

Zpracování drůbežích tkání na kolagenní produkty

Bc. Radek Adam Strauch

Zvolte typ práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Radek Adam Strauch**
Osobní číslo: **T21524**
Studijní program: **N0722A130001 Inženýrství polymerů**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Zpracování drůbežích tkání na kolagenní produkty**

Zásady pro vypracování

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

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

Seznam doporučené literatury:

Ockerman, H.W.; Hansen C.I. *Animal By-product Processing and Utilization*, 1st ed.; CRC Press: London, Great Britain, 2000.
Schieber R.; Gareis H. *Gelatine Handbook. Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
Gómez-Guillén, M.C.; Giménez, B.; López-Caballero, M.E.; Montero, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll.* 2011, 25, 1813–1827.
Jayathilakan, K.; Sultana, K.; Radhakrishna, K.; Bawa, A.S. Utilization of by products and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. *J. Food Sci. Technol.* 2012, 49, 278–293.

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

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2024**

Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

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

L.S.

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

Ve Zlíně dne 4. března 2024

PROHLÁŠENÍ AUTORA

DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

Poděkování

Rád bych vyjádřil své upřímné poděkování svému profesorovi panu prof. Ing. Pavlu Mokrejšovi, Ph.D. za jeho neocenitelné vedení a podporu během mého studia. Jeho vynikající vzdělání, zkušenosti a odbornost byly klíčové pro mé pochopení dané problematiky a dosažení mých akademických cílů. Chtěl bych také poděkovat paní laborantce Petře Elšíkové za její neúnavnou práci v laboratoři a za to, že mi vždy byla k dispozici, když jsem potřeboval radu nebo pomoc a vše mi do puntíku názorně předvedla. Její zkušenosti a ochota pomoci byly pro mě velkým přínosem během mých laboratorních projektů. Velmi si vážím toho, co pro mě oba udělali a jsem vděčný, že jsem mohl mít tak výjimečné vyučující a spolupracovníky.

ABSTRAKT

V Evropské unii (EU) se ročně vyprodukuje asi pět tun tkání z drůbežích vedlejších produktů. Pro svůj vysoký obsah kolagenu představují významný surovinový zdroj pro výrobu želatiny. Cílem práce byla biotechnologická příprava želatiny z kachních žaludků. Byl sledován vliv vybraných procesních faktorů na výtěžnost želatiny, pevnost gelu, viskozitu, bodu tání a teploty tuhnutí. Byl použit dvouúrovňový faktorový design experimentů se třemi proměnnými procesními faktory (přídavek enzymu, doba působení enzymu a doba extrakce želatiny). Po rozemletí a oddělení rozpustných proteinů a tuku byla vyčištěná surovina zpracována inovativní biotechnologickou metodou založenou na úpravě kolagenu mikrobiální endoproteinázou (Protamex) a extrakci horkou vodou, která umožňuje řídit proces chemické a tepelné denaturace kolagenu pro přípravu želatiny. Vhodnou volbou procesních podmínek lze připravit želatinu s vysokou pevností gelu (180–290 Bloom) a viskozitou 2,5–3,9 mPa·s. Účinnost extrakce byla 40-58 %. Prezentovaná technologie je inovativní především enzymatickým zpracováním výchozí suroviny, které je pro výrobce ekonomicky, technologicky i ekologicky výhodné. Kachní želatiny jsou vhodnou alternativou k želatinám vyrobeným ze savců nebo ryb a lze je použít v mnoha potravinářských, farmaceutických a biomedicínských aplikacích.

Klíčová slova: Kachní žaludky, kolagen, želatina, extrakce, enzym, procesní podmínky, faktorové pokusy

ABSTRACT

In the European Union (EU), about five tons of poultry by-product tissues are produced annually. Due to their high collagen content, they represent an important raw material source for gelatine production. The aim of this paper was the biotechnological preparation of gelatin from duck gizzards. The effect of selected process factors on gelatin yield, gel strength, viscosity, melting point, and freezing point was investigated. A three-level factorial design of experiments with three process factor variables (enzyme addition, enzyme exposure time, and gelatin extraction time) was used. After grinding and separation of soluble proteins and fat, the purified raw material was processed by an innovative biotechnological method based on collagen treatment with microbial endoproteinase (Protamex) and hot water extraction, which allows the control of the process of chemical and thermal denaturation of collagen for gelatin preparation. By appropriate choice of process conditions, gelatin with high gel strength (180-290 Bloom) and viscosity of 2.5-3.9 mPa-s can be prepared. The extraction efficiency was 40-58 %. The presented technology is innovative, especially by enzymatic treatment of the starting material, which is economically, technologically, and ecologically advantageous for the producer. Duck gelatins are a suitable alternative to gelatins produced from mammals or fish and can be used in many food, pharmaceutical, and biomedical applications.

Keywords: Duck gizzards, collagen, gelatin, extraction, enzyme, process conditions, design of experiments

OBSAH

I.	TEORETICKÁ ČÁST	9
1.1	Zpracování drůbeže	10
1.1.1	Sběr.....	10
1.1.2	Transport	11
1.1.3	Vykládka	12
1.1.4	Porážka	13
2	SPOTŘEBA A PRODUKCE DRŮBEŽÍHO MASA	13
2.1	Složení drůbežního masa	15
2.2	Vedlejší živočišné produkty	16
3	KATEGORIZACE VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ	18
3.1.1	Kategorie 1	19
3.1.2	Kategorie 2	19
3.1.3	Kategorie 3	20
3.2	Vedlejší produkty v masném průmyslu	20
4	VEDLEJŠÍ PRODUKTY DRŮBEŽE A JEHO VYUŽITÍ	22
4.1.1	Krev.....	23
4.1.2	Kůže	24
4.1.3	Droby.....	25
4.1.4	Peří	25
4.1.5	Sádlo a lůj.....	27

4.1.6	Kosti	28
5	KOLAGEN	29
5.1.1	Složení kolagenu	30
5.1.2	Využití kolagenu	32
5.1.3	Inovativní aplikace kolagenu.....	32
5.1.4	Typy kolagenu.....	34
5.2	Želatina.....	37
II.	PRAKTICKÁ ČÁST	43
6	CÍLE PRÁCE	44
7	MATERIÁL A METODY	45
7.1	Vstupní surovina	45
7.2	Přístroje, pomůcky a chemikálie.....	45
8	POSTUP PRÁCE PŘÍPRAVY ŽELATIN	46
8.1	Příprava kolagenu	47
8.2	Příprava hydrolyzátu kolagenu	48
8.3	Příprava želatin	48
9	ANALÝZY VSTUPNÍ SUROVINY, MEZIPRODUKTŮ A KONEČNÝCH PRODUKTŮ	49
9.1	Stanovení obsahu sušiny	49
9.2	Stanovení obsahu popela	50
9.3	Stanovení obsahu dusíku a čistých bílkovin	51

9.4	Stanovení zbytkového množství tuku dle Soxhleta	53
9.5	Stanovení obsahu kolagenu	53
9.6	šStanovení bilanční chyby	54
9.7	Stanovení účinnosti extrakce	54
9.8	Stanovení pevnosti gelu želatiny	55
9.9	Stanovení dynamické viskozity želatiny	56
9.10	Stanovení teploty tuhnutí želatiny	57
9.11	Stanovení teploty tání želatiny	57
10	VÝSLEDKY	58
10.1	Výtěžky extrakce želatiny	59
10.2	Výtěžek první frakce	62
10.3	Výtěžek druhé frakce	65
10.4	Výtěžek třetí frakce	67
10.5	Vlastnosti želatin	70
10.5.1	Pevnost gelu	72
10.5.2	Dynamická viskozita	74
10.5.3	Bod tuhnutí	76
10.5.4	Bod tání	79
10.6	Celkový vliv extrakce na surovinu	81
11	NÁVRH OPTIMÁLNÍCH PROCESNÍCH PODMÍNEK PŘÍPRAVY ŽELATIN Z KACHNÍCH ŽALUDKŮ	82

12	DISKUZE	83
13	PŘÍNOS PRO PRAXI	85
	Návrhy na pokračování dalšího výzkumu	87
	ZÁVĚR	88
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	90
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	95
	SEZNAM OBRÁZKŮ	96
	SEZNAM TABULEK	99
	SEZNAM PŘÍLOH	100

ÚVOD

Tato diplomová práce představuje komplexní studii zaměřenou na zpracování drůbežích tkání pro produkci kolagenních výrobků, zejména hydrolyzátů v podobě želatin. V době rostoucí poptávky po vysoce kvalitních a specifických biopolymerech, jako je kolagen, přináší tato práce přínos do oblasti biopolymerů, potravinářství, kosmetiky a lékařství. Kolagen, jakožto nejhojnější bílkovina v lidském těle, má zásadní význam pro zachování zdravé pokožky, kloubů, vazů a kostí. Důraz je kladen na kachní a drůbeží kolagen, které jsou předmětem této práce díky jejich vysoké biologické hodnotě a širokému spektru aplikací.

V úvodní části práce jsou poskytnuty základní informace o procesu zpracování drůbeže a jejich vedlejších produktů, které představují potenciální zdroj pro získávání kolagenu. Součástí této sekce je i rozbor spotřeby a složení drůbežího masa, kategorizace vedlejších živočišných produktů a jejich využití, což klade důraz na želatinu jako jeden z hlavních produktů zpracování kolagenu, což je základ pro pochopení jeho významu a možností aplikace.

V teoretické části se práce dále zaměřuje na složení kolagenu a popisuje různé typy kolagenu, které se vyskytují v tkáních. Zvláštní pozornost je věnována možnostem využití vedlejších drůbežích produktů, což je klíčové pro navržení udržitelných technologických postupů zpracování.

Praktická část práce obsahuje experimentální metodiku postupného vymývání a odtučnění kachních tkání, které jsou bohaté na kolagen. Následuje příprava želatin a hydrolyzátů, jejichž charakteristika a analýza jsou zásadní pro stanovení optimálních procesních podmínek. Cílem je dosáhnout maximálního stupně konverze suroviny na želatinu nebo hydrolyzát a získat želatinu s optimálními a kvalitními vlastnostmi, a zároveň optimalizovat využití odpadních materiálů z drůbežího průmyslu. Výsledky práce jsou analyzovány pomocí analytických metod a softwarových nástrojů, což umožňuje komplexní hodnocení kvality a vlastností připravených kolagenních produktů. Diskuse a závěr práce reflektují přínosy nových poznatků pro vědu i praxi, přičemž se klade důraz na potenciální aplikace v potravinářství, kosmetice a lékařství.

Celkově tato diplomová práce nabízí ucelený pohled na zpracování drůbežích tkání na kolagenní produkty, přináší nové technologické postupy a rozšiřuje možnosti jejich využití.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Zpracování drůbeže

Proces zpracování drůbeže lze rozdělit do čtyř základních fází: sběr, nakládka, přeprava a následná vykládka až po porážku. Tyto kroky, přestože probíhají v relativně krátkém časovém rámci a skrývají určité výzvy, které mohou celý proces komplikovat. Klíčovým aspektem, který vyžaduje zvláštní pozornost, je produkce stresových hormonů u zvířat během těchto fází. Tato hormonální reakce může negativně ovlivnit jak strukturu bílkovin, tak kvalitu výsledného masa, což má přímý dopad na vlastnosti a kvalitu extrahovaného kolagenu, a tedy i na přípravu želatiny. Správné řízení a minimalizace stresu u drůbeže jsou proto nezbytné pro zajištění vysoké kvality surovin pro následnou výrobu kolagenních produktů.

1.1.1 Sběr

Sběr a transport velkého počtu ptáků z farmy do zpracovatelského závodu představuje logistickou výzvu, která vyžaduje pečlivé plánování a zajištění adekvátních životních podmínek pro zvířata. Moderní chovné haly mohou pojmut až 30 000 brojlerů v závislosti na velikosti ptáků a hustotě osazení. Ptáci jsou chováni na podestýlkách z rostlinných materiálů. Brojleři jsou uváděni na trh ve věku 6 až 8 týdnů s živou hmotností 2,0 až 4,5 kg, zatímco krůty jsou prodávány ve věku 13 až 23 týdnů s živou hmotností 5,0 až 20,0 kg.

Příprava stáje před odchodem ptáků zahrnuje odstranění napájecích a krmných zařízení, která jsou zavěšena na stropě, aby se usnadnila manipulace s ptáky. Správné načasování odběru krmiva je klíčové pro zajištění optimální kvality a hmotnosti ptáků při jejich přijetí do závodu. Příliš mnoho krmiva v trávicím systému může vést ke kontaminaci během zpracování, zatímco příliš dlouhé období bez krmiva může oslabit výstelku střeva a způsobit její protržení během porážky. U brojlerů se obvykle odstavuje krmivo na dobu 8-12 hodin. Ptáci jsou často nakládáni v noci nebo při zhasnutých světlech ve stáji, což pomáhá minimalizovat jejich stres a uklidnit je před transportem. [1]

1.1.1.1 Metody sběru

Manuální sběr drůbeže – je běžnou praxí po celém světě, přičemž ptáci jsou ručně chyceni a následně umístováni do klecí nebo transportních modulů. Ideálním způsobem, jak zachovat dobré životní podmínky zvířat, by bylo chytání ptáků po stranách, což by ale vzhledem k potřebné rychlosti odchytu nebylo komerčně proveditelné. Proto jsou brojleři obvykle chytáni

za nohy na podestýlkách, aby se dosáhlo požadované rychlosti odchyту. V rozsáhlejších chovných halách jsou k tomu činnosti nasazeny týmy 7 až 10 pracovníků, kteří jsou schopni za hodinu umístit do klecí 7 000 až 10 000 ptáků. Vzhledem k tomu, že každý lapač může za hodinu odchytit alespoň 1 000 brojlerů s průměrnou hmotností 2-3 kg, může každý pracovník během směny zvednout celkem 6 až 16 tun brojlerů.

Mechanický sběr drůbeže – představuje oblast, ve které se doposud využívá jen minimální mechanizace, ale postupně se tento stav mění s rostoucím zaváděním automatizačních technologií.

Prvním využívaným mechanismem je využíván systém s dvojitým dopravním pásem, který je součástí nakládacího zařízení montovaného na traktoru. Toto zařízení efektivně shromažďuje ptáky na jednom místě a posouvá je směrem k systému skládaných přepravek. Spodní pás se postupně přibližuje k ptákům a pomalu se posouvá do středu, kde druhý nakloněný pás ptáky zvedne a přesune do přepravek. Tento systém dokáže naložit až 10 000 ptáků za hodinu.

Druhým mechanismem je sběrací systém s pryžovými válci. Skládá se z několika měkkých, dlouhých protiběžných válců s pryžovými prsty, které směřují ptáky na dopravní pás. Pták je uchycen pomocí gumových válečků, které jsou dostatečně pevné, aby ptáci nemohli uniknout, ale současně dostatečně měkké, aby se zabránilo zraněním. Ptáci jsou následně přemístěni na nakloněný teleskopický dopravní pás s maximálním dosahem 24 metrů, který ptáky transportuje do klecí umístěných v zadní části stroje. Stroj je navržen tak, aby zvládl 8 000 až 12 000 brojlerů za hodinu a vyžadoval posádku čtyř lidí. Podobně jako u ostatních metod odchyту, i tato operace se provádí v noci nebo při slabém osvětlení, což minimalizuje pohyb a stres ptáků. [1]

1.1.2 Transport

Přeprava živého ptactva z farmy do zpracovatelského závodu je sice ve srovnání s celkovou vegetační dobou relativně rychlá, avšak tento proces přináší několik úskalí. Ptáci musí být shromažďováni, nakládáni, přepravováni a vykládáni v novém a neznámém prostředí, což může způsobit zvýšený stres. Snížení stresu během přepravy je klíčové pro zajištění dobrých podmínek pro zvířata a zachování kvality masa. Nedostatečná kontrola těchto faktorů může vést ke snížení kvality masa. Vzhledem k obrovskému množství drůbeže, která je každoročně přepravována do zpracovatelských závodů (více než 4 miliardy brojlerů v Evropě), se jedná o

klíčový logistický problém. Drůbež z velkochovů roztroušených po celé zemi musí být převezena do závodů, což obvykle trvá od 1 do 5 hodin. Odstranění krmiva a sběr ptáků před přepravou může způsobovat fyziologický stres, a je dokázáno, že s rostoucí délkou přepravy se zvyšuje i úmrtnost jedinců.

Transport drůbeže je typicky prováděn v klecích, přičemž se komerčně využívají tři hlavní typy. Nejstarším typem jsou volné přepravky s krytem, které byly původně vyrobené z dřeva, později z kovového drátu a dnes jsou vyráběné z plastu. Tyto přepravky jsou nabízeny v různých velikostech. Ptáci jsou umisťováni do přepravek otvorem v horní části, který musí být dostatečně velký, aby nedošlo k jejich zranění. Tento systém umožňuje flexibilitu při nakládání a nízké náklady na vybavení, avšak vyžaduje více ruční práce než jiné systémy.

Druhým typem jsou pevné přepravky, které jsou integrální součástí nákladních a vozidel a tvoří nedílnou součást přívěsů. Ptáci jsou přemístěni do vozidla ručně nebo pomocí mechanického nakládače. Přepravky v kamionu jsou typicky rozděleny do dvou skupin, přičemž každá z nich pokrývá polovinu šířky vozidla. [1]

Třetím typem a dnes nejvíce mechanizovaným systémem na trhu je velký, pohyblivý a modulární systém zásuvek/přepravek, který se spoléhá na velké kontejnery a vyžaduje mechanickou manipulaci jak mimo vozík, tak i na vozíku. Tento systém představuje významnou změnu oproti systémům malých a pevných přepravek a zaměřuje se na mechanizaci a zvýšení komfortu pro jednotlivce.[24]

1.1.3 Vykládka

Ptáci přijíždí do závodů nákladními auty v bednách nebo klecích. Před začátkem procesu se ptáci hromadně váží buď na nákladním automobilu při příjezdu do zpracovatelského závodu, nebo v klecích, když jsou vyloženi. Získaná hodnota živé hmotnosti je určena pro výpočet platby pěstiteli. [1] Bez ohledu na to, jak pečlivě jsou prováděny činnosti spojené s odchýtem a přepravou, tak způsobují ptákům stres. Je proto důležité, aby měli možnost zotavit se v pohodlných podmínkách, než budou zavěšeni na zpracovatelské lince. Po příjezdu na jatka se doporučuje ptákům poskytnout chvíli odpočinku, zejména pokud byli vystaveni drsným podmínkám, jako jsou extrémní teploty, zima anebo dlouhá cesta. Snížení stresu a poskytnutí času pro návrat k normálnímu dýchání jsou klíčové pro dosažení kvalitního masa.[2]

1.1.4 Porážka

Porážka zvířat se provádí v jatkách, které jsou pod přísným dohledem veterinárních předpisů. Před samotnou porázkou je zvíře omráčeno tak, aby bylo bezvědomé. K omráčení lze využít elektrický proud, plyn, nebo mechanické prostředky. Cílem omráčení je zajistit rychlý nástup necitlivosti bez stresu, přičemž bezvědomí musí trvat dostatečně dlouho, aby zvíře zůstalo v tomto stavu až do okamžiku smrti jedince.

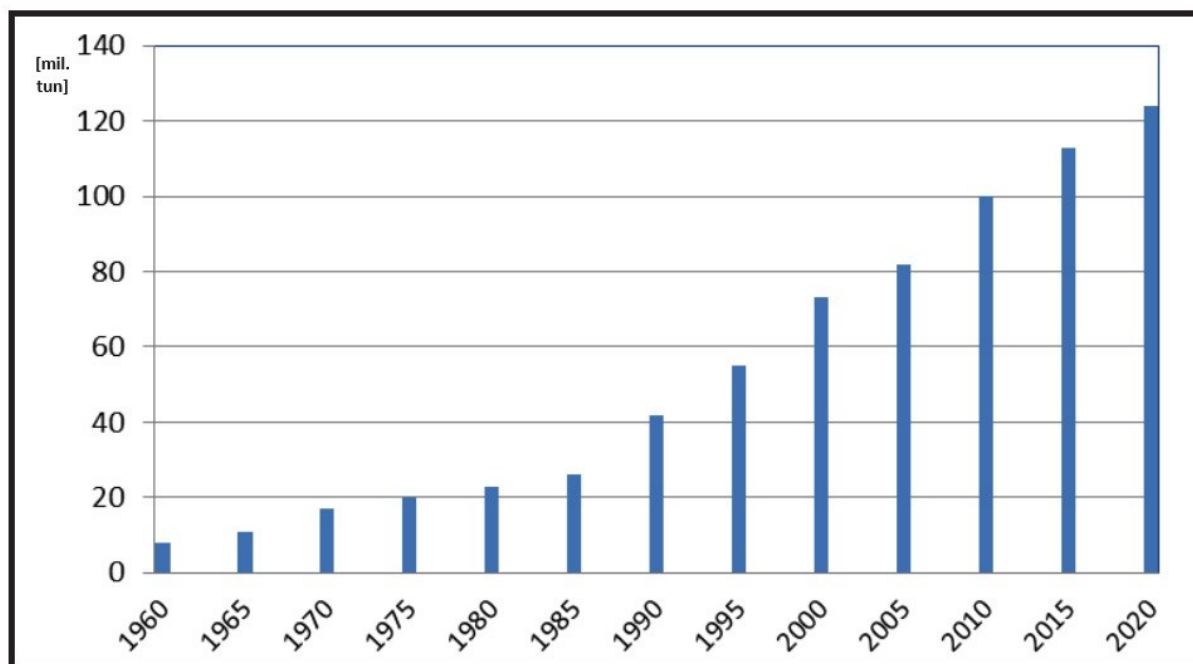
Usmrcení zvířete obvykle zahrnuje přeříznutí cév v krku. U drůbeže existuje několik metod. Jedna z nich zahrnuje použití jediné čepele pro přeříznutí jedné krční tepny a jugulární žíly. Další metodou je použití jednoduché nebo dvojité čepele pro přeříznutí obou krčních tepen a žil, nebo přerušení jedné či obou vertebrálních tepen. Mezi méně obvyklé metody patří dekapitace (oddělení hlavy od trupu) a mechanické omráčení, při kterém se propíchne mozek a podřiznou žíly v ústech. [1,2,8]

2 Spotřeba a produkce drůbežího masa

Konzumace masa patří k oblíbeným stravovacím zvyklostem na celém světě a během posledních pěti desetiletí byl zaznamenán stálý růst v produkci drůbeže (Obrázek č. 1), červeného masa a dalších zdrojů bílkovin. Tento trend je podmíněn rostoucí světovou populací a zvyšujícími se příjmy. Drůbeží maso se těší rostoucí oblibě, což lze přičítat jeho konkurenceschopné ceně, krátké době růstu, příznivému nutričnímu profilu a minimálním náboženským omezením.

Spotřeba drůbežího masa se v jednotlivých zemích liší, což je obecný trend pro všechny typy masa. V zemích jako Brazílie a USA dosahuje spotřeba úrovně 44,4 resp. 41,0 kg masa na obyvatele za rok, zatímco v Číně je to 11 kg a v Indii pouze 2 kg masa na obyvatele za rok. Tyto rozdíly jsou dány faktory jako úroveň příjmů, dostupnost masa, kulturní tradice a stravovací návyky. Aktuálně tvoří produkce drůbežího masa 30 % celkové produkce masa pocházejícího od hospodářských zvířat, což je dvojnásobek ve srovnání se stavem před 25 lety. Za posledních 50 let se produkce drůbežího masa zvýšila téměř šestkrát, což je dokumentováno na grafu č. 1, ukazujícím nárůst produkce masa určeného k vaření. Očekává se, že v příštím desetiletí dojde k dalšímu nárůstu o 25 %. [1]

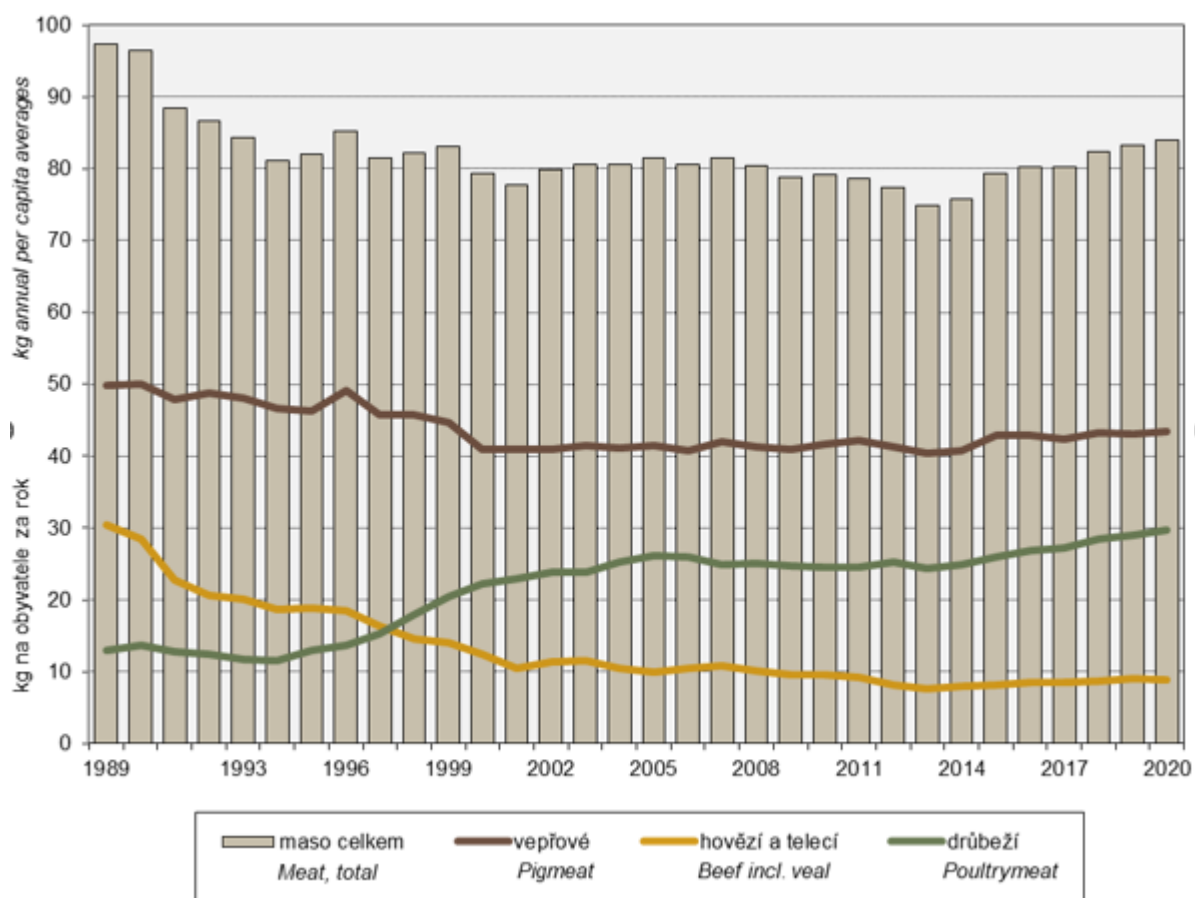
Epidemie ptačí chřipky v roce 2006 vedla k poklesu spotřeby drůbeže v evropských zemích, včetně Řecka, Itálie, Belgie, Německa, Rakouska, Francie a Španělska. Nicméně, během léta 2006 byly úrovně spotřeby obnoveny zpět na úroveň před krizí. Krize ustoupila, když se snížil počet divokých ptáků nalezených mrtvých na ptačí chřipku, což vedlo ke zvýšení spotřeby. Obchodní strategie, jako jsou propagační nabídky typu „dva kuřata za cenu jednoho“, byly zavedeny s cílem snížit zásoby a ukázaly se jako účinné v zvýšení prodeje, zejména v segmentu celých kuřat. [17]



Obrázek č. 1: Světová produkce drůbežího masa

V Evropě tvoří drůbeží maso 16 % celkové produkce masa, přičemž Francie a Velká Británie jsou mezi nejvýznamnějšími producenty. V posledních letech byl největší nárůst produkce drůbežího masa zaznamenán v Jižní Americe, Mexiku a Asii.

Celá kuřata a jejich části představují většinu spotřeby drůbežího masa, tvoří přibližně dvě třetiny celkové spotřeby. V České republice dosahuje spotřeba drůbežího masa přibližně 24 až 25 kg na osobu ročně (Obrázek č. 2). [18]



Obrázek č. 2: Spotřeba jednotlivých druhů masa v ČR v hodnotě na kosti (kg na obyvatele za rok) (ČSÚ)

2.1 Složení drůbežního masa

Při zkoumání drůbežního masa jako potenciálního zdroje kolagenu pro výrobu želatiny, je důležité zdůraznit jeho významné nutriční vlastnosti. Drůbeží maso je bohaté na bílkoviny s vysokou biologickou hodnotou a obsahuje málo tuku. Kromě toho, že je energeticky méně náročné ve srovnání s vepřovým či hovězím masem, nabízí i příznivé složení mastných kyselin s nízkým podílem nasycených a vysokým podílem nenasycených mastných kyselin. Toto maso je také bohaté na minerály jako draslík, fosfor, železo a zinek, což předurčuje jeho použití v dietní výživě díky nízkému obsahu sodíku.

Vzhledem k vysokému obsahu bílkovin a aminokyselin, zejména lyzinu, a nízkému podílu vaziva, je drůbeží maso dobře stravitelné. Jeho jemná svalová vlákna a chuťové vlastnosti činí

z drůbežího masa ideální základ pro různé kulinářské přípravy, jako je vaření, pečení nebo smažení.

