

Zpracování kuřecích běháků na bílkovinné produkty.

Bc. Kristýna Polášková

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů
akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Kristýna Polášková**
Osobní číslo: **T14783**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Zpracování kuřecích běháků na bílkovinné produkty.**

Zásady pro vypracování:

- 1. V teoretické části se zaměřte na bílkovinné a nebílkovinné odpady potravinářského průmyslu a na možnosti jejich zpracování; dále popište výrobu želatin a hydrolysátů.**
- 2. V praktické části posudte možnosti zpracování kuřecích běháků biotechnologickým procesem na želatiny, respektive hydrolysáty; studujte vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu; charakterizujte připravené produkty.**
- 3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, proveďte diskusi.**
- 4. Navrhněte optimální podmínky zpracování kuřecích běháků a zhodnoťte přínos práce pro praxi.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

R. Schrieber, H. Gareis: Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2007.

H.W. Ockerman, C.L. Hansen: Animal By-Product processing & Utilization. CRC Press: Boca Raton, 2000.

Vědecké články a monografie z elektronických databází (např. Web of Science, ScienceDirect a další; databáze elektronických knih (např. Knovel).

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

Datum zadání diplomové práce: **15. ledna 2016**

Termín odevzdání diplomové práce: **16. května 2016**

Ve Zlíně dne 1. března 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 3. 5. 2016

Polášková Kristýna

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výtěžku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo posoudit možnosti přípravy bílkovinných produktů (želatin/hydrolyzátů) z kuřecích běháků, jako vedlejšího produktu drůbežáren. Teoretická část je rozdělena na tři části. První část je zaměřena na bílkovinné a nebílkovinné odpady potravinářského průmyslu a jejich využití, další dvě se zabývají výrobou a použitím želatin a hydrolyzátů. Experimentální část popisuje zpracování odtučněné výchozí suroviny ve 2 stupních (enzymové opracování a extrakce vodou). Sledoval se vliv přídavku enzymu, teploty a doby zpracování; efektivita procesu se sledovala stupněm konverze výchozího materiálu na bílkovinné produkty. Připravené produkty byly charakterizovány pevností gelu a obsahem popelovin. Výsledky byly vyhodnoceny ve statistickém programu Minitab 17 a navrženy optimální podmínky zpracování.

Klíčová slova: kuřecí běháky, extrakce, enzymové zpracování, hydrolyzát, želatina, kliš, pevnost gelu, stupeň konverze, optimální podmínky zpracování

ABSTRACT

The aim of the thesis was to explore the possibilities of the preparation of protein products (gelatine/hydrolysate) from chicken talons as by-products of poultry farms. The theoretical part is divided into three sections. The first one is focused on proteins and non-proteins waste from food processing and their usage; the two other sections deal with the production and usage of gelatine and hydrolysate. The experimental part describes the processing of fat-extracted starting material on two levels (enzyme processing and extraction by water). The influence of the addition of enzyme, the temperature and the time of processing were monitored. The efficiency of the process was evaluated by the degree of the conversion of the starting material on protein products. The prepared products were characterised by the gel consistency and the content of ash. The results were analysed in the statistic program Minitab 17; and subsequently, some optimal processing conditions were proposed.

Keywords: chicken talons, extraction, enzyme processing, hydrolysate, gelatine, glue, gel consistency, the degree of the conversion, optimal processing conditions

Tímto bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlu Mokrejšovi, který mi vždy ochotně vždy udělal čas. Jeho rady mi byly velkým přínosem a jeho podpora a vstřícná slova mě utvrdila k další práci. Dále bych chtěla poděkovat paní laborantce Miroslavě Žaludkové, která mi v laboratoři vždy ochotně pomohla a poradila a všem, kteří mě podporovali v práci.

Čestně prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné. Dále prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 BÍLKOVINNÉ A NEBÍLKOVINNÉ VEDLEJŠÍ PRODUKTY POTRAVINÁŘSKÉHO PRŮMYSLU A JEJICH VYUŽITÍ	12
1.1 VEDLEJŠÍ PRODUKTY MASNÉ VÝROBY	12
1.2 VEDLEJŠÍ PRODUKTY PŘI ZPRACOVÁNÍ RYB	14
1.3 VEDLEJŠÍ PRODUKTY PŘI ZPRACOVÁNÍ SYROVÁTKY	14
1.4 VEDLEJŠÍ PRODUKTY Z OBILNÉ VÝROBY	16
1.5 VEDLEJŠÍ PRODUKTY PŘI VÝROBĚ CUKRU	17
1.6 VEDLEJŠÍ PRODUKTY PŘI VÝROBĚ PIVA	18
1.7 VEDLEJŠÍ PRODUKTY PŘI PRAŽENÍ KÁVY	19
1.8 ORGANICKÝ ODPAD OBCÍ	20
2 ŽELATINA	21
2.1 KOLAGEN	21
2.2 SUROVINOVÉ ZDROJE NA VÝROBU ŽELATIN	23
2.2.1 Tradiční suroviny	23
2.2.2 Netradiční suroviny	24
2.2.3 Kuřecí vykostěné zbytky	24
2.3 ZPŮSOBY VÝROBY ŽELATIN	25
2.3.1 Kyselý způsob	26
2.3.2 Alkalický způsob	26
2.4 STRUKTURA A VLASTNOSTI ŽELATIN	27
2.4.1 Pevnost Bloom a gelovatění	29
2.4.2 Chemické a mikrobiologické vlastnosti	29
2.5 POUŽITÍ ŽELATIN	29
2.5.1 Potravinářský průmysl.....	29
2.5.2 Farmaceutické a lékařské aplikace	31
2.5.3 Další aplikace	32
3 VÝROBA HYDROLYZÁTŮ	33
3.1 VÝROBA KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ.....	34
3.2 VLASTNOSTI A POUŽITÍ KOLAGENNÍCH HYDROLYZÁTŮ	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	37
4 CÍLE PRÁCE	38
5 MATERIÁLY A METODY	39

5.1	POUŽITÉ MATERIÁLY, CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE	39
5.2	CHARAKTERIZACE ŽELATIN A HYDROLYZÁTŮ	40
6	POSTUP PRÁCE.....	44
6.1.1	Metodika práce	44
6.1.2	Příprava kuřecích běháků	44
6.1.3	Zpracování odtučněných a vyčištěných běháků	45
7	VÝSLEDKY A DISKUSE	46
7.1	STUDIUM VLIVU VYBRANÝCH TECHNOLOGICKÝCH PODMÍNEK	47
7.1.1	Stupeň konverze	47
7.1.2	Stanovení obsahu popelovin	50
7.2	OPTIMALIZACE TECHNOLOGICKÝCH PODMÍNEK.....	53
	ZÁVĚR	57
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	64
	SEZNAM OBRÁZKŮ	66
	SEZNAM TABULEK.....	67
	SEZNAM PŘÍLOH.....	68

ÚVOD

Odpady patří mezi celosvětový problém, který je nutné řešit a každá země se snaží všemi prostředky jejich vznik omezit, jelikož úplná eliminace je nemožná. V roce 2008 vznikla směrnice „hierarchie nakládání s odpady“, která jasně definuje, jak bychom se měli k tomuto problému stavit. Nejvyšší význam má předcházení vzniku odpadu, následuje příprava k opětovnému použití, recyklace/kompostování, jiné využití (např. energetické), a nejméně žádoucí je odstranění (např. skládkování). Agentura EPA definovala koncept hierarchie pro potravinový odpad jako: omezení nadbytečné výroby potravin, potraviny pro hladovějící lidi, krmivo pro zvířata, průmyslové použití, kompostování, spalování nebo skládkování.

Problém s bílkovinným a nebílkovinným odpadem je v současné době na vzestupu a zahrnuje všechna odvětví, přičemž trvale udržitelné řešení se vztahuje ke všem, kteří k těmto odpadům přispívají. Potravinářský odpad reprezentuje velké množství nevyužitého materiálu, a tudíž se pro něj hledá využití. Jedná se o odpady vznikající v zemědělství a potravinářském průmyslu. Další část tohoto odpadu tvoří potraviny již zpracované s prošlou dobou spotřeby, znečištěné nebo nespotřebované konzumentem. Řešením by byla úplná eliminace vzniku odpadu, jelikož to ale není realizovatelné, musí se hledat způsob, jak jeho vznik omezit. Jednou z možností je zavádění nových technologií v potravinářském průmyslu při zpracování materiálu nebo pro další využití odpadu, který při zpracování vzniká. Pokud není možné jeho využití na potraviny, jsou využitelné pro výrobu biopaliv nebo biopolymerů. Dalším krokem je kompostování, které je vhodné k obnovení živin nebo k oddělení uhlíku produkcí humusu. Konečné a méně žádoucí možnosti jsou spalování a skládkování. Toto řešení není příliš vyhledávané pro své nežádoucí účinky. U skládkování mohou vznikat nežádoucí pachy, kontaminace podzemních vod nebo požáry a pro použití na tepelnou energii nejsou dostatečně výhřevné.

