy, extrakční teploty v prvním a druhém

stupni extrakce a extrakční doby) na výtěžek a vlastnosti CSG spojené s gelací (pevnost gelu, viskozita, teplota tání a teplota gelace). Nejvyšší výtěžek (31,5%) byl dosažen za následujících extrakčních podmínek: enzym 0,8 %, teplota 80 °C, čas 30 min (1. extrakce) a 0,8 % / 90 °C / 60 min (2. extrakce). Nejvyšší pevnost gelu (190 Bloom), viskozita (4,1 mPa.s), teplota tání (38,3 °C) a gelace (20,5 °C) byly dosaženy při 0,2 % / 50 °C / 30 min (1. extrakce). Takové podmínky se dají označit za optimální pro přípravu želatin z kuřecí kůže. Byly rovněž porovnány vlastnosti připravených kuřecích želatin (CSG), komerčních želatin, i želatin připravených v podobně zaměřených studiích, přičemž byly zjištěny vlastnosti CSG minimálně srovnatelné s komerčními želatinami.

Výsledky studie ukázaly, že biotechnologický způsob přípravy kuřecí želatiny může být vhodnou alternativou k tradičním způsobům předúpravy (kyselá nebo alkalická) používanými při výrobě želatin. Vedlejší drůbeží produkty (např. kuřecí běháky nebo kůže) je možné využít jako suroviny pro přípravu produktů s potenciálem dalšího komerčního využití, konkrétně želatin s vlastnostmi, které jsou srovnatelné s komerčními želatinami, a tudíž mohou najít uplatnění zejména v potravinářství, nebo v kosmetickém průmyslu či farmacii. Za určitých podmínek lze připravit hydrolyzáty (nulová pevnost gelu), které mohou mít využití ve fotografickém průmyslu při přípravě emulzí, v zemědělství do krmiv pro hospodářská zvířata nebo jako růstový stimulátor v zemědělství.

Další výzkum by se měl zaměřit např. na přípravu želatin z dalších kuřecích vedlejších produktů (např. žaludků nebo kostí), vedlejších produktů z jiných druhů drůbeže či ryb. Pozornost by také měla být zaměřena na testování dalších typů enzymů, vhodných pro použití v procesu výroby želatiny jak při předúpravě, tak i při odtučnění výchozí suroviny.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALMEIDA, P.F., LANNES, S.C.S. Extraction and physicochemical characterization of gelatin from chicken by-product, *Journal of Food Processing Engineering*, 2013, vol. 36, p. 824.

ALMEIDA, P.F.D. et al. Production of a product similar to gelatine from chicken feet collagen. *Engenharia Agrícola*, 2013, vol. 33, p. 1289–1300.

ANTONY, J. Design of experiments for engineers and scientists, 1st ed.; Butterworth-Heinemann: Oxford, UK, 2003, p. 54–70. ISBN 978-0-7506-4709-

AOAC–Determination of moisture content. In: Official methods of analysis. The Association of Official Analytical Chemists, 17th ed., Gaithersburg, Md, USA, 2000

ASGHAR, A., HENRICKSON, R.L. Chemical, biochemical, functional, and nutritional characteristics of collagen in food systems. *Advances in Food Research*, 1982, vol. 28, p. 231–372.

BICHUKALE, A.D. et al. Functional properties of gelatin extracted from poultry skin and bone waste. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 2018, vol. 6, p. 87–101.

CHENG, F.Y. et al. Effect of different acids on the extraction of pepsin-solubilised collagen containing melanin from silky fowl feet. *Food Chemistry*. 2009, vol. 113, p. 563–567.

CHOE, J., KIM, H.Y. Effects of chicken feet gelatin extracted at different temperatures and wheat fiber with different particle sizes on the physicochemical properties of gels. *Poultry Science Journal*, 2018, vol. 97, p. 1082–1088.

DHAKAL, D. et al. Optimization of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres. *Food Bioscience*, 2018, vol. 23, p. 23–30.

DU, L. et al. Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads. *Poultry Science*, 2013, vol. 92, p. 2463–2474.

European Pharmacopoeia 9.0. European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, Edom: Strasbourg, France, 2017, ISBN 978-3-7692-7453-0

GEORGE, N. et al. Physical, mechanical, and barrier properties of carp and mammalian skin gelatin films. *Journal of Food Science*, 2010, vol. 9, p. 620–626.

GME Monograph. Standardised Methods for the Testing of Edible Gelatine. 2020. version 15

GMIA–Standard Testing Methods for Edible Gelatin. 2019.