Při zpracování drůbežího masa na kolagenní produkty je klíčové správně nastavit parametry extrakce, aby se dosáhlo optimálních vlastností výsledného kolagenu. Z tohoto hlediska je drůbeží maso přínosným zdrojem pro výrobu želatiny a dalších kolagenních produktů. Celkové složení drůbežího masa u jednotlivých rodů je zobrazeno v Tabulce 1. [24]

Tabulka 1: Průměrné chemické složení masa drůbeže

Kategorie	Obsah vody [%]	Obsah bílkovin [%]	Obsah tuku [%]
Kuřata	72,0	22,0 – 23,0	4,0 – 6,0
Slepice	70,0	21,0 - 22,0	5,0 – 6,0
Jatečné krůty	70,5	24,0 – 25,0	3,0 – 4,0
Krůty dospělé	67,0	24,0	8,0
Jatečné kachny	63,0	17,0	19,0 – 20,0
Kachny dospělé	58,0	17,5	22,0 – 25,0
Jatečné husy	68,0	20,0	12,0
Husy dospělé	60,0	18,0	23,0 – 26,0

2.2 Vedlejší živočišné produkty

Nařízení Komise Evropských společenství (ES) Well 1069/2009 definuje vedlejší produkty živočišného původu jako celé tělo zvířete, části z těla zvířete nebo produkty získané ze zvířat, které nejsou určeny k lidské spotřebě. [10] V rámci Evropské unie existují specifické předpisy, které řídí nakládání s vedlejšími produkty živočišného původu. Tyto předpisy mají za cíl minimalizovat rizika spojená s možným šířením nálezů a zajišťovat bezpečné a efektivní využití těchto materiálů.

Jedním z klíčových aspektů těchto předpisů je zákaz určitých způsobů použití vedlejších produktů, včetně krmení suchozemských zvířat jinými produkty téhož druhu. Tento zákaz je základním kamenem pro prevenci rizik přenosu nemocí mezi zvířaty.

Dalším významným prvkem je zákaz vývozu vedlejších produktů určených k likvidaci, jako je spalování a skládkování, a jejich využití v zařízeních na výrobu bioplynu nebo kompostování v určitých zemích. Toto opatření zabraňuje šíření potenciálně kontaminovaných materiálů mimo hranice státu.

Evropská komise má také pravomoc přijímat speciální pravidla týkající se sběru, přepravy, manipulace a neškodného odstraňování těchto produktů. Zahrnuje to i stanovení podmínek pro dovoz, tranzit a vývoz, což umožňuje EU udržet kontrolu nad pohybem těchto materiálů na mezinárodní úrovni. [4]

V různých zemích se liší definice toho, co je považováno za jedlé a nejedlé produkty zvířecího původu. Například kuřecí nohy mohou být v některých regionech kategorizovány jako jedlé, zatímco v jiných nikoliv. Masný průmysl obecně považuje za vedlejší produkty nebo droby všechno, co je vyprodukováno zvířetem nebo ze zvířete, kromě primárně zpracovaného masa. To zahrnuje různé druhy orgánů, jako jsou játra, srdce a žaludky, které jsou v drůbežářském průmyslu označovány jako droby. Krev je také řazena mezi droby a nachází uplatnění například v krmivech pro zvířata.

Nejedlé části zahrnují vnitřnosti, hlava a kosti, které jsou často využívány jako krmivo pro domácí zvířata, v chovech kožešinových zvířat nebo pro krmení ryb a prasat. Vzhledem k riziku přenosu patogenních organismů na jiná zvířata se vnitřnosti obvykle zpracovávají tepelně na vysokou teplotu (nad 100 °C a sníženého tlaku) s cílem předejít mikrobiální infekci. Pokud se vedlejší produkt používá jako krmivo, je nezbytné provést jeho dekontaminaci, aby se zabránilo šíření patogenních metabolitů, jako jsou toxické látky během skladování. [10]

V některých situacích se živočišný materiál neklasifikuje jako vedlejší živočišné produkty (VŽP). Například, psí exkrementy nalezené na chodnících spadají pod regulace zákona o odpadech, který spravuje ministerstvo životního prostředí, a tudíž nejsou považovány za VŽP. Dále do kategorie VŽP nejsou zařazena uhynulá volně žijící zvířata jako holubi, srny či potkani. Toto pravidlo se vztahuje i na zvířata, která byla sražena vozidlem nebo vlakem; ani tato nejsou považována za VŽP. [7]

3 Kategorizace vedlejších produktů

Klasifikace vedlejších produktů živočišného původu byla stanovena nařízením (ES) č. 1774/2002, které je rozděluje do tří kategorií na základě rizika, které mohou představovat pro zdraví lidí a zvířat. Produkty s nízkým rizikem musí být uchovávány odděleně od těch s vyšším rizikem a od materiálů určených pro lidskou spotřebu. Nařízení rovněž zakazuje krmení hospodářských zvířat materiálem s vysokým rizikem nebo materiálem pocházejícím ze stejných druhů zvířat. Pouze materiály od zvířat, která prošla veterinární prohlídkou, mohou být použity v krmivovém řetězci. Tato opatření jsou určena k minimalizaci rizik spojených s používáním vedlejších produktů živočišného původu. Vedlejší produkty jsou dále rozděleny podle stupně rizika, přičemž některé jsou určeny k likvidaci, zatímco jiné mohou být po zpracování znovu využity. Legislativní požadavky vyžadují, aby se s těmito produkty manipulovalo odděleně a aby byly správně označeny a sběr těchto produktů musí proběhnout bez zbytečného odkladu po jejich vzniku. [6]

Tabulka 2: *Metoda využití vedlejších produktů drůbežního masa a jejich odpovídající kategorie podle právních předpisů EU*

Využití	Kategorie dle klasifikace EU
Krmivo pro hospodářská zvířata	Kategorie 3
Krmivo pro domácí mazlíčky	Kategorie 3
Kosmetické produkty	Kategorie 3
Kompost	Kategorie 2 a 3
Výroba bioplynu	Kategorie 2 a 3
Výroba tepelné a elektrické energie	Kategorie 1, 2 a 3
Výroba biopaliv	Kategorie 1, 2 a 3

3.1.1 Kategorie 1

Kategorie 1 v rámci regulace vedlejších produktů živočišného původu obsahuje materiály, které jsou definovány jako vysoce rizikové. Ty zahrnují celá těla a všechny části zvířat, která jsou podezřelá z infekce TSE (transmisivní spongiformní encefalopatie) nebo u kterých byla tato infekce úředně potvrzena. Materiál této kategorie zahrnuje také vedlejší produkty zvířat, která byla usmrcena v souvislosti s opatřeními k eradikaci TSE. To zahrnuje zvířata z chovů, zoologických zahrad a cirkusů, ale i volně žijící nebo jiné než hospodářská zvířata. Dále je v této kategorii zahrnut materiál získaný ze zvířat, která byla podrobena nezákonnému ošetření, stejně jako vedlejší produkty původem z úpravy odpadních vod, odpady ze stravovacích zařízení a odpad vzniklý při mezinárodní dopravě. Kategorie 1 může také obsahovat směsi materiálu z kategorie 1 s materiálem z kategorií 2 nebo 3. [3,6,19]

3.1.2 Kategorie 2

Do této kategorie spadají vedlejší produkty živočišného původu, které jsou často využívány jako hnojiva a zdroje živin pro rostliny, včetně hnoje, nemineralizovaného guána (ptačí trus) a obsahu trávicího traktu. Tyto materiály jsou obvykle získávány ze zařízení zpracovávajících materiál kategorie II. Tato kategorie zahrnuje produkty, které obsahují rezidua povolených látek nebo kontaminantů nad úrovně stanovené směrnicí 96/23/ES.

Jsou však určité produkty živočišného původu, které nejsou vhodné pro lidskou konzumaci a neodpovídají veterinárním právním předpisům pro jejich dovoz do Evropské unie nebo přesun mezi členskými státy. Patří sem například oocyty, embrya a sperma, které nejsou určena pro chovné účely, a směsi materiálů kategorie 2 a 3, stejně jako jiné vedlejší produkty živočišného původu, které nejsou zařazeny do kategorie 1 nebo 3.

Navíc, do této kategorie náleží i zvířata, která uhynula jiným způsobem než porážkou nebo usmrcením pro lidskou spotřebu, včetně těch, která byla usmrcena za účelem eradikace nákazy. Tyto produkty by neměly být používány jako hnojiva nebo zdroje živin pro rostliny, aby se předešlo jejich šíření a možným zdravotním rizikům pro lidi a zvířata. Je zásadní, aby byly tyto nevhodné produkty správně nakládány s ohledem na veřejné zdraví a životní prostředí. [3,6,19]

3.1.3 Kategorie 3

Vedlejší produkty živočišného původu, definované jako materiál kategorie 3, zahrnují celá těla zvířat a jejich části, které jsou sice vhodné pro lidskou spotřebu, avšak z obchodních důvodů nejsou jako takové využívány. K této kategorii patří rovněž jatečně upravená těla a jejich části, které byly po prohlídce před porázkou shledány vhodnými k lidské konzumaci. Tuto kategorii dále tvoří části těl, které nejsou určeny pro lidskou spotřebu, ale nevykazují známky přenosných onemocnění. Mezi další produkty patří kůže, kožky, prasečí štětiny, peří a krev zvířat, jež nejsou infikována přenosnými krevními onemocněními.

Zahrnuty jsou také vedlejší produkty z drůbeže a zajíců poražených na farmě, stejně jako produkty vzniklé během výroby potravin pro lidskou spotřebu, jako jsou odtučněné kosti, škvarky a kal z odstředivky či separátoru zpracování mléka. Do této kategorie dále spadají potraviny, které obsahují produkty živočišného původu nevhodné k lidské spotřebě z důvodu obchodních problémů, výrobních vad, vad balení nebo jiných příčin.

Tyto vedlejší produkty jsou klíčové pro další zpracování, například pro výrobu krmiv pro zvířata, hnojiv nebo biomasy pro výrobu energie. Je důležité správně nakládat s těmito materiály, aby byly efektivně využity a zároveň neohrožovaly veřejné zdraví ani životní prostředí. [3,6,19]

3.2 Vedlejší produkty v masném průmyslu

Efektivní využití vedlejších produktů živočišného původu má zásadní vliv na ekonomiku a redukcí environmentálního znečištění. Nedostatečná recyklace nebo využití těchto produktů vede nejen ke ztrátám potenciálního zisku, ale rovněž zvyšuje náklady spojené s jejich likvidací. Vedlejší produkty zpracování masa, drůbeže a ryb nabízejí značný potenciál pro transformaci na suroviny nebo produkty vyšší hodnoty, což může přinést ekonomické i ekologické benefity.

V mnoha kulturách však tradice, kultura a náboženské normy mohou bránit využívání určitých vedlejších produktů jako potravin. Navíc, regulace v mnoha zemích omezují používání vedlejších masných produktů z důvodů zajištění bezpečnosti a kvality potravin. Přesto produkty jako krev, játra, plíce, ledviny, mozek, slezina, dršťky aj., které jsou bohaté na nutriční hodnoty, nacházejí široké využití v potravinářském průmyslu nebo jako aditiva.

Specificky, upravený rybí odpad je využíván v řadě aplikací, kde mezi nejdůležitější patří výroba krmiv pro zvířata, produkce bionafty a bioplynu, dietetické produkty jako chitosan,

extrakce přírodních pigmentů a výroba kosmetických produktů založených na kolagenu. Tyto aplikace nejenže přispívají k udržitelnému hospodaření s odpady, ale také přinášejí inovace a nové technologické postupy v rámci materiálového inženýrství a chemie polymerů.

V potravinářském průmyslu jsou vedlejší odpady charakterizovány specifickým indexem odpadů pro každý druh zvířete, což poukazuje na nevyhnutelnost jejich vzniku. Množství a typ těchto odpadních produktů, tvořených převážně organickými zbytky zpracovávaných surovin, je těžko měnitelný, pokud se má zachovat konzistentní kvalita finálního produktu. [9]

Tabulka 3: Vedlejší produkty u vybraných druhů zvířat vyjádřené v %, kg

Položka	Prase		Dobytěk (skot)		Ovce	
	[%]	[kg]	[%]	[kg]	[%]	[kg]
Specifický index odpadu	0,2		0,56		0,1	
Živá váha		100		600		60
Kostra	77,5	77,5	63	378	62,5	37,5
Krev	3	3	18	4	2,4	4
Tuková tkáň	3	3	4	24	3	1,8
Kůže	6	6	6	36	15	9
Orgány	7	7	16	96	10	6
Vnitřností (hrudník a břicho)	10	10	16	96	11	6,6
Nohy	2	2	2	12	2	1,2
Ocas	0,1	0,1	0,1	0,6	0,	0,2
Mozek	0,1	0,1	0,1	6	2,6	0,156

4 Vedlejší produkty drůbeže a jeho využití

Adekvátní zpracování odpadních produktů z průmyslu drůbeže a výroby vajec je zásadní pro udržení udržitelnosti a prosperity těchto odvětví. Tyto odpady, včetně zvířecího hnoje, exkrementů, vlasů, peří a jiných zbytků, mohou být transformovány na užitečné zdroje s přidanou hodnotou. Jednou z možností je jejich využití v termofilním anaerobním systému pro produkci metanu, který slouží jako alternativní zdroj energie. Tento proces nejen snižuje množství odpadu, ale také přispívá k výrobě obnovitelné energie.

Kafilerní procesy jsou zásadní v transformaci vedlejších produktů zpracování masa a drůbeže na komerční produkty. Tyto procesy umožňují výrobu jak jedlých, tak nepoživatelných tuků a bílkovin, které nacházejí uplatnění v zemědělství a průmyslu. Mezi tyto vedlejší produkty patří vnitřnosti, zbytky masa, kosti, krev, peří, produkty z líhni a mrtvá zvířata. Jedlé produkty, jako jsou sádlo a potravinářský lůj, jsou ceněny pro svou vysokou nutriční hodnotu.

Nepoživatelné kafilerní produkty zahrnují průmyslové a krmné tuky pro zvířata, produkty z masa a drůbeže, péřovou moučku, sušenou krev a hydrolyzované vlasy. Tyto odpady jsou nejprve rozdrceny a poté zpracovány při teplotě 121 °C po dobu přibližně 30 minut. Výsledkem je tmavohnědá, drobivá hmota s vysokým obsahem tuku a charakteristickým aroma, která je vynikající pro skladování a zpracování do krmných směsí. Tento přístup maximalizuje využití odpadů a přispívá k efektivnímu hospodaření se zdroji. [9,11]

Integrované kafilérie jsou nazýváme ty, které fungují ve spojení s jatkami nebo závody na zpracování drůbeže, zatímco nezávislé kafilérie shromažďují své suroviny z různých zdrojů mimo lokalitu. Využití kafilerních procesů může přispět k udržitelnému nakládání s vedlejšími produkty zpracování drůbeže a výroby vajec a snížit jejich negativní dopad na životní prostředí. [9,10]

Tabulka 4: Typ VŽP, jeho zastoupení v % a jeho následné možné užití v průmyslu

Typ VŽP	Živá váha [%]	Užití
Drůbeží podsada a hnůj		Recyklovaná krmiva, povrchové úpravy zemědělské půdy
Vaječné skořápky, neplodná vejce, nevylíhlá vejce		Mouka z vaječných skořápek se užívá v dietách s vysokým obsahem vápníku
Peří	7-8	Podestýlka, dekorativní účel, sportovní potřeby, hnůj nebo hnojiva, péřová moučka, metan palivové pelety, papír
Hlava	2,5-3	Drůbeží moučka
Krev	3,2-3,7	Aditivum do krmiva pro zvířata, inhibitor enzymu
Vole, žláznatá žaludek	3,5-4,2	Zdroj chitinolytického enzymu.
Nohy/Běháky	3,5-4,0	Polévka, technický tuk/drůbeží tuk
Střeva a žlázy	8,5-9,0	Masová moučka, drůbeží tuk a účinné látky (hormony a enzymy)

4.1.1 Krev

Krev, klíčový vedlejší produkt po porážce zvířat, obsahuje vysoké množství bílkovin a hemového železa. Hlavní složkou krevních buněk je hemoglobin, který transportuje kyslík z plic do ostatních orgánů. U drůbeže tvoří krev asi 8 % tělesné hmotnosti a je složena z 80 % vody a 18 % bílkovin, 0,1 % lipidů a 1 % minerálů jako jsou fosfáty, chloridy, sodík a draslík, avšak menší množství vápníku, hořčíku a železa. Krev hraje zásadní roli v distribuci živin a minerálů a je využívána v medicíně, zemědělství a průmyslu jako barvivo, hnojivo, krmivo a pojivo. Krev je typicky sterilní u zdravého zvířete, neobsahuje tedy patogeny, a její obsah tvoří

přibližně 3 až 8 % živé váhy zvířete, což podtrhuje její význam jako zdroj biologicky hodnotných materiálů. [10,20]

Ve výrobcích, jako jsou uzenyiny, se krev omezuje na koncentrace 0,5 až 2 % pro zvýraznění barvy, ale vyšší koncentrace negativně ovlivňuje sensorické vlastnosti. Kvůli vysokému obsahu vlhkosti se plazma často používá ve zpracovaných masných výrobcích, kde může tvořit až 10 % jejich hmotnosti.

Krevní plazma obsahuje 7,9 % bílkovin, z toho nejvíce jsou imunoglobuliny (4,2 %), albuminy (3,3 %) a fibrinogen. Díky neutrální chuti a bezbarvosti je plazma často využívána v potravinářství, zejména jako pojivo při zpracování masa, kde vytváří gely. Fibrinogen a trombin získané selektivní kryoprecipitací (vymrznutím) slouží jako přírodní pojiva. Plazma je rovněž zdrojem bílkovin, alternativou mléka a stabilizátorem vitamínů, což využívá její bohatý obsah stopových minerálů. Gelové vlastnosti plazmy, podobné vařenému vaječnému bílku, umožňují její široké využití ve výrobních procesech, kde může působit jako výborné pojivo vody a tuku. [9,21,23,26]

Krev je sama o sobě bohatým zdrojem bílkovin, jehož potenciál je dále zvýšen procesem hydrolyzy, přeměňující krevní bílkoviny na bioaktivní peptidy. Tento přístup nabízí udržitelné využití bílkovin v různých průmyslových a zdravotnických aplikacích. Výzkumy identifikovaly specifické inhibiční peptidy, zvané gliptiny, cílící na enzym dipeptidylpeptidázu IV (DPP-IV). Tyto peptidy byly získány z hydrolyzátů kuřecí krve, připravených s využitím čtyř různých enzymů, a prokázaly schopnost regulovat hladinu glukózy v krvi. Tato vlastnost je zásadní pro řízení diabetes mellitus 2. typu, což otevírá dveře k potenciálně efektivním a cíleným terapeutickým možnostem pro pacienty s touto stále častější nemocí. [12]

4.1.2 Kůže

Od nepaměti lidé využívají zvířecí kůži k výrobě úkrytů, oblečení a nádob. Tento materiál tvoří značnou část hmotnosti živého zvířete, obvykle se pohybuje mezi 4 % a 11 %. Kůže, po zpracování známá jako useň, patří mezi nejcennější vedlejší produkty získané ze zvířat díky jejímu širokému spektru využití.

Pro zachování kůže v dobrém stavu je klíčové zabránit jejímu rozkladu způsobenému bakteriemi a enzymy, což vyžaduje rychlé vytvrzení materiálu po jeho odstranění ze zvířete. Optimální skladování a přeprava usně vyžaduje udržení vlhkosti na úrovni 40–48 %. Takto

zpracovaná kůže může být transformována na různé výrobky, jako jsou kožené boty, tašky, sportovní vybavení a reformovaná střívka na klobásy. Další produkty zahrnují kosmetiku, kůže na klobásy, jedlou želatinu a lepidla. [9]

Zajímavé využití nalezneme i u kůže z brojlerů či starších slepic, kde se izoluje elastin pomocí tří rozpouštědel a analyzuje jeho složení včetně tuku, bílkovin a aminokyselin. Získaný elastin z těchto kůží ukazuje, že kůže brojlerů obsahuje vyšší množství tuku a bílkovin ve srovnání se staršími slepicemi. Aminokyselinové složení odhalilo glycin jako hlavní aminokyselinu, s vyšším obsahem v kůži brojlerů. Elastin z drůbeží kůže by mohl být potenciálním zdrojem přírodních antioxidantů a antihypertenzních složek, vhodných pro použití v potravinách, nápojích a kosmetice. [13,14]

4.1.3 Droby

Při porážce dochází k odstranění srdce, jater a žaludku spolu s dalšími vnitřnostmi, které jsou často považovány za nepoživatelný odpad. Žlučník se odstraňuje z jater a perikardiálního vaku, a tepny jsou vyřezávány ze srdce. Žaludek se odstraní rozříznutím před žláznatým žaludkem, rozdělí a vyčistí, a jeho vnitřní podšívka je odstraněna škrabkou.

Vyjmuté droby jsou umístěny do teplého těla, které bylo jatečně upraveno, nebo baleny samostatně. Pokud se tělo ochlazuje, droby se umístí do chladného korpusu, což pomáhá prodloužit jejich trvanlivost. Mohou být také zabaleny do pergamenu a zmrazeny uvnitř zmrazených ptáků pro další konzervaci. [9,23]

V oblasti mikrobiálních enzymových technologií existují možnosti pro vývoj technologií zaměřených na biokonverzi drůbežích drobů na produkty s přidanou hodnotou. Enzymatické zpracování je efektivní metoda pro recyklaci proteinových odpadů, které mohou být transformovány na užitečné suroviny. Proteázy jsou zvláště cenné pro biokonverzi, neboť umožňují enzymatickou hydrolýzu živočišných vedlejších produktů, čímž vznikají bioaktivní peptidy s potenciálními zdravotními přínosy, které zvyšují hodnotu drobů a proměňují je v cenné funkční ingredience.

4.1.4 Peří

Vedlejší produkty drůbežářského průmyslu, včetně peří a prachového peří, nachází uplatnění v širokém spektru odvětví jako oděvnictví, izolace, lůžkoviny, dekorace či výroba sportovního

vybavení. Specifické vlastnosti peří se liší podle druhu drůbeže, pohlaví a umístění na těle. Peří z břicha bývá obvykle nejžádanější. Různé typy peří se klasifikují do následujících skupin:

1. **Tvrdé peří:** Tuhé brky s pevnými těžkými lopatkami, ploché a orientované ve dvourozměrné rovině.
2. **Sedlová peří (hřbetní):** Dlouhé a úzké lopatkové peří z hřbetu.
3. **Poloviční chmýří:** Lopatkové peří s chmýřím, které pokrývá spodní polovinu brku.
4. **Tříčtvrteční chmýří:** Lopatkové peří s chmýřím pokrývající spodní tři čtvrtiny brku.
5. **Chmýří:** Tělesné peří s pevnými dřívky.
6. **Plumule:** Malé prachové peří s měkkými dřívky.
7. **Peří:** Izolační podsada z lehkého peří bez dřívku, skládající se z tisíců měkkých vláken.

Peří tvoří asi 7-8 % hmotnosti ptáků a je navrženo pro průchod vzduchu a vody, zatímco prachové peří poskytuje lehkou izolaci. [23]

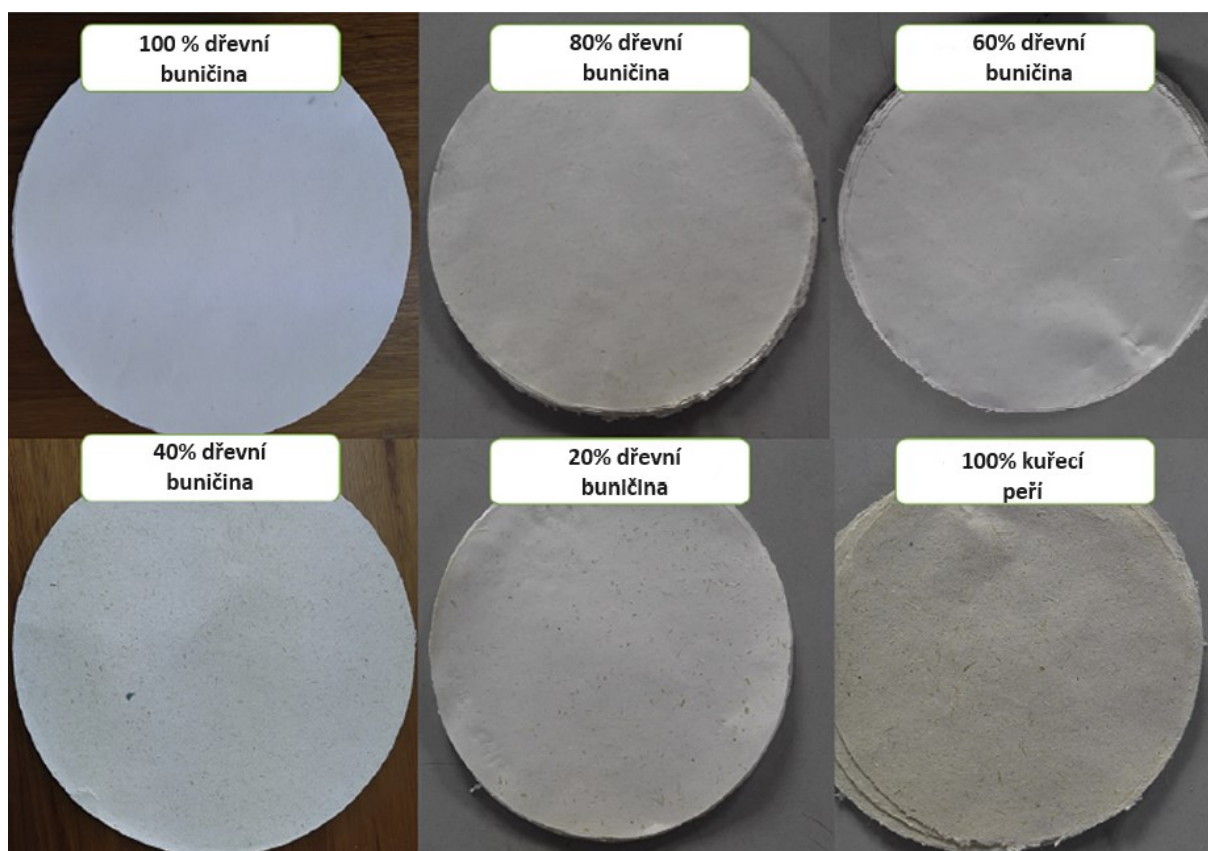
Pro využití peří jako krmiva je nutná jeho hydrolyzace kvůli složité keratinové struktuře, která by byla pro zvířata nestavitelná. Bakterie *Bacillus licheniformis* hraje klíčovou roli při fermentaci peří na stravitelný bílkovinný zdroj, zatímco enzym keratináza, který tato bakterie produkuje, umožňuje hydrolyzaci peří a dalších proteinů jako kolagen a elastin. Péřová moučka je cenným krmivem pro drůbež díky vysokému obsahu aminokyselin, jako jsou cystein, arginin a threonin. Přesto obsahuje méně lysinu, histidinu a methioninu, které by měly být přidány do stravy, když se používá jako krmivo. Doporučuje se dávka 0,5 % až 1,5 % hmotnosti krmiva. [10,23]

Peří tvoří významnou část těla drůbeže a každoročně vzniká ve velkém množství jako odpad v drůbežářských závodech, což představuje environmentální problém. Většinou se skládá z keratinových bílkovin a často se přeměňuje na péřovou moučku. Odpad z peří se dále zpracovává na hnojiva, podestýlkové materiály a dekorace. Existují biotechnologické metody, které umožňují přeměnu peří na stravitelné bílkoviny a aminokyseliny pomocí mikrobiálních enzymů. Z hydrolyzátů peří lze také vyrábět metan a palivové pelety pro vytápění nebo produkovat biovodík. [15]

Další zajímavé využití kuřecího peří bylo objeveno ve výrobě papíru, kde by tradičně bylo používáno dřevo. Studie pečlivě zkoumaly vliv kombinace peří a dřevní buničiny na vlastnosti papíru a porovnávaly je s papírem vyrobeným z čisté dřevní buničiny. Bylo zjištěno, že s

rostoucím podílem peří dochází k snížení některých mechanických vlastností, jako jsou těsnost, index tahu a index praskání, zatímco propustnost vzduchu se zlepšila.