Tato diplomová práce je zaměřena na bílkovinné odpady vznikající při zpracování drůbeže a jejich další využití. Jedná se o kuřecí běháky, které jsou rozemlety, a následně je z nich pomocí určených technologických postupů vyrobena želatina.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BÍLKOVINNÉ A NEBÍLKOVINNÉ VEDLEJŠÍ PRODUKTY POTRAVINÁŘSKÉHO PRŮMYSLU A JEJICH VYUŽITÍ

Hlavním cílem v problematice nakládání s odpady, je zcela zabránit jejich vzniku. V případě, že nějaký odpad přece jen vznikne, je třeba jej recyklovat. Zcela se vyhnout plýtvání s produkty nebo s recyklací bioodpadu je v potravinářském průmyslu velmi obtížné. Nevyužité zbytky se skládají převážně z organických materiálů a jejich další využití na potraviny je omezeno, protože mají nízké nutriční hodnoty nebo obsahují komponenty, které nejsou vhodné ke konzumaci. Recyklace běžných druhů bioodpadu, stejně jako všech surovin biologického původu, je zcela nemožné. Výjimku z tohoto typického bioodpadu tvoří výrobní přísady, které jsou přidávány v průběhu zpracování potravin. Tyto výrobní přísady jsou pak následně odstraněny a tím buď ztrácí svou funkčnost, nebo jsou odpovědné za hromadění odpadního materiálu (např. imobilizované kvasinky, pomocné filtrační látky, adsorbenty). Odpady ze zpracování potravin jsou výhradně biologického původu, a proto se využívají jako krmivo pro zvířata nebo hnojivo. [1]

1.1 Vedlejší produkty masné výroby

Vedlejší produkty masa vznikají při porážce nebo odstraněním uhynulých a nemocných zvířat. Existuje mnoho způsobů, jak změnit nebo aktualizovat technologie používané v masném a mlékárenském průmyslu, aby suroviny s velkým obsahem živočišných bílkovin neskončily v odpadu. Ty se na základě současného systému změní na materiál patřící do Kategorie I. (specifikovaný rizikový materiál), který v souladu s předpisy musí být okamžitě vyřazen z výrobního řetězce potravin a zničen. V současné době je až 30% proteinu vhodného na potraviny ztraceno při zpracování masa. Masokostní nebo masná moučka jsou cenově přístupné zdroje bílkovin. [2]

Svalovina a vedlejší produkty (vnitřnosti a orgány zvířat) jsou běžně konzumovány. Z kůže, krve, kostí, rohů, kopyt, končetin, masových odřezků, tuku a vnitřních orgánů vzniká široká škála produktů a potravinových doplňků pro lidi, krmivo pro domácí zvířata, hnojivo nebo palivo. Krev, játra, plíce, srdce, ledviny, mozek, slezina a dršťky jsou vedlejší produkty s dobrou nutriční hodnotou. Játra jsou bohatá na vitamíny a spolu s ledvinami obsahují řadu minerálů a stopových prvků, ale i poměrně vysoký obsah cholesterolu. Produkty bohaté na tuk (vepřové sádlo, lůj) přispívají především k příjmu energie. Funkce a

užitečnost orgánů závisí na živočišném druhu, ze kterého jsou získány, a proto mohou obsahovat rozdílné množství živin. Například vitamín A₁ se může lišit obsahem retinolu od 50000 µg u jehněčího srdce až po 20000 µg u vepřového srdce nebo 18000 µg u srdce kuřecího. [3]

Krev se získává ze skotu a prasat. Skládá se z červených a bílých krvinek, krevních destiček a plazmy. Například krev skotu, která je považována za odpad obsahuje 80,9% vody, 17,3% bílkovin, 0,23% lipidů, 0,07% sacharidů a 0,62% minerálů. Krevní bílkoviny nacházející se v plazmě, mají vhodné technologické vlastnosti, jako je želatinace, nadouvání a emulgace. Díky tomu jsou vhodné k použití v potravinářském průmyslu a jako doplňky stravy. Frakcionované proteiny plazmy (imunoglobuliny, fibrinogen a sérový albumin) mohou být přidány do potravin a krmiv díky schopnosti želatinace a emulgace. Některé proteiny plazmy jsou schopné zesílení hlavních proteinů a inhibiční aktivity proteáz nebo jsou použity k obohacení proteinových produktů (těstoviny). Vysrážené sloučeniny krevní plazmy (fibrinogen a enzym trombin) jsou používány pod ochrannou známkou fibrimex® (Harimex, Holandsko) jako pojivo při zpracování masa při výrobě restrukturalizovaných masných výrobků. Po aplikaci směsi trombinu a fibrinogenu na povrch masa dojde vlivem enzymu trombinu k přeměně rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin. Ten vede ke vzniku poloviční odstupňované struktury nazývané protofibrila, které nakonec agregují na vlákna, a vzniká trojrozměrná síť fibrinové sraženiny. Výsledná síť poskytuje masu emulzi s modifikovanými fyzikálně-chemickými a stavebními vlastnosti, zvyšuje tvrdost a pružnost. Buněčná frakce není dostatečně využitelná. Je bohatá na červené krvinky a pravděpodobně v důsledku hemu (složka hemoglobinu), který propůjčuje tmavou barvu a nežádoucí chuť výrobku nebo z hygienických důvodů. I přes hygienická opatření, mikrobiální kontaminace krve může zůstat relativně vysoká. Buněčná frakce může být použita v masném průmyslu při výrobě uzenin jako dobarvovač. [3]

Odpad a vedlejší produkty živočišného původu mohou být použity pro výrobu organického hnojiva a krmiva pro zvířata. Zaváděním nových technologií by se mohlo jeho použití rozšířit ještě dále - potraviny pro lidskou spotřebu, výroba bioplynu, částečná náhrada za rybí moučku, krmení pro ptáky, anebo mohou být použity na výrobu krmiva pro ryby. Různé druhy ryb potřebují různé množství bílkovin. Obsah bílkovin v krmivu zaručuje jejich zdraví a dobrý růst. Minerální látky (vápník, fosfor) jsou druhou významnou složkou krmiva ryb. Jsou vhodné i jako přísady substrátu ke zvýšení účinnosti procesu výroby

bioplynu. Dalším důležitým směrem je možnost výroby bionafty (vařiče, motorové palivo) z tuku vedlejších produktů živočišného původu. [2] Bionafta může být vhodnou alternativou motorové nafty, aniž by se musely extrémně upravovat motory vozidel. Je biologicky odbouratelná, netoxická a s minimálním vznikem emisí. Vede ke snížení oxidu uhličitého, oxidu uhelnatého, pevných částic a nespálených uhlovodíků. [3]

Tuk se používá pro kosmetické aplikace, jako jsou tělová mléka a krémy. Hovězí tuk zahrnuje asi 7-8% živé hmotnosti zvířete a je klasifikovaná podle hmotnosti, pohlaví, defektů a způsobu likvidace. Používá se na výrobu bot, kabelek, peněženek, rukavic, kožené galanterie, oděvů, opasek atd. [3]

Vedlejšími produkty při zpracování drůbeže jsou například materiály obsahující keratin (peří, štětiny a chlupy). Keratinový hydrolyzát, který je bohatý na rozpustné proteiny a aminokyseliny, se získává zpracováním s hydroxidem vápenatým. Tento koncentrát obsahuje množství esenciálních aminokyselin: lysin, treonin, leucin, izoleucin a valin. Přestože rozpuštění bílkoviny při nižších teplotách vyžaduje více času, umožňuje výběr "měkkých" procesů zpracování získat produkt proteinu, ve kterém je stravitelných 95% keratinových vláken. [2]

1.2 Vedlejší produkty při zpracování ryb

Zpracováním mořských plodů a zejména tuňáků vzniká velké množství odpadu. Při zpracování se dbá na maximalizování zisků produktů vhodných ke konzumaci, ale produkce odpadů nebo vedlejších produktů je nevyhnutelná. Velká část je zlikvidována jako odpad, nebo se jedná o produkty nízké hodnoty - hlava, vnitřnosti a ocas. Rybí produkty obsahují cenné bílkoviny, lipidy, vitamíny a minerály. Jsou také významným zdrojem znečištění životního prostředí. Ekologické předpisy jsou stále přísnější a vyžadují nové metody pro nakládání s těmito produkty. Celosvětově nejpoužívanější je výroba rybí moučky a rybího oleje. [4]

1.3 Vedlejší produkty při zpracování syrovátky

Syrovátka je vedlejší produkt výroby sýru a tvarohu a jedná se o surovinu s využitím především ve výživě. [5] Její bohatý obsah živin (laktóza, bílkoviny) způsobuje rychlé kažení, a proto musí být pasterizovaná a okamžitě ochlazená. Bakterie způsobující kažení

jsou podobné jako u mléka. [6] Syrovátka obsahuje β -laktoglobulin, α -laktalbumin, hovězí sérový albumin, laktoferin, imunoglobuliny, enzymy laktoperoxidázy, glykomakropeptidy, laktózu a vitamíny. Biologické složky zlepšují řadu imunitních vlastností. Kromě toho, působí syrovátka jako antioxidant, antihypertenzivum, protinádorové, hypolipidemické, antivirové, antibakteriální a chelatační činidlo. Syrovátka z podmáslí obsahuje oproti syrovátce ze sýru lipid sfingomyelin. Dříve byla syrovátka považována za všelék používaný k léčbě zažívání a problémů vazů nebo kloubů. V dnešní době je považována za dietní proteinový doplněk poskytující antimikrobiální aktivitu, zklidnění imunity, zlepšení svalového napětí a stavby těla, předchází kardiovaskulárním chorobám a osteoporóze. Různé technologie zpracování syrovátky vedou k produkci různých výrobků, které jsou k dispozici v obchodní síti. Jedná se o proteinový koncentrát syrovátky (80-95% bílkovin), demineralizovaná a hydrolyzovaná syrovátka, redukováná syrovátková laktóza, syrovátkový proteinový izolát. Každý hotový výrobek má různý poměr bílkovin, sacharidů, imunoglobulinů, laktózy, minerálních látek a tuku, což je důležité při výběru syrovátkové frakce pro určité výživové aplikace. [5] Pro její využití jako vysoce kvalitní přísady na syrovátkovém základě je nezbytné, aby se zabránilo jejímu rychlému kažení po výrobě. K prodloužení trvanlivosti mléčných výrobků se díky svým antimikrobiálním účinkům používá oxid uhličitý. [6]

Na Islandu se syrovátka nechává kvasit v sudech a nazývá se Syra. Po zředění vodou se používá jako marináda nebo konzervační prostředek pro maso a jiné potraviny. Jedná se o nápoj islandských lidí a při nedostatku obilí v regionu by mohla nahradit pivo. [5] V Estonsku se používá na výrobu sýru typu ricotta. Krystalizací lze ze syrovátky vyrobit laktózu, která může být dále využita v potravinářském průmyslu. [2]

Syrovátkový permeát z mlékárenského průmyslu je důležitý kapalným odpadem pro výrobu etanolu a minimalizuje environmentální problémy spojené s jeho zpracováním a likvidací. [7]

Základní složkou syrovátky je proteinový prášek, který je vyhledávaný pro své nutriční a funkční vlastnosti. Čistá kyselina octová a syrovátková bílkovina se vyrábí kvašením syrovátky, která vzniká při výrobě sýru. Koncentrovaný syrovátkový protein získaný jako vedlejší produkt zvyšuje marži a tím i úsporu. Možnost vysokého stupně rozložení cílových molekul pomocí přizpůsobených membrán otevřela nové cesty k výrobě vysoce čistých organických kyselin a dalších biomolekul citlivých na teplo. Kyselina octová je důležitá pro výrobu monomeru vinylacetátu, anhydridu kyseliny polyetylentereftalátové,

kyseliny tereftalové, barev, lepidla, potravinářského octa, potravin, textilu a produktů pro fotografický průmysl. Ročně se vyrobí 95% kyseliny octové z ropných zdrojů, jako je metanol (karbonylační reakce) a etylen nebo acetaldehyd (oxidační reakce). [8]