Grand View Research. 2019. Gelatin Market Size, Share & Trends Analysis Report by Raw Material (Pig Skin, Cattle Bones), by Function (Stabilizer, Gelling Agent), By Application (Photography, Food & Beverage), and Segment Forecasts, 2019–2025, p. 300.

HUDA, N. et al. Preliminary study on physicochemical properties of duck feet collagen. *International Journal of Poultry Science*, 2013, vol. 12, p. 615.

ISO Standard 937–1978: *Meat and meat products - Determination of nitrogen content*.

ISO Standard 3496–1994: *Meat and meat products - Determination of L(-) hydroxyproline content (Reference method)*.

JAYATHILAKAN, K. et al. Utilization of by-products and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2012, vol. 49, p. 278–293.

KARAYANNAKIDIS, P.D., ZOTOS, A. Fish processing byproducts as a potential source of gelatine: A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2014, 25, vol. 1, p. 65–92

KIM, H.W. et al. Effect of duck feet gelatin concentration on physicochemical, textural, and sensory properties of duck meat jellies. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 2014, vol. 34, p. 387–394.

KRISHNAMOORTHY, J. et al. Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of *Sepia Pharaonis* from puducherry coast. *Biochemistry and Biophysics*, 2017, vol. 10, p. 39–45.

LASSOUED, M. et al. Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. *Food Hydrocolloids*, 2014, vol. 41, p. 309–318.

LIU, H. et al. Rheological properties of channel catfish gelatine from fish skins preserved by different methods. *LWT-Food Science and Technology*, 2008, vol. 41, p. 1425–1430. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.09.006>

MARTÍNEZ–ALVÁREZ, O. et al. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Research International*, 2015, vol. 73, p. 204–212.

NASRIN, T.A.A. Physico-chemical characterization of culled plantain pulp starch, peel starch and flour. *International Journal of Food Properties*, 2015, vol. 18, p. 165–177.

NETO, V.Q. Functional properties of raw and heat processed cashew nut (*Anacardium Occidentale* L.) kernel protein isolates. *Nahrung/Food*, 2001, vol. 45, p. 258–262.

NOLLET, M.L., TOLDRÁ, F. Handbook of food analysis. Third edition. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2015, p. 1568.

OMAR, W., SARBON, N. Effect of drying method on functional properties and antioxidant activities of chicken skin gelatin hydrolysate. *Journal of Food Science and Technology*, 2016, vol. 53, p. 3928–3938.

RAFIENIAN, F. et al. Optimization of gelatin extraction from chicken deboner residue using rsm method. *Journal of Food Science and Technology*, 2013, vol. 50, p. 374–380.

RAFIEIAN, F. et al. Physicochemical properties of gelatin extracted from chicken deboner residue. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, vol. 64, p. 1370–1375.

RAHMAN, M.N.A.; JAMALULAIL, S.A.S.K.A. Extractions, physicochemical characterizations and sensory quality of chicken feet gelatin. *Biomedical Journal of Scientific And Technical Research*, 2012, vol. 30, p. 1–13.

SARBON, N.M. et al. Effect of chicken skin gelatin and whey protein interactions on rheological and thermal properties. *Food Hydrocolloids*, 2015, vol. 45, p. 83–92.

SATHE, S.K. Functional properties of lupin seed (*Supinus mutabilis*) proteins and protein concentrates. *Journal of Food Science*, 1982, vol. 7, p. 191–197.

SCHRIEBER, R., GAREIS, H. Gelatine handbook: theory and industrial practice. Weinheim: Wiley-VCH, Verlag, 2007, p. 347

SIMÕES, G.S. et al. Optimum conditions for extracting collagen from the tunica albuginea of immunologically castrated pig testes and the functional properties of the isolated collagen. *Meat Science*, 2014, vol. 96, p. 1460–1468.

SOMPIE, M., TRIASIH, A. Effect of extraction temperature on characteristics of chicken legskin. In proceedings of IOP conference series: earth and environmental science 2017 [Online] Semarang, Indonesia, 26–27. September 2018, p. 12089.

TAUFIK, M. et al. Effect of broiler age and extraction temperature on characteristic chicken feet skin gelatin. In proceedings of the 5th international seminar on tropical animal production, Yogyakarta, Indonesia, 19–22 October 2010; Faculty of Animal Science, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta, Indonesia, p. 649–656.

WIDYASARI, R., RAWDKUEN, S. Extraction and characterization of gelatine from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. *Food and Applied Bioscience*, 2014, vol. 1, p. 85–97. <https://doi.org/10.14456/fabj.2014.7>

WILLEY, J. et al. ISE Prescott's Microbiology. *McGraw-Hill Education*, 2022, p. 1024

XIN, Y. et al. Comparative study on the gel properties and nanostructure of gelatins from chicken, porcine, and tilapia skin. *Journal of Food Science*. 86, vol. 5, p. 1936–1945.

9. SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

Tab. 1. Vedlejší produkty drůbežářského průmyslu a jejich potenciální využití (Jayathilakan, 2012)	13
Tab. 2. Složení kuřecích kůží, hlav a běháků.....	23
Tab. 3. Rozpis experimentů a obsah zbytkového tuku v kuřecích běhácích.....	23
Tab. 4. Typy rozpouštědel a podíl zbytkového tuku v kuřecích běhácích	24
Tab. 5. Metody odtučnění a podíl zbytkového tuku v kuřecích kůžích	24

Tab. 6. Výtěžek a funkční vlastnosti želatin z kuřecí kůže extrahovaných při různých teplotách	25
Tab. 7. Funkční vlastnosti želatin z kuřecí kůže extrahovaných při různých teplotách.....	25
Tab. 8. Rozpis a výsledky faktorových experimentů přípravy želatin z kůží.....	28
Tab. 9. Rozpis a výsledky faktorových experimentů přípravy želatin z hlav.....	32
Tab. 10. Rozpis optimalizačních experimentů a výsledky výtěžku, pevnosti gelu a viskozity	35
Tab. 11. Rozpis a výsledky faktorových experimentů přípravy želatin z běháků	36
Tab. 12. Rozpis a výsledky optimalizačních experimentů přípravy želatiny z běháků.....	37
Tab. 13. Pevnost gelu, viskozita, vaznost vody (VV), vaznost tuku (VT), teplota tání (Tm) a gelace (Tg) komerčních a kuřecích želatin	39
Tab. 14. Emulzifikační kapacita (EK), emulzifikační stabilita (ES), pěnotvorná kapacita (PK) a pěnotvorná stabilita (PS) komerčních a kuřecích želatin	39
Obr. 1. Přeměna kolagenu na želatínu	7
Obr. 2. Schématický postup přípravy želatiny z kuřecí tkáně	16
Obr. 3. Vliv množství enzymu a doby extrakce na výtěžek želatiny	33
Obr. 4. Vliv množství enzymu a doby extrakce na pevnost gelu.....	34
Obr. 5. Vliv množství enzymu a doby extrakce na výtěžek želatiny	36

10. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

BSE	bovinní spongiformní encefalopatie
EK	emulzifikační kapacita
ES	emulzifikační stabilita
HCl	kyselina chlorovodíková
H ₂ SO ₄	kyselina sírová
KOH	hydroxid draselný
NaCl	chlorid sodný
NaOH	hydroxid sodný
NaHCO ₃	hydrogenuhličatn sodný
PA	polyamid
PK	pěnotvorná kapacita
PS	pěnotvorná stabilita
SD	směrodatná odchylka
VT	vaznost tuku
VV	vaznost vody
v/v	objem/objem
w/v	hmotnost/objem
w/w	hmotnost/hmotnost

11. PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA

1. Vědecké články s IF abstrahované v databázi WoS

A) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R., ORSAVOVÁ, J., JANÁČOVÁ, D. Biotechnological preparation of chicken skin gelatine using factorial design of experiments. *Food Bioscience*, 2022, vol. 47, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101702>

B) GÁL, R., MOKREJŠ, P., MRÁZEK, P., PAVLAČKOVÁ, J., JANÁČOVÁ, D., ORSAVOVÁ, J. Chicken heads as a promising by-product for preparation of food gelatins. *Molecules*, 2020, vol. 25, p. 494, <https://doi.org/10.3390/molecules25030494>

C) MOKREJŠ, P., MRÁZEK, P., GÁL, R., PAVLAČKOVÁ, J. Biotechnological preparation of gelatines from chicken feet. *Polymers*, 2019, vol. 11, p. 1060. <https://doi.org/10.3390/polym11061060>

D) MOKREJŠ, P., GÁL, R., PAVLAČKOVÁ, J., JANÁČOVÁ, D., MRÁZEK, P. Využití vedlejších kolagenních produktů z porážky drůbeže k přípravě želatin a hydrolyzátů. *Chemické listy*, 2019, vol. 113, p. 121–125, ISSN:0009-2770

2. Vědecké články abstrahované v databázi Scopus

E) MRÁZEK, P., GÁL, R., MOKREJŠ, P., KREJČÍ, O., ORSAVOVÁ, J. Thermal stability of prepared chicken feet gelatine gel in comparison with commercial gelatines. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2020, vol. 14, p. 535–543, <https://doi.org/10.5219/1297>

F) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R., ORSAVOVÁ, J. Chicken skin gelatine as an alternative to pork and beef gelatines. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2019, vol. 13, p. 224–233, <https://doi.org/10.5219/1022>

G) MRÁZEK, P., GÁL, R., MOKREJŠ, P., PAVLAČKOVÁ, J., JANÁČOVÁ, D. Proposal of processing chicken by-products tissues into food-grade collagen. *Waste Forum*, 2020, vol. 4, p. 217–227.

H) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R., KREJČÍ, O. Preparation of collagen concentrate from chicken feet. *Waste Forum*, 2018, vol. 4, p. 444–451, <https://doi.org/10.3966/199115992018122906009>

3. Výstupy z mezinárodních konferencí abstrahované na WoS

I) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R., ORSAVOVÁ, J., JANÁČOVÁ, D. Thermal stability of chicken skin gelatine gels in comparison with commercial gelatines. *Proceedings of 26th International PhD Students Conference (MENDELNET 2019)*, 2020, p. 368–373

J) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R. Assessment of possibilities of food grade gelatines preparation from chicken skin. *Proceedings of 25th International PhD Students Conference (MENDELNET 2018)*, 2019, p. 290–295

4. Patent

K) MOKREJŠ, P., GÁL, R., MRÁZEK, P. *Biotechnologický způsob výroby potravinářské želatiny z drůbežního jatečného odpadu*. Úřad průmyslového vlastnictví, Česká republika. Patentový spis, CZ 307665 B6. 2019-01-12

5. Výstupy z ostatních konferencí

L) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R. Poultry by-products as a raw-material for preparing food-grade collagen. *Bezpečnost a kontrola potravin*, Piešťany, Slovensko, 22.–23. 3. 2018

M) MRÁZEK, P., MOKREJŠ, P., GÁL, R. Poultry by-products as a novel source of collagen. *Týden výzkumu a inovací pro praxi a životní prostředí*, Hustopeče u Brna, 6.–8. 3. 2018

6. VŠ kvalifikační práce

MRÁZEK, P. *Optimalizace technologických podmínek získávání želatiny z vedlejších bílkovinných produktů z drůbežáren*, Diplomová práce 2017

MRÁZEK, P. *Možnosti zpracování odpadů z plněných polymerů*, Bakalářská práce 2015

7. Řešené projekty

IGA/FT/2018/008

Příprava, optimalizace, modifikace a využití vlastností přírodních i syntetických polymerních materiálů – hlavní řešitel.

IGA/FT/2019/003

Příprava a charakterizace želatin/kolagenních hydrolyzátů z drůbežích vedlejších produktů – hlavní řešitel.

IGA/FT/2020/002

Příprava želatin/ hydrolyzátů z vedlejších drůbežích produktů, testování jejich vlastností a návrh aplikací – hlavní řešitel.

IGA/FT/2021/007

Příprava, charakterizace a aplikace polymerů – člen řešitelského týmu.

FV20088

Vývoj nových receptur za účelem modifikace asfaltových směsí při využití recyklátu polyvinylbutyralu – člen řešitelského týmu na CPS Zlín.

12. CURRICULUM VITAE

Osobní údaje:

Jméno a příjmení: Ing. Petr Mrázek, Ph.D.
Datum narození: 28. 7. 1979
Kontaktní adresa: Hložkova 1817, Otrokovice
E-mail: p_mrazek@utb.cz

Dosažené vzdělání:

2017 – dosud Doktorský stupeň

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická,
Studijní obor: technologie makromolekulárních látek

2015 – 2017 Magisterský stupeň

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
Studijní obor: chemie a technologie materiálů – inženýrství polymerů

2012 – 2015 Bakalářský stupeň

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
Studijní obor: chemie a technologie materiálů – polymerní materiály a technologie

1997 – 1999 Střední škola s maturitou

COP Elektro Otrokovice

Obor/specializace: provozní elektrotechnik

Počítačové znalosti:

pokročilý uživatel: MS Windows/Office

Řidičský průkaz:

skupina B

Petr Mrázek

Zpracování vedlejších bílkovinných produktů z porážky drůbeže

Processing of Poultry By-products from Slaughterhouses

Teze disertační práce

Vydala Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,

nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín.

Náklad: vyšlo elektronicky

Sazba: Petr Mrázek

Publikace neprošla jazykovou ani redakční úpravou.

Rok vydání 2023

Pořadí vydání: první

ISBN 978-80-7678-195-5