Mezi vzorky kombinací kuřecího peří a dřevní buničiny nebyl zjištěn významný rozdíl v nasákavosti, ale při obsahu peří vyšším než 80 % se nasákavost snižovala. Tento jev naznačuje potenciální využití kuřecího peří v produktech vyžadujících odolnost proti vysoké vlhkosti, jako jsou obaly výrobků. Tato zjištění podporují myšlenku, že kuřecí peří by mohlo být udržitelnou alternativou k tradičním surovinám ve výrobě papíru, zvláště tam, kde jsou požadovány specifické vlastnosti produktu. [16]



Obrázek č. 3 Souhrn obrázků různých poměrů dřevěné buničiny a peří při výrobě papíru

4.1.5 Sádlo a lůj

Sádlo a potravinářský lůj jsou jedlé kafilerní produkty, zatímco průmyslové a krmné tuky pro zvířata patří mezi nejedlé. Jedlé tuky se vyrábějí kontinuálním procesem tavení, buď nízkoteplotním do 49 °C, které šetrně odděluje tuk od bílkovin udržujících potravinářskou

kvalitu, nebo vysokoteplotním při 82 až 100 °C, což zajišťuje efektivnější extrakci tuku, avšak s nižší kvalitou proteinů. Nízkoteplotní metoda je preferována pro získání jedlého proteinu. [9] Drůbeží tuk a lůj se v průmyslu používají jako doplňky do krmiv, zlepšující texturu a barvu, což zvyšuje jejich atraktivitu pro zvířata. Tučky jsou také využívány ve výživě atlantického lososa jako alternativní zdroj lipidů, což pomáhá diverzifikovat stravu ryb a zlepšovat jejich růst a zdravotní stav. [33] V biodieselovém průmyslu se odpadní lůj využívá jako udržitelný a ekonomický zdroj pro výrobu biodieselu, což snižuje environmentální dopad tím, že recykluje nevyužitý materiál a nabízí ekologicky šetrnější alternativu k fosilním palivům. [34]

4.1.6 Kostí

V průměru obsahují vepřová, hovězí a jehněčí těla 11 %, 15 % a 16 % kostí, což zahrnuje i maso na kostech. Kostní dřev (morek), který tvoří 4,0–6,0 % hmotnosti jatečně upraveného těla a je používán jako potrava. Kostí se využívají k výrobě polévky a želatiny. S cílem získat více masa, masný průmysl aplikuje techniky jako mechanická separace, kde maso smíchává v masných výrobcích nebo se používá samostatně. Vysoký podíl mechanicky odděleného masa však může snížit chuť a kvalitu produktů. Maso je tmavší a měkčí s vyšším obsahem vody, a proto se jeho podíl omezuje. V hamburgeru a mletém hovězím je doporučený obsah 5,0–20,0 % a v klobásách 10,0–40,0 %. Kostní mouka z kuřecích kostí, bohatá na vápník (18061,12 mg/100 g), je významná pro lidi v růstovém období, s nízkým obsahem tuku (13,79 %) a vysokou výtěžností (34,63 %). [9,25]

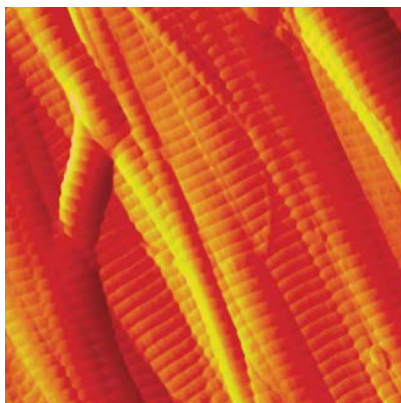
Kost je přírodní materiál, který se v tkáňovém inženýrství využívá pro jeho trojrozměrnou porézní strukturu, velký povrch, optické charakteristiky, biokompatibilitu a šetrnost k životnímu prostředí. Tyto atributy umožňují adhezi, proliferaci a diferenciaci buněk, což je klíčové pro tvorbu nové tkáně. Výzkumy ukazují, že kostí z kuřecích stehen jsou vhodné pro vývoj biomateriálů, díky svým optickým vlastnostem a schopnosti rozlišit demineralizační procesy. Tyto kostí jsou považovány za jednu z nejlepších možností mezi syntetickými biomateriály a mohou být efektivně využity při výrobě nových biomateriálů pro léčbu kostních onemocnění a podporu regenerace tkání. Toto využití kuřecích stehen v ortopedii a regenerativní medicíně představuje slibný směr ve vývoji nových léčebných metod. [35]

5 Kolagen

Kolagen, je nejhojnější bílkovinou v těle zvířat, má zásadní význam pro zdraví a funkčnost našeho organismu. Ačkoliv byl jeho význam znám již dlouho před jeho formálním objevením, první odborné zmínky o kolagenu jako o specifické bílkovině pocházejí z 19. století.

Pojem kolagen zahrnuje skupinu nerozpustných vláknitých proteinů (Obrázek č. 4), které mají v těle různorodé funkce. Hlavním úkolem kolagenů je udržovat buňky pohromadě v orgánech a zároveň udržet tyto orgány na svém anatomicky správném místě. Tento protein tvoří přibližně čtvrtinu sušiny našeho těla a až 75 % sušiny pojivové tkáně, což zdůrazňuje jeho zásadní roli v lidském organismu.

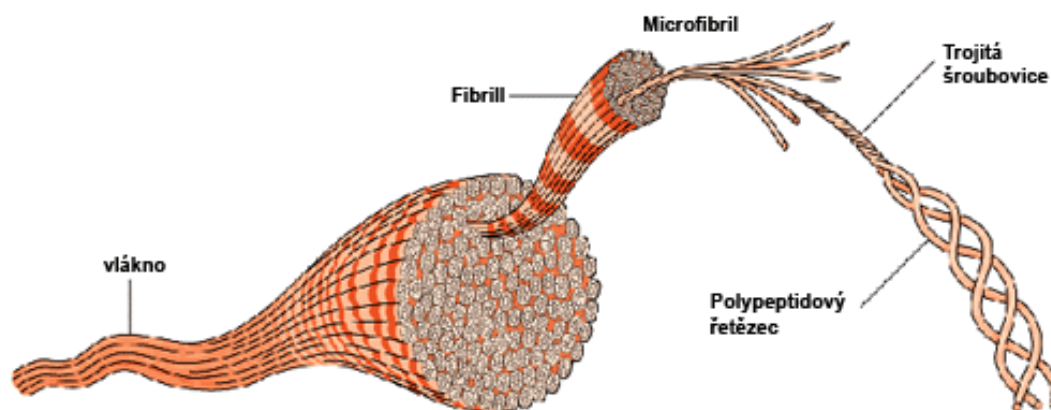
Kolagen funguje jako živý rám, který poskytuje strukturální oporu tkáním v různých orgánech, včetně kůže, kostí, vazů, ledvin, cév, srdce, očí nebo jater. Jeho schopnost přizpůsobit se požadavkům různých orgánů je klíčová pro udržení jejich struktury a funkce, což činí kolagen jednou z nejdůležitějších bílkovin v našem těle. Tato poznatková báze kolem kolagenu umožňuje lépe chápat jeho biologickou a terapeutickou hodnotu v medicíně a farmacii. [28]



Obrázek č. 4 Lineární vláknité struktury

5.1.1 Složení kolagenu

Kolagen, jako protein s modulární strukturou, tvoří klíčovou součást extracelulární matrix živočichů. Tato struktura umožňuje kolagenu vytvářet různorodé struktury, jako jsou fibrily, mikrofibrily a sítě, které fungují jako lešení pro připojení dalších makromolekulárních komplexů, proteoglykanů a receptorů buněčného povrchu.



Obrázek č. 5: Struktura kolagenního vlákna

Kolagen, stejně jako všechny proteiny, má několik strukturních úrovní: primární, sekundární, terciární a kvartérní strukturu. Kvartérní struktura kolagenu je podobná jiným komplexním oligomerním proteinům, které jsou charakteristické tím, že obsahují více polypeptidových řetězců nebo podjednotek. [29]

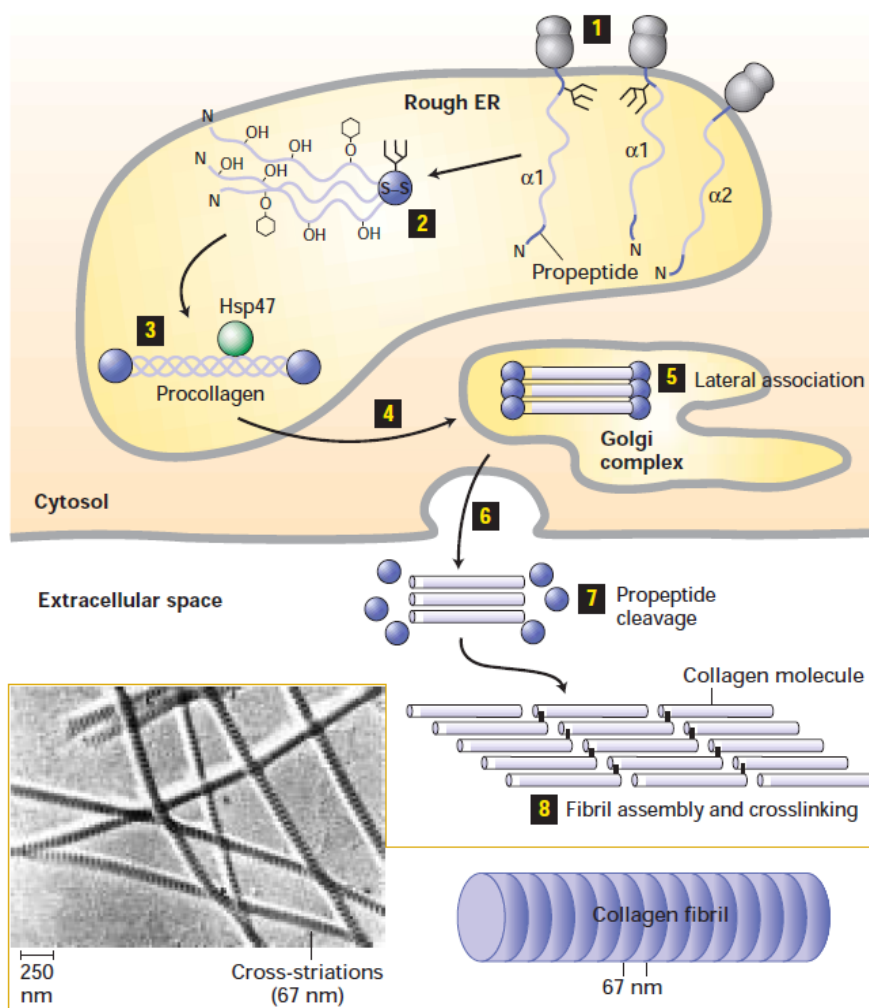
Proces tvorby kolagenu začíná syntézou α -řetězců, které jsou produkovány jako delší prekurzory nazývané pro α -řetězce. Tyto jsou syntetizovány polyribozomy připojenými k endoplazmatickému retikulu (ER). Následně α -řetězce procházejí řadou kovalentních modifikací a jsou stáčeny do trojšroubovicových molekul prokolagenu předtím, než jsou uvolněny z buněk. Tento složitý proces reflektuje sofistikovanost a důležitost kolagenu v biologických strukturách a funkčnosti organismů.

Složené prokolageny jsou transportovány do Golgiho aparátu, kde dochází k jejich laterální asociaci do malých svazků. Poté jsou řetězce sekretovány do extracelulárního prostoru. Po sekreci prokolagenu z buňky dochází k odstranění N-terminálních a C-terminálních propeptidů, což jsou nekolagenní části, pomocí extracelulárních peptidáz. Trimery jsou poté spojeny do fibril a kovalentně zesíťovány. Tento proces vytváří molekuly, které se téměř výhradně skládají z trojvláknových šroubovic, a ty se pak laterálně spojují, formující fibrily o průměru 50–200 nm. V těchto fibrilách jsou sousední molekuly kolagenu vzájemně posunuty o 67 nm, což

odpovídá přibližně jedné čtvrtině jejich délky, což vede k vytvoření charakteristického pruhovaného efektu, viditelného na elektronových mikrosnímčích kolagenových fibril (Obrázek č. 6). Jedinečné vlastnosti vláknitých kolagenů (např. typy I, II, III) jsou způsobeny především tvorbou fibril.

Tento komplex tří polypeptidových řetězců se nazývá tropokolagen. Každé z těchto tří vláken v tropokolagenu tvoří vodíkové vazby mezi NH skupinami glycinu a CO skupinami z jiného vlákna, čímž zvyšuje stabilitu struktury. Tato stabilita je dále posilněna vzájemným zapadnutím molekul prolinu a hydroxyprolinu (efekt zámku) a tvorbou vodíkových vazeb s účastí hydroxylových skupin hydroxylysinu.

V posledních letech byl dosažen značný pokrok v objasňování struktury kolagenových trojšroubovic a fyzikálně-chemického základu jejich stability, což má významné implikace pro biomedicínské aplikace a další využití v praxi. [29,30,32]



Obrázek č. 6: Biosyntéza kolagenního vlákna (Převzato: HARVEY L. et al)

5.1.2 Využití kolagenu

Místo toho, aby byly vedlejší produkty živočišného původu využívány pouze jako odpad, existují metody, které umožňují přeměnit tyto biologické složky na produkty s přidanou hodnotou. Tento přístup otevírá nové možnosti pro zpracování odpadů. Například, intenzivní výzkumy se zaměřují na využití těchto odpadů jako zdroje bílkovinných hydrolyzátů, enzymů a polynenasycených mastných kyselin.

Vzhledem k tomu, že živočišné odpady obsahují biologicky odbouratelné sloučeniny jako uhlík, dusík, vodík, kyslík a síru, je možné tyto sloučeniny regenerovat a efektivně využívat v různých průmyslových odvětvích, což současně přispívá ke snížení objemu původního odpadu. Vědecké studie zaměřené na kuřecí a jiné vedlejší produkty živočišného původu zkoumají možnosti extrakce, izolace a využití biomolekul, které jsou v těchto produktech obsaženy.

Zvláště různé drůbeží vedlejší produkty jsou známé svým bohatým obsahem biomolekul, jako jsou proteiny, enzymy a lipidy. Tyto biomolekuly lze získat a zpracovat do forem, které nacházejí uplatnění v mikrobiologii, medicíně, biopolymerech, farmacii, lidské výživě a kosmetice. Experimenty zaměřené na zkoumání vhodnosti různých drůbežích vedlejších produktů pro výrobu specifických produktů s přidanou hodnotou, jako jsou proteinové hydrolyzáty, enzymy a polynenasycené mastné kyseliny, ukazují potenciál těchto materiálů v praxi. [10,23]

5.1.3 Inovativní aplikace kolagenu

Kolagen nachází široké uplatnění v kosmetice, zejména ve formě hydrolyzátu, který je využíván v gelových přípravcích. Konkrétně se využívá gel s karbopolem, obohacený o 1,0 % (w/w) kuřecího hydrolyzátu, a studuje se jeho vliv na vlastnosti kůže. V rámci klinických testů byly měřeny parametry jako hydratace kůže, transepidermální ztráta vody (TEWL), elasticita kůže a reliéf kůže.

Výsledky ukázaly, že aplikace tohoto gelu vedla ke zvýšení hydratace pokožky o 11,82 % a k poklesu TEWL o 25,70 %. Celkově bylo zaznamenáno zlepšení elasticity kůže a snížení její drsnosti. Průměrné snížení vrásek bylo 35,40 %. Výsledky také naznačují, že čím delší je doba aplikace gelu, tím lepší jsou pozorované efekty.

Tento pozitivní vliv na kvalitu a funkčnost pokožky naznačuje možnost aplikace tohoto kosmetického gelového přípravku v periorbitální oblasti, což jsou oblasti kolem očí, kde je kůže

zvláště citlivá a náchylná k projevům stárnutí. Použití kolagenového hydrolyzátu v této formě může poskytnout významné výhody pro udržení mladistvého vzhledu a zdraví kůže. [36]

Další významné uplatnění kolagenu lze nalézt v oblasti tkáňového inženýrství, kde byl využit kolagen extrahovaný z kachních běháků. Byly připraveny kolagenové/hedvábné scaffoldy („lešení“ – podpůrná konstrukce pro růst a formování buněk) s cílem upravit rychlost degradace kolagenu. Tento přístup zajišťuje biokompatibilitu kolagenu, který se svými vlastnostmi podobá komerčně využívanému kolagenu z prasat. Z ekonomického hlediska je kolagen z kachních nohou přijatelný a stává se tak vhodným kandidátem pro využití v tkáňovém inženýrství.

Přidání hedvábí do výroby hybridních scaffoldů, může významně zlepšit biostabilitu těchto scaffoldů. Bylo zjištěno, že kolagenové/hedvábné scaffoldy zvyšují životaschopnost buněk ve srovnání s použitím čistého hedvábí. Zvířecí studie rovněž prokázaly, že tyto hybridní scaffoldy jsou biokompatibilnější než čisté hedvábí a biostabilnější než samotný kolagen či kolagen z prasat.

Výsledky dále odhalily, že hybridní scaffold má vysokou pórovitost, což umožňuje efektivní infiltraci a proliferaci buněk. Tato vlastnost předurčuje hybridní scaffold jako potenciálně vhodnou kožní náhradu pro léčbu defektů kůže, což otevírá nové možnosti pro klinické aplikace v oblasti regenerativní medicíny a plastické chirurgie. [37]

Dalším zajímavé uplatnění nachází kolagen jako tzv. zkřížený kolagen, který je jedním z nejužitečnějších biopolymerů díky své nízké imunogenitě a vysoké biokompatibilitě.

Molekuly kolagenu, které jsou biologicky odbouratelné a slabě antigenní, mají schopnost formovat unikátní fibrilární struktury. Přesto se v důsledku strukturálního poškození během extrakce zhoršují mechanické vlastnosti a stabilita extrahovaného kolagenu ve srovnání s jeho přirozeným stavem, což významně omezuje jeho využití v biotechnologických aplikacích.

Zmíněná omezení biomedicínského potenciálu přírodního kolagenu, jako jsou nízká mechanická pevnost, tepelná stabilita a odolnost vůči enzymům, vedla vědce k inovacím. Tyto inovace zahrnují modifikace molekulární struktury kolagenu, včetně zavedení exogenních chemických, fyzikálních nebo biologických příčných vazeb, které minimalizují degradaci a zvyšují mechanickou stabilitu. Tato metoda zabraňuje posouvání molekul kolagenu navzájem, což vede ke zvýšení mechanické pevnosti kolagenových vláken.

I přesto, že zesíťované materiály na bázi kolagenu jsou v biomedicině běžně používány, stále neexistuje standardní protokol pro zesíťování, který by dosáhl ideální rovnováhy mezi stabilitou a funkční rekonstrukcí kolagenu. Výsledné biomateriály na bázi kolagenu mají výrazně lepší tuhost, pevnost v tahu, modul pružnosti a sníženou roztažnost. Navíc, zvýšené množství mezimolekulárních příčných vazeb mezi trojšroubovicovými strukturami kolagenu omezuje pohyblivost jeho alfa-řetězců a brání rozvolnění mikrofibrilárního uspořádání způsobeného ohřevem.

Tato strategie modulace zesíťování v kolagenových maticích se používá v experimentální regenerativní medicíně pro podporu regenerace a opravy nemocných nebo poškozených orgánů. Kolagen modifikovaný tímto způsobem nachází uplatnění v různých lékařských procedurách, včetně oprav kýly, kožních ran, šlach, operací břišní stěny, léčby onemocnění rohovky a kardiovaskulárních onemocnění. [38]

5.1.4 Typy kolagenu

Trimerizace je zásadní krok pro všechny typy kolagenu, spočívající ve spojení alfa-řetězců do trojitých helikálních protomerů, které se následně vyvíjejí v komplexnější struktury. Alfa-řetězce kolagenu, rozdělené do 28 typů, jsou klasifikovány podle své strukturní architektury a funkce. Každý typ kolagenu se mírně liší ve struktuře molekuly, což je dáno drobnými variacemi v sekvenci aminokyselin. Tyto typy kolagenů jsou klasifikovány na základě jejich strukturní architektury do skupin jako jsou fibrilotvorné, síťotvorné a transmembránové kolageny.

Tento proces začíná trimerizací, tedy spojením tří specifických alfa-řetězců, které se proplétají a formují trojité helikální protomery. Tyto protomery mohou být homotrimery nebo heterotrimery, obsahující kolagenní domény různé délky a nekolagenní části na obou koncích, což jsou N-NC a C-NC domény. Po vytvoření těchto specifických protomerů dochází k jejich spojení do rozmanitých struktur, které zahrnují spojení na koncích molekuly, laterální asociaci a navíjení šroubovic.

Síťotvorné kolageny, jako jsou typy IV, VIII a X, se liší od fibrilotvorných kolagenů tím, že jejich C-NC části zůstávají zachovány ve struktuře. K dispozici jsou i krystalové struktury těchto C-NC nekolagenních částí, což poskytuje důležité informace o mechanismech, které řídí selekci řetězců. [30,32]

5.1.4.1 Typ I

Kolagen typu I je základní složkou strukturální integrity kůže, šlach, zubů a reprodukčních orgánů a hraje klíčovou roli v podpoře kostní tvorby. Kostí a zuby mají vysoký obsah minerálu dahlitu, což jim dodává pevnost, a obsahují asi 70% minerálů a 30% bílkovin, převážně kolagenu typu I. Tento kolagen se také vyskytuje v tukové tkáni, vazivových chrupavkách, Bowmannově membráně rohovky a cévních stěnách, což ukazuje jeho široké využití v těle.

Díky biomechanickým vlastnostem se kolagen typu I používá v průmyslu, například pro výrobu chirurgických nití, kolagenových membrán a antistárnoucích kosmetických přípravků. Je běžně součástí výživových doplňků a tvoří vlákna, která mohou být viditelná pouhým okem. Tato rozmanitost funkcí a využití podtrhuje jeho význam jako nejpoužívanějšího typu kolagenu v lidském těle. [32,33]

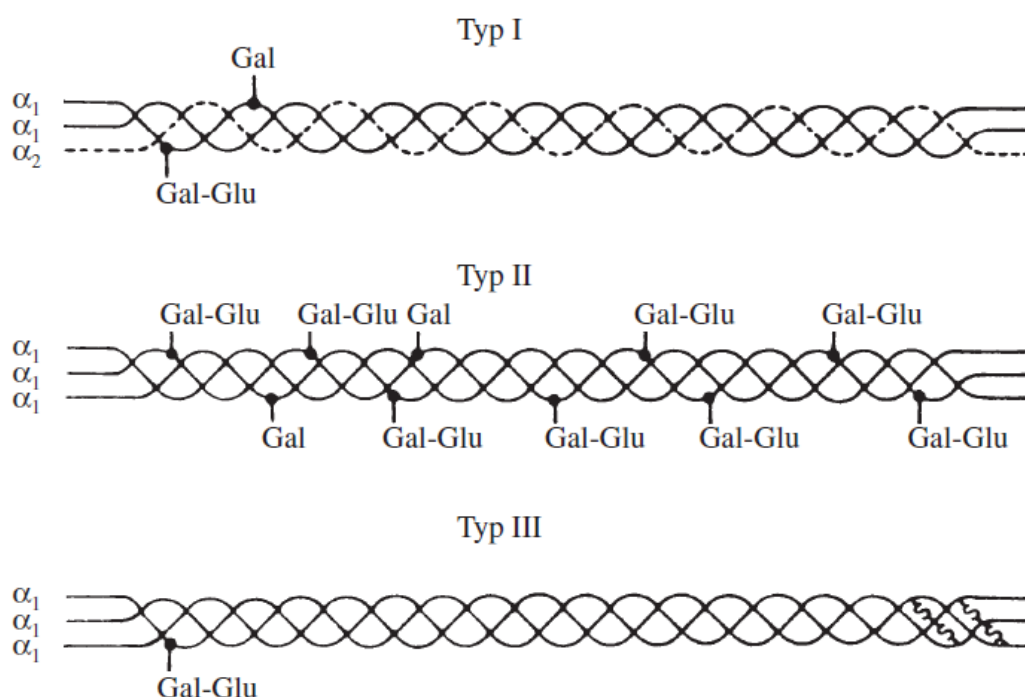
5.1.4.2 Typ II

Fibrily kolagenu typu II, přítomné v hyalinní a elastické chrupavce, jsou menší a mají průměr kolem 20 nm, což je méně než fibrily typu I. Tyto fibrily jsou náhodně orientovány ve viskózní proteoglykanové matici, a na rozdíl od typu I neagregují do větších vláken. Tato unikátní struktura umožňuje chrupavce odolávat velkým deformacím a zároveň poskytuje pevnost a pružnost, což je klíčové pro funkčnost kloubů. Fibrily typu II jsou propojeny s proteoglykany prostřednictvím kolagenu typu IX, což vede k výjimečným mechanickým vlastnostem chrupavky, umožňující kloubům efektivně absorbovat nárazy a chránit kosti před poškozením. Tato synergie kolagenů a proteoglykanů klíčově přispívá k celkové integritě a funkcionalitě chrupavčité tkáně. [31,32]

5.1.4.3 Typ III

Kolagen typu III, dříve známý jako retikulín, se skládá ze tří alfa-1(III) řetězců a je významný pro svůj vyšší obsah hydroxyprolinu a cysteinu. Tento typ kolagenu, tvořící fibrily o délce přibližně 45 nm, je stabilizován kovalentními disulfidickými vazbami, které podporují integritu kolagenové sítě v tkáních. Je zásadní během embryonálního vývoje a vyskytuje se v elastických tkáních, retikulárních vláknech bazálních membrán a intersticiálních tkáních orgánů jako plíce, játra a kůže. V dospělosti je tento kolagen přítomen v retikulárních vláknech a bazálních laminách membrán, často ve smíšených vláknech s kolagenem typu I. Kolagen typu III je izolován buď ve větším množství pomocí enzymatického rozkladu pepsinem, nebo v menším

množství z embryonální tkáně, což umožňuje jeho široké využití v biomedicínských a průmyslových aplikacích. [31, 33]



Obrázek č. 7 Schéma tří typů kolagenu

5.1.4.4 Typ IV

Kolagen typu IV je zásadní složkou bazální laminy v extracelulární matrix různých tkání. Na rozdíl od jiných typů kolagenu, které formují fibrily nebo vlákna, kolagen typu IV tvoří trimerní molekuly s tyčinkovitými i globulárními částmi, vytvářející pevnou a flexibilní dvourozměrnou síť. Tato síť slouží jako strukturální opora a filtr pro epitelové a endotelové buňky, a je nezbytná pro správnou funkci tkání. Nedostatek nebo dysfunkce kolagenu typu IV může způsobit vážné poškození svalových vláken a vést k zdravotním komplikacím, včetně některých forem dědičných nefritických syndromů, které ovlivňují ledvinovou filtraci. [31,32]

5.1.4.5 Typ V

Kolagen typu V, který je úzce spřízněný s kolagenem typu IV, se vyskytuje hlavně v zevních laminách svalových elementů, gliových buněk a adipocytů. Tento typ kolagenu je důležitý pro strukturální integritu a správnou funkci těchto buněčných komponent, což naznačuje jeho klíčovou roli v podpůrných strukturách různých tkání. Jeho přítomnost v těchto specifických

oblastech napomáhá udržovat celistvost a mechanickou pevnost tkání, což je nezbytné pro jejich správnou funkci a obnovu. [33]

5.2 Želatina

Želatina je polypeptid získaný hydrolyzou kolagenu. V průměru asi 30 % z celkového množství bílkovin v živočišných tkáních tvoří kolagen, který se rozkládá na kůži, kostech, pojivové tkáni, šlachách a dalších orgánech. Želatina je čistá, lehce stravitelná bílkovina s nízkou kalorickou hodnotou (17 kJ/g nebo 4 kcal/g), skládající se z 18 aminokyselin s vysokou molekulovou hmotností. Přibližně 88 % želatiny tvoří bílkoviny, zatímco zbývající část tvoří voda, 1-2 % soli, popel, lipidy a sacharidy. V sušině obsahuje želatina přibližně 98-99 % bílkovin. Želatina může ve svých gelových strukturách zadržet více než padesátinásobek své hmotnosti. [40]

Tabulka 5: Procentuální podíl jednotlivých aminokyselin obsažených v želatině

Aminokyseliny (* esenciální)	g aminokyseliny ve 100g želatiny
Glycin	22,3
Prolin	13,6
Hydroxyprolin	11,4
Kyselina glutamová	9,6
Alanin	9,1
Arginin *	7,7
Kyselina asparagová	5,7
Lysin*	3,5
Serin	3,5
Leucin*	2,8
Valin*	2,4
Fenylalanin*	2,2
Threonin*	1,9
Isoleucin*	1,2
Histidin*	0,9
Hydroxylisin	0,9

Methionin*	0,8
Tyrosin*	0,5

5.2.1.1 Vlastnosti želatiny

Želatina, jako vysokomolekulární polypeptid, vykazuje řadu vynikajících fyzikálních a chemických vlastností, včetně hydrofility, schopnosti želatinizace a povrchové aktivity, což ji činí velmi užitečnou ve více průmyslových odvětvích, jako je potravinářství, medicína, kosmetika, biopolymery a fotosenzitivní materiály. Od ostatních hydrokoloidů se liší tím, že většina z nich jsou polysacharidy, zatímco želatina je stravitelná bílkovina obsahující všechny esenciální aminokyseliny kromě tryptofanu. [41]

V potravinářském průmyslu se želatina používá jako potravinářská přísada a složka funkčních potravin. Hraje klíčovou roli díky svým želírovacím a zahušťovacím schopnostem, které jsou zásadní pro texturu a funkčnost různých výrobků. Je zásadní pro výrobu masných produktů, jelikož pomáhá zadržovat vodu a poskytuje strukturu, která je nezbytná pro uchování tvaru a optimalizaci tepelného zpracování. Nicméně, termoreverzibilita želatiny, tj. schopnost gelu rozpustit se při vyšší teplotě a znovu ztuhnout při ochlazení, může být výzvou v některých aplikacích, protože stabilita želatinového gelu může být během tepelného zpracování potravin snadno ovlivněna. [39]

5.2.1.2 Příprava želatiny

Želatina je v podstatě čistě bílkovinná složka potravin, která se získává tepelnou denaturací kolagenu, který je strukturním základem a nejběžnější bílkovinou v živočišné říši. Většina želatiny se vyrábí z vepřové kůže (41 %), hovězí kůže (28,5 %) a hovězích kostí (29,5 %) a pouze asi 1 % pochází z jiných zdrojů. Želatina je ve vodě rozpustná bílkovinná látka připravená procesy, které zahrnují destrukci terciární, sekundární a do určité míry primární struktury nativních kolagenů, konkrétně částečnou hydrolyzou kolagenu získaného z kůže, bílého vaziva, kostí zvířat a dalších zdrojů. Existují dvě základní metody výroby želatiny, které vedou k rozdělení na želatinu typu A a typu B. Želatina typu A je extrahována z živočišných surovin pomocí kyseliny, zatímco želatina typu B je získána alkálií. [40] V případě želatiny typu A se surovina upravuje 18–30 h v kyselém prostředí při pH 1,5–3,0; tento postup je vhodný pro

prasečí kůže. U želatiny typu B se surovina zpracovává v alkalickém prostředí při pH 12,0 po dobu několika týdnů až měsíců; tento postup se používá hlavně u hovězích kůží. [42]

5.2.1.2.1 Alternativní zdroje želatiny

Želatina je důležitý funkční biopolymer, který se hojně používá v potravinách ke zlepšení pružnosti, konzistence a stability. Lze ji získat nejen z kůže a kostí suchozemských živočichů, ale také z ryb a hmyzu. Želatina získaná z prasat je bohužel muslimskými a židovskými komunitami zakázána. Zatímco želatina z hovězího dobytka je nepřijatelná pro některé hinduistické společnosti. Kromě toho výskyt prasečí chřipky, šílených krav nebo bovinní spongiformní encefalopatie (BSE), stále více vybízí k hledání nových alternativních zdrojů pro výrobu želatiny. [40,41]

V posledních letech poskytují želatiny z ryb, drůbeže a jedlého hmyzu alternativní zdroj, který je přijatelný pro halal (muslimské) a košer (židovské) výrobky. [41] Nejvíce slibné a potenciálně významné zdroje želatiny pocházejí z rybího odpadu nebo vedlejších produktů zpracování ryb. Dokonce v segmentech, které se fokusují na zpracování pouze jednoho druhu mohou vedlejší produkty (nebo odpad) dosahovat přibližně 75 % z celkové hmotnosti ryb. Odhaduje se také, že ročně se vyprodukuje téměř 7,3 milionu tun vedlejších produktů z ryb. Mnoho výzkumů ukazuje, že želatina extrahovaná z těchto zdrojů může být vynikající alternativou k tradiční želatině získávané z hovězího a vepřového kolagenu.