1.4 Vedlejší produkty z obilné výroby

Pro lidskou spotřebu jsou nejdůležitějším produktem obilniny: pšenice, rýže, kukuřice, proso, oves, žito a ječmen. Jsou pěstovány přibližně na 80% světové orné půdy. Pšenice a žito jsou mlety na mouku a krupici, oves je zpracováván na ovesné vločky v ovesných mlýnech a rýže loupaná v rýžových mlýnech. Kukuřice je primárně zpracovávána na škrob a oleje a ječmen se používá na slad. [1]

Rýže (*Oryza sativa*) je jednosemenná rostlina patřící do čeledi trav (*Poaceae*). Jedná se o nejdůležitější potravu velké části světové populace. Pěstuje se jako letnička, ale v tropických oblastech trvá její životní cyklus 3-4 měsíce. Vedlejším produktem mletí rýže je slupka, která se používá na výrobu biomasy. Rýže se skládá z 20 až 25 htm% slupky. [9]

Pšenice (*Triticum aestivum*) je jedna z nejběžnějších obilovin. Zrno se používá k výrobě mouky na chleba, sušenek, koláčů, těstovin, nudlí a kuskusu. Po vykvašení nahrazuje pivo a různé druhy alkoholických nápojů nebo bio-pohonné hmoty. Používá se jako krmivo pro dobytek a i sláma může být použita jako krmivo nebo jako stavební materiál. Slupka pšenice se skládá asi z 20% pšenice, jedná se o vedlejší produkt lignocelulózy a používá se jako krmivo pro hovězí dobytek a do určité míry jako pohonné hmoty. [9]

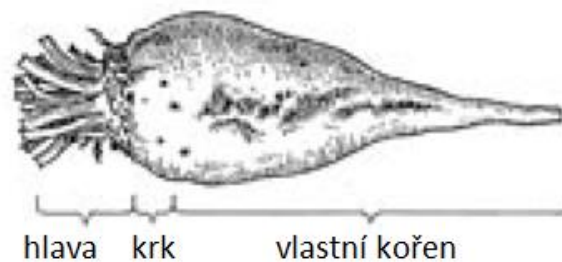
Obilná slupka se používá jako náhražka dřeva (dřevotřískové desky) a pro výrobu kompozitních materiálů pro automobilové, balící a stavební aplikace. V posledních letech jsou lignocelulózy (sláma, kukuřičné stébla, slupky a vylisovaná cukrová třtina) používány pro výrobu kompozitů s polypropylenem, polyetylenem, polyesterem, polyvinylacetátem, polyuretanem, kyselinou polymléčnou a Novolaky. Vedlejší produkty obilí (slupky rýže a pšenice) jsou díky svým vláknům vhodné jako levný konstrukční materiál. Vývoj biologicky rozložitelných obalů z obnovitelných přírodních zdrojů podporují vlády EU. [9]

Odpady bagasy, stébla a slupky rýže a zbytky škrobů jsou složeny z proteinů, lipidů, sacharidů, nukleových kyselin, anorganických sloučenin a dalších nebiłkovinných dusíkatých sloučenin (vitaminy) a mohou být použity jako substrát pro růst mikroorganismů. Tyto materiály jsou ekonomicky výhodné, pro jednoduchou kontrolu znečištění a eliminování

problémů s likvidací odpadů. Zemědělský odpad je vhodný podklad pro výrobu mikrobiálních proteinů, ale musí splňovat následující kritéria; netoxický, zcela regenerovatelný, levný, schopný podporovat rychlý růst a množení organismů což vede k vysoce kvalitní biomase.[10]

1.5 Vedlejší produkty při výrobě cukru

Cukrová řepa se skládá z hlavy, krku, vlastního kořene, které jsou vyobrazeny na obrázku 1 a nadzemních zelených listů tzv. chrást [11].



Obrázek 1. Stavba řepné bulvy [11]

Vedlejší produkt z výroby řepného cukru je zelený chrást, krk, cukrové řepné řízky a bezcukerná melasa. Chrást a krk jsou odstraněny před extrakcí cukru. Řepné řízky jsou zbytky dužiny vzniklé po extrakci cukru. Bezcukerná melasa je kapalný zbytek po odstranění cukru, který je získaný z řepné melasy. Všechny vedlejší produkty jsou vyráběny ve velkém množství. [12]

Chrást, krk a vysušené řepné řízky se prodávají především jako krmivo pro hospodářská zvířata. Pro zvýšení obsahu proteinů se do krmiva někdy přidává melasa. Tradiční melasa může obsahovat až 48% cukru, který má vysokou obchodní hodnotu jako zdroj uhlíku v kvasném průmyslu, a také při výrobě hnojiv a krmiv. Bezcukerná melasa má ve srovnání s běžnou melasou nízký obsah cukru, ale vysoký obsah iontů. Řepné řízky jsou vhodný substrát pro výrobu bioplynu. [12]

Z biomasy a zemědělských produktů se vyrábí etanol. Jedná se o alternativní zdroj energie a ve světě se vyrábí především z kukuřice, škrobu, cukrové třtiny a cukrové řepy. [13] Suroviny neobsahující škrob (cukrová třtina, cukrová řepa, melasa a ovoce) mohou být přeměněny na etanol přímo. Škroby (obilí a kořenové plodiny) musí být nejdříve hydroly-

zovány na zkvasitelné cukry působením enzymů ze sladu nebo plísní. Celulóza (dřevo, zemědělské odpady a papír) může být přeměněna na cukry působením minerálních kyselin. Vzniklé jednoduché cukry mohou kvasinkovými enzymy snadno kvasit na etanol. Slibný materiál pro výrobu etanolu je odpadní produkt při výrobě cukru – melasa. V Indii se melasa používá při výrobě alkoholu. [7]

Použití cukrové řepy na energetické účely je velmi problematické, protože pro dosažení vysokého výkonu je třeba velké množství. Výnos kořenů a jejich chemické složení ovlivňují zemědělské faktory, které jsou specifické jak pro pěstování, tak pro odrůdy. [13]

Přísady na bázi melasy zvyšují kvalitu betonu snížením poměru voda – cement díky schopnosti redukovat vodu. Melasa zlepšuje zpracovatelnost a tekutost čerstvého betonu a prodlužuje dobu úpravy cementové kaše. Beton může být poškozen v důsledku chemických reakcí se síranem. Ten se vyskytuje v podzemní vodě, půdě s vysokým obsahem jílu, mořské vodě, bažinách obsahujících organické látky a dolech. Odpadní vody z čistíren jsou na něj bohaté také. Intenzita jeho účinku závisí na koncentraci iontů síranu nacházejících se v půdě nebo ve vodě. Síran přichází do reakce s některými sloučeninami cementu a časem způsobuje zhoršení betonu. To nastane, když síranové ionty reagují s oxidem hlinitým a sloučeninou vápníku ve ztvrdlém betonu a vytvoří se ettringit a sádra. Použitím melasy v betonu se do jisté míry těmito reakcím zabrání. [14]

1.6 Vedlejší produkty při výrobě piva

Hlavní odpady pivovarského průmyslu jsou pivovarské mláto, přebytečné kvasnice, etikety a křemelinový kal. Mláto je pevný zbytek vznikající oddělením od sladiny a stejně jako kvasnice vznikající přírodní sedimentací na konci druhého kvašení a zrání se používá jako krmivo pro hospodářská zvířata. Je třeba se vyhnout nebo omezit i odpad z etiket, protože se nejedná o obyčejný papír, ale je za mokra impregnovaný roztokem louhu. [15]

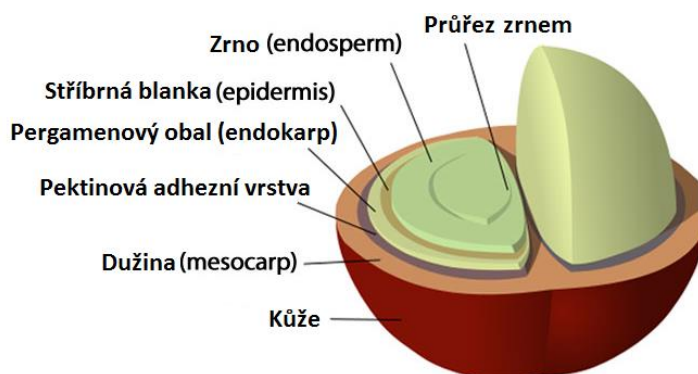
Křemelinový kal vzniká filtrací. Pro dosažení požadované čistoty a stálosti piva, musí být všechny mikroorganismy a proteinové částice odstraněny ještě v suspenzi po fermentaci a dokvašení. Tyto částice při filtrování okamžitě pokryjí a tím blokují celý povrch filtru. Aby se tomu zabránilo, přidávají se před filtrací do piva vysoce porézní pomocné prostředky (křemelina). To má při filtraci za následek konstantní narůstání filtračního lože. Tímto hromaděním ve filtrační vrstvě je vytvořeno prostorové uspořádání z dříve suspen-

dovaných částic. Vznikající kal je složený z křemeliny a organických látek. Současné způsoby likvidace do zemědělské půdy nejsou vyhovující s ohledem na udržitelný hospodářský cyklus. [16]

1.7 Vedlejší produkty při pražení kávy

Káva patří mezi nejoblíbenější nápoje. Z 80 druhů se k pití pěstují dva hlavní druhy. *Coffea arabica* (Kávovník arabský) představuje přibližně 75% celosvětové produkce kávy a *Coffea canephora* (Kávovník statný) představuje asi 24% produkce. Kávová zrna se praží teplým vzduchem za stálého míchání, aby se zajistilo rovnoměrné zahřívání. Během pražení přejdou zelená kávová zrna na žlutou, světle hnědou a nakonec mají tmavě hnědou olejovitou barvu. Některé z přírodních cukrů jsou přeměněny na CO₂, jiné karamelizují a přispívají k dobré chuti a barvě. Laktony kyseliny chlorgenové vyrobené z chlorgenové kyseliny přispívají k hořké chuti. V posledních letech se obrací pozornost i na biologickou účinnost složek kávy, jako jsou antioxidační a antihyperglykemické účinky, inhibice α -amylázy a lipázy a další. [17]

Jediný vedlejší produkt vznikající během pražení kávových zrn je stříbrná blanka. Zelená kávová zrna se čistí a vydrolují. Pro čištění se používá "mokrá" nebo "suchá" způsob, přičemž větší množství stříbrných blanek vzniká po čištění suchým způsobem. Kůže, dužina, pektinová adhezivní vrstva a pergamenový obal jsou v těchto dvou procesech ze zelených zrn zcela odstraněny. Avšak část stříbrné blanky na nich po zpracování zůstává. [17] Kávová bobule v řezu a její složení je zobrazeno na obrázku 2.