Využití rybího odpadu a vedlejších produktů pro výrobu želatiny nabízí několik významných výhod. Mimo poskytování alternativního zdroje želatiny, tento přístup také přispívá k minimalizaci odpadu a snižování znečištění životního prostředí. Navíc, zvýšení přidané hodnoty a diverzifikace produktů, které z toho vyplývají, mohou vést k významným ekonomickým a environmentálním přínosům. [40]

Dalším zajímavým zdrojem želatiny je hmyzí želatina, která může nabídnout alternativu přijatelnou pro muslimské spotřebitele. V Súdánu je konzumace jedlého hmyzu běžná, přičemž saranče pouštní a ploštice melounová jsou považovány za významné zdroje potravy v mnoha regionech země. Zajímavostí je, že v některých oblastech Súdánu se z těchto hmyzů extrahuje olej, který se používá jak pro vaření, tak pro léčebné účely. Tento olej, bez fenolických sloučenin, vykazuje vysokou antibakteriální aktivitu. Kromě toho, protein získaný z těchto brouků obsahuje 16 známých aminokyselin, včetně všech esenciálních aminokyselin, což ho

činí středním zdrojem kvality podle standardů FAO/WHO, zejména kvůli obsahu esenciálních aminokyselin. Tento přístup nabízí potenciální využití v potravinářském průmyslu, kde hmyzí protein může sloužit jako cenný zdroj živin. [41]

V neposlední řadě drůbeží želatina představuje významný alternativním zdroj, kde se ročně vyprodukuje jen v Evropské unii (EU) asi pět tisíc tun tkání z drůbežích vedlejších produktů. Tato tkáň je bohatá na kolagen, což ji činí ideální surovinou pro výrobu želatiny, která čelí rostoucí poptávce. Prognózy odhadují celosvětovou poptávku na želatinu na přibližně 580 000 tun v roce 2024. V rámci Spojených států americký drůbeží průmysl vyprodukoval v roce 2016 živou hmotnost drůbeže 28,4 milionů tun, z čehož největší podíl tvořilo kuře s 24,9 miliony tun. Drůbeží maso tvoří 5,5 % celkové zemědělské produkce a 12,7 % produkce masa v Evropské unii, přičemž v roce 2014 bylo v EU vyprodukováno 13 milionů tun drůbežního masa, z toho 78 % připadalo na kuřecí maso. Tato data poukazují na obrovský potenciál drůbežích vedlejších produktů jako surovin pro produkci želatiny, což může přispět k diverzifikaci a udržitelnosti zpracovatelského průmyslu. [42]

Všechny techniky přípravy drůbeží želatiny jsou založeny na kyselém nebo alkalickém zpracování suroviny, přičemž alternativní metodou je enzymatické zpracování. Tato metoda, ačkoliv je zmíněna jen okrajově v literatuře, nabízí řadu výhod, včetně mírných reakčních podmínek ohledně teploty a pH, a také nízké dávky používaných enzymů. Želatina připravená z drůbežích běháků či žaludků přináší ekonomické, technologické a ekologické benefity. Díky těmto technologickým podmínkám lze připravit želatiny, které jsou konkurenceschopné s komerčně vyráběnými želatinami a zároveň splňují potravinářské a farmaceutické standardy.

Kuřecí želatiny, které splňují požadavky halal a košer, mohou nabídnout alternativu k hovězí, vepřové a rybí želatině. Tyto želatiny se díky svým vynikajícím vlastnostem hodí pro široké spektrum potravinářských aplikací, včetně cukráren, sladkých dezertů, mléčných výrobků či masných produktů. V farmaceutickém průmyslu najdou uplatnění při výrobě tvrdých (HGC) a měkkých želatinových kapslí (SGC), stejně jako v biomedicíně, kde se používají na výrobu hydrogelů, membrán, nosičů a filmů. Tento přístup umožňuje nejen efektivnější využití drůbežích vedlejších produktů, ale také podporuje udržitelnost a inovace v rámci průmyslových aplikací. [42]

5.2.1.3 Aplikace želatiny

Schopnost kolagenu tvořit želé, známou lidstvu již po staletí. První zprávy o procesu vaření kostí na želírující hmotu podal v roce 1682 Francouz Papin. Pojem želatina se začal používat okolo roku 1700. V současnosti se želatina využívá v mnoha oblastech díky svým jedinečným fyzikálním vlastnostem. Jako stabilizátor, zahušťovadlo, emulgátor, pěnidlo a lepidlo má želatina široké využití v potravinářském průmyslu. Ve farmaceutice a kosmetice se uplatňuje při výrobě měkkých a tvrdých kapslí, jako pojivo pro tabletování účinných látek nebo při mikroenkapsulaci. Želatina také nachází uplatnění ve fotoprůmyslu a dokonce i v metalurgii, kde se používá v elektrolytech. Tato široká škála aplikací podtrhuje význam želatiny jako biologicky odbouratelného materiálu s mnohostranným využitím. [40]

5.2.1.4 Inovativní aplikace želatiny

Jednou z inovativních metod je výroba jedlého kompozitního filmu z želatiny, získané z kuřecích kůží, což je vedlejší odpad drůbeže, s přídavkem rýžové mouky. Tento alternativní materiál má potenciál nahradit mnoho potravinářských obalů, které jsou vyrobeny z petrochemických a biologicky nerozložitelných materiálů. Výroba těchto tradičních obalů vede ke generování nadměrného odpadu a znečištění životního prostředí, což vyvolává vážné ekologické problémy. Přídavek rýžové mouky do kompozitu zvyšuje propustnost pro vodní páru a snižuje rozpustnost filmu, což zlepšuje jeho funkční vlastnosti.

Navíc, tento film nabízí sníženou propustnost ultrafialového a viditelného světla, čímž zvyšuje jeho průhlednost a činí ho hladším a méně porézním. Rentgenová difrakční analýza (XRD) potvrdila zlepšenou krystalickou strukturu filmů. Díky těmto jedinečným vlastnostem mají želatinové fólie velký potenciál pro komerční využití, zejména jako obaly pro potraviny. Tyto fólie lze aplikovat buď přímo, nebo nepřímo na povrch potravin, kde chrání před růstem mikroorganismů, solnou rzí, zneužitím při manipulaci, přenosem vody, ztrátou vlhkosti a adsorpcí oleje při smažení. [43]

Další využití želatiny je možné nalézt v oboru tkáňového inženýrství, který představuje interdisciplinární pole zahrnující technologie z biologie, chemie, medicíny, farmacie a materiálové vědy. Tento obor přináší inovace v oblasti náhrady a regenerace lidských tkání a orgánů. V USA, podle nedávných údajů, je na seznamu čekatelů na transplantaci orgánů více než 107 000 lidí, přičemž denně zemře přibližně 17 z nich. V Evropě je situace podobně

naléhavá, s každou hodinou přibývá šest pacientů na čekací listiny a s odhadovaným počtem 18 úmrtí denně.

Tento interdisciplinární obor tkáňového inženýrství nabízí alternativní řešení zdravotních problémů spojených se selháním orgánů a tkání. Hlavním cílem je navrhování, vývoj a optimalizace trojrozměrných (3D) scaffoldů, které slouží k opravě, hojení a regeneraci poškozených tkání. Tato oblast se rychle rozvíjí díky pokrokům v technologiích jako je 3D bioprinting, který umožňuje vytvářet scaffoldy integrované s různými kompozitními materiály, včetně biologických látek a buněk, což zvyšuje jejich funkčnost a účinnost. Tato technologie připravila půdu pro novou inovaci známý jako je 4D bioprinting, který přidává schopnost tištěných struktur dynamicky reagovat na změny v prostředí, jako jsou pH nebo teplota. Tato metoda představuje velký krok vpřed, protože umožňuje vytvářet struktury, které lépe napodobují přirozenou tkáň a mohou se adaptovat na změny v těle, což je klíčové pro jejich efektivní integraci a funkčnost v biomedicínských aplikacích

Tento průlom v technologii 3D a 4D bioprintingů představuje významný krok vpřed nejen v praktičnosti a nákladové efektivitě výrobního procesu, ale také při přechodu do klinické aplikace těchto inovativních metod. Želatina, využívaná jako základní komponent v těchto bioprintingových technologiích, ukazuje velký potenciál jako jeden z klíčových biomateriálů pro budoucí směry v biomedicíně. Důraz může být kladen nejen na léčbu, ale i na detekci a diagnostiku nemocí, což by umožnilo včasné rozpoznání a efektivnější léčebné postupy. Tento přístup přináší naděje pro zlepšení kvality života pacientů s různými onemocněními [44]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 Cíle práce

Komerční zdroje pro výrobu želatin tradičně zahrnují hovězí a vepřové kosti a kůže. Běžně se rozlišují dvě základní metody extrakce, a to produkce želatiny typu A, získávané acidifikací, a želatiny typu B, která je extrahována alkalickou metodou. Tyto procesy se realizují při extrémních pH hodnotách. V poslední době narůstá zájem o alternativní zdroje želatin, například z drůbežích nebo rybích vedlejších produktů, přičemž drůbeží želatina se ukazuje jako významný alternativní zdroj. Drůbeží želatina představuje významným alternativním zdroj, kde se ročně vyprodukuje jen v Evropské unii (EU) přibližně 5 tisíc tun tkání z drůbežích vedlejších produktů. [42]

Pro experimentální část této práce jsem si vybral kachní žaludky, které se od běžnějších drůbežích žaludků liší tmavší barvou a vyšším obsahem tuku. Na rozdíl od tradičních acidických nebo alkalických metod byl zvolen ekologičtější a šetrnější způsob ošetření suroviny pomocí proteolytického enzymu Protamex, což představuje klíčovou inovaci této práce.

Cílem této diplomové práce je rozvíjet a optimalizovat metody získávání a hydrolyzace kolagenu z kachních žaludků za účelem produkce želatin a hydrolyzátů. Experimentálně se zaměřuji na přípravu kolagenu z kachních žaludků, které jsou v první fázi ošetřeny proteolytickým enzymem. Jde o klíčovou součást práce, protože nezahrnují tradiční kyselinové či zásadité hydrolyzační procesy, ale místo toho využívají mírné reakční podmínky s kondicionáním suroviny za chladné teploty a stálého pH. V experimentech budu zkoumat různé koncentrace enzymu a teploty při extrakci želatiny, přičemž vlastnosti všech želatinových gelů budou důkladně testovány.

Záměrem mé práce je ověřit, zda je možné z méně tradičních kachních žaludků vyrobit kolagen a následné želatiny s vlastnostmi srovnatelnými s komerčně vyráběnými želatinami, a stanovit optimální podmínky pro jejich přípravu. Tato experimentální studie má potenciál navrhnout optimální podmínky pro výrobu želatin, přičemž výsledky by mohly rozšířit možnosti využití drůbežích vedlejších produktů v průmyslu.

7 Materiál a metody

7.1 Vstupní surovina

Výchozí surovinou byly kachní žaludky od společnosti Vodňanské kuře. Od porážky zvířete ke mně to trvalo 2 dny. Přeprava suroviny probíhala v chladících boxech, aby se zachovala její teplota a čerstvost. Surovina byla očištěna od zbytkových tkání a následně namleta na velikost 3 mm, což je velikost ledviny. Byla provedena analýza vstupní suroviny a její hodnoty jsou v Tabulce č.6.

Tabulka 6: Složení vstupní suroviny (v sušině)

Obsah sušiny (%)	Obsah tuku (%)	Obsah popela (%)	Obsah bílkovin (%)	Obsah kolagenu (%)
22,91	14,38	3,24	80,38	32,48



Obrázek č. 8: Syrová vstupní surovina – kachní žaludky

7.2 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Analytická váhy M254A, Předvážky KERN 440-33, Třepačka digitální IKA-HS 501, Teplotní čidlo, Topná deska CERAN 93020, Topné hnízdo LTHS 1000, Topná deska s tepelným čidlem IKA C-MAG HS7, Míchačka magnetická 2002 LED IDL, Termostat oběhový C10-P5U, Termostat BSK ET618 180 l, Mixer Tefal BL 435831, Sušárna Venticell, Sušárna Memmert ULP 400, Sušárna Binder E28-TB1, Muflová pec Labotherm L9/11, Analyzátor LFRA Texture 1000, Chladnička Elektrolux ERF 250 4 AOW, Mrazák Zanusi, Šlehač IKA T 25 digital Ultra-Turrax, Varovna deska s termostatem a magnetickým míchadlem Schott a IKA C MAG HS7,

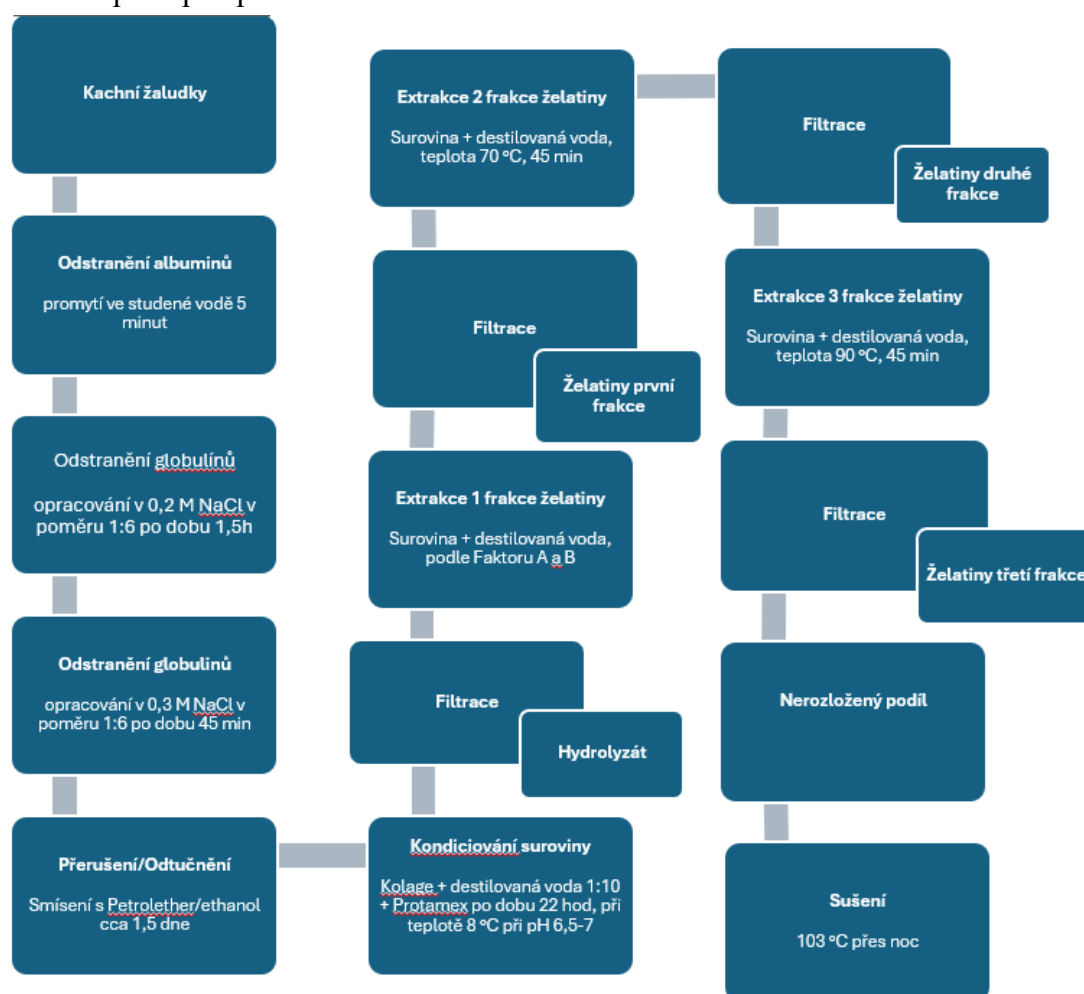
Lednička, Mixéry Eta a Bosch, Stopky, Exsikátor, Plynový kahan, Sevens - LFRA analyzátor, Termostat Thermo Hauke, Ůbeleho viskozimetr, Thermo spektronick Helios ϵ , Destilační aparatura, Extrakční aparatura, Odstředivky firmy Hettich Zentrifugen Rotina 35 a EBA 20, Vysokootáčkové míchadlo IKA T25.

Pipety, balónky, odměrné baňky, odměrný válec, Petriho misky, kuchyňské síto, kýbl, plechy, lžičky, pinzety, koželužská miska, tyčinky, tkanina na filtraci, kádinky, žíhací kelímky, LDPE uzavíratelné sáčky, kleště

30 % NaOH, 0,2 m NaCl, 0,3 M NaCl, směs petrolether/ethanol, 3 % HCl, enzym Protamex, sójový olej, destilovaná voda, 96 % H₂SO₄, 33% H₂O₂, chloroform, ethanol, směsný katalyzátor, Tashiro indikátor

8 Postup práce přípravy želatin

Blokové schéma postupu zpracování kachních žaludků.



Obrázek č. 9: Zpracování kachního separátu na želatinu

8.1 Příprava kolagenu

Zpracování vstupní suroviny kachních žaludků na čistý kolagen probíhá v několika fázích, které jsou navrženy tak, aby bylo možné efektivně odstranit nečistoty a minimalizovat poškození proteinů. Iniciálně byla rozemletá surovina podrobena důkladnému promytí ve studené vodě, aby byly odstraněny albuminy. Tento krok zahrnoval promývání na kuchyňském sítu a ponoření do kýblu s vodou po dobu 5 minut. Následovalo obrábění v roztoku 0,2 M NaCl, což pomáhalo v eliminaci části globulinů. Surovina byla občasně míchána po dobu 1,5 hodiny při pokojové teplotě, po které byla opět promyta ve studené vodě.

Další fáze zahrnovala smíchání suroviny s 0,03 M NaOH, která dále redukovala obsah globulinů po dobu 45 minut. Smíchaná surovina s roztokem byla občasně míchána, a po každém kroku následovalo důkladné promytí vodou. Tento cyklus byl opakován čtyřikrát. Po dokončení alkalického ošetření byla surovina promyta a připravena k sušení na plechu při 35°C v sušárně s cirkulací vzduchu, což trvalo 48-60 hodin.

Odtučnění suroviny bylo prováděno pomocí směsi rozpouštědel petrolether a ethanol v poměru 1:1, přičemž proces trval 1,5-2 dny s občasnou výměnou rozpouštědel. Po odtučnění byl kolagen rozprostřen na plech a ponechán odpařit v digestoři.

Finální krok zahrnoval rozemletí kolagenu na jemnost přibližně 3 mm. Toto rozemletí bylo prováděno opatrně, aby nedošlo k poškození struktury kolagenu a rozemletí na příliš malé struktury. Výsledný produkt byl skladován v temnu v uzavřené nádobě. Pro správné navážení enzymu v následujících krocích bylo nezbytné stanovit množství sušiny u přečištěného kolagenu. Tato pečlivá příprava a kontrola kvality vstupní suroviny byly klíčové pro úspěšné zpracování a získání kvalitního kolagenu z kachních žaludků.



Obrázek č. 10: Surový kolagen

8.2 Příprava hydrolyzátu kolagenu

Příprava Příprava hydrolyzátu z kachních žaludků zahrnuje několik klíčových kroků, které jsou zásadní pro získání kvalitního produktu. Prvním krokem je kondicionování 40 gramů čistého kolagenu. Kolagen byl smíchán s destilovanou vodou v poměru přibližně 1:10, následovalo míchání po dobu 20 minut, během kterého bylo pH upraveno na 6,5 až 7,0. Po této úpravě byl přidán proteolytický enzym Protamex, jehož množství bylo určeno faktorem A (0,1-0,3 % - vztaženo k sušině suroviny). Enzymatická reakce probíhala při mírném třepání a kontrolované teplotě 8 °C, s periodickou kontrolou a úpravou pH po dobu prvních 4 hodin. Po dokončení enzymatické reakce byla směs filtrována přes sítko s třemi vrstvami tkaniny a získaný hydrolyzáat byl vysušen při 70 °C na plechu s nepřilnavou folií po dobu přibližně 24 hodin.



Obrázek č. 11: Hydrolyzáat kachního kolagenu

8.3 Příprava želatin

Proces začíná promícháním získané suroviny po předchozích krocích s vodou, aby byl odstraněn enzym. Dále je surovina smíchána s vodou v poměru přibližně 1:10. Tato směs je extrahována při pečlivě regulované teplotě podle faktoru B (50-60 °C). Během extrakce je důležité intenzivně míchat směs, což zajišťuje rovnoměrnou distribuci tepla a efektivní extrakci želatiny. Po dosažení požadované teploty a uplynutí potřebného času podle faktoru C (20–40 minut) byla směs filtrována přes sítko s třemi vrstvami tkaniny. Následně byl želatinový roztok (první frakce) rychle zahřát na 85 °C a udržován na této teplotě po dobu pěti minut. Poté byl roztok želatiny rozlit na plechy s nepřilnavou folií. Nejprve byl roztok chlazen v lednici na 30 minut pro rosolování, následovalo sušení při 40 °C přes noc a konečné dosušení při 65 °C po

dobu osmi hodin. Takto byla získána 1. frakce želatiny. Následně nerozložený materiál byl smíchán opět s destilovanou vodou ve stejném poměru a byl extrahován 45 minut při teplotě 70 °C. Želatinový roztok byl zahřát na 85 °C a udržován na této teplotě po dobu pěti minut. Následně se opakoval stejný proces sušení, který byl již popsán a takto byla získána 2. frakce želatiny. U 3. frakce byl postup práce totožný, jen se lišila teplota, která byla 90 °C. Nebylo nutné již zahřívat teplotu po ukončení extrakce, jako tomu u dvou předešlých. Sušení probíhalo opět za stejného postupu a zbylý nerozložený podíl byl vysušen na PA tkanině přes nos při teplotě 103 °C.



Obrázek č. 12: Druhá frakce želatiny po vysušení

9 Analýzy vstupní suroviny, meziproductů a konečných produktů

9.1 Stanovení obsahu sušiny

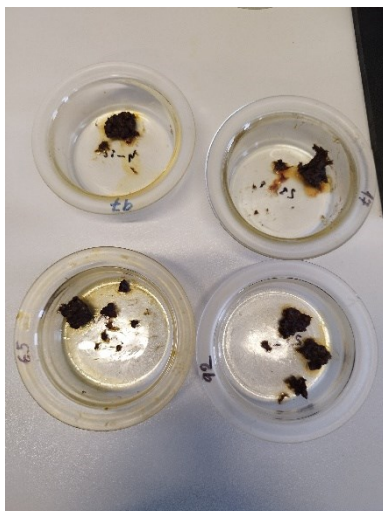
Stanovení sušiny je analytický proces, který je aplikován za účelem kvantifikace pevných látek obsažených ve vzorku nebo roztoku. V rámci experimentálního postupu bylo do koželužské misky zváženo 5 g vstupní suroviny. Následně byla koželužská miska umístěna do sušárny, kde probíhal proces sušení vzorku při teplotě 103 °C až do dosažení konstantní hmotnosti. Pro zajištění přesnosti výsledků bylo stanovení sušiny (S [%]) provedeno čtyřikrát a výsledná hodnota byla vypočítána podle předem stanoveného vzorce.

$$S = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

S – obsah sušiny ve vzorku

m₁ – hmotnost vzorku po vysušení [g]

m₂ – hmotnost vzorku před vysušením [g]



Obrázek č. 13: Stanovení sušiny v koželužských miskách

9.2 Stanovení obsahu popela

Popeloviny jsou definovány jako nespalitelné anorganické látky, které zůstávají po zpopelnění vzorku nad kahanem nebo v peci. Proces stanovení popelovin byl proveden dvakrát u jednoho vzorku a zahrnoval několik kroků. Nejprve byl na analytických vahách zvážen předem přežíhaný a vychladnutý kelímek. Do tohoto kelímku bylo naváženo přibližně 0,5 g želatiny. Následovalo velmi opatrné spalování vzorku nad plynovým kahanem, zpočátku v kleštích na mírném plameni, a poté byl vzorek žihán v muflové peci po dobu 6 hodin při teplotě 650 °C.

Po žihání byl kelímek nechán částečně vychladnout na kovové síťce přibližně 5 minut a poté byl umístěn do exsikátoru. Po vychladnutí na pokojovou teplotu byl kelímek znovu zvážen. Obsah popela P [%] byl vypočten podle vzorce.

Obsah popela v hm. % se vypočítá podle vzorce:

$$P = \frac{m_p}{n} \times 100$$

P – obsah popela [%]

m_p – hmotnost popela [g]

n – navážka vzorku [g]

Obsah popela přepočtený na sušinu se vypočítá podle vzorce

$$P_s = P \times f$$

P_s – obsah popela přepočítaný na sušinu [%]

P – obsah popela [%]

f – přepočítávací faktor na sušinu

$$f = \frac{100}{100 - v}$$

v – obsah vody [%]



Obrázek č. 14: Kelímek po žihání v muflové peci

9.3 Stanovení obsahu dusíku a čistých bílkovin

Proces mineralizace a následné destilace jsou klíčové kroky v analýze želatiny. Nejprve bylo na analytických vahách naváženo 1 g želatiny do mineralizační baňky, do které bylo opatrně přidáno 10-12 ml koncentrované kyseliny sírové (H_2SO_4). Dále byl přidán směsný katalyzátor a baňka byla umístěna na mineralizační aparaturu. Mineralizace probíhala při teplotě 450 °C až

do momentu, kdy obsah baňky byl čirý a bezbarvý. Pro urychlení procesu byl použit 33% peroxid vodíku.

Po vychladnutí bylo opatrně přidáno malé množství destilované vody (přibližně 10 ml) a obsah byl míchán při chlazení stěn baňky pod tekoucí vodou. Následně byl obsah baňky přenesen do 100 ml odměrné baňky, kde byla doplněna destilovaná voda až po značku a dobře promíchána, čímž vznikl mineralizát.

Pro destilaci bylo do předlohy Parnas-Wagnerova přístroje nalito 50 ml 2% roztoku H_3BO_3 a do nálevky bylo odpipetováno 20 ml připraveného mineralizátu společně s 25 ml 30% roztoku NaOH. Po spuštění chladiče byl amoniak vydestilován vodní parou do předlohy po dobu 20 minut od počátku varu vody ve vyvíječi. Po skončení destilace byl do předlohy přidán Tashirův indikátor a tato směs byla titrována 0,02 mol·l⁻¹ roztokem H_2SO_4 do slabě růžového zbarvení.

Obsah organického dusíku v % byl vypočten dle vzorce:

$$N = \frac{V_1 \times 0,0014 \times 100}{n} \times \frac{V_2}{V_3} \times f$$

V₁ – objem odměrného roztoku H_2SO_4 spotřebovaný na titraci [ml]

V₂ – celkový objem mineralizátu [ml]

V₃ – objem mineralizátu pipetovaný na stanovení [ml]

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

n – navážka vzorku [g]

N – Obsah organického dusíku [%]

Obsah čistých bílkovin v % byl pak vypočten dle vzorce:

$$B = N \times F$$

BObsah čistých bílkovin [%]

FUniverzální přepočítávací faktor (F= 6,25)

N.....Obsah organického dusíku [%]



Obrázek č. 15: Parnas-Wagnerova aparatura

9.4 Stanovení zbytkového množství tuku dle Soxhleta

Do předem zvážené patrony bylo s přesností na 4 desetinná místa naváženo 15 g vzorku. Následovala extrakce, která probíhala 8 hodin v chloroformu. Po této době bylo rozpouštědlo oddestilováno a vzorek byl dále extrahován v etanolu po stejnou dobu. Množství vyextrahovaného tuku bylo zjištěno gravimetricky a přepočítáno na procentuální množství zbylého tuku ve vzorku. Tento postup umožňuje přesné a spolehlivé stanovení lipidového obsahu, což je klíčové pro analýzu a kvalitativní hodnocení vzorků.