Obrázek 2. Řez bobulí kávovníku [18]

V současné době pro ni není efektivní využití, a proto je odstraněna jako průmyslový odpad. Do budoucna by mohla být považována za biomasu. Výzkum se dále zaměřuje na využití odpadů vznikající po konzumaci kávy (cukr, mléko, minerály a vlákna) jako alternativního obnovitelného zdroje energie (bionafta a bio-etanol). [17]

1.8 Organický odpad obcí

Organický odpad z obcí, zemědělsko-průmyslové zbytky a bioodpad jsou ideální základní suroviny pro biorafinerie. Jedná se o biologicky odbouratelné materiály, které obsahují látky tří hlavních organických skupin: sacharidy (jednoduché cukry a polysacharidy), proteiny a lipidy. Mohou z nich být vyrobeny bioprodukty s přidanou hodnotou prostřednictvím biologických nebo termo-chemických procesů, včetně biopaliv, chemikálií, komodit, biopolymerů a bioplastů. Jsou známy 4 skupiny organického odpadu: maso-ryby-sýr, ovoce, zelenina, chléb a těstoviny. [19]

2 ŽELATINA

Želatina je odvozena z latinského "gelata", což popisuje její nejcharakterističtější vlastnost a tj. tvorbu gelu ve vodě. [20] Je to důležitý funkční biopolymer široce používaný v potravinách s cílem zlepšit pružnost, konzistenci a stabilitu. Lze ji získat nejen z kůže a kostí suchozemských živočichů, ale také z ryb a hmyzu. [21] Získává se hydrolyzou kolagenu. Kolagen je ve vodě nerozpustný, kdežto želatina (obrázek 3) se ve vodě rozpustí snadno už při teplotě vyšší než je teplota denaturace nativního kolagenu. [20]



Obrázek 3. Želatina v podobě granulí [22]

2.1 Kolagen

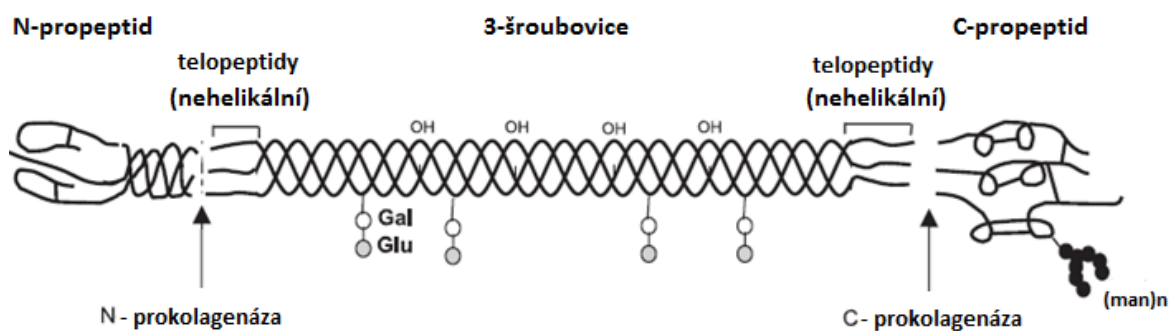
Kolageny charakterizují tkáně a mají různé funkce a vlastnosti. [23] Jedná se o hlavní složku všech bílých vláknitých pojivových tkání vyskytujících se v orgánech zvířat, jako jsou například šlachy, chrupavky, svaly, kůže [20] a je převládající složkou extracelulární matrice (ECM). [24] ECM se skládá z nerozpustných vláken, mikrovláken, rozpustných proteinů a glykoproteinů. Napomáhá vzniku tkáně s individuálními mechanickými a fyziologickými vlastnostmi. Ovlivňuje spojení buněk a jejich migraci. [23]

Kolagen představuje téměř 30% z celkového množství proteinu obratlovců i bezobratlých živočichů a pod mikroskopem vypadá jako bílé neprůhledné vlákno, obklopené dalšími proteiny a mukopolysacharidy. Skládá se z 18 až 20 aminokyselin a obsahuje velké množství glycinu, prolinu a hydroxyprolinu. Jeho základní jednotka je tropokolagen skládající se ze tří propletených levotočivých řetězců spojených vodíkovými můstky. Tyto tři polypeptidové řetězce společně tvoří mírnou, pravotočivou superšroubovici. Různá kombinace tří polypeptidových řetězců vede ke vzniku odlišných typů molekul tropokolagenu. Ty jsou spojeny do vláken vznikajících seřazením vláken vedle sebe a pootočením každého z

nich o 1/4 své délky podél sousední molekuly. Tato vlákna jsou stabilizována intermolekulárním síťováním mezi lysinem nebo hydroxyprolinem a zbytkem lysinu nebo hydroxylysinu - sekundární aldehyd, tvořící nestabilní aldiminovou vazbu, která se stává v kolagenu časem stabilní. [25]

Kolageny mohou být rozděleny do dvou podskupin. Jedna skupina tvoří vlákna a druhá nevláknité formy kolagenu. [23]

Kolagen tvoří pravotočivá 3-šroubovice skládající se ze tří α -řetězců. Ty mohou být tvořeny ze tří stejných řetězců (homotrimery), anebo ze dvou a více různých řetězců (heterotrimery). Každý ze tří α -řetězců je tvořen prodlouženou levotočivou šroubovicí. Důležitý pro stavbu kolagenního řetězce je zbytek glycinu v každé třetí poloze polypeptidových řetězců vedoucí k opakování $(\text{Gly-X-Y})_n$. Glycinové zbytky jsou ve středu 3-šroubovice, zatímco objemné postranní řetězce jiných aminokyselin zaujímají krajní polohy. To umožňuje těsné sbalení kolem středové osy v molekule. Pozice X odpovídá prolinu a Y hydroxyprolinu. Obsah 4-hydroxyprolinu je zásadní pro tvorbu intramolekulárních vodíkových vazeb a přispívá ke stabilitě struktury 3-šroubovice. I když je 3-šroubovice klíčovým rysem všech kolagenů a hraje hlavní roli u vláknitých kolagenů, nekolagenní domény lemující centrální spirálovou část jsou také důležité konstrukční prvky (obrázek 4). [26]



Obrázek 4. Molekulární struktura vlákna kolagenu typu I. s různými subdoménami, jakož i místa štěpení na N- a C-prokolageny [26]

C-propeptid iniciuje tvorbu 3-šroubovice, zatímco N-propeptid reguluje primární průměry vláken. Krátké nezapletené telopeptidy jsou spojeny s kovalentním síťováním molekul kolagenu, a také spojují ostatní molekulární struktury obklopující matici. [26]

Pro každou třetí peptidovou jednotku Gly-X-Y, je jen jedna přímá intrařetězcová vodíková vazba mezi vodíkem -NH skupiny glycinu a kyslíkem -CO skupiny X zbytku v hlavním řetězci proteinu. [27]

Délka 3-šroubovice se u kolagenu liší. U některých neobsahuje přerušování, u jiných se nekolagenní domény účastní tvorby sítě a agregace. Přerušování 3-šroubovice může způsobit intramolekulární pružnost a konkrétní proteolytické štěpení. Nativní 3-šroubovice jsou odolné vůči proteázám, jako je pepsin, trypsin nebo chymotrypsin a může být degradován pouze různými typy kolagenázy. Kolagenáza A (MMP-1), kolagenáza B (MMP-8), kolagenáza C (MMP-13). Jiné formy metaloproteinázy jsou schopny štěpit denaturovaný kolagen ("želatiny"). Podrobná analýza vzájemného působení MMP, stejně jako specifických inhibitorů je popsána reaktivitou *in vivo*. [26]

2.2 Surovinové zdroje na výrobu želatin

Při výrobě želatiny je kolagen denaturovaný a ztrácí svou přirozenou strukturu. Kolagenové vlákna tvořící šroubovice ztrácí během zahřívání svou strukturu, která se při ochlazení částečně obnoví. Voda je uzavřena v síti řetězců a želatina tvoří gel. [28]

Kolagen existuje v různých formách, ale želatina se vyrábí ze zdrojů bohatých na kolagen typu I. [29], který je obsažen ve všech vrstvách kůže (85-90%) [27]. Vyrábí se rozkladem primární, sekundární a terciální struktury přírodního kolagenu. Tato degradace závisí na podmínkách zpracování, intenzitě extrakce a čištění [30]. Přesto může želatina obsahovat stopy cukrů, tuků a solí, které mohou tvořit kovalentní vazby s proteinovými vlákny želatiny. Některé reakce s cukry způsobují hnědou barvu želatiny [28].

Želatina se vyrábí částečnou hydrolyzou kolagenu získaného z kůže, bílé pojivové tkáně a kostí zvířat [25], [31], ale také z ryb a hmyzu [21].

2.2.1 Tradiční suroviny

Hlavní surovina, ze které se získává materiál pro výrobu želatiny, je kolagen obsažený v tkáni vepřových nebo hovězích zvířat. Jedná se především o tkáň [32], kůži, kosti, šlachy a volnou pojivovou tkáň [33].

2.2.2 Netradiční suroviny

Želatina z vepřových kůží není přijatelná pro islám a judaismus a z hovězího masa je vhodná pouze v případě, že je připravena podle náboženských požadavků. Pro islám a s minimálním omezením i pro judaismus je přijatelná želatina z ryb. Problémy může způsobit přetrvávající zbytkový zápach, zejména když je určena pro použití v mírně ochuceném produktu. Kuřecí vykostěné zbytky jsou hlavním vedlejším produktem masného průmyslu a mohou být cenným zdrojem želatiny. [34]

Bohatým zdrojem kolagenu a tedy i suroviny na výrobu želatiny jsou kůže z chobotnice a sépie. [35] Dalším alternativním zdrojem želatiny, který je přijatelný pro muslimské a židovské produkty může být jedlý hmyz. Mariod se svým kolektivem připravili jedlou želatinu z *Aspongopus viduatus* a *Agonoscelis pubescens* (obrázek 5) [21]



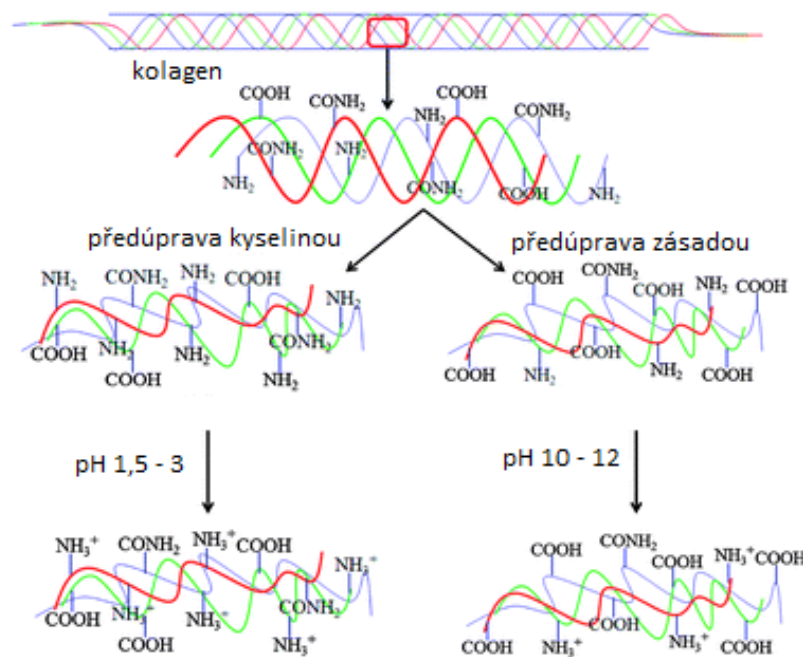
Obrázek 5. *Agonoscelis pubescens* (vlevo) a *Aspongopus viduatus* (vpravo) [21]

2.2.3 Kuřecí vykostěné zbytky

Želatina z kuřecích vykostěných zbytků má vysokou hodnotu Bloom (Bloom > 250), s čímž souvisí i vynikající vodu absorbující vlastnosti a teplota tání želatiny je při nízké hodnotě Bloom. Proto by měla být preferována v mléčných výrobcích, želé a při výrobě sulcu. Želatina z kuřecích vykostěných zbytků má vyšší viskozitu a lepší pěnicí vlastnosti než komerční želatina. Je vhodná pro přípravu maršmelounů. Tento produkt potřebuje želatinu s vysokou pevností Bloom, vysokou viskozitou a dobrými vlastnostmi při šlehání. Želatina extrahovaná z kuřecích vykostěných zbytků vykazuje vynikající vlastnosti a je vhodná jako náhrada za želatinu ze savců. Může být použita v potravinářském, farmaceutickém a fotografickém průmyslu. [34]

2.3 Způsoby výroby želatin

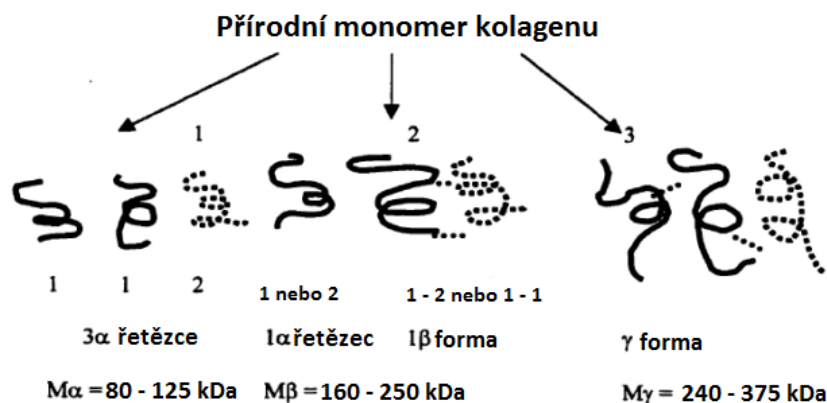
Vystavením kolagenu slabé kyselině, zásadě nebo teplé vodě se vláknitá struktura kolagenu nevratně poruší a tvoří se želatina. Během úpravy dochází k rozdělení příčných vazeb mezi polypeptidovými řetězci kolagenu. Výroba želatiny zahrnuje obecné kroky včetně předběžného zpracování suroviny, extrakce, čištění a sušení. V závislosti na zvoleném postupu se získá požadovaná želatina. Prasečí kůže jsou upravovány kyselinami, aby se zabránilo jejímu zmýdelnění, protože obsahují velké množství tuku. Touto cestou se získává želatina typu A. Kyselé zpracování je vhodné na tkáň mladších zvířat. Ty mají v kolagenu slabší kovalentní vazby, které zajišťují dobrý výtěžek a kvalitní želatinu. Zásadami se upravují nasekané materiály a oseín připravený z kostí. Získává se tak želatina typu B. [36] Schéma předúpravy želatiny je znázorněn na obrázku 6.



Obrázek 6. Schéma předúpravy želatiny [37]

Pro extrakci želatiny se předupravený materiál namočí v extrakčních kotlech do destilované vody o teplotě 55–100°C. [20] V řízené lázni je nabobtnaný materiál míchán 12 hodin při 150 ot/min. Směs se přefiltruje přes dvě vrstvy látky a následně přes filtrační papír. [35] Konečným produktem předúpravy a extrakce je želatina s různým složením polypeptidových řetězců a různou molekulovou hmotností, jak je patrné z obrázku 7, který

znázorňuje 3 hlavní fragmenty želatiny: volný α -řetězec; β -řetězec, kde jsou kovalentně spojeny 2 α -řetězce a γ -řetězec, kde jsou kovalentně spojeny 3 α -řetězce. Volné α -řetězce mohou být depolymerovány do sub- α -řetězců, což jsou polypeptidy s nižší M_w než má jeden α -řetězec. To znamená, že želatina není monodisperzní protein. [20]



Obrázek 7. Možné cesty přeměny kolagenu na želatinu [38]

2.3.1 Kyselý způsob

Tímto způsobem se získává želatina typu A [20]. Postup je vhodný pro méně zesíťované materiály, jako jsou kosti mladého skotu nebo vepřovice. Promytá surovina je namočená na 10-48 hodin do zředěné kyselé lázně obsahující maximálně 5% minerální kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová nebo kyselina fosforečná. Proces je dokončen, jakmile je surovina zcela nabobtnána. Aby se po ukončení úpravy odstranila přebytečná kyselina je materiál promýván studenou vodou. [25]

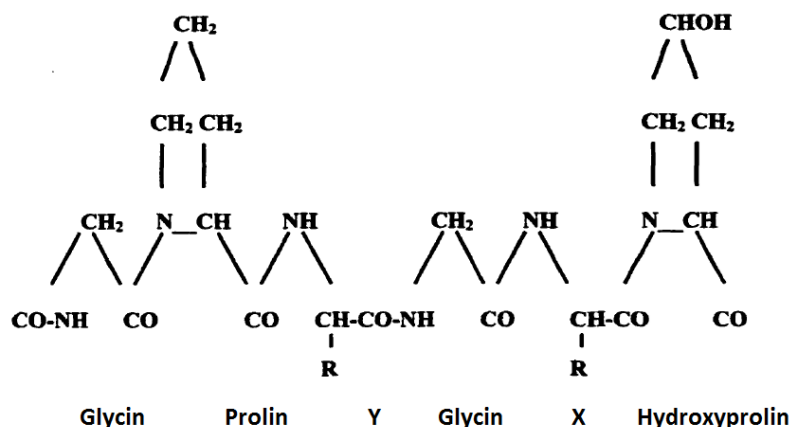
2.3.2 Alkalický způsob

Demineralizované kosti nebo kůže se ponoří do alkalické lázně. Nejčastěji se používá hydroxid vápenatý, ale může se použít i hydroxid sodný. Materiál se ponořením do lázně vyčistí a působící roztok rozrušení síťování přítomné v kolagenu. Ten se stává rozpustný ve vodě. [25] Promytý materiál je umístěn v boxech nebo sudech s kapalným hydroxidem vápenatým, který musí být pro zachování nasyceného stavu dostatečně silný a teplota se udržuje pod 24°C. Směs je míchána v intervalech pomocí dlouhých tyčí nebo jiných mechanických prostředků 20 dnů až 6 měsíců (obvykle 2 ± 3 měsíce) v závislosti na tloušťce a druhu použitých surovin. Po dokončení úprav, je materiál promyt vodou, aby se získalo vhodné pH. Konečným produktem alkalické předúpravy je želatina typu B. [20]

2.4 Struktura a vlastnosti želatin

Želatina je průhledná, křehká pevná látka slabě žluté barvy. Je k dostání v různých velikostech od hrubých granulí po jemný prášek. Vyráběna je i v podobě tenkých plátků, které se používají při vaření. Suchá komerční želatina má hustotu 1,3-1,4 g/cm³, obsahuje 9-13% vlhkosti a je v podstatě bez chuti a zápachu. Většina fyzikálních a chemických vlastností želatiny se měří ve vodných roztocích. [39] Při zahřátí prochází želatina nejen strukturální a mechanickou, ale i fyzikálně-chemickou změnou. [40]

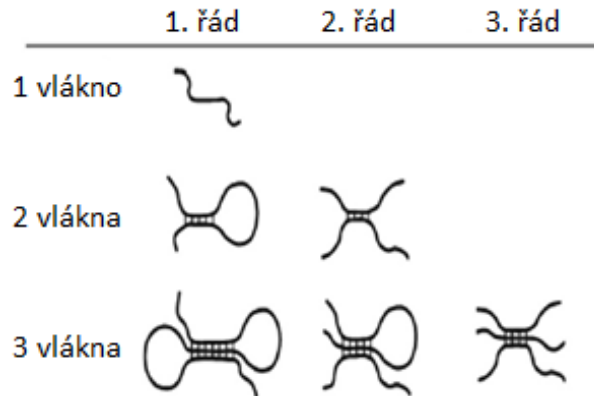
V želatině se vyskytují všechny aminokyseliny, které jsou přítomny u proteinů s výjimkou tryptofanu a cysteinu. Hodnoty složení se mohou lišit v závislosti na výchozím materiálu a v menší míře na výrobním procesu. [25] Přeměna kolagenu na želatinu vede ke změně v molekulovém složení několika aminokyselin. Alkalický proces deaminuje glutamin na kyselinu glutamovou a asparagin na kyselinu asparagovou. Podíl kyseliny asparagové a glutamové je vyšší u želatiny typu B než u typu A. [28] Naopak obsah glycinu, prolinu a argininu je vyšší v želatině vepřové než v želatině hovězí. [32] Aminokyseliny jsou v želatině spojeny peptidovými vazbami s typickou sekvencí Gly-X-Y. Tato struktura je znázorněna na obrázku 8. [25] Polypeptidový vzor je pro obě želatiny velmi podobný [32].