9.5 Stanovení obsahu kolagenu

Proces stanovení kolagenu byl proveden po stanovení obsahu tuku metodou Soxhleta. Nejprve bylo naváženo 15 g suroviny. Tato navážka suroviny byla následně smíchána s 0,1 M roztokem NaOH v poměru 1:30, což v případě 15 g suroviny odpovídá přidání 450 ml NaOH. Po smíchání byla směs zahřívána na 95 °C a udržována na této teplotě po dobu 45 minut, aby došlo k rozpuštění kolagenu. Po uplynutí stanoveného času byla směs přefiltrována přes síto a tuhý podíl byl důkladně promyt vodou. Následně byl tuhý podíl vysušen při teplotě 103 °C a zvážen. Množství kolagenu, které bylo ztraceno během procesu, bylo určeno gravimetricky.

9.6 Stanovení bilanční chyby

U všech experimentálních vzorků byla stanovena bilanční chyba B_{ch} [%], která se počítá podle vzorce.

$$B = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

B – celková bilance [%]

m_1 – hmotnost sušiny vztažena na hmotnost kachních žaludků po opracování [g]

m_2 – součet získaných výtěžků (hydrolyzát, 1,2,3 – frakce, nerozložený podíl)

$$B_{Ch} = 100 - B$$

B – celková bilance [%]

BCh – bilanční chyba [%]

9.7 Stanovení účinnosti extrakce

U všech experimentů byla provedena hmotnostní bilance. Na základě výsledků stanovení dílčích účinností extrakce byla zjištěna celková účinnost extrakce, která charakterizuje celkovou efektivitu zpracování výchozí suroviny na konečné produkty. Účinnost extrakce η [%] byla stanovena u všech vzorků a byla zjištěna podle následujícího vzorce.

$$\eta = \frac{K}{m_1} \times 100$$

η – účinnost extrakce [%]

m_1 – hmotnost sušiny vztažena na hmotnost kachních žaludků po opracování [g]

K – hmotnost vzorku po 1. stupni opracování, hmotnost želatiny [g]

V kontextu extrakce, bilanční chyba se týká rozdílu mezi očekávaným výtěžkem extrakce a skutečným výtěžkem.

9.8 Stanovení pevnosti gelu želatiny

Analytickým měřítkem želírovací schopnosti je Bloomova hodnota. Bloomova hodnota je hmotnost v gramech, která je potřebná k vytlačení povrchu standardního termostatovaného gelu do definované hloubky za standardních podmínek. [29] Stanovení pevnosti želatinového gelu bylo provedeno dle standardních metod testování želatiny dle Gelatin Manufacturers Institute of America. Vzorek gelu s koncentrací 6,67 % (w/w) byl připraven do nádoby. Dle specifikované metodologie, uvedené v příložené tabulce č. 7, bylo do nádoby zváženo přesné množství vzorku, ke kterému bylo přidáno odpovídající množství destilované vody. Vzorek byl následně nechán bobtnat po dobu jedné hodiny. Pro rozpuštění vzorku byla nádoba umístěna na vodní lázeň a za stálého míchání při teplotě přibližně 45 °C proces rozpouštění pokračoval, až do vytvoření homogenního želatinového roztoku. Po této fázi byl želatinový roztok ponechán odpočívat při laboratorní teplotě a poté byl přenesen do chladicího zařízení, kde byl chlazen při 10 °C.

Měření konzistence gelu bylo realizováno po 16 až 18 hodinách chlazení pomocí přístroje Stevens-LFRA Texture Analyser. Celý proces měření byl proveden dvakrát, přičemž druhé měření bylo lokalizováno na odlišném místě než první, aby se získala kontrolní data. Výsledná hodnota byla stanovena z prvního měření. Během měření byla zjištěna síla potřebná k penetraci povrchu vzorku sondou do hloubky 4 mm s rychlostí 1 mm/s. Výsledná hodnota byla vyjádřena v jednotkách Bloom.

Tabulka 7: Množství želatiny, vody a velikost nádoby pro různé metody stanovení pevnosti gelu

Metoda	Navážka želatiny [g]	Navážka vody [g]	Přepočítávací faktor	Nádoba
A	7,5	104,5	1	Předepsaná
B	3	42	1,263	Nádoba o ½
C	1,5	21	1,637	Nádoba o ¼
D	0,9	13	2,530	Nádoba o ⅙



Obrázek č. 16: Stevens-LFRA Texture Analyser pro měření pevnosti gelu

9.9 Stanovení dynamické viskozity želatiny

Stanovení viskozity želatinového gelu bylo provedeno dle standardních metod testování želatiny dle Gelatin Manufacturers Institute of America. Stanovení viskozity 6,67% želatinového roztoku bylo provedeno měřením doby, za kterou 100 ml roztoku protéklo standardizovanou pipetou při teplotě 60 °C. K tomuto účelu se používá Ubbelohdeho viskozimetr. Želatinový roztok je temperován na 60 °C a dále byl přelit do kádinky nejširší kapilárou Ubbelohdeho viskozimetru, umístěné mezi dvě vyznačené rysky na spodní baňce. Viskozimetr se vloží do kovového držáku, který se ponoří do skleněné nádoby vytemperované na 60 °C. Následně je měřena doba, za kterou proteče roztok mezi ryskami.

Měří se čas průchodu roztoku mezi dvěma ryskami a měření končí, když jsou zaznamenány tři po sobě jdoucí shodné časy. Nejprve se vypočítá kinematická viskozita a poté dynamická viskozita, přičemž konečný výsledek představuje hodnota dynamické viskozity.

$$v = K \times t - \frac{B}{t}$$

v – kinematická viskozita [mm^2/s]

K – konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou (0,5)

t – aritmetický průměr změřených průtokových dob [s]

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

Výpočet dynamické viskozity:

$$\eta = v \times \rho$$

η - dynamická viskozita [mPa . s]

ν – kinematická viskozita [mm²/s]

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



Obrázek č. 17: Přístroj Thermo Haake a Ubbelohdeho viskozimetr pro měření vizkozity

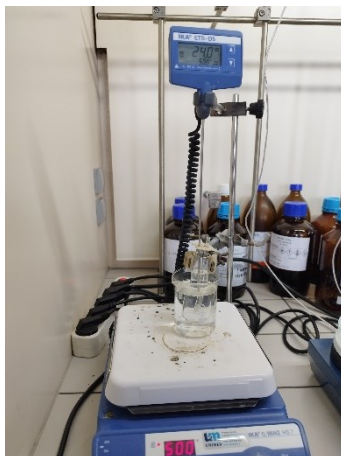
9.10 Stanovení teploty tuhnutí želatiny

Bod želatinace je definován jako teplota, při které želatinový roztok začíná želírovat. Tato teplota byla stanovena jako teplota, při níž ztuhlý želatinový roztok udržel na svém povrchu kuličku o hmotnosti 0,1065 g, aniž by se propadla na dno. Skleněná zkumavka s homogenizovaným vzorkem byla připevněna do držáku na topné desce, která byla ponořena do studené vody. Teplota postupně ochlazujícího se želatinového roztoku byla měřena teploměrem, který byl zaveden do zkumavky. Bod želatinace byl indikován v okamžiku, kdy odpor vytvořeného gelu překročil tlak kuliček.

9.11 Stanovení teploty tání želatiny

Pro měření bodu tání byly skleněné trubičky o průměru přibližně 2 mm a otevřené na obou koncích umístěny do roztoku želatiny. Skleněné trubičky byly vyjmuty z gelu tak, aby v nich zůstal asi 1 cm gelu. Takto připravená kapilára byla vložena do lednice o vnitřní teplotě 4,5 °C a byla ponechána 2 hodiny se chladit. Poté byla kapilára umístěna do zkumavky s destilovanou vodou, která byla umístěna do kádinky s vodní lázní na vařiči. Jakmile byla dosažena teplota

tání, části želatiny se v důsledku vzniklého hydrostatického tlaku posunuly nahoru. Tato teplota byla označena jako teplota tání gelu.



Obrázek č. 18: Aparatura pro měření teploty tání

10 Výsledky

Následující část práce je věnována detailnímu popisu a srovnání hydrolyzátů a želatin získaných během extrakce kolagenu, který byl opracován proteolytickým enzymem Protamex za různých podmínek.

Na základě pečlivého průzkumu relevantní literatury byly pečlivě stanoveny optimální podmínky pro extrakci kolagenu do tří frakcí. Bylo provedeno 9 experimentů dle metodiky faktoru 3^2+1 středový. Množství enzymu bylo stanoveno v rozmezí 0,1 – 0,3 %. Teplota první frakce byla při teplotách mezi 50 až 60 °C, přičemž doba extrakce se pohybovala v rozmezí 20 až 40 minut. Pro druhou frakci byla zvolena teplota extrakce 70 °C a doba 45 minut, zatímco pro třetí frakci byly upřednostněny teploty 90 °C po dobu 45 minut. Tyto parametry byly podrobně testovány v rámci deseti experimentů, včetně kontrolního slepého vzorku, kde nebyl přítomen enzym. Tento experimentální plán umožnil komplexní studium vlivu faktorů A (množství enzymu), faktorů B (teplota extrakce) a C (doba extrakce) na výsledky procesu.

Pro statistické vyhodnocení byl využit sofistikovaný software MiniTab 19, který umožňuje detailní a komplexní analýzu získaných dat. Grafické zobrazení vlivů zkoumaných procesních faktorů je prezentováno prostřednictvím Paretových diagramů a vrstvených grafů, což poskytuje užitečný nástroj pro interpretaci výsledků a identifikaci klíčových vlivů jednotlivých faktorů na extrakční proces. Kromě toho byly výsledky experimentů podrobeny statistickému vyhodnocení pomocí p-hodnoty. Zjištění hodnoty nižší než 0,05 u faktoru signalizuje jeho

významný vliv na hodnocené proměnné s až 95 % pravděpodobností, což dále podtrhuje důležitost sledovaných faktorů v rámci extrakčního procesu. Klíčové sledované faktory, jako je teplota a doba extrakce, byly pečlivě analyzovány a zhodnoceny v rámci statistického zpracování dat. Výsledky těchto analýz jsou prezentovány v tabulce č. 8, které obsahují kompletní přehled naměřených a vypočtených hodnot.

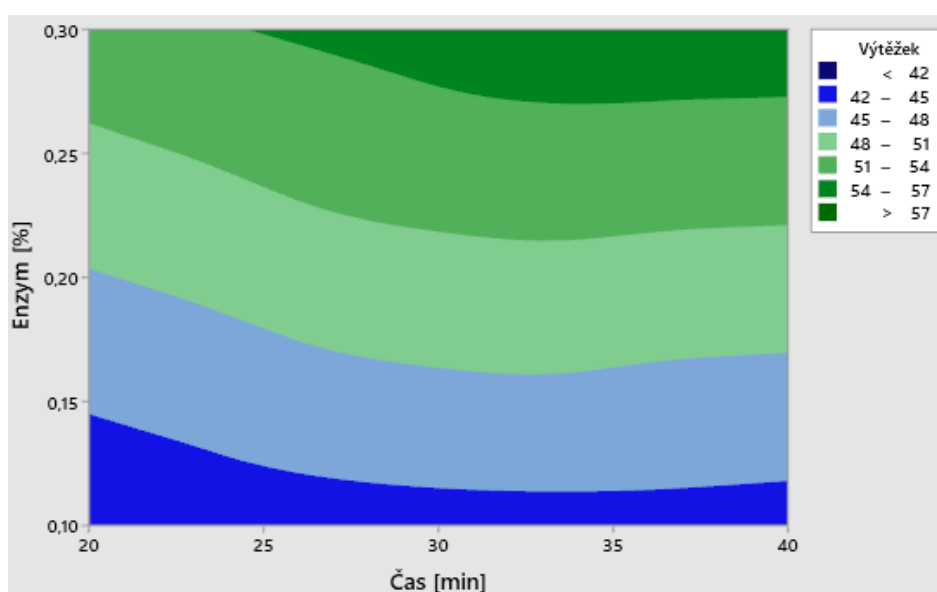
10.1 Výtěžky extrakce želatiny

Tabulka 8: Plán experimentů s technologickými podmínkami podle Taguchiho návrhu, včetně výtěžků jednotlivých frakcí želatiny, nerozpuštěného pevného zbytku a chyby bilance.

Experiment	Faktor A – Množství enzymu [%]	Faktor B – doba extrahování [min]	Faktor C – Teplota extrahování [°C]	Výtěžek hydrolysátu [g / %]	Výtěžek 1. frakce želatiny [%]	Výtěžek 2. frakce želatiny [%]	Výtěžek 3. frakce želatiny [%]	Výtěžek 1-3. frakce želatiny [%]	Celková účinnost [%]	Nerozložený zbytek [%]	Bilanční chyba [%]
1	0,1	50	20	6,5	5,6	20,1	8,6	34,2	40,8	54,6	4,8
2	0,1	50	40	6,8	15,0	13,0	7,1	35,1	41,9	52,8	5,3
3	0,1	60	20	6,2	12,1	18,3	8,0	38,3	44,6	51,0	4,5
4	0,1	60	40	6,5	20,9	10,9	7,7	39,5	46	48,7	5,3
5	0,3	50	20	10,0	11,2	20,3	7,4	38,9	48,9	46,3	4,8
6	0,3	50	40	10,0	19,5	15,6	7,1	42,2	52,2	42,2	5,6
7	0,3	60	20	10,3	20,1	19,2	7,4	46,6	57	38,6	4,5
8	0,3	60	40	10,0	25,4	15,9	7,7	49,0	59	36,9	4,2

9	0,2	55	30	8,3	14,2	19,5	8,0	41,6	50	45,1	5,1
10	0	55	30	6,0	5,0	7,1	6,2	18,3	24,5	70,2	5,4

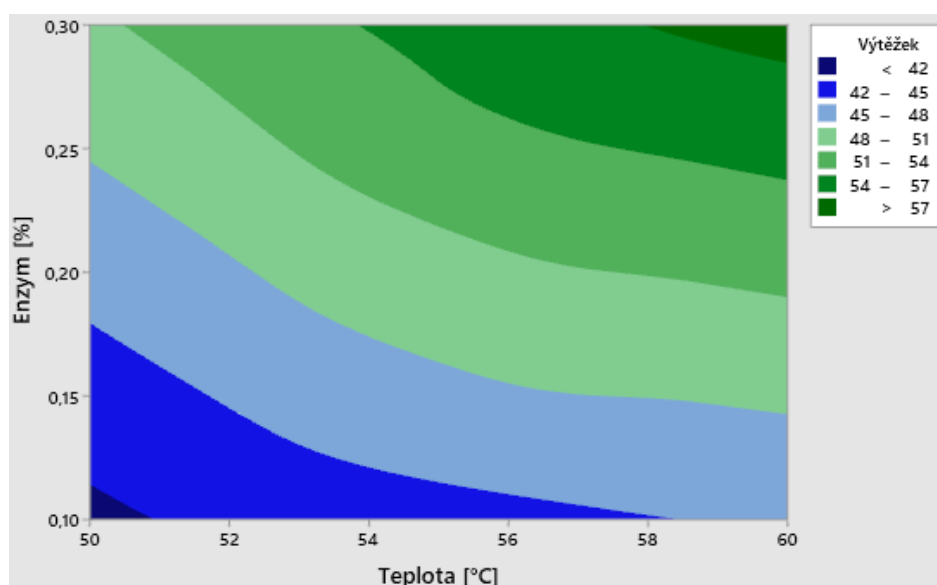
V tabulce č. 8 je uveden rozpis experimentů s technologickými podmínkami a charakteristika procesu podle Taguchiho návrhu se 3 faktory na 2 úrovních a jedním slepým experimentem bez přidavku enzymu. Tabulka obsahuje informace o výtěžích hydrolyzátů, výtěžky první, druhé a třetí frakce želatiny a hodnoty nerozpuštěného zbytku a vypočtené chyby měření bilance. Množství hydrolyzátu se pohybovalo v rozmezí 6,2 až 10,3 %. Nejnižší hodnota, tj. 6,2 %, byla získána pokusem č. 3 a naopak nejvyšší hodnota (10,3 %) pokusem č. 7. U slepého pokusu (č. 10) bylo množství hydrolyzátu pouze 6 %. Zpracování výchozího materiálu enzymem má zřejmě vliv na kachní tkáň, protože výtěžek hydrolyzátu byl u pokusu č. 10 nejmenší (ke zpracování výchozího materiálu zde nebyl použit žádný enzym), a výtěžnost hydrolyzátu rostla se zvyšující se koncentrací enzymu (Faktoru A). Výtěžek želatiny první frakce se pohyboval mezi hodnotami 5,6 a 25,4 %. Nižší hodnota byla získána u pokusů č. 1 a naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna u pokusu. 8. Nízký výtěžek 5,0 % v pokusu č. 10 opět potvrdil, že enzymová úprava má vliv na výtěžek želatinových frakcí. Výtěžek druhé frakce se pohyboval v rozmezí 10,9 – 20,3 % a výtěžek třetí frakce se pohyboval v rozmezí 7,1 – 8,6 %. Slepý pokus poskytl pouze 7,1 % a 6,2 % pro druhou a třetí frakci želatiny. Množství nerozpuštěného pevné podílu se pohybovalo v rozmezí 36,9 - 54,6 % a tato hodnota byla použita především pro



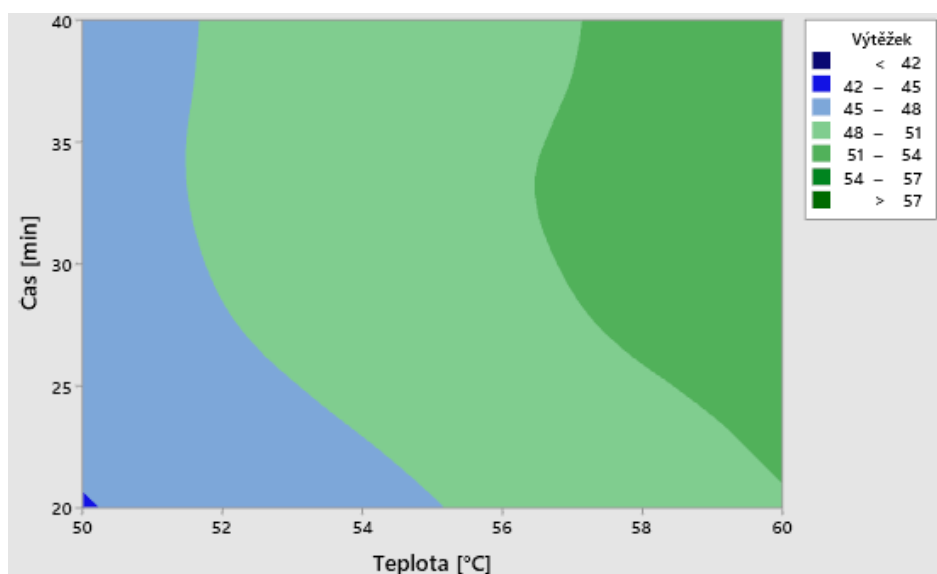
Obrázek č. 19: Vrstevnicový graf závislosti enzymu a času na celkovou účinnost extrakce

výpočet množství nerozpuštěné sušiny. Zbytkový podíl u slepého vzorku byl 70,18 %. Následně byla BE vypočtena podle celkové bilance.

Z Obrázku č. 19 je zřejmé, že snížení množství enzymu a zkrácení doby extrakce vedou k poklesu celkové účinnosti procesu. Pokud se použije pouze 0,1 % enzymu a extrakce trvá 20 minut, dosahuje se nejnižší účinnosti. Naopak, při zvyšování množství enzymu a prodlužování doby extrakce, tedy při použití 0,3 % enzymu po dobu 40 minut, je dosaženo nejvyššího výtěžku extrakce želatin.



Obrázek č. 20 Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na celkovou účinnost extrakce



Obrázek č. 21: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na celkovou účinnost extrakce

Na obrázku č. 20 je vyobrazen vrstevnicový diagram, ilustrující vliv enzymu (Faktor A) a teploty (Faktor B) na celkovou efektivitu extrakce. Z grafu je patrné, že nejvyšší účinnost je dosažena při teplotách 58-60 °C (Faktor B) a koncentraci enzymu 0,3 % (Faktor A).

Obrázek č. 21 ukazuje vztah mezi proměnnou odezvy (výtěžek želatiny) a dvěma prediktivními proměnnými (teplota extrakce a doba extrakce) pomocí vrstevnicových grafů. V závislosti na hodnotách obou studovaných procesních faktorů se výtěžek extrakce pohybuje od 42 do 54 %. Nejvyšších výtěžků bylo dosaženo při extrakčních teplotách 57 - 60 °C s dobou extrakce <22-33 min (viz obrázek č. 21).

Regresní rovnice účinnosti extrakce:

$$\text{Výtěžek [\%]} = 3,71 + 0,0975 \text{ Faktor C} + 54,75 \text{ Faktor A} + 0,5700 \text{ Faktor B}$$

Dále byly vyjádřeny p-hodnoty. Pro množství enzymu, faktor A, byla p-hodnota rovna 0,01 pro faktor B 0,02 a pro faktor C 0,093. Z výsledků tedy vyplývá, že Faktor A a Faktor B mají značný vliv na výtěžnost extrakce s 95 % pravděpodobností. [45]

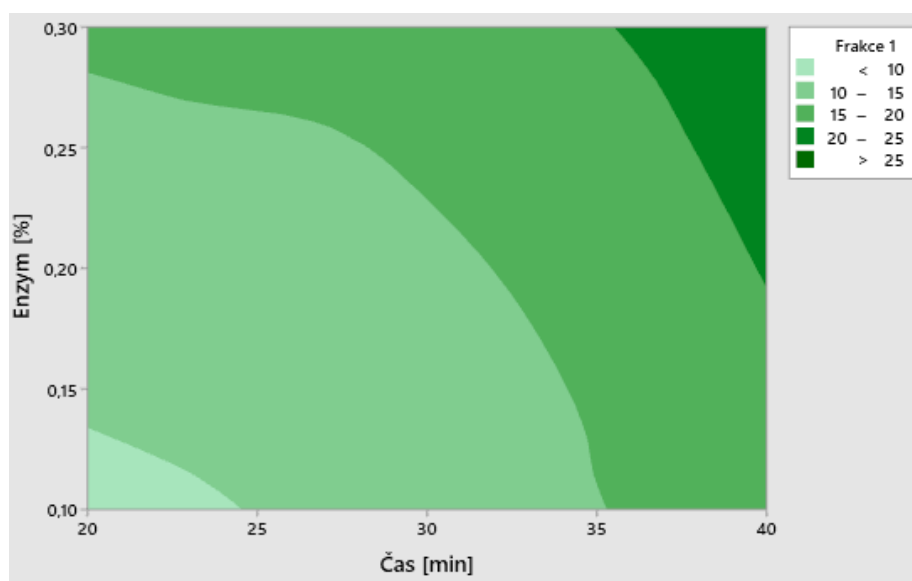
10.2 Výtěžek první frakce

Výsledná surovina se jevila spíše jako hydrolyzát než želatina. Po vysušení byl z jednotlivých frakcí připraven želatinový roztok o koncentraci 6,67 % na stanovení pevnosti gelu, ale pouze 3 experimenty v ledničce po 18 hodinách ztuhly.

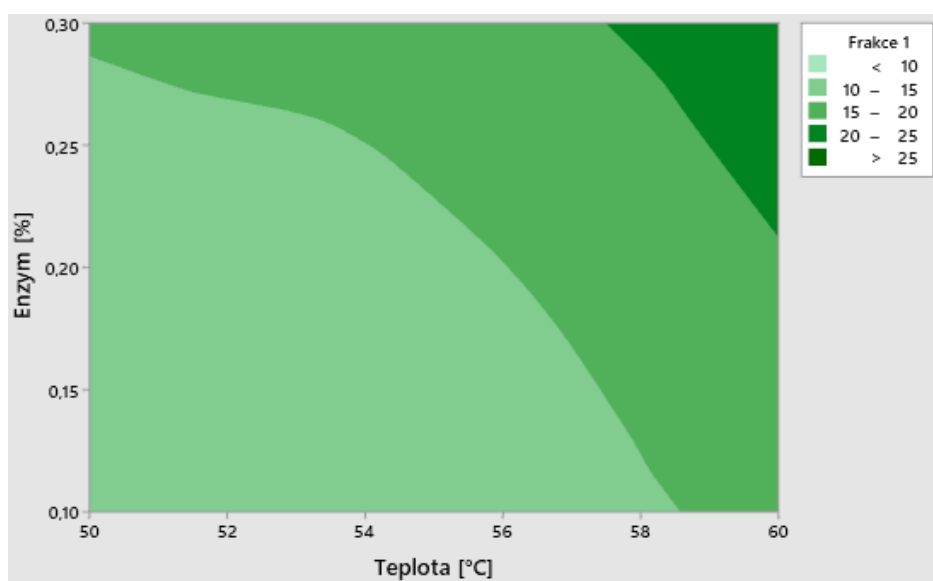
Regresní rovnice účinnosti 1. frakce extrakce:

$$\text{Výtěžek [\%]} = -38,97 + 28,25 \text{ Faktor A} + 0,6800 \text{ Faktor B} + 0,3975 \text{ Faktor C}$$

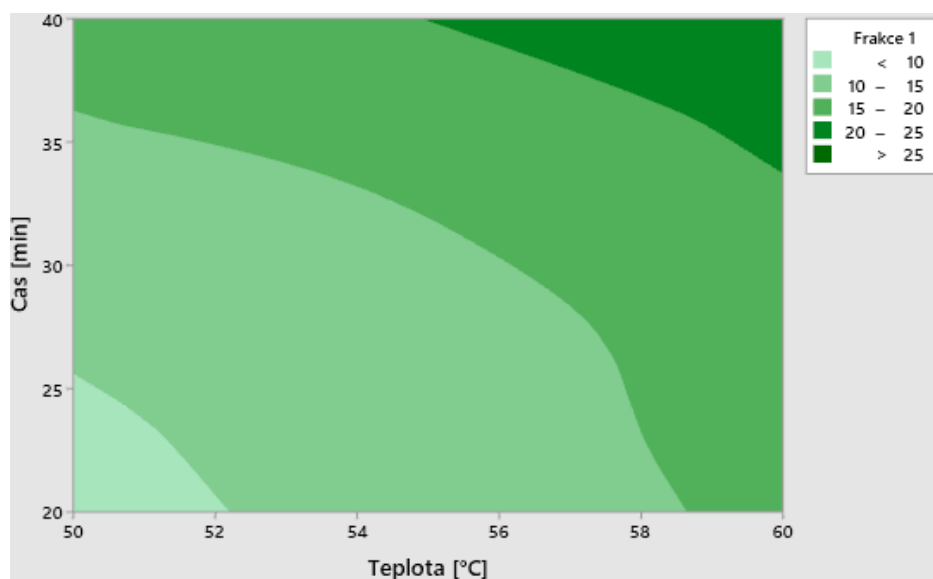
Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,002, pro faktor B 0,001 a pro faktor C 0,001. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že faktor A, faktor B a faktor C, jsou důležité pro výtěžnost první frakce želatiny.



Obrázek č. 22: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 1. frakce extrakce



Obrázek č. 23: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na účinnost 1. frakce extrakce



Obrázek č. 24: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na účinnost 1. frakce extrakce

Na obrázku č. 22 je vyobrazen vrstevnicový diagram, ilustrující vliv enzymu (Faktor A) a času (Faktor C) na účinnost extrakce želatiny 1. Z grafu je patrné, že nejvyšší účinnosti želatiny dosáhneme v rozmezí 35-40 °C a koncentrace enzymu je v rozmezí 0,25-0,3 %. To bylo potvrzeno v experimentu č. 8, kde jak množství enzymu, tak doba extrakce nabývá nejvyšších hodnot, konkrétně 0,3 % enzymu a době 40 minut.

Vrstevnicový diagram (obrázek č. 23) zobrazuje vliv dvou faktorů, a to enzymu (Faktor A) a teploty (Faktor B), na účinnost 1. frakce extrakce. Je vidět, že množství želatiny extrahované z první frakce je ovlivněno jak množstvím přidaného enzymu, tak teplotou extrakce. Na základě grafu lze pozorovat, že optimální výtěžky jsou dosaženy při teplotách mezi 57 a 60 °C (Faktor B) a množství enzymu mezi 0,22 a 0,3 % (Faktor A). Tato kombinace faktorů vede k maximální účinnosti 1. frakce extrakce, což naznačuje optimální podmínky pro proces extrakce.

Obrázek č. 24 ukazuje, jak se mění účinnost extrakce první frakce v závislosti na čase a teplotě. Z výsledků vyplývá, že optimální výtěžky se dosahují při teplotách mezi 54 a 60 °C a délce extrakce trvající 35 až 40 minut. Tyto hodnoty času a teploty představují ideální podmínky pro co nejlepší výtěžnost první frakce extrakce.

Nejnižšího výtěžku bylo dosaženo při experimentu číslo 1, kdy množství enzymu bylo 0,1 % velikost teploty byla 50 °C. Samotný výtěžek činil 5,6 %. Malý výtěžek je zřejmě zapříčiněn s

přítomností enzymu Protamex, který byl použit při zpracování suroviny. I přes důkladné vymytí enzymu se zdá, že část z něj zůstala v surovině. Tento nevymytý enzym pak pravděpodobně reaguje s kolagenem v závislosti na době a teplotě extrakce, což ovlivňuje výtěžek extrakce.

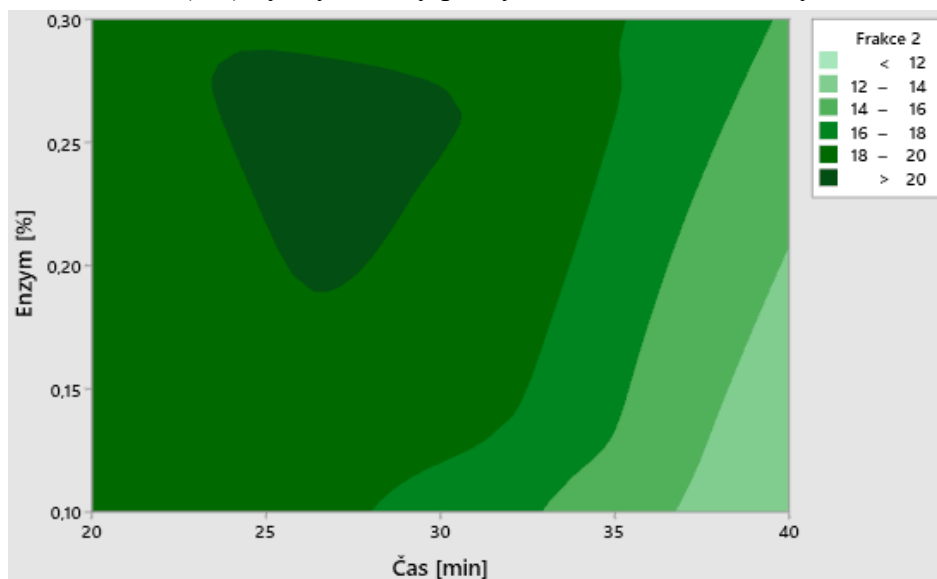
10.3 Výtěžek druhé frakce

Valná většina vzešlých želatinových filmů želírovala již v lednici před samotným sušením. Po vysušení byl z jednotlivých frakcí připraven želatinový roztok o koncentraci 6,67% na stanovení pevnosti gelu, viskozity, teploty tuhnutí a teploty tání. Všechny želatiny 2. frakce želírovali po 18 hodinách v lednici.

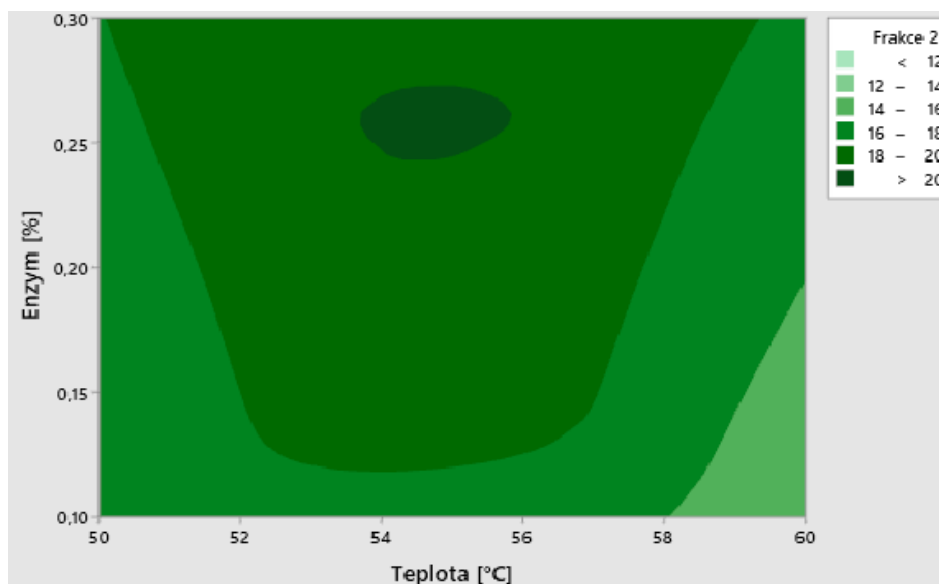
Regresní rovnice účinnosti 2. frakce extrakce:

$$\text{Výtěžek [\%]} = 29,70 + 10,88 \text{ Faktor A} - 0,117 \text{ Faktor B} - 0,2813 \text{ Faktor C}$$

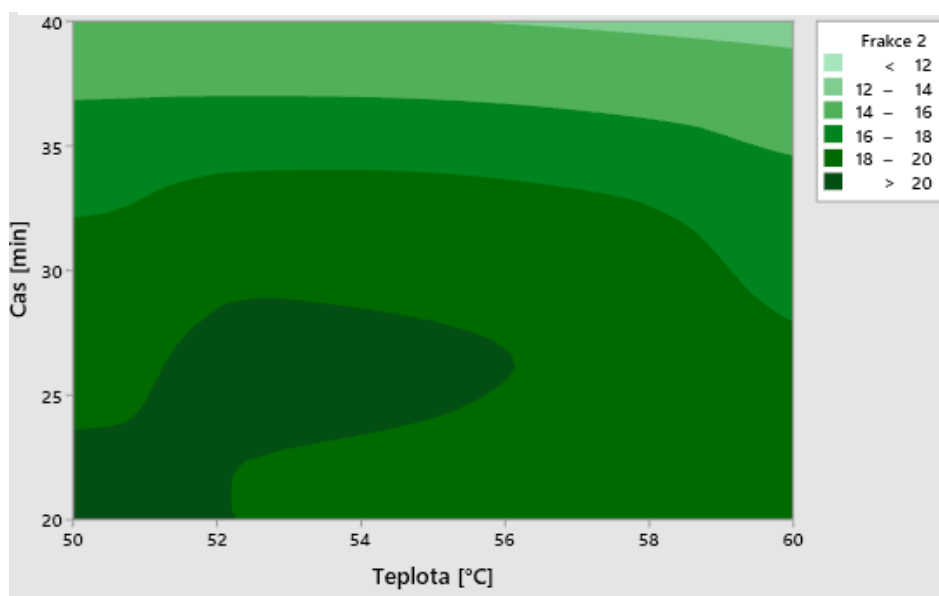
V tomto experimentu byly teplota i čas extrakce specificky nastaveny s ohledem na extrakci 1. frakce. Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,127, pro faktor B 0,369 a pro faktor C 0,005. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že faktor A, a faktor B nebyly významné, ale faktor C (čas) byl významný při výtěžku 2. frakce želatiny.



Obrázek č. 25: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 2. frakce extrakce



Obrázek č. 26: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na účinnost 2. frakce extrakce



Obrázek č. 27: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 2. frakce extrakce

Vrstevnicový graf na obrázku č. 25 ukazuje, jak množství enzymu a doba extrakce ovlivňují konverzi surovin. Nejvyšší konverze (<20 %) je dosažena v rozmezí 23-31 minut při množství

enzymu 0,2 – 0,3 %. Graf zdůrazňuje vliv těchto faktorů na efektivitu extrakce, s účinností klesající při delší době extrakce nad 31 minut. S další rostoucí dobou (Faktor C) účinnost 2. frakce extrakce klesá v závislosti na snižující se množství enzymu (Faktor A).

Z obrázku č. 26, kde je vynesena závislost výtěžnosti druhé frakce želatiny na zvolených faktorech, a to obsahu enzymu a teplotě opracování, můžeme identifikovat ideální podmínky pro maximální výtěžek. Optimalizace koncentrace enzymu na úrovni 0,24–0,27 % při střední teplotě zpracování 53–56 °C může vést k dosažení výtěžnosti 2. frakce až 20 %. Naopak, nejnižší výtěžnosti jsou pozorovány při 0,1 % koncentraci enzymu a teplotách zpracování 58–60 °C.

Ze závislosti vrstevnicového diagramu výtěžku 2. frakce na hodnotách době opracování a teplotě, jak vidíme na obrázku č. 27, můžeme určit optimální podmínky pro maximalizaci zisku. Maximálního výtěžku dosáhneme při teplotách 50 – 52 °C a době 20-24 minut případně 50 – 56 °C, ale musíme zvednout horní hranici intervalu doby extrakce na 20 – 28 minut. Tomu odpovídají měřené experimenty 1 a 5, při kterých byla účinnost extrakce 20,05 a 20,35 %. Porovnáním tohoto grafu s obrázkem č. 24, který zobrazuje účinnost extrakce 1. frakce při stejných faktorech, lze pozorovat, že při čase extrakce v rozmezí 20 až 28 minut a teplotě mezi 50 a 53 °C byl výtěžek 1. frakce nízký, zatímco výtěžek 2. frakce byl v této oblasti vysoký. Platí to i opačně: pokud byl v některých oblastech výtěžek 1. frakce vyšší, pak zde byl nižší výtěžek 2. frakce.

Druhá frakce želatiny patří z hlediska procentuálního zastoupení mezi dominantní frakce želatiny s výtěžky přibližně 11–20 % viz tabulka č. 8. Želatiny z druhé frakce vykazují nejlepší gelotvorné a povrchové vlastnosti (viz Vlastnosti želatin). Doba extrakce je statisticky významný faktor. Naopak množství enzymu (Faktor A) a teplota extrakce (faktor B) má na účinnost 2 frakce menší vliv. Nejmenší účinnosti extrakce bylo dosaženo u experimentu č. 4.

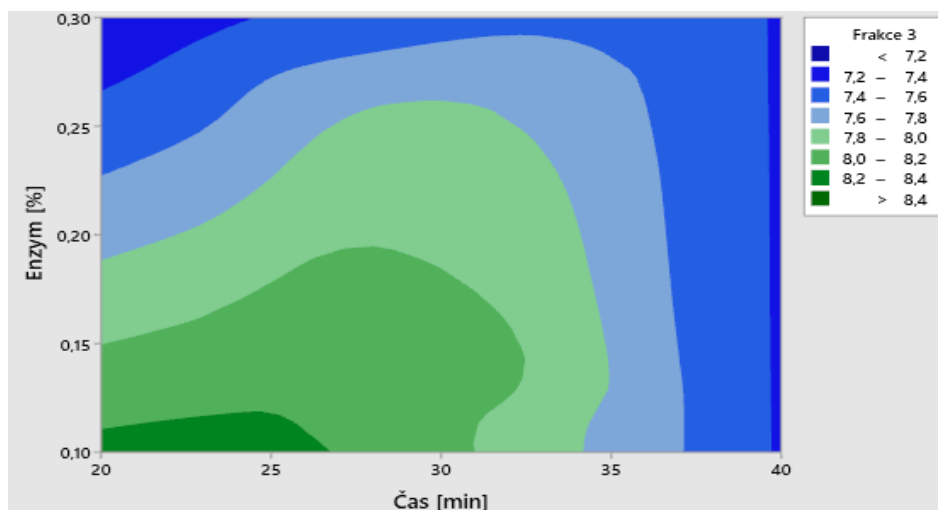
10.4 Výtěžek třetí frakce

Většina želatinových filmů 3 frakce želírovala již v lednici před samotným sušením viz kapitola 12.2. Z časových důvodů byl připraven pouze jeden želatinový film, a to pro experiment č. 9, který dosáhl nejvyšší hodnoty pevnosti gelu ve 2. frakci želatiny. Po vysušení byl z této frakce připraven želatinový roztok o koncentraci 6,67 % pro určení pevnosti gelu, viskozity, teploty tuhnutí a teploty tání.

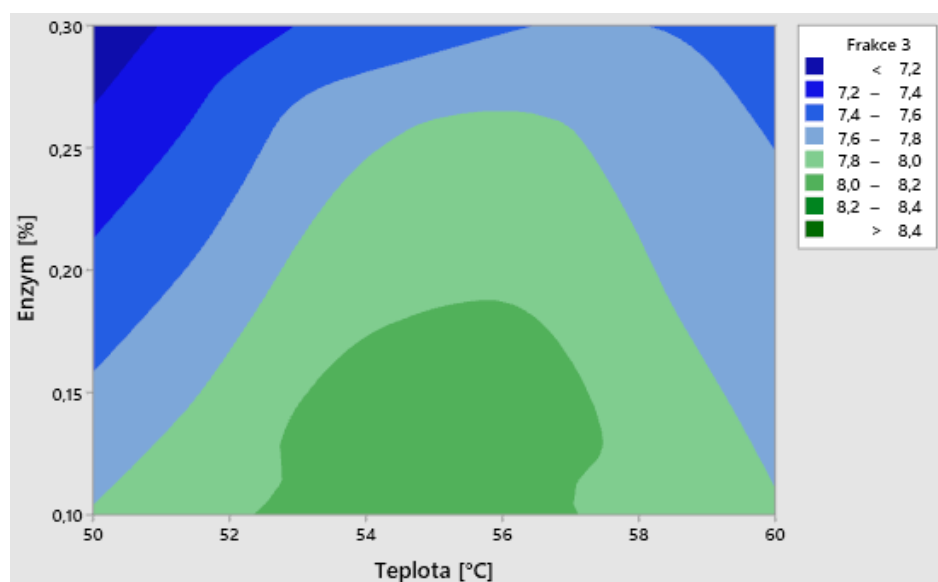
Regresní rovnice účinnosti 3. frakce extrakce:

$$\text{Výtěžek [\%]} = 7,44 - 2,56 \text{ Faktor A} + 0,0222 \text{ Faktor B} - 0,0181 \text{ Faktor C}$$

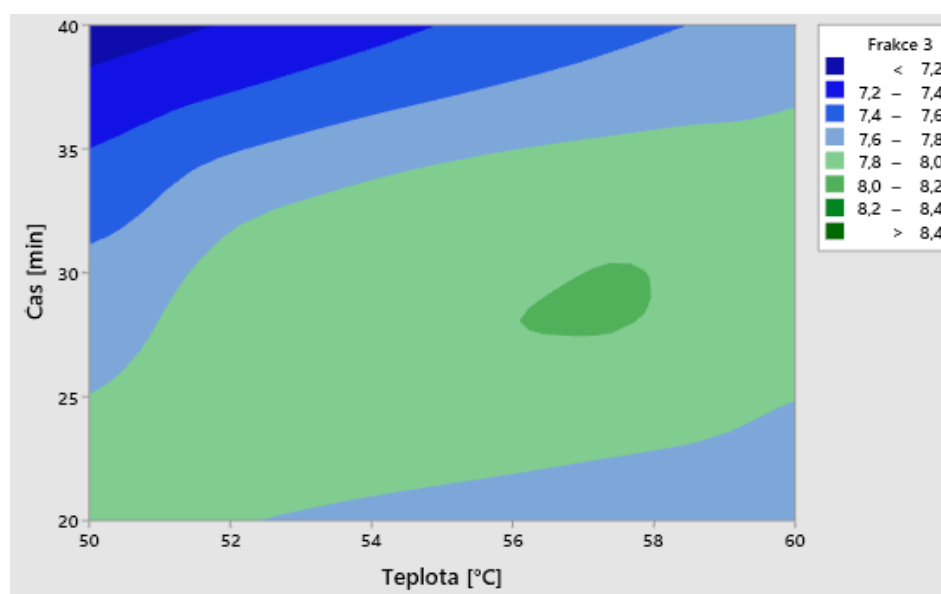
Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,191, pro faktor B 0,541 a pro faktor C 0,334. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že žádný faktor nebyl významný při výtěžku 3. frakce želatiny.



Obrázek č. 28: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 3. frakce extrakce



Obrázek č. 29: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na účinnost 3. frakce extrakce



Obrázek č. 30: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na účinnost 3. frakce extrakce

Na obrázku č. 28 je vrstevnicový graf, který znázorňuje závislost množství enzymu a času na účinnosti 3. frakce extrakce. Z obrázku je patrné, že účinnost je největší při nejmenších hodnotách faktoru A a faktoru C. Se zvyšujícími se hodnotami faktorů výtěžek pouze klesá, avšak nutno zmínit, že tato faktorová kombinace dosahuje nejvyšší účinnosti výtěžku 3. frakcí při optimálních hodnotách množství enzymu a času.

Vrstevnicový diagram znázorněn na obrázku č. 29 poukazuje na oblast nejvyšší účinnosti extrakce při středové hodnotě dané teplotou Faktor B a nižším množstvím enzymu, konkrétně 0,1 – 0,18 %. Se narůstajícím množstvím Faktoru A, účinnost extrakce již jen klesá.

Obrázek č. 30 poukazuje na malou oblast vyšší účinnosti výtěžku v oblasti rozmezí teplot 56 – 58 °C a času extrahování 27-31 minut. Kombinace vlivu faktorů B a C na výtěžek extrakce želatiny 3. frakce má nejmenší oblast působení v porovnání s ostatními kombinacemi u 3. frakcí. Tento obrázek vrstveného grafu už spíše jen dokresluje a znázorňuje okrajové oblasti, ve kterých dochází poklesu účinnosti.

Třetí frakce želatiny, s předpokládanou výtěžností 7-8 %, vykazují nejnižší podíl extrahované želatiny, jak je uvedeno v tabulce č. 8. Analyzován byl pouze jeden vzorek (viz vlastnosti želatin), což nebylo součástí původního plánu experimentu. Rozhodnutí bylo přijato kvůli neuspokojivým želírovacím výsledkům první frakce, která většinou připomínala spíše

hydrolyzát. Vizuální kontrola gelových filmů 3. frakce ukázala lepší želírovací vlastnosti než filmy 1. frakce, protože většina z nich začala tuhnout již během chladnutí v lednici před samotným sušením.

10.5 Vlastnosti želatin

Tabulka 9: Souhrn základních charakteristiky 1. frakce želatin

Experiment	Pevnaost gelu [Bloom]	Viskozita [mPa·s]	Teplota tuhnutí [°C]	Teplota tání [°C]
1	-	0,93	-	-
2	65	1,54	15,5	30,8
3	178	1,96	16,4	33,5
4	17	1,42	14,7	25,8
5	-	0,79	-	-
6	-	0,82	-	-
7	7	1,3	10,2	13,8
8	-	0,88	-	-
9	-	0,9	-	-

Tabulka 10: Souhrn základních charakteristiky 2. a 3. frakcí želatin

Typ želatiny	Experiment	Pevnost gelu [Bloom]	Viskozita [mPa·s]	Teplota tuhnutí [°C]	Teplota tání [°C]
2. frakce želatiny	1	194	2,72	20,20	32,10
	2	12	1,22	12,80	23,60
	3	16	1,29	15,00	25,80
	4	149	2,59	17,6	32,7
	5	157	2,61	18,4	33
	6	137	2,09	15,5	29
	7	194	2,71	19,8	33,7
	8	131	2,05	15,3	28,5
	9	290	3,14	26,2	35,7
3. frakce želatiny	9	241	3,98	17,7	33,9

Tabulka č. 9 a 10 shrnuje harmonogram experimentů s technologickými podmínkami a charakterizace frakcí želatin. Potřebné analýzy byly provedeny u všech adekvátních želatin z prvních frakcí (pevnost gelu želatiny, teplota tání, teplota tuhnutí a viskozita). První frakce většiny želatin neztuhla v želatinový film, proto u těch, které neztuhly nebyly měřeny vlastnosti želatin. U druhé frakce želatiny byly provedeny analýzy a zaznamenány do výsledků v tabulce

č. 10. Byl zde zanalyzován jeden vzorek 3. frakce želatin a výsledky analýz byly rovněž zaznamenány v tabulce č. 10.

10.5.1 Pevnost gelu

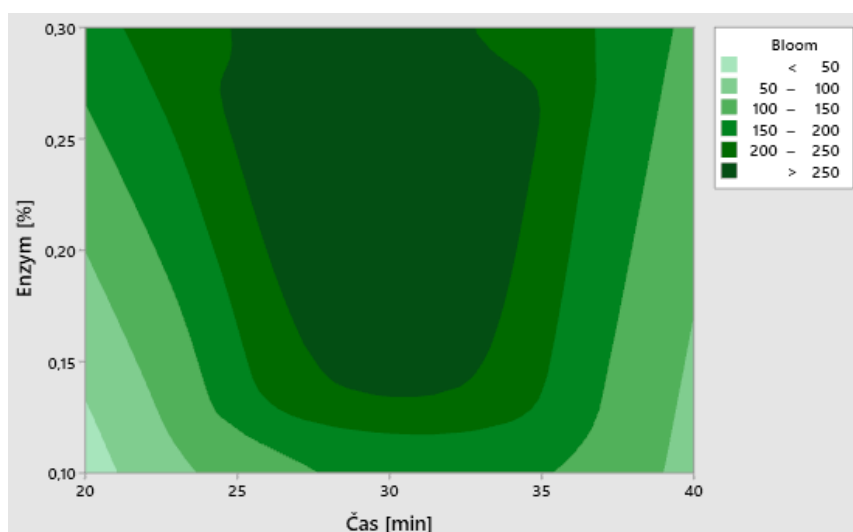
Pro použití v potravinářství, kosmetice, farmacii a lékařství je důležitým faktorem kvality želatiny pevnost želatinového gelu. Bylo zjištěno, že některé želatiny mají relativně nízkou pevnost gelu (7 Bloom; exp. č. 7. u 1. frakce nebo 12 Bloom; exp. Č. 2. u 2. frakce želatin) a některé měly poměrně vysokou pevnost gelu. (291 Bloom; exp. č. 9). Průměrná pevnost gelu prvních frakcí želatin byla 67 Bloom, přičemž tato hodnota narostla převážně kvůli exp. č. 3, protože exp. 4 a 7 mají velice malou pevnost gelu. Průměr druhé frakce želatiny byla 142 Bloom.

V rámci slepého pokusu (exp. č. 10) byla zjištěna pevnost gelu 2. frakce, která činila 9 Bloom. Viskozita roztoku želatiny v tomto pokusu dosáhla hodnoty 1,12 mPa·s. Teplota tuhnutí byla naměřena na 11,8 °C, zatímco teplota tání dosáhla 23 °C. Experiment č. 10, který nebyl ošetřen proteolytickým enzymem, projevil nejhorší výsledky ve všech provedených analýzách želatin.

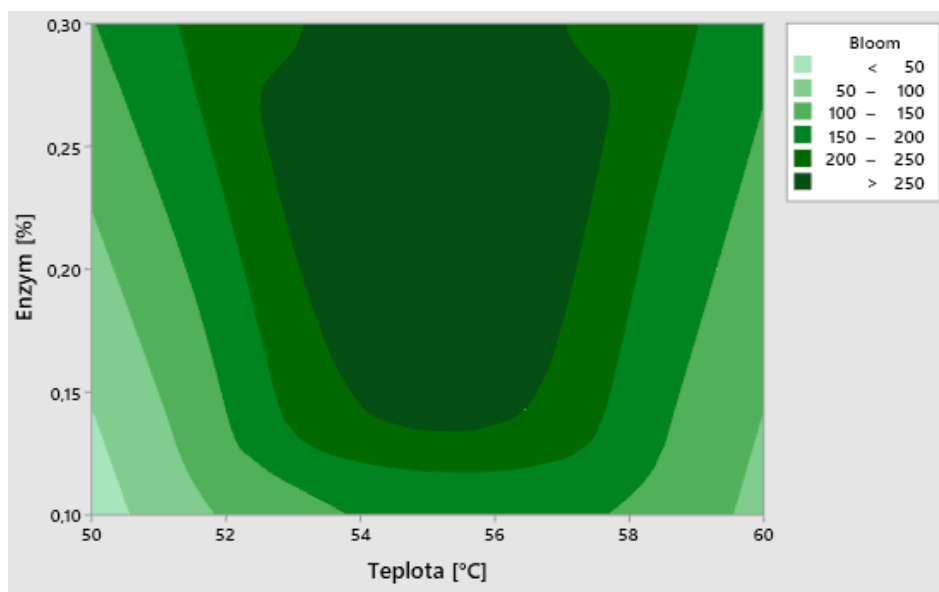
Regresní rovnice pevnosti gelu u 2. frakce:

Pevnost gelu [Bloom] = -194 + 512 Faktor A + 3,75 Faktor B + 0,34 Faktor C

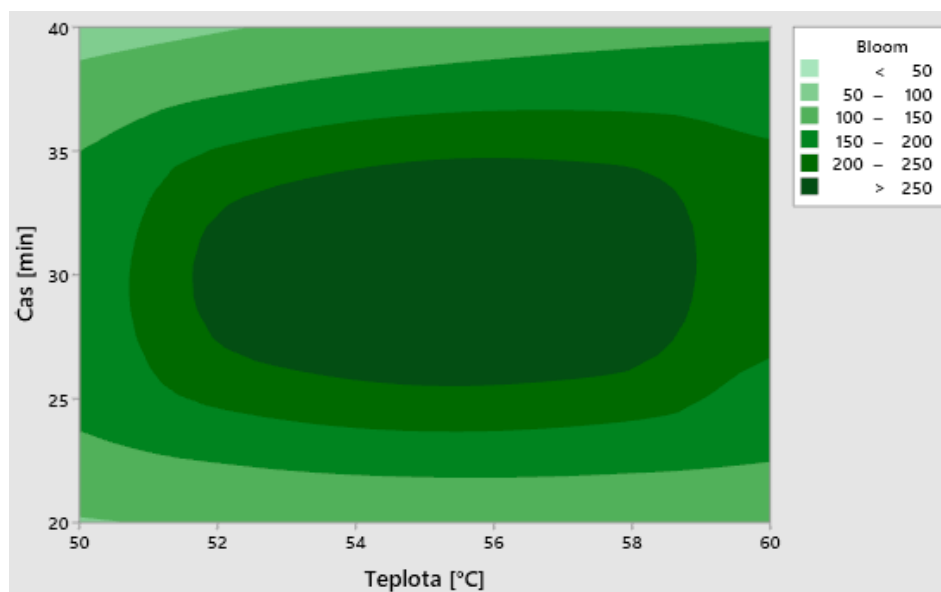
Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,178, pro faktor B 0,591 a pro faktor C 0,922. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že žádný faktor nebyl významný na pevnost gelu želatiny.



Obrázek č. 31: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na pevnost 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 32: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty na pevnost 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 33: Vrstevnicový graf vlivu množství času a teploty na pevnost 2. frakce želatinového gelu.

Vrstevnicové diagramy znázorněné na obrázcích č. 31 a 32 jsou si velice obdobné. Jde o závislost vlivu množství enzymu, a měnící faktory na těchto diagramech jsou velikost teploty a času. Z toho lze usoudit, že účinnost faktorů na B a C na velikost pevnost gelu je optimální

při středových hodnotách daného intervalu faktoru. Je zřejmé, že hodnoty faktoru A jsou optimální v rozmezí 0,14 – 0,3 % množství enzymu, což bylo i potvrzeno získanou pevností gelu u experimentu č. 9, jejíž hodnoty faktoru nabývají právě středových hodnot všech tří sledovaných faktorů.

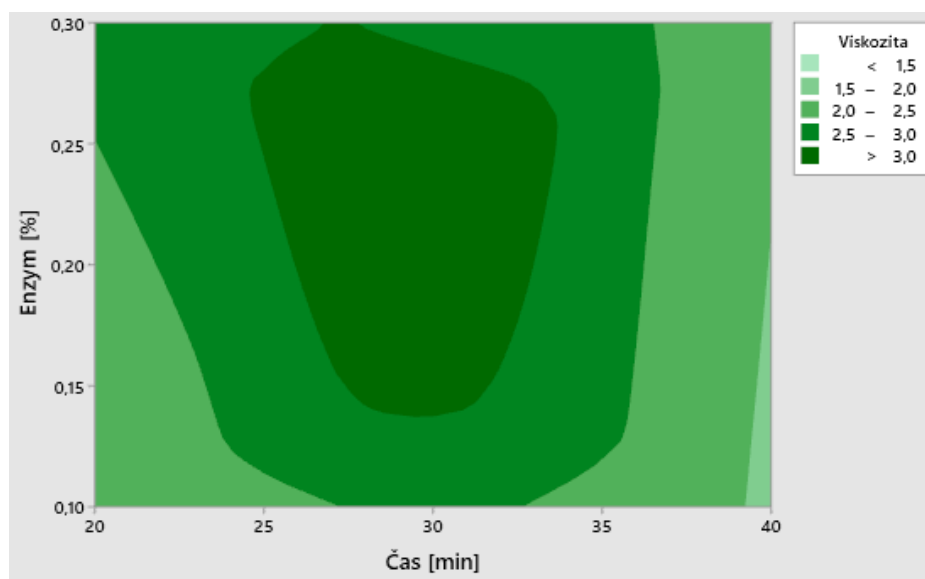
Obrázek č. 33 ukazuje vztah mezi faktory teploty a doby extrakce na pevnost gelu pomocí obrysových grafů. Z diagramu je patrné, že můžeme pozorovat nejvyšší pevnosti gelu u centrálního (středového) experimentu při teplotě 52–59 °C a dobou 25–35 minut.