Obrázek 8. Chemická struktura želatiny [38]

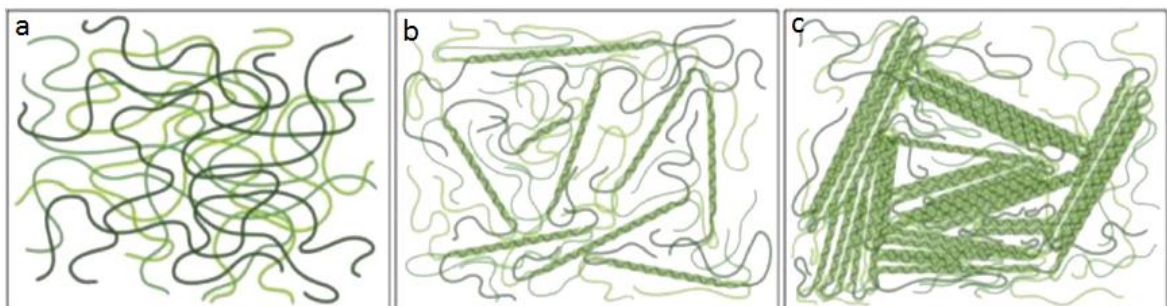
Struktura želatiny se při gelovatění mění. Podle složení gelu mají řetězce různé prostorové uspořádání a různě se vzájemně ovlivňují. Tyto dvě vlastnosti závisí na koncentraci želatiny, teplotě a energii nezbytné pro vytvoření sekundární struktury. Struktura jednoho řetězce obsahující dvě vlákna může být tvořena dvěma α -řetězci, nebo jedním α -řetězcem, který vytváří dvě smyčky. Podobně může být tvořena struktura ze tří vláken. Ta může být

formována třemi různými α -řetězci, nebo dvěma α -řetězci, z nichž jeden tvoří smyčku anebo pouze jedním α -řetězcem se dvěma smyčkami. [28] Toto uspořádání můžeme vidět na obrázku 9.



Obrázek 9. Různé prostorové uspořádání řetězců v želatině [28]

Coppola, Djabourov a Ferrand charakterizovali strukturu želatiny typu B (hovězí kůže) pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Želatinové filmy mohou tvořit tři různé struktury, které jsou ukázány na obrázku 10: amorfní se strukturou podobá primárním řetězcům, semi-krystalická je složená z 3-šroubovic, které mají na každém konci smyčku a krystalický stav odpovídající 3-šroubovicím, které jsou na koncích spojeny. Uspořádání závisí na rychlosti sušení želatinového filmu. Amorfní stav vzniká při rychlém sušení želatinových filmů, naproti tomu krystalický stav odpovídá pomalému sušení. Jones pozoroval, že rychlost sušení ovlivňuje i tloušťka filmů a má vliv i na prostorové uspořádání molekul. [28]



Obrázek 10. Schéma želatinových filmů: a) amorfní; b) 3-šroubovice; c) spojené 3-šroubovice [28]

2.4.1 Pevnost Bloom a gelovatění

Pevnost gelu je důležitým kritériem určující kvalitu želatiny. Počáteční důraz je kladen na pevnost želatinových gelů vytvořených za standardních podmínek a dále se stanovují fyzikální, chemické a mikrobiologické vlastnosti. Nicméně komerční hodnota želatiny se opírá hlavně o pevnost gelu, který se hodnotí Bloom testem. [41]

Pevnost želatinového gelu vytvořeného za standardních podmínek se označuje jako pevnost Bloom. Dodavatel musí zákazníka o této pevnosti informovat. Spojitost mezi koncentrací želatiny a její pevností gelu závisí na typu a původu samotné želatiny. Pevnost gelu může být ovlivněna obsahem vlhkosti ve vzorcích želatiny, a proto by měla být stanovena při nebo před měřením pevnosti gelu. [41] Komerčně vyráběná želatina má hodnoty od 50 do 300 Bloom [21].

Pevnost želatinového gelu se měří podle oficiální metody AOAC 948.21 [34].

Ve studené vodě želatina bobtná, po zahřátí nad teplotu tání se nabobtnalá želatina rozpouští a ochlazením tvoří gel. Tento přechod sol-gel je reverzibilní. Tato vlastnost se využívá v potravinářských aplikacích. Želatinové gely začínají tát při teplotě 27-34°C a mají tendenci tát v ústech, což je žádoucí vlastnost v potravinách. [25]

2.4.2 Chemické a mikrobiologické vlastnosti

Připravené vzorky jsou podrobeny identifikačním testům, například stanovení čirosti a testy barevnosti. Želatina by měla obsahovat méně než 1 ppm arzenu a méně než 50 ppm těžkých kovů. Celkový podíl popelovin by měl být menší než 2% a obsah vlhkosti nižší než 15%. Želatinu nesmí obsahovat 1 g *Escherichia coli* a v 10 g se nesmí vyskytovat salmonelóza. Želatina musí obsahovat menší množství této bakterie než je 103 KTJ/g. [41]

2.5 Použití želatin

Želatina se používá v různých průmyslových oborech, jako je potravinářství, farmacie, fotografické emulze, tkáňové inženýrství.

2.5.1 Potravinářský průmysl

Želatina se používá při výrobě dezertů (ovocné želé), mléčných a cukrářských výrobků, jako jsou míchané a tepelně zpracované fermentované mléčné výrobky, zmrzlina a

dezerty se šlehačkou, masné a lahůdkářské výrobky, nápoje, fotografie a inkoustový tisk, farmacie a medicína. [34]

Rozdělení želatiny podle funkcí:

- Želírující látka: želé, aspik
- Šlehačí činidlo: provzdušněné cukrovinky, mléčné sycené dezerty
- Stabilizátory: zmrzlina, polevy
- Emulgátor: salátové dresinky, šlehačky
- Zahušťovadlo: aromatické sirupy, konzervované polévky
- Adhezivo: cukrářské výrobky (např. slepení různých vrstev)
- Pojivo: cukrová pasta, lékořice
- Čiřící prostředek: víno, ovocná šťáva [25]

S objevem bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) tzv. „nemocí šílených krav“ je v potravinářském průmyslu proječován stále větší zájem o různé želatinové alternativy. Jedná se o polysacharidy na bázi gellanu, alginátu nebo karagenanu. Tyto alternativy mají méně flexibilní molekulární hlavní řetězce, což vede k vyšší viskozitě než jakou má želatina. Želatinu lze nahradit některými hydrokoloidy smíchanými s vysoko- nebo nízkometoxylovými pektinovými gely, ty se ale nepovažují za dobrou náhražku, protože tvoří tepelně ireverzibilní gel, vyžadují nízké pH a dobře rozpustné pevné látky. Nízkometoxylový pektin se zdá být, i když za vysokých koncentrací sacharózy, při gelování flexibilnější. Další alternativou je duálně modifikovaný gel v optimální kombinaci 60% škrob a 40% pšeničná vlákna, který nahrazuje želatinu v jogurtu. Jogurty s touto náhražkou vykazují vyšší stabilitu při skladování nad 20°C. Vysoce acylovaný gellan gum vytváří měkké, elastické, termoreverzibilní gely pro aplikace, jako je kultivace mléčných výrobků, omáčky, džemy, želé, dezerty, cukrovinky, mléčné pudinky, mléčné a ovocné nápoje. Ióta karagenan je typ extraktu karagenu vytvořený pomocí proprietární extrakční metody používaný na želé nebo tvarované cukrovinky. Produkty na bázi ióta karagenanu umožňují kratší časy kondicionování, snadnější demontování a alternativní formující procesy.[21]

2.5.2 Farmaceutické a lékařské aplikace

Jako biomateriál se začala želatina používat docela nedávno. Tkáňové inženýrství vzniklo v roce 1970. V posledních letech se želatina používá jako buněčný interaktivní povlak nebo jako mikro nosič jiných biomateriálů. Matrice želatina/chitosan byla prezentována jako biomateriál pro tkáňové inženýrství a má být použita v konkrétních oblastech - podávání léků, obvazy, stehy, nervové vedení a šablony matice pro tkáňové inženýrství. Lidské pojivové tkáně neobsahují chitosan, ale ten má podobnou strukturu jako glykosaminoglykan (GAG), který je většinou součástí ECM. [29]

Materiály na želatinové bázi jsou v očním tkáňovém inženýrství oblíbené jako nosiče buněk. Používají se k dopravě rohovkových endoteliálních listů na zadní část rohovky a listů pigmentového epitelu sítnice do prostoru sub-sítnice. V obou aplikacích byly dehydrované želatinové lamely úspěšně dopraveny kanylou a bez nežádoucích biologických účinků rychle vstřebány *in vivo*. Fotozesíťované želatinové scaffolds se používají v celé řadě aplikací, včetně tkáňového inženýrství při opravě chrupavky, tvorbě krevní cévy, a také rozvoji srdeční tkáně. Zesíťované želatinové scaffolds tvoří malou, ale důležitou součást očního tkáňového inženýrství. Želatina podobně jako kolagen nabízí nízké náklady výchozího substrátu, které za použití vhodných metod zesíťuje a mohl by poskytnout nižší antigenní a imunogenní rizika než její mateřský materiál. Želatina a její deriváty byly použity jako možná kostra pro rohovkový epitel, korneální endotel a pigmentový epitel sítnice, bioumělá podpurná vazivová tkáň rohovky a bioadhezivum při léčbě odchlípené sítnice. Možnosti použití zesíťování k posílení želatinové scaffolds jsou v této oblasti rozsáhlé. V průběhu posledního desetiletí vzestup transplantace rohovky vedlo k příležitosti doplnění nedostatečného množství dárců. Je zkoumána spíše toxicita buněk než vytváření funkčních tkání. Obtížné je formování pravidelných disperzí stromálních buněk rohovky pomocí želatinových matic, kvůli nešetrným nebo zdlouhavým síťovacím procesům nemohou být vyrobeny buňky obtížné konstrukce. Vývoj v ostatních oblastech tkáňového inženýrství ukázal, že fotozesíťované želatinové výrobky mohou být použity k vytvoření buněčných hydrogelů. Aplikace fotozesíťované želatiny v stromálním tkáňovém inženýrství rohovky je oblast, která musí být ještě prozkoumána a to zejména u materiálů na bázi želatiny. [42]

Ve farmaceutickém průmyslu se želatina používá hlavně k výrobě tvrdých a měkkých želatinových kapslí, pro tabletování, potahování tablet, granulaci, zapouzdření a mikroenkapsulaci. Pomáhá zabránit oxidaci a dělá přípravky chutnější. Kapsle jsou vyrobeny po-

mocí kolíkové formy, na jejichž povrchu je mazivo, které usnadní následné sejmutí kapsle. Želatiny s Bloom v rozmezí 0-140 jsou nabízeny pro mikroenkapsulaci vitamínů A, D a E. Rybí želatina má výjimečně dobré filmotvorné vlastnosti a je nabízena pro mikroenkapsulaci, kde náboženské důvody nedovolují použití savčí produkty. Želatinové kapsle jsou používány k zapouzdření potravin, potravinových doplňků a léků. Našly uplatnění v potravinářském průmyslu, protože zapouzdřené materiály jsou chráněny proti vlhkosti, teplotě nebo jinými extrémním podmínkám, tím se zvyšuje jejich stabilita a trvanlivost. Želatina se používá ve farmaceutických přípravcích jako základ mastí, vakcín a jako pojivo pro tablety. Želatinové filmy z kůže teplovodních druhů ryb (Okoun nilský - *Lates niloticus*) vykazují podobné napětí a tažnost jako želatina z hovězích kostí. Filmy z rybí želatiny vykazují nižší propustnost pro vodní páry než hovězí želatina. Želatinové filmy z kůže tuňáka měkčenou glycerinem ukázaly nižší propustnost pro vodní páry oproti vepřové želatině. [21]

2.5.3 Další aplikace

Želatina se používá jako médium pro výrobu fotografických emulzí a také jako složka fotografické vývojky při zpracování exponovaného filmového materiálu. Fotografická vývojka je obvykle alkalický roztok obsahující redukční činidlo, které rychle snižuje halogenidu stříbra, je-li reakce katalyzovaná pomocí latentního obrazu vytvořeného během expozice a pomalu v případě, že nebyl vystaven halogenidu stříbra. Želatina zvyšuje schopnost vývojky rozlišovat mezi exponovanými a neexponovanými krystaly. [21] Kolagen, želatina a glycerin se také používají jako přísady barev, laků, lepidel, nemrznoucí směsi, čisticích prostředků, leštidel a léčiv. [3]

3 VÝROBA HYDROLYZÁTŮ

Kolagenní hydrolyzát je vyrobený z tkáně živočichů obsahující kolagen (kosti, kůže a štípenka). Jedná se o produkt získaný ze surovin podrobených technickým procesům, včetně extrakce, enzymatické hydrolyzy, purifikaci, zahušťování, sterilizaci a sušení. [43]

Peptidové řetězce želatiny nebo kolagenu jsou pomocí kontrolované hydrolytické úpravy štěpeny na menší s nižší molekulovou hmotností od 500 Da do 25 kDa. Podle druhu enzymu, podmínkách prostředí a rozsahu hydrolyzy vznikají různé peptidové vazby. Ve srovnání s želatinou netvoří gel, ale stejně jako želatina má stále aktivní povrch. Hydrolyzát může být vyrobený z želatiny, nebo přímo z čistého zvířecího kolagenu, který má vysokou odolnost a proto musí být ve velkém množství použity speciální kolagenázy, což má za následek i vyšší výrobní náklady. Z toho důvodu se v průmyslu používá pro výrobu hydrolyzátu želatina. [44]

Enzymatická hydrolyza je jedním z nejefektivnějších způsobů obnovy proteinu, čímž zvyšuje komerční hodnotu této biomasy. Jedním z nejdůležitějších charakteristik přímo ovlivňující délku peptidu a jejich nutričních, funkčních a senzorických vlastností je Stupeň hydrolyzy (DH). Ten pozitivně koreluje s rozpustností hydrolyzátů a tím napomáhá ke stravitelnosti proteinu. Kromě DH je důležité i obnovení proteinů a distribuce molekulové hmotnosti rozpuštěných peptidů, protože dávají informace o možném použití hydrolyzátů. Mezi enzymy vhodné pro hydrolyzu patří Alcalase, Neutrase, Protamex a Kojizyme. [4]

Mikrobiální enzymy nabízejí širokou škálu katalytické aktivity, jakož i vyšší pH a teplotní stabilitou. Mezi nejvhodnější a nejpoužívanější enzymy pro hydrolyzu proteinů patří mikrobiální proteáza Alcalase. Jedná se o nejúčinnější enzym mezi proteolytickými enzymy pro hydrolyzu bílkovin a produkuje hydrolyzáty s nejvyšším stupněm hydrolyzy. Hydrolyzáty připraveny hydrolyzou pomocí Alcalasy mají největší výtěžek proteinu a nejnižší obsah lipidů ve srovnání s Papainem a Neutrasou a jsou méně hořké než ty připravené Papainem. [44]

Protamex je enzym dodávaný dánskou společností Novozymes. Jedná se o komplex *Bacillus* proteázy (Čísla ES: 3.4.21.62 a 3.4.24.28) vyvinutý pro hydrolyzu proteinů potravin [4,42] a splňuje požadavky čistoty potravinářských enzymů, které stanovuje Společný výbor odborníků pro potravinářská aditiva FAO/WHO (JEFTA) a Kodex pro potravinářskou chemii (FCC). [45]

3.1 Výroba kolagenních hydrolyzátů

Kolagenové hydrolyzáty se vyrábějí řízenými hydrolytickými procesy z rozpuštěných peptidů. Surovina se promyje, homogenizuje a demineralizuje zředěnou minerální kyselinou nebo zásadou. Surový materiál se v několika fázích extrahuje teplou vodou a následuje enzymatická degradace želatiny, kterou dostaneme finální produkt tzv. kolagenní hydrolyzát. Kolagenní hydrolyzáty se liší molekulovou hmotností (2-6 kDa), která je nižší, než průměrná molekulová hmotnost peptonů (sekundární protein). Po purifikaci je produkt koncentrovaný a vysušený. Vysušením dochází k regulaci velikosti molekul a odstranění nebo snížení hořkosti výsledných hydrolyzátů. Nejúčinnější postup pro odstranění vysoké zbytkové molekulové hmotnosti peptidů a proteinů nebo snížení obsahu antigenu v hypoalergenních strukturách je ultrafiltrace. Vlastnosti produktů se ověřují analýzami: osmolari- ta, analýza stupně hydrolýzy, distribuce molekulových hmotností, obsah dusíku, složení aminokyseliny a přítomnost toxických látek (biogenní aminy nebo patogeny). [46]

3.2 Vlastnosti a použití kolagenních hydrolyzátů

Želatina a kolagenní hydrolyzáty mají dobré biologické funkce, i když jejich biologická hodnota je nízká, protože neobsahují všechny esenciální aminokyseliny. Jejich nutriční složka se používá jako doplněk jiných proteinů, protože je dobře stravitelná a spotřebitelem dobře přijímána. Kolagenní hydrolyzáty, stejně jako všechny bílkovinné hydrolyzáty, jsou dobře rozpustné za vysokého Stupně hydrolýzy, která je užitečná pro potravinářské aplikace a ovlivňuje emulgační a pěnicí vlastnosti, jsou tepelně stabilní a relativně vysoce odolné proti srážení. Velmi dobře vážou vodu a mohou být použity jako základní složka produktů s nízkým obsahem sacharidů nebo nízkotučných potravin. Orálně podávaný kolagenní hydrolyzát se vstřebává střevní stěnou a usazuje se v chrupavce. Peptidové přípravky odvozené z želatiny jsou dobře snášeny a téměř nemají vedlejší účinky, včetně pocitu nepříjemné chuti, pocitu těžkosti a nafouknutého břicha nebo pálení žáhy. [46]

Kolagenní hydrolyzáty se používají v lékařství jako energetické doplňky, geriatrické výrobky a střevní, léčivé nebo dietní produkty. Jsou dobrým zdrojem aminokyselin, pro jedince trpící anorexií, anémií a pro vegetariány (nedostatek masa v stravě). Doplnky stravy obsahující kolagenní hydrolyzáty posilují šlachy, regenerují klouby u fyzicky aktivních osob (běžci) trpících bolestí kloubů a snižuje bolesti u pacientů s osteoartritidou a osteo-

porózou. Podílejí se na syntéze matrixu chrupavky. Proteinové hydrolyzáty se používají pro léčbu pacientů se specifickými poruchami trávení [46] nebo jako složky energetických nápojů, sportovní výživy a pro seniory a osoby se sníženou imunitou. [47]

Ve farmaceutickém průmyslu se želatina a kolagenní hydrolyzát používají k výrobě kapslí, implantátů a nitrožilní infúze. V potravinářském průmyslu je to například v cukrářství (zlepšení textury, žvýkatelnosti a stabilizaci pěny), u mléčných výrobků (stabilizace), v pekařství (stabilizace, emulgace a gelovatění), u nízkotučných pomazánek (snížení obsahu tuku a krémový pocit v ústech), u zpracování masa (vážou vodu – reorganizování šunky) a při výrobě vína a ovocné šťávy (čiřící prostředek). [46]

Želatinové hydrolyzáty jsou rozpustné ve studené vodě, netoxické a dermatologicky dobře snášeny. Jejich schopnost adsorbovat se do keratinové struktury kůže a vlasů je označována jako substantivita. Ta se zvyšuje se zvyšující se molekulovou hmotností, zatímco rozpustnost ve studené vodě klesá. Želatinové hydrolyzáty, které mají střední molekulovou hmotnost $3000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ mají výrazně vyšší substantivitu než hydrolyzáty s nižší molekulovou hmotností. Tato adsorpce je důležitá v péči o pleť a vlasy. Umožňuje želatinovým hydrolyzátům zůstat na kůži aktivní delší dobu, během které jsou schopné vázat vlhkost. Kromě toho tyto polypeptidy přispívají k zlepšení vzhledu pokožky. Kvalitu pokožky zlepšují i orálně podávané želatinové hydrolyzáty, jako je tomu v případě želatiny. Pomocí klinické zkoušky bylo prokázáno působení hydrolyzátu kolagenu na pevnost, pružnost a hydrataci kůže. Z pevné složky byly připraveny tři denní dávky nápoje. Jednalo se o dvě různé koncentrace hydrolyzátu želatiny (2 g a 5 g) a placebo obsahujícího sacharid místo hydrolyzátu želatiny. Dobrovolníci dostávali jednu denní dávku připraveného nápoje. Při podávání produktů obsahujících hydrolyzát želatiny bylo časem pozorováno zlepšení pevnosti pokožky. Významné zlepšení pružnosti bylo pozorováno po aplikaci přípravku obsahujícího 5 g hydrolyzátu želatiny. Také hydratace pokožky tímto produktem bylo výrazně lepší, než pro placebo nebo produkt s obsahem 2 g hydrolyzátu želatiny. Pozorování pevnosti a pružnosti ukázalo, že tento výrobek má vysoký potenciál v péči o pleť při denním požití jednoduchého nápoje. [22]