10.5.2 Dynamická viskozita

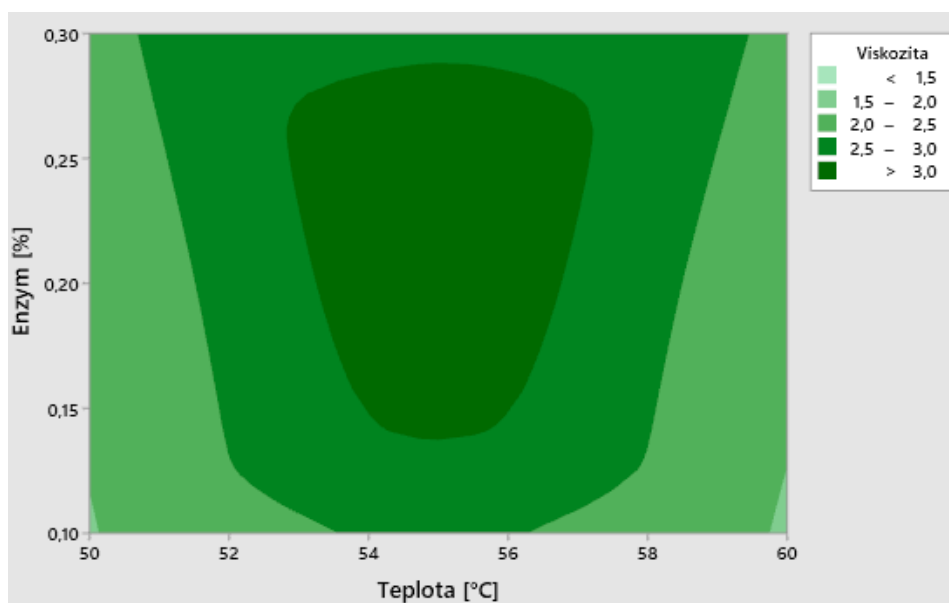
Regresní rovnice viskozity gelu u 2. frakce:

Dynamická viskozita [mPa·s] = 2,38 + 2,05 Faktor A - 0,0000 Faktor B - 0,0173 Faktor C

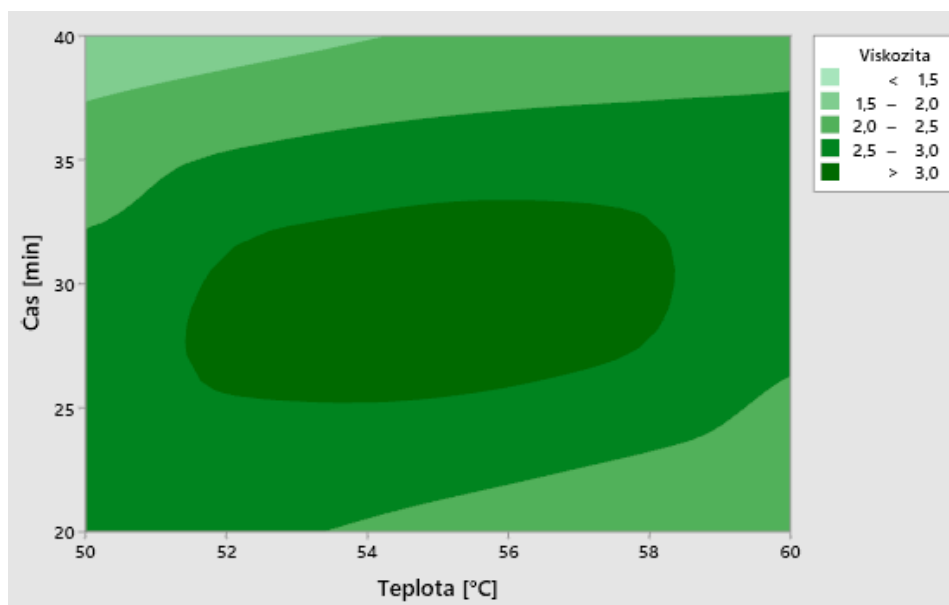
Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,484, pro faktor B 0,98 a pro faktor C 0,553. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že žádný z faktorů neměl významný vliv na viskozitu želatiny.



Obrázek č. 34: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na viskozitu 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 35: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty na viskozitu 2. frakce želatinového gelu



Obrázek č. 36: Vrstevnicový graf vlivu množství času a teploty na viskozitu 2. frakce želatinového gelu.

Vrstevnicový diagram, který je zobrazen na obrázku č. 34, ilustruje vliv množství enzymu (Faktor A) a času (Faktor C). Optimalizované množství enzymu se nachází v rozmezí 0,15 - 0,3 % pro Faktor A, kde pozorujeme mírný nárůst výtěžnosti až k hodnotě 0,27 %, kde dosahuje svého maxima. V případě teplotních hodnot vykazuje viskozita nejvyšší úroveň v rozmezí teplot 25–32 °C.

Obdobný trend je patrný i na obrázku č. 35, kde je znázorněn vliv množství enzymu (Faktor A) a teploty (Faktor B). Diagram se jeví jako osově symetrický podle osy faktoru A, pokud osa prochází středem osy faktoru B. Nejvyšší hodnoty viskozity želatin jsou dosaženy při teplotách 54–56 °C, avšak pouze při nižší hranici množství enzymu, které činí 0,15 %. Podobné hodnoty viskozity gelů lze dosáhnout i při širším rozsahu teplot, konkrétně 53–57 °C, ale vyžaduje to zvýšení množství enzymu na hodnotu 0,25 – 0,28 %.

A velmi podobný trend jako byl popsán na obrázku č. 33 v případě pevnosti gelu, se nachází na obrázku č. 36. Pozorujeme vliv extrakční teploty a doby extrakce na želatínu viskozitě. Z diagramu je patrné, že můžeme pozorovat nejvyšší pevnosti gelu u centrálního (středového) experimentu při teplotě 52–58 °C a dobou 25–32 minut.

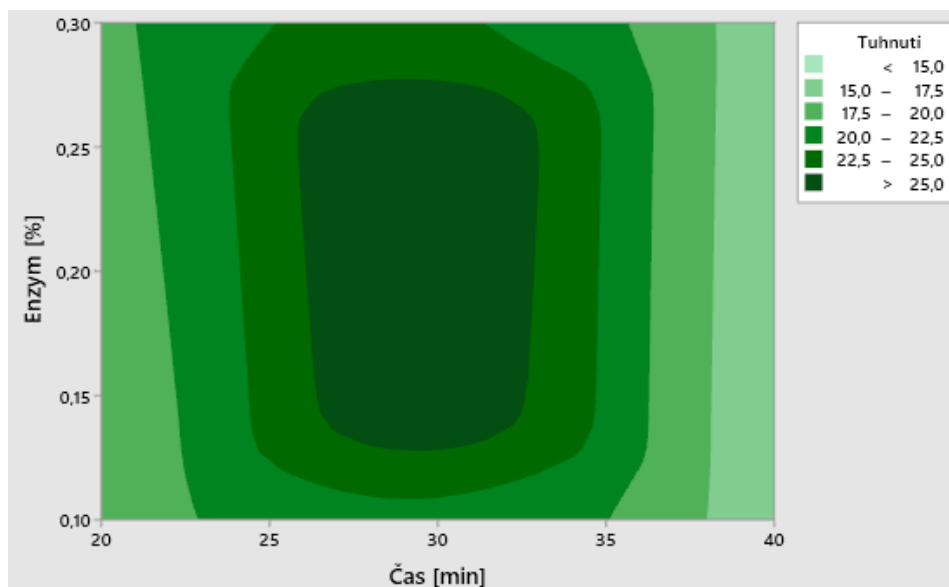
Z mých výsledků je patrné, že viskozita jednotlivých želatin se lineárně zvyšuje v závislosti na pevnosti gelu. Připravené želatiny mají dynamickou viskozitu v rozmezí 1,22 – 3,14 mPa·s. Malá odchylka nastala u experimentu 1. a 7., kdy pevnost gelu u experimentu 1. je nižší o pár desetín, avšak má vyšší viskozitu, než je tomu u experimentu č. 7. Takhle odchylka není nijak výrazná a nenarušila ostatní výsledky analýz.

10.5.3 Bod tuhnutí

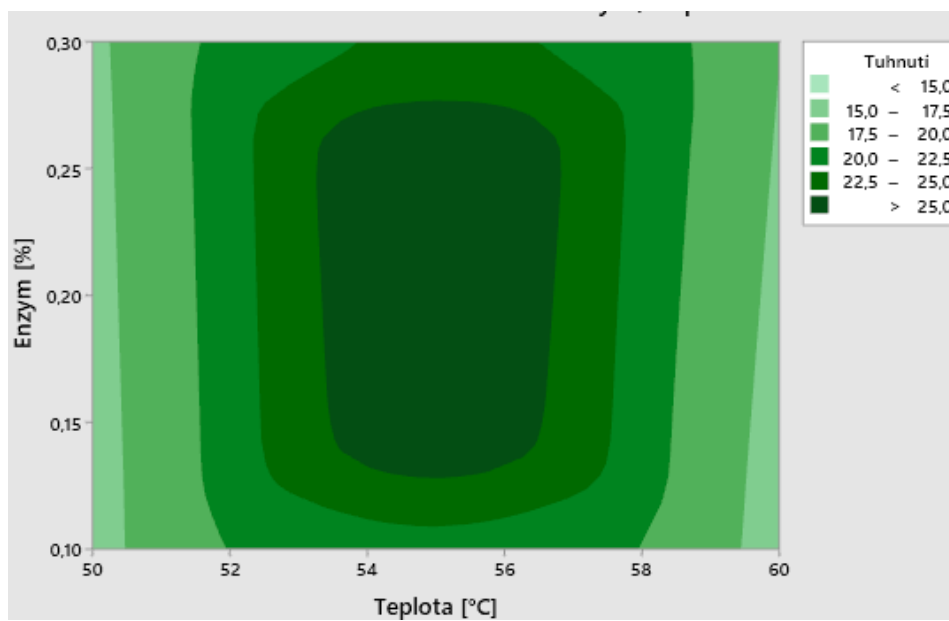
Regresní rovnice bodu tuhnutí u 2. frakce:

$$\text{Bod tuhnutí [°C]} = 20,5 + 4,3 \text{ Faktor A} + 0,020 \text{ Faktor B} - 0,152 \text{ Faktor C}$$

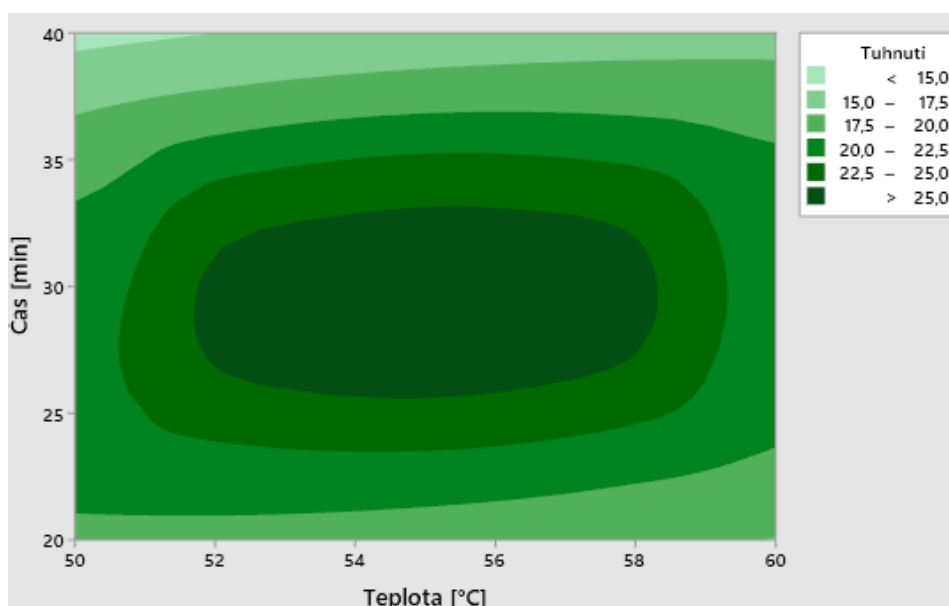
Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,803, pro faktor B 0,953 a pro faktor C 0,390. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že žádný z faktorů neměl významný vliv na viskozitu želatiny.



Obrázek č. 37: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na teplotu tuhnutí 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 38: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty na teplotu tuhnutí 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 39: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na teplotu tuhnutí
2. frakce želatinového gelu.

Vrstevnicový diagram, který je zobrazen na obrázku č. 37 ilustruje vliv množství enzymu (Faktor A) a času (Faktor C) na teplotu tuhnutí. Optimalizované množství pro enzymu teplotu tuhnutí se nachází v rozmezí 0,13 - 0,27 % pro Faktor A. V případě časových hodnot faktoru C vykazuje bod tuhnutí želatin nejvyšší hodnoty v rozmezí teplot 27–33 minut. Krajní hodnoty zmíněného intervalu času vyžadují množství enzymu 0,22 % a víc. Můžeme také pozorovat pokles bodu tuhnutí v krajních hodnotách času extrakce.

Podobný trend je pozorovatelný i na obrázku č. 38, kde je znázorněn vliv množství enzymu (Faktor A) a teploty (Faktor B). Diagram má osovou symetrii vzhledem k ose Faktoru A, pokud osa souměrnosti prochází středem osy Faktoru B. Nejvyšší hodnoty teplot tuhnutí jsou dosaženy při teplotách extrakce faktoru B 53–57 °C, ale pouze při vyšším množství enzymu, které činí 0,27 %. U faktoru B můžeme pozorovat mírný rozptyl středového optima v závislosti na rostoucím množství faktoru A.

Na obrázku č. 39 můžeme pozorovat vliv závislosti času (Faktor C) a teploty (Faktor B) na teplotě tuhnutí. Optimum teploty tuhnutí připravených želatin, se nachází na obrázku č. 39. ve středu diagramu, kdy můžeme pozorovat eliptický útvar zploštěný podle faktoru B. Z diagramu je patrné, že můžeme pozorovat optimum u centrálního (středového) experimentu při teplotě extrakce 52–58 °C a dobou 25–32 minut.

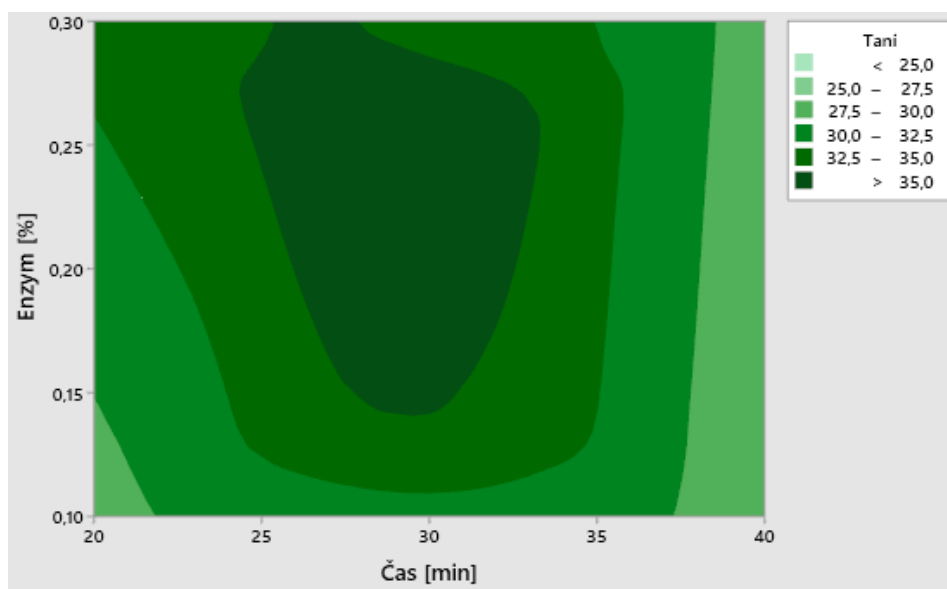
Na teplotu tuhnutí nemá zásadní vliv změny sledovaných procesních podmínek. Teploty tuhnutí experimentů 1-8 se pohybují v rozmezí 15,0 až 20 °C, avšak už exp. č. 9 byla teplota tuhnutí 26,2 °C a želatina mi gelovatěla již při pokojové teplotě.

10.5.4 Bod tání

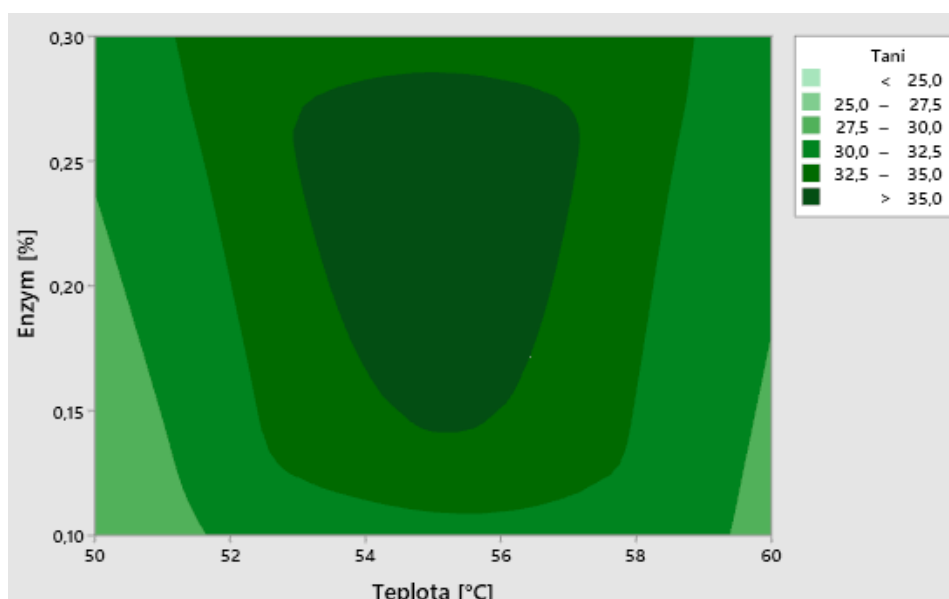
Regresní rovnice bodu tání u 2. frakce:

$$\text{Bod tání [}^{\circ}\text{C]} = 27,9 + 12,5 \text{ Faktor A} + 0,075 \text{ Faktor B} - 0,135 \text{ Faktor C}$$

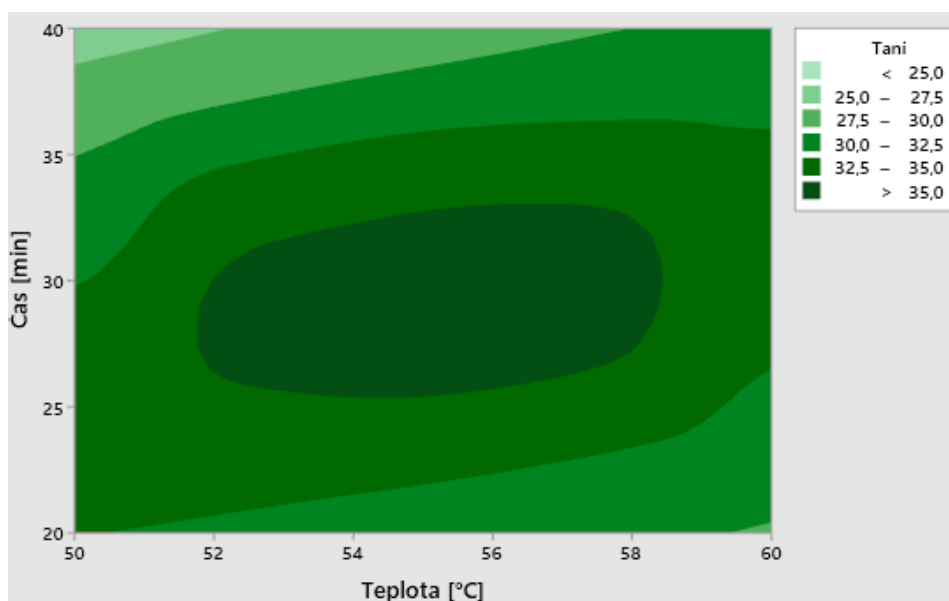
Podle p-faktoru byla hladina významnosti pro faktor A 0,462, pro faktor B 0,821 a pro faktor C 0,429. S pravděpodobností 95 % můžeme říci, že žádný z faktorů neměl významný vliv na viskozitu želatiny.



Obrázek č. 40: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na teplotu tání 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 41: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na teplotu tání 2. frakce želatinového gelu.



Obrázek č. 42: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na teplotu tání 2. frakce želatinového gelu.

Na obrázku č. 40 je zobrazen vrstevnicový graf znázorňující vliv množství enzymu a doby extrakce na teplotě tání. Nejvyšší teplota tání byla pozorována v rozmezí doby extrakce 27-32 minut při množství enzymu 0,15 %. S narůstající hodnotou množství enzymu v rozsahu 0,25-0,27 % se rozsah doby extrakce také zvětšuje na hodnoty 25-33 minut.

Na vrstevnicovém grafu zobrazeném na obrázku č. 41 je prezentován vliv množství enzymu a teploty extrakce na teplotu tání želatinového gelu. Nejvyšší teplota tání byla pozorována při teplotě extrakce 54–56 °C a při použití 0,15 % množství enzymu. Toto optimální nastavení se zlepšuje s narůstajícím množstvím enzymu až na hodnotu 0,27 %, kdy teploty extrakce dosahují 53–57 °C.

Na vrstevnicovém grafu znázorněném na obrázku č. 42 je patrný vliv interakce teploty a času na teplotu tání gelu. Optimum výsledného grafu se nachází ve střední hodnotě obou faktorů. Pro dosažení maximální teploty tání gelu je nezbytné, aby teplota extrakce oscillovala mezi 52–58 °C a doba extrakce mezi 25–33 minutami. V této kombinaci faktorů rovněž pozorujeme minimální teploty tání, přičemž právě maximální doba extrakce a minimální teplota extrakce dosahují nejmenších hodnot teploty tání.

Pokud bychom porovnali diagramy charakterizující teplotu tání s obr. 31–33, což jsou vrstevnaté grafy pevnosti gelu, viděli bychom, že se v podstatě kopírují. Neboli s vyšší pevností gelu bylo dosahováno vyšší teploty tání gelu a naopak. Teploty tání exp. 1-9 se pohybovaly v rozmezí 23,6 – 35,7 °C a právě želatiny s malými hodnotami pevnosti gelu táli již při pokojové teplotě. Na druhé straně exp. 9 vykazuje vysokou hodnotu teploty tání a to 35,7 °C.

10.6 Celkový vliv extrakce na surovinu

Porovnáme-li výtěžky želatin 1-3 frakce připravených podle našeho inovativního a ekologického postupu, zjistíme, že výtěžky jsou vyšší než výtěžky želatin komerčně navrhovaným postupem, který se skládá z demineralizace výchozí suroviny, enzymové kolagenu, a třístupňové extrakce želatiny podle Taguchiho návrhu se slepým experimentem za podmínek odpovídajících středním hodnotám sledovaných faktorů bez enzymové úpravy kolagenu (viz exp. č. 10 v kapitole 10.1). Je zřejmé, že inovativní metoda kondicionování kolagenu má zásadní vliv na výtěžnost želatiny. Celkový výtěžek želatiny ve slepém pokusu činí pouze 18 %, což představuje přibližně třikrát nižší výtěžnost než u želatiny extrahované za stejných technologických podmínek (exp. č. 8) s enzymatickou úpravou kolagenu.

11 Návrh optimálních procesních podmínek přípravy želatin z kachních žaludků

Hlavním záměrem této diplomové práce bylo stanovit optimální podmínky pro výrobu želatin nejvyšší možné kvality. Optimalizace procesních podmínek je esenciální pro zajištění maximální efektivity extrakce a kvality finálního produktu. V rámci studie bylo na základě Taguchiho metodologie a s využitím slepého experimentu realizováno 9 experimentálních testů. Tyto testy se odlišovaly v množství použitého enzymu, označeném jako faktor A (0,1–0,2–0,3 %), teplotě extrakce první frakce, označené jako faktor B (50–55–60 °C), a délce extrakce první frakce, označené jako faktor C (20–30–40 minut). Tyto proměnné byly analyzovány s cílem posoudit jejich dopad na pevnost gelu, efektivitu extrakce, teplotu tání, teplotu tuhnutí a viskozitu. Pevnost gelu a teplota tání jsou považovány za zásadní indikátory kvality želatiny.

Nejvyšší pevnost gelu byla zaznamenána u druhé frakce v experimentu č. 9, kde bylo použito 0,2 % enzymu a extrakce probíhala 45 minut při teplotě 70 °C. Je rovněž podstatné zmínit faktory B a C u experimentu č. 9, které dosahovaly hodnot 55 °C a 30 minut. Tyto hodnoty jsou klíčové kvůli tepelné historii zpracování první frakce, která má výrazný vliv na konečnou pevnost gelu a teplotu tání gelů druhé frakce. Pevnost gelu v experimentu č. 9 dosáhla 290 Bloom. Vysoká kvalita želatiny byla také naměřena u třetí frakce experimentu č. 9 (pevnost gelu 241 Bloom), druhé frakce experimentů č. 1 a 7 (pevnost gelu 194 Bloom). Vzhledem k nižším hodnotám pevnosti želatinového gelu první frakce je preferováno zaměření na maximalizaci extrakce druhé frakce želatiny, kde optimální podmínky zahrnují 0,19–0,28 % množství enzymu, teplotu extrakce 54–56 °C a dobu extrakce 24 – 26 minut.

Nejvyšší teplota tání byla zaznamenána u druhé frakce experimentu č. 9, kde dosáhla 35,7 °C. Třetí frakce tohoto experimentu také vykázala poměrně vysokou teplotu tání, a to 33,9 °C. Další významné hodnoty teploty tání byly zjištěny u druhé frakce experimentu č. 7, kde teplota tání činila 33,7 °C, u druhé frakce experimentu č. 5 s teplotou tání 33 °C a u druhé frakce experimentu č. 1 s teplotou tání 32,1 °C.

Z vrstevnicových diagramů (viz. kapitola 10.5.1) lze určit optimální podmínky pro dosažení nejvyšší pevnosti želatinového gelu. Optimální množství enzymu (faktor A) se pohybuje v rozmezí 0,14–0,27 %, teplota extrakce (faktor B) je optimální v rozmezí od 53 do 56 °C a doba extrakce se pohybuje od 26 do 34 minut. Pro teplotu tání želatinového gelu jsou optimální

podmínky množství enzymu 0,15-0,27 %, teplota extrakce 53-57 °C a doba extrakce 26–33 minut.

Nejvyšší hodnota extrakční účinnosti byla 58,98 %. Hodnota byla zaznamenána v experimentu č. 8, kde byly procesní podmínky nastaveny na 0,3 % enzymu (faktor A), teplotu extrakce 60 °C (faktor B) a dobu extrahování 40 minut (faktor C). Tento výsledek koresponduje s grafickým znázorněním optimálních podmínek pro extrakční účinnost. Optimální množství enzymu bylo identifikováno v rozmezí 0,25-0,3 %, teplota extrahování 58–60 °C a doba extrahování v rozsahu 27–40 minut.

Vzhledem k analýzám jednotlivých hodnot bych určil množství enzymu na 0,25-0,27 %, teplotu extrakce na 54-56 °C a dobu extrakce na 27 minut. Tyto parametry byly zvoleny pro maximalizaci výtěžku druhé frakce, která by měla poskytnout kvalitní želatiny s teplotou tání mezi 35 a 33 °C a pevností gelu v rozmezí 200–250 Bloom.

12 Diskuze

Sompie a kol. zkoumali extrakci z kůže z kuřecích stehen za měnící se teploty a následně zkoumali rozdíly ve výtěžku jednotlivých frakcí. Želatina byla před upravena kyselou cestou po dobu 24 hodin pomocí kyseliny octové. Následovala úprava pH a extrakce, která probíhala v rozmezí teplot 50-65 °C (konkrétně 50-55-60-65°C) a trvala 5 hodin pro každou teplotu. Výtěžek jednotlivých frakcí se jim pohyboval v rozmezí 12-14 % a celkový výtěžek 53 % a pevnost gelu získaných želatin byla 79 Bloom. [46]

Další studie se věnovala přípravě želatin z kůže ryb, konkrétně z žraloka žlutého. Želatina byla před upravena alkalickou cestou, kdy kousky kůže byly naloženy v polyethylenu s přídavkem ledové vody po dobu dvou měsíců. Výtěžek byl 19,7 %, pevnost gelu připravených želatin byla 206 Bloom. Byl také charakterizován bod tání, který činil 24,2 °C a bod tuhnutí byl 18,7 °C. [47]

Další studie zkoumala extrakci želatiny z kachních nohou. Kachní nohy byly zprvopočátku rozsekány a zbaveny tuku pomocí butanolu po dobu 12 hodin. Následně byla surovina zpracována kyselým způsobem pomocí 0,1 M kyseliny octové. Extrakce probíhala při teplotě 75 °C po dobu 2 hodin. Výtěžek želatiny z kachních nohou byl 3,97 %. Pevnost gelu želatiny byla 334 Bloom. [48]

Jridi a kol. zabývali extrakcí želatiny z kůže chobotnice pobřežní. Opracování probíhalo alkalickou cestou pomocí pepsinu o různých koncentracích po dobu 4 hodin a teplotě °C Poté došlo k přidávku 10 M NaOH po dobu 1 hodiny. Extrakce probíhala při teplotě 40 °C po dobu 4 hodin. Výsledné želatiny poskytovali pevnost gelu 201 Bloom, měli teplotu tuhnutí 17,5 °C a teplotu tání 22,4 °C. [49]

Další studie se zabývala přípravou želatiny z kůže brojlerů. Kůže byla nasekána a odtučněna pomocí Soxhletovy metody. Dále vzorky byly opracovány 15 % NaOH po dobu 30 minut. Poté byla surovina vystavena 0,15% H₂SO₄ a 0,7 % kyselině citronové. Extrakce probíhala při pokojové teplotě. Výsledné želatiny měly pevnost gelu 166 Bloom, teplotu tání 33,6 °C. [50]

Tabulka 11: Porovnání vlastností želatin s dalšími literárními studiemi

Zdroj	Surovina	Předprava	Výtěžnost [%]	Pevnost gelu [Bloom]	Teplota tání [°C]	Teplota tuhnutí [°C]
DP	Kachní žaludky	Protamex - enzym	58,98	294	35,7	26,2
[46]	Kůže z kuřecích stehen	Kys octová	14,5	79	-	-
[47]	Kůže – žralok žlutý	Alkalická polyethylen	19,7	207	24,2	18,7
[48]	Kachní nohy	Kys. octová	3,97	334	-	-
[49]	Kůže chobotnice pobřežní	Pepsin + NaOH	7,78	206	22,4	17,5
[50]	Brojler - kůže	Kys. Sírová + kys. citronová	6,5	166	33,6	-

Tabulka č. 11 obsahuje přehled zkoumaných parametrů a vlastností želatin vyrobených v rámci této diplomové práce a jejich srovnání s literárními zdroji. Z tabulky je zřejmé, že nejvyšší výtěžnost želatin byla dosažena při zpracování kachních žaludků v této práci, přičemž celková výtěžnost dosáhla až 58,98 %. Naopak nejnižší výtěžnost byla zaznamenána u želatin z kachních nohou, a to pouze 3,97 %. I přesto však tato želatina dosahovala vynikající pevnosti gelu, která činila 334 Bloom. Gelová pevnost mého experimentu s kachními žaludky dosáhla hodnoty 294 Bloom. Další vysoké hodnoty pevnosti gelu byly pozorovány u želatin z kůže žraloka žlutého a chobotnice pobřežní a to konkrétně 207 a 206 Bloom. Nejvyšší teplota tání byla zaznamenána u mého experimentu s kachními žaludky, a to 35,7 °C, což představuje nejvyšší hodnotu ze všech zkoumaných želatin. Další vysokou hodnotu teploty tání vykazovaly želatin z kůže brojlerů, kde dosahovala 33,6 °C. Želatina z kachních žaludků začala tuhnut již při teplotě 26,2 °C, přičemž nejnižší teplotu tuhnutí vykazovala želatina z kůže chobotnice pobřežní.

13 Přínos pro praxi

Želatina, jako vysokomolekulární polypeptid, je celosvětově známá svými unikátními fyzikálními a chemickými vlastnostmi, včetně hydrofilicity, schopnosti želatinizace a povrchové aktivity, což ji činí velmi užitečnou ve více průmyslových odvětvích. Tyto vlastnosti jsou klíčová nejen v potravinářství, kde želatina slouží jako stabilizátor, ale i v kosmetickém průmyslu, kde je využívána pro svou schopnost vytvářet konzistenci a texturu produktů. Navíc, díky své schopnosti želatinizace, se stává důležitou složkou v biopolymerech a fotosenzitivních materiálech. Je zásadní pro výrobu masných produktů, jelikož pomáhá zadržovat vodu a poskytuje strukturu, která je nezbytná pro uchování tvaru a optimalizaci tepelného zpracování.

Želatina je bílkovinná látka, která se vyznačuje svou schopností rozpouštět se ve vodě. Proces její přípravy zahrnuje destrukci terciární, sekundární a v menší míře primární struktury kolagenů, které jsou základními surovinami pro výrobu želatin. Je nám známo, že želatinu se připravují komerčně dvěma užívanými metodami v závislosti na druhu vstupní suroviny. [40]

Želatina typu A se připravuje pomocí kyseliny. Proces zahrnuje několik kroků. Nejprve jsou živočišné vstupní suroviny (vepřové kůže) podrobeny hydrolytickému procesu, který rozkládá kolagenová vlákna na menší peptidy. To je umožněno použitím anorganických kyselin, jakými jsou kyselina sírová, kyselina chlorovodíková, případně fosforečná. Tento proces trvá 12-40

hodin v závislosti na druhu suroviny. Poté je tento hydrolyzovaný materiál podroben úpravě pH a následné extrakci s kyselinou za určitých teplotních a časových podmínek.

Želatina typu B je získávána alkálií. Nejprve jsou živočišné suroviny (hovězí kůže a kosti) podrobeny hydrolytickému procesu, který rozkládá kolagen pomocí roztoku hydroxidu vápenatého po dobu 4–20 týdnů. Poté stejně jako u želatiny typu A je tento hydrolyzovaný materiál podroben extrakci s alkálií za dané teploty a času.

Většina želatiny se vyrábí celosvětově z vepřové kůže (41 %), hovězí kůže (28,5 %) a hovězích kostí (29,5 %) a pouze asi 1 % pochází z jiných alternativních zdrojů, jako jsou ryby, hmyz či drůbež. [41]

Experimentální část diplomové práce se zabývá zpracováním kachních žaludků na želatinové, případně hydrolyzátové produkty pomocí enzymu Protamex, který uskutečňuje enzymovou reakci s vstupní surovinou s vysokou účinností a již při mírných reakčních podmínkách.

Nejprve byl z vstupní surovin získán nativní kolagen. To bylo dosaženo několikanásobným promýváním v roztoku NaOH při pokojové teplotě. Následně probíhalo sušení a odtučnění pomocí směsi rozpouštědel petrolether/ethanol v poměru 1:1. Připravený kolagen byl opracován pomocí enzymu podle faktoru A (0,1-0,3 %) a smíchán s vodou v poměru 1:10. Bylo nutné udržovat pH pomocí 3 % HCl v rozsahu 6,5 – 7. Enzymové opracování probíhalo 22 hodin při teplotě 8 °C. Následná extrakce poté probíhala za teploty stanovené faktorem B (50–60 °C) a po dobu stanovenou faktorem C (20–40 minut). Výsledné želatiny byly usušeny a uskladněny.

Porovnáme-li komerčně užívané metody s použitou metodou v experimentu, tak zjistíme, že experimentální metoda představuje hned několik výhod. Hlavní výhodou je čas, kdy při porovnání metod přípravy želatiny B vůči enzymatickému opracování, jde o enormní úsporu času a v porovnání přípravy želatiny typu A jde o úsporu času až 50 %. Další výhodou jsou ekonomické a ekologické faktory, kdy spotřeba materiálu na opracování (enzymu) je malá v přepočtu na sušinu materiálu, kdežto u přípravy želatin A a B je velká spotřeba roztoku kyselin a alkálií, které nejsou ekologického typu. Další významnou výhodou je původ materiálu, který je opravdu levný, kafilerie se jej zbavují, což by mohlo vést k minimalizaci průmyslového odpadu a maximální využití vedlejších produktů drůbeže.

Návrhy na pokračování dalšího výzkumu

Další fáze výzkumu extrakce želatiny z kachních žaludků by mohla směřovat k důkladnějšímu zkoumání a optimalizaci extrakčních podmínek, s cílem dosáhnout ještě vyšší kvality želatin. Další aspekt by se mohl soustředit na detailnější analýzu vlastností želatin získaných z 3. frakce, jak již bylo uvedeno v této práci. Rovněž by bylo vhodné provést podrobnější charakterizaci aminokyselinového složení těchto želatin, případně molekulovou hmotnost, aby došlo k navýšení potenciálu těchto želatin. Za zmínku stojí také zvážit jejich potenciál pro aplikaci v průmyslovém měřítku, zejména pokud jde o jejich pevnostní vlastnosti želatinového gelu.

Závěr

Diplomová práce s názvem "Zpracování drůbežích tkání na kolagenní produkty" poskytla komplexní pohled na procesy a technologie spojené se zpracováním drůbežích tkání a jejich transformací na kolagenní produkty, které nacházejí široké uplatnění v různých průmyslových odvětvích.

Práce byla strukturovaná do dvou hlavních částí: teoretické a experimentální, které společně přispěly k hlubokému porozumění tématu.

V teoretické části byly detailně prozkoumány různé aspekty zpracování drůbeže, od sběru, transportu, vykládky a porážky, až po spotřebu a produkci drůbežního masa. Bylo zdůrazněno, jak významnou roli hraje správné nakládání s vedlejšími živočišnými produkty, které jsou často opomíjeným zdrojem hodnotných materiálů, případně v jakých aplikacích mohou být efektivně využívány a transformovány na užitečné produkty. V teoretické části byla také věnována značná pozornost kolagenu a želatině, jejich složení, typům, využití a inovativním aplikacím. Kapitola o kolagenu detailně popisovala jeho biochemické složení a strukturu, což je zásadní pro pochopení jeho funkcí a vlastností. Byly rozebrány různé typy kolagenu, které se vyskytují v různých tkáních a mají odlišné fyzikální a chemické charakteristiky, což ovlivňuje jejich průmyslové využití. Želatina, která je derivátem kolagenu, byla rovněž podrobně prozkoumána. Byly popsány její klíčové vlastnosti, jako jsou gelovací schopnosti, viskozita a teplota tání, které jsou kritické pro její průmyslové aplikace.

Experimentální část se zaměřila na praktické aspekty přípravy kolagenu, hydrolyzátu kolagenu a želatin z kachních žaludků a hodnocení kvality výsledných produktů. Byly popsány metodiky přípravy těchto produktů a provedeny analýzy vstupní suroviny, meziproductů a konečných produktů. Tyto analýzy poskytly základní informace o chemickém složení suroviny, což bylo klíčové pro optimalizaci extrakčních podmínek. Byly také měřeny klíčové vlastnosti želatin, jako jsou pevnost gelu, dynamická viskozita, teplota tuhnutí a tání. Tyto parametry byly klíčové pro posouzení funkčních vlastností želatin a jejich potenciálního využití v průmyslových aplikacích.

Výsledky experimentální části ukázaly, že procesní podmínky mají zásadní vliv na kvalitu a výtěžnost želatinových produktů. Byly navrženy podmínky pro extrakci želatiny dle Taguchiho schématu, které zahrnovaly specifické koncentrace enzymu (Faktor A), teploty (Faktor B) a doby extrakce (Faktor C). Tyto podmínky byly navrženy tak, aby maximalizovaly výtěžek a

zároveň zachovaly nebo zlepšily fyzikálně-chemické vlastnosti želatin, jako jsou pevnost gelu, viskozita a teploty tuhnutí a tání.

Práce je příspěvkem k řešení problematiky environmentálních aspektů biomateriálů. Bylo prokázáno, že při vhodné volbě inovativní technologie zpracování s využitím Taguchiho designu jako moderní metody plánování experimentů je, že i z netradičního zdroje kolagenu lze získat želatinu různé kvality. Ty jsou srovnatelné s tradičními vepřovými a hovězí želatinou.

Celkově diplomová práce přinesla cenné poznatky o možnostech zpracování drůbežích vedlejších produktů na kolagenní produkty a představila metodiky, které mohou být aplikovány pro zlepšení udržitelnosti a efektivity v masném průmyslu. Výsledky této práce mohou sloužit jako základ pro další výzkum a rozvoj v oblasti využití živočišných vedlejších produktů, což přispěje k lepšímu využití zdrojů a snížení odpadu v potravinářském průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Barbut, S., 2015. *The Science of Poultry and Meat Processing*. University of Guelph. ISBN: 9780889556263
- [2] Mead, G.C. (ed.), 2004. *Poultry Meat Processing and Quality*. Woodhead Publishing. ISBN: 978-1855737273
- [3] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1774/2002 ze dne 3. října 2002 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu, které nejsou určeny pro lidskou spotřebu, 2002. Online. Esipa. Dostupné z: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=SB&CP=32002R1774>. [cit. 2024-04-13].
- [4] *Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and repealing Regulation (EC) No 1774/2002 (Animal by-products Regulation)*, 2009. Online. EUR-Lex. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2009/1069/oj>. [cit. 2024-04-9].
- [5] *Inovace výuky studijních veterinárních programů v oblasti bezpečnosti potravin*, 2011. Online. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/Brozura-tisk.pdf>. [cit. 2023-03-10].
- [6] SVOBODOVÁ, Irena, 2014. *Vybrané kapitoly z veterinární prohlídky jatečných zvířat a masa*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN:978-80-7305-690-2.
- [7] *Krmiva, vedlejší živočišné produkty a veterinární asanace*, 2015. Online. Státní veterinární správa. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/krmiva-vzp-asanace/>. [cit. 2024-03-12].
- [8] DIKEMAN, Michael a DEVINE, Carrick, 2014. *Encyclopedia of Meat Sciences*. 2nd edition. Penn State University, PA, USA. ISBN 978-0-12-384734-8.
- [9] JAYATHILAKAN, K. et al., 2012. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Association of Food Scientists & Technologists*. Roč. 2012, č. 49, s. 278–293.
- [10] LASEKAN, A. et al., 2013. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. In: *Waste Management*. 33. Elsevier, s. 552–565.

- [11] MOKREJŠ, P. & Langmaier, F., 2008. *Aplikace přírodních polymerů*, Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 1 vydání. ISBN 978-80-7318-674-6
- [12] CARRERA-ALVARADO, Gisela, 2022. DPP-IV Inhibitory Peptides GPF, IGL, and GGGW Obtained from Chicken Blood Hydrolysates. *International Journal of Molecular Sciences*. Roč. 2022, s. 12. Dostupné z <https://doi.org/10.3390/ijms232214140> [cit. 2024-03-10]
- [13] NADALIAN, M., 2013. Extraction and Characterization of Elastin from Poultry Skin. Online. AIP Publishing. S. 692-695. Dostupné z: <https://doi.org/10.1063/1.4858735>. [cit. 2024-04-27].
- [14] YUSOP, S. M., 2016. Production of Antihypertensive Elastin Peptides from Waste Poultry Skin. Online. *International Journal of Food Engineering*. Č. 2, s. 21-25. [cit. 2024-04-27].
- [15] BRANDELLI, A., 2015. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. Online. *Food Research International*. Č. 73, s. 3-12. [cit. 2024-04-27].
- [16] TESFAYE, T., 2017. Valorisation of chicken feathers: Application in paper production. Online. *Journal of Cleaner Production*. Č. 164, s. 6. [cit. 2024-04-27].
- [17] MAGDELAINE, P. et al, 2008. Poultry meat consumption trends in Europe. Online. *World's Poultry Science Association*. Roč. 2008, č. 64, s. 53-63. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.1017/S0043933907001717>. [cit. 2023-03-20].
- [18] HENCHION, M. et al., 2014. Meat consumption: Trends and quality matters. Online. *Meat Science*. Roč. 2014, č. 98, s. 561568. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.007> [cit. 2023-03-18].
- [19] DASHÖFER, Verlag, 2019. *1069/2009, Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, k 15. 7. 2019*. Online. Potraviny info. Dostupné z: <https://www.potravinyinfo.cz/33/1069-2009-narizeni-evropskeho-parlamentu-a-rady-es-o-hygienickych-pravidlech-pro-vedlejsi-produkty-zivocisneho-puvodu-a-ziskane-produkty-ktere-nejsou-urceny-k-lidske-spotrebe-k-15-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EstVtRjpnQxZTcXGGIzq0yukukZUzLWmsA/>. [cit. 2023-03-23].
- [20] KULKARNI, V. 2015. Utilization of by-products and waste materials from meat and poultry, *National Research Centre on Meat*, 2015

- [21] HOCKING, P.M, 2007. Haematology and blood composition at two ambient temperatures in genetically fat and lean adult broiler breeder females fed ad libitum or restricted throughout life. Online. In: *British Poultry Science*. 35. S. 799-807. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00071669408417744> [cit. 2023-03-19].
- [23] OCKERMAN, H.W a HANSEN, C.L, 2000. *Animal by-product processing and utilization, Technomic*. CRC PRes. ISBN 9781566767774.
- [24] KAMENÍK, Josef; JANŠTOVÁ, Bohumíra a SALÁKOVÁ, Alena, 2014. *Technologie a hygiena potravin živočišného původu*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 9788073057220.
- [25] CORNELIA, M. a GOZALI, D. P., 2018. The Utilization of Chicken Bone Flour as a Source of Calcium in Cookies Making. In: *Reaktor*. Department of Food Technology, Faculty of Science and Technology, Pelita Harapan University 18. S. 31-37.
- [26] OFORI, Jack Appiah a HSIEH, Yun-Hwa Peggy, 2011. Blood-derived products for human consumption. Online. In: *Revelation and Science*. Vol. 1 No. 01 (2011). Department of Nutrition, Food and Exercise Sciences, Florida State University, Tallahassee, Florid, s. 14-21. Dostupné z: <https://journals.iium.edu.my/revival/index.php/revival/article/view/15/3>. [cit. 2024-04-11].
- [27] OCKERMAN, Herbert W a BASU, Lopa, 2017. Edible By-products. Online. In: *Lawrie's Meat Science*. S. 679 - 695. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00022-4> [cit. 2024-04-11].
- [28] HYLAND, D., 2016. *The Amazing History of Collagen*. Online. Theredthree. Dostupné z: <https://theredtree.co.uk/articles/the-amazing-history-of-collagen/>. [cit. 2023-05-11].
- [29] SCHRIEBER, R. a GAREIS, H., 2007. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. ISBN 978-3-527-61097-6.
- [30] KHASHNOODI, J, 2006. Molecular Recognition in the Assembly of Collagens: Terminal Noncollagenous Domains Are Key Recognition Modules in the Formation of Triple Helical Protomers. *The Journal of Biological Chemistry*. Svazek 281, č. 50, s. 38117-38121. . Dostupné z doi: 10.1074/jbc.R600025200
- [31] KONRÁDOVÁ, V., 2000. *Funkční histologie*. 2. vyd. Jinočany: H & H. ISBN 80-86022-80-3.

- [32] LODISH, H., et al., 2000. *Molecular Cell Biology*. 5th edition. New York: Freeman. ISBN 10: 0-7167-3136-3.
- [33] MAŇÁSKOVÁ, D., 2011. *Druhy kolagenu*. Online. Dostupné z: <https://medicinman.cz/?p=nemoci-sympt/TKANE/kolagen-vazivo/druhy-kolagenu> [cit. 2023-04-29].
- [33] EMERY, J. A., 2016. Viability of tallow inclusion in Atlantic salmon diet, as assessed by an on-farm grow out trial. *Aquaculture*. S. 289-297. ISBN 978-92-5-109185-2.
- [34] BHATTI, H. N., 2008. Biodiesel production from waste tallow. *Fuel*. Č. 87, s. 2961-2966.
- [35] ANTUNES, A., 2019. Optical Properties on Bone Analysis: An Approach to Biomaterials. *Proceedings*. Roč. 27, č. 36. Dostupné z: [doi:10.3390/proceedings2019027036](https://doi.org/10.3390/proceedings2019027036) [cit. 2024-03-29].
- [36] MOKREJŠ, P., 2021. Collagen Hydrolysate Prepared from Chicken By-Product as a Functional Polymer in Cosmetic Formulation. *Molecules*. Č. 26, s. 1-19.
- [37] KIM, S. H., 2016. Fabrication of duck's feet collagen–silk hybrid biomaterial for tissueengineering. *International Journal of Biological Macromolecules*. Č. 85, s. 442-450.
- [38] GU, L., 2019. Novel Biomedical Applications of Crosslinked Collagen. Online. Trends in Biotechnology. S. 1-28. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.007>. [cit. 2024-03-28].
- [39] HAN, Q., 2022. A novel bone gelatin prepared by enzymatic catalysis with 2 high crosslinking activity of MTGase for gelatinization proper-3 ties of minced pork. Online. *Processes*. S. 1-12. [cit. 2024-05-01].
- [40] ATMA, Y., 2020. Fish-based Gelatin. Online. *Researchgate*. S. 57-71. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/348432497_Fish-based_Gelatin#fullTextFileContent. [cit. 2024-05-01].
- [41] ABDALBASIT, A. M., 2013. REVIEW: GELATIN, SOURCE, EXTRACTION AND INDUSTRIAL APPLICATIONS. Online. *Acta Scientiarum Polonorum*. Roč. 12, č. 2, s. 135-147. [cit. 2024-4-25].

- [42] MOKREJŠ, P., MRÁZEK, P., 2019. Biotechnological Preparation of Gelatines from Chicken Feet. Online. *Polymers*. Roč. 11, s. 1-14. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.3390/polym11061060>. [cit. 2024-4-25].
- [43] SOO, P. Y., 2018. Food Packaging and Shelf Life. Online. *Food Packaging and Shelf Life*. Č. 15, s. 1-8. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.12.009>. [cit. 2024-04-13].
- [44] IZEIA, Lukin, 2022. Progress in Gelatin as Biomaterial for Tissue Engineering. Online. *Pharmaceutics*. Č. 14, s. 1-19. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061177>. [cit. 2024-05-02].
- [45] POLITIS S. N., Drug Development and Industrial Pharmacy, 2017, Vol. 43, pp. 889–901, <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1291672>
- [46] SOMPIE, M, 2018. Effect of extraction temperature on characteristics of chicken legskin gelatin, *IOP science*. S. 1-4. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.1088/1755-1315/102/1/012089>. [cit. 2024-04-25].
- [47] K. Shyni, et al., 2014., Food Hydrocolloids, Vol. 39, pp. 68-76, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.food-hyd.2013.12.008>
- [48] MUHAMMAD, N. Effects of acid type extraction on characterization and sensory profile of duck feet gelatin: towards finding bovine gelatin alternative. Online. Journal of Food Measurement and Characterization. Roč. 12. ISSN 2193-4126. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9661-8>. [cit. 2024-05-02].
- [49] JRIDI, M, 2015. Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from the skin of octopus (*Octopus vulgaris*). Online. *LWT - Food Science and Technology*. Č. 60, s. 881-889. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.1016/j.lwt.2014.10.057>. [cit. 2024-05-08].
- [50] AYKIN-DINÇER, E, 2017. Extraction and physicochemical characterization of broiler (*Gallus gallus domesticus*) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin. Online. *Poultry Science*. ISSN 00325791. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.3382/ps/pex237>. [cit. 2024-05-08].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TSE Přenosná spongiformní encefalopatie

NaOH Hydroxid sodný

NaCl Chlorid sodný

VŽP Vedlejší živočišné produkty

ČSÚ Český statistický úřad

DPP-IV Dipeptidylpeptidáza

TEWL Transepidermální ztráta vody

HGC Tvrdé kapsle

SGC Měkké kapsle

XRD Rentgenová difrakční analýza

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Světová produkce drůbežího masa.....	14
Obrázek č. 2: Spotřeba jednotlivých druhů masa v ČR v hodnotě na kostí (kg na obyvatele za rok) (ČSÚ).....	15
Obrázek č. 3 Souhrn obrázků různých poměrů dřevěné buničiny a peří při výrobě papíru....	27
Obrázek č. 4 Lineární vláknité struktury kolagenu	29
Obrázek č. 5: Struktura kolagenního vlákna	30
Obrázek č. 6: Biosyntéza kolagenního vlákna (Převzato: HARVEY L. et al).....	31
Obrázek č. 7 Schéma tří typů kolagenu.....	36
Obrázek č. 8: Syrová vstupní surovina – kachní žaludky	45
Obrázek č. 9: Zpracování kachního separátu na želatinu	46
Obrázek č. 10: Surový kolagen	47
Obrázek č. 11: Hydrolyzát kachního kolagenu	48
Obrázek č. 12: Druhá frakce želatiny po vysušení.....	49
Obrázek č. 13: Stanovení sušiny v koželužských miskách	50
Obrázek č. 14: Kelímek po žihání v muflové peci	51
Obrázek č. 15: Parnas-Wagnerova aparatura	53
Obrázek č. 16: Stevens-LFRA Texture Analyser pro měření pevnosti gelu.....	56
Obrázek č. 17: Přístroj Thermo Haake a Ubbelohdeho viskozimetr pro měření vizkozity	57
Obrázek č. 18: Aparatura pro měření teploty tání	58
Obrázek č. 19: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na celkovou účinnost extrakce	60
Obrázek č. 20 Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na celkovou účinnost extrakce	61
Obrázek č. 21: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na celkovou účinnost extrakce.....	61
Obrázek č. 23: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na účinnost 1. frakce extrakce....	63
Obrázek č. 22: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 1. frakce extrakce.....	63

Obrázek č. 24: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na účinnost 1. frakce extrakce	64
Obrázek č. 25: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 2. frakce extrakce	65
Obrázek č. 27: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 2. frakce extrakce	66
Obrázek č. 26: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na účinnost 2. frakce extrakce	66
Obrázek č. 29: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na účinnost 3. frakce extrakce	68
Obrázek č. 28: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a času na účinnost 3. frakce extrakce	68
Obrázek č. 30: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na účinnost 3. frakce extrakce	69
Obrázek č. 31: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na pevnost 2. frakce želatinového gelu.....	72
Obrázek č. 32: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty na pevnost 2. frakce želatinového gelu.....	73
Obrázek č. 33: Vrstevnicový graf vlivu množství času a teploty na pevnost 2. frakce želatinového gelu.....	73
Obrázek č. 34: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na viskozitu 2. frakce želatinového gelu.....	74
Obrázek č. 35: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty na viskozitu 2. frakce želatinového gelu.....	75
Obrázek č. 36: Vrstevnicový graf vlivu množství času a teploty na viskozitu 2. frakce želatinového gelu.....	75
Obrázek č. 37: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na teplotu tuhnutí 2. frakce želatinového gelu.....	77
Obrázek č. 38: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a teploty na teplotu tuhnutí 2. frakce želatinového gelu.....	77
Obrázek č. 39: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na teplotu tuhnutí 2. frakce želatinového gelu.....	78
Obrázek č. 40: Vrstevnicový graf vlivu množství enzymu a času na teplotu tání 2. frakce želatinového gelu.....	79

Obrázek č. 41: Vrstevnicový graf vlivu enzymu a teploty na teplotu tání 2. frakce želatinového gelu.....	80
Obrázek č. 42: Vrstevnicový graf vlivu času a teploty na teplotu tání 2. frakce želatinového gelu.....	80

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Průměrné chemické složení masa drůbeže.....	16
Tabulka 2: Metoda využití vedlejších produktů drůbežího masa a jejich odpovídající kategorie podle právních předpisů EU	18
Tabulka 3: Vedlejší produkty u vybraných druhů zvířat vyjádřené v %/, kg	21
Tabulka 4: Typ VŽP, jeho zastoupení v % a jeho následné možné užití v průmyslu.....	23
Tabulka 5: Procentuální podíl jednotlivých aminokyselin obsažených v želatině.....	37
Tabulka 6: Složení vstupní suroviny (v sušině)	45
Tabulka 7: Množství želatiny, vody a velikost nádoby pro různé metody stanovení pevnosti gelu	55
Tabulka 8: Plán experimentů s technologickými podmínkami podle Taguchiho návrhu, včetně výtěžků jednotlivých frakcí želatiny, nerozpuštěného pevného zbytku a chyby bilance.....	59
Tabulka 9: Souhrn základních charakteristiky 1. frakce želatin.....	70
Tabulka 10: Souhrn základních charakteristiky 2. a 3. frakcí želatin.....	71
Tabulka 11: Porovnání vlastností želatin s dalšími literárními studii	84

SEZNAM PŘÍLOH

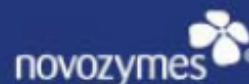
PI materiálový list proteolytický enzym Protamex

PŘÍLOHA P I: MATERIÁLOVÝ LIST PROTEOLYTICKÝ ENZYM PROTAMEX

Special Food / 2001-08284-03.pdf

Product Sheet

Page 1:3



Protamex[®]

Description

Protamex is a *Bacillus* protease complex developed for the hydrolysis of food proteins.

Product Properties

Product Type

Protamex is a light brown, free-flowing, non-dusting microgranulate with an average particle size of approximately 250-450 microns. The colour may vary from batch to batch and colour intensity is not an indication of product strength. The product is readily soluble in water.

Activity

Protamex is standardized in Anson Units per gram (AU/g).

Protamex.....Declared activity: 1.5 AU/g

See the Analytical Method for more information on the proteolytic analysis, which is based on the proteolysis of denatured haemoglobin.

Purity

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes issued by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC).

Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

In contrast to many other endoproteases, Protamex will produce non-bitter protein hydrolysates even at low degrees of hydrolysis.

Reaction Parameters

Optimal working conditions are at pH 5.5-7.5 and at 35-60°C (95-140°F) as determined by application trials.

In Figure 1 the activities shown are measured according to a modified Anson method in aqueous solutions without the stabilizing effect of proteinaceous matter. The stability of Protamex at a certain temperature is influenced by the type and concentration of the proteins present.

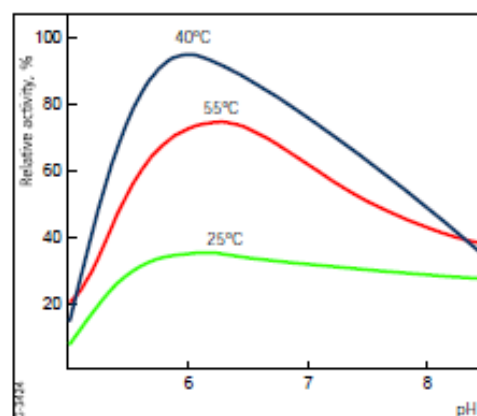


Fig. 1. Influence of pH at various temperatures on the activity of Protamex.

Method: AF 4
Substrate: Denatured hemoglobin

Inactivation

Protamex can be inactivated in 30 minutes at 50°C (122°F) or higher when the pH is 4, and in 10 minutes at 85°C (185°F) or higher when the pH is 8. However, the inactivation is very much dependent on the substrate (substrate concentration, pH, etc.). Thus, the documentation for efficient elimination of Protamex must be based on actual analysis for the detection of residual activity. See the Method for the detection of residual protease activity in protein hydrolysate for further information.

Safety

Enzymes are proteins and inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact.

The product is designed to resist some mechanical effects. However, excessive mechanical wear and tear or crushing may create dust.

All spills, even small spills, should be gently shovelled into plastic-lined containers. Use respiratory protection. Small spills and remains of large spills should be removed by vacuuming or flushing with water (avoid splashing). Vacuum cleaners and central vacuum systems should be equipped with HEPA filters.

When using the product for the production of protein hydrolysates, consumer safety in use is documented only if the production includes processing steps in which the product is removed and/or inactivated.

A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

Storage

Enzymes gradually lose activity over time depending on storage temperature. Cool conditions are recommended. When stored at 5°C (41°F), the product will maintain its declared activity for at least 1 year. When stored at 25°C (77°F), the product will maintain its declared activity for at least 3 months. Extended storage and/or adverse conditions, including higher temperatures or high humidity, may lead to a higher dosage requirement.