Želatinové hydrolyzáty se využívají v kosmetických a dermatologických přípravcích díky účinkům na pleť a vlasy a to zejména v čistících přípravcích, jako ochranné koloidy, které zlepšují snášenlivost povrchově aktivních látek. Nejdříve se hydrolyzát želatiny adsorbuje na keratin, kde působí jako ochranný koloid, a tím chrání před účinky povrchově ak-

tivních látek. Tímto způsobem se snižuje extrakce nekeratinových složek z rohovité vrstvy (přírodní hydratační faktor) a udržuje se přirozené pH kůže. Želatinové hydrolyzáty mohou také pomoci snížit dráždivost povrchově aktivních látek. Tvorbou komplexu mezi proteiny a povrchově aktivními látkami, který je založen na iontové interakci. V případě aniontových povrchově aktivních látek, je tvorba komplexu silnější, protože povrchově aktivní iont je více polární. Slabě kyselé soli jsou tvořeny ze solí silných kyselin, protože karboxylová skupina polypeptidu se částečně stává funkční skupinou povrchově aktivní látky. Bylo prokázáno, že kompatibilita sliznice k povrchově aktivním látkám se může podstatně zlepšit použitím hydrolyzátu želatiny. Želatinové hydrolyzáty mohou být také použity pro dosažení technologických efektů. Například mají dobrý vliv na pěnicí chování formováním povrchově aktivních látek. Lze tak zásadním způsobem zlepšit stabilitu a kvalitu pěny. [22]

Přímé účinky hydrolyzátů želatiny u vlasů jsou substantivita, tvorba filmu, zlepšení lesku, zvětšení objemu, snadné česání a pocit hebkosti při doteku. Želatinové hydrolyzáty se adsorbují do keratinu vlasů tím efektivněji, čím jsou vlasy poškozenější. Filmotvorné hydrolyzáty také tvoří ochrannou vrstvu kolem jednotlivých vlasů. Tato interakce zlepšuje strukturu vlasů, lesk a usnadňuje rozčesávání. Hydrolyzát želatiny o střední molekulové hmotnosti $3000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ se nejen adsorbuje do vrstvy dlaždicových buněk, ale může difundovat hlouběji do vláknitých buněk. Při trvalé ondulaci a zesvětlení vlasů pomocí přípravků s alkalickým pH mohou želatinové hydrolyzáty zabránit extrémnímu otoku způsobeného hydroxidem, stejně jako nadměrnému chemickému poškození cystinových vazeb a povrchu vlasů. Barvy na vlasy obsahující hydrolyzát želatiny umožňují, aby bylo barvivo absorbováno rovnoměrněji. [22]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Cílem experimentu bylo posoudit možnosti přípravy želatin (respektive hydrolyzátů) z drůbežích nožek, což je vedlejší produkt drůbežáren. Výrobu želatiny z kuřecích běháků enzymovým opracováním literatura nezmiňuje. Jsou známy postupy jejich zpracování v kyselém nebo zásaditém prostředí.

Dílčí cíle práce:

1. Sledovat stanovené technologické podmínky při zpracování (přídavek enzymu, teplota a doba extrakce) na výtěžek produktů (želatina/hydrolyzát).
2. Charakterizovat vybrané produkty želatina/hydrolyzát:
 - a) ověřit, zdali připravený produkt tvoří gel podle metodiky na testování želatin, respektive klišů,
 - b) stanovit u připravených produktů obsah popelovin.
3. Navrhnout optimální podmínky zpracování s ohledem na:
 - a) maximální stupeň konverze výchozího materiálu na konečný produkt,
 - b) schopnost produktu tvořit gel,
 - c) minimální obsah popelovin v připravených produktech.

5 MATERIÁLY A METODY

5.1 Použité materiály, chemikálie a přístroje

Pro experiment byly použity surové kuřecí běháky od firmy Raciola Uherský Brod, které jsou v rozemletém stavu zobrazeny na obrázku 11. Složení surových kuřecích běháků (v sušině):

Popel	16,1%
Bílkoviny	48,3%
Tuk	29,9%



Obrázek 11. Rozemleté kuřecí běháky

Použité chemikálie:

150 mM roztok hydrogenuhličitanu sodného (NaHCO_3)

0,10 % roztok hydroxidu sodného (NaOH)

2%, 20% a 36% kyselina chlorovodíková (HCl)

enzym Protamex, Novozymes Dánsko, bezpečnostní list viz příloha 1

destilovaná voda

Použité přístroje pro přípravu a měření:

řezačka masa SPAR Mixer SP-100AD-B, předvážky KERN 440–47, analytické váhy VWR LA 214, váha přesná VWR 6500 g / 0,1 g, sušárna Memmert ULP 400, sušárna Binder FD 53, sušárna Venticell, magnetické míchadlo MM4 LAVAT, magnetické míchadlo s ohřevem IKA–RCT basic, teplotní čidlo IKA ETS-D4 fuzzy, magnetické míchadlo s ohřevem IKA C-MAG HS 7, teplotní čidlo IKA ETS-D5, topná deska s magnetickým míchadlem SCHOTT GERÄTE GMBH, teplotní čidlo OE 14619, centrifuga universal 32, pH metr WTW 526, muflová pec Nabertherm, třepačka LT2, chladnička Fagor, chladnička Samsung Calex, mraznička Whirlpool, exsikátor (s vysušeným silikagelem), laboratorní sklo (Erlenmayerova baňka, kádinky, pipeta, odměrný válec, ...) a pomůcky (míchadlo), nepřilnavá folie, PE-LD sáčky, pečící plech, kahan, zapalovač.

5.2 Charakterizace želatin a hydrolyzátů**Stanovení obsahu sušiny**

Velmi důležitým krokem bylo analytické stanovení sušiny. Toto stanovení sloužilo pro navážku enzymu a pro bilanční výpočty. Do koželužských misek bylo na analytických vahách naváženo 1,5 g materiálu (s přesností na 0,0001 g), který byl vysušen při teplotě 103°C do druhého dne. Poté byly misky umístěny do exsikátoru a po ochlazení na pokojovou teplotu na stejných vahách opět zváženy. Pro každý vzorek bylo provedeno 3 stanovení sušiny a zprůměrovány, výpočet se provedl podle vzorce:

$$S = \frac{m_1}{m_2} \cdot 100 (\%)$$

Kde: m_1 hmotnost vysušeného materiálu (g)

m_2 hmotnost materiálu před vysušením (g)

Stanovení pevnosti gelu želatin

Stanovení se provádí podle normy AOAC 948.21, kdy je v předepsané nádobě připraveno 112 g vzorku gelu o koncentraci 6,67% (htm%).

Je měřena tzv. Bloom gelometrem, který stanovuje pevnost gelu měřením síly v gramech potřebnou k stlačení povrchu želatinového gelu o 4 mm pomocí diametru s plochým kruhovým dnem o průměru 12,7 mm. Koncentrace gelu je 6,67% a připravuje se v Bloom nádobě ze 7,5 g želatiny a 105 g destilované vody ($\Sigma = 112$ g). Nechá se nabobtnat a pak se zahřívá ve vodní lázni na 60°C. Jemným krouživým pohybem se získá homogenní roztok. Vzorky se nechají odležet při pokojové teplotě 15 min a před testováním se vloží do lázně o teplotě 10°C na 16-18 hodin. Dnes se místo Bloom geomertu používá Stevens-LFRA analyzátor textury. [48]

Pro přípravu želatiny je možné si vybrat jednu ze tří metod v závislosti na množství materiálu. V tomto případě byla želatina připravena pomocí metody B, kdy výslednou hodnotu Bloom bylo nutné přepočítat, protože při této metodě byly hodnoty pevnosti gelu vyšší o faktor: 1,2627. Do předem zvážené váženky o vnějším průměru 50 mm a výšce 50 mm byly naváženy 3 g vzorku s přesností na 0,0001 g, který byl rozmíchán v 42 ml destilované vody. Směs se nechala 15 min nabobtnat a poté byla za stálého míchání zahřívána na 40°C do úplného rozpuštění. Po důkladném rozpuštění vzorku byly váženka s roztokem umístěna do chladničky nejlépe do druhého dne, kdy byla stanovována pevnost gelu.

Stanovení pevnosti gelu u klišu bylo prováděno ze vzorku o koncentraci 13,34% (htm%). Do předem zvážené váženky byly naváženy 3 g vzorku s přesností na 0,0001 g, který byl rozmíchán v 21 ml destilované vody. Směs se nechala 15 min nabobtnat a poté byla za stálého míchání zahřívána na 40°C do úplného rozpuštění. Takto připravená směs byla umístěna do chladničky, nejlépe do druhého dne, kdy byla stanovována pevnost gelu. [49]

Stanovení obsahu popelovin

Obsah popela udává množství anorganických látek a nečistot obsažených ve vzorku. Před navážením vzorku byly žíhací kelímky přežíhány po dobu 10 min v muflové peci. Po jejich vychladnutí na pokojovou teplotu byly zváženy na analytických vahách s přesností na 0,0001 g a byl do nich navážen 1 g želatiny. Vzorek byl v kelímku spálen nad plyno-

vým kahanem a následně umístěn na 1 hodinu do muflové pece při teplotě 650°C. Před zvážením se kelímek nechal vychladnout na kovové síťce a poté byl umístěn do exsikátoru, kde se nechal vychladnout na pokojovou teplotu a zvážen. Stanovení bylo prováděno ze sušiny při 103°C, podle normy ISO 936:1998 [50]. Obsah popela P v % byl vypočítán podle vzorce:

$$P = \frac{m_1}{m_2} \cdot 100 (\%)$$

Kde: m_1 hmotnost popela (g)

m_2 hmotnost vysušeného materiálu (g)

Výpočet bilance hmot a stupeň konverze

U každého vzorku byla stanovena hmotová bilance a stupeň konverze.

Výpočet hmotové bilance:

$$VMS = KP + NP + T$$

Kde: VMS výchozí materiál - sušina

KP kapalný podíl

NP nerozložený podíl

T tuk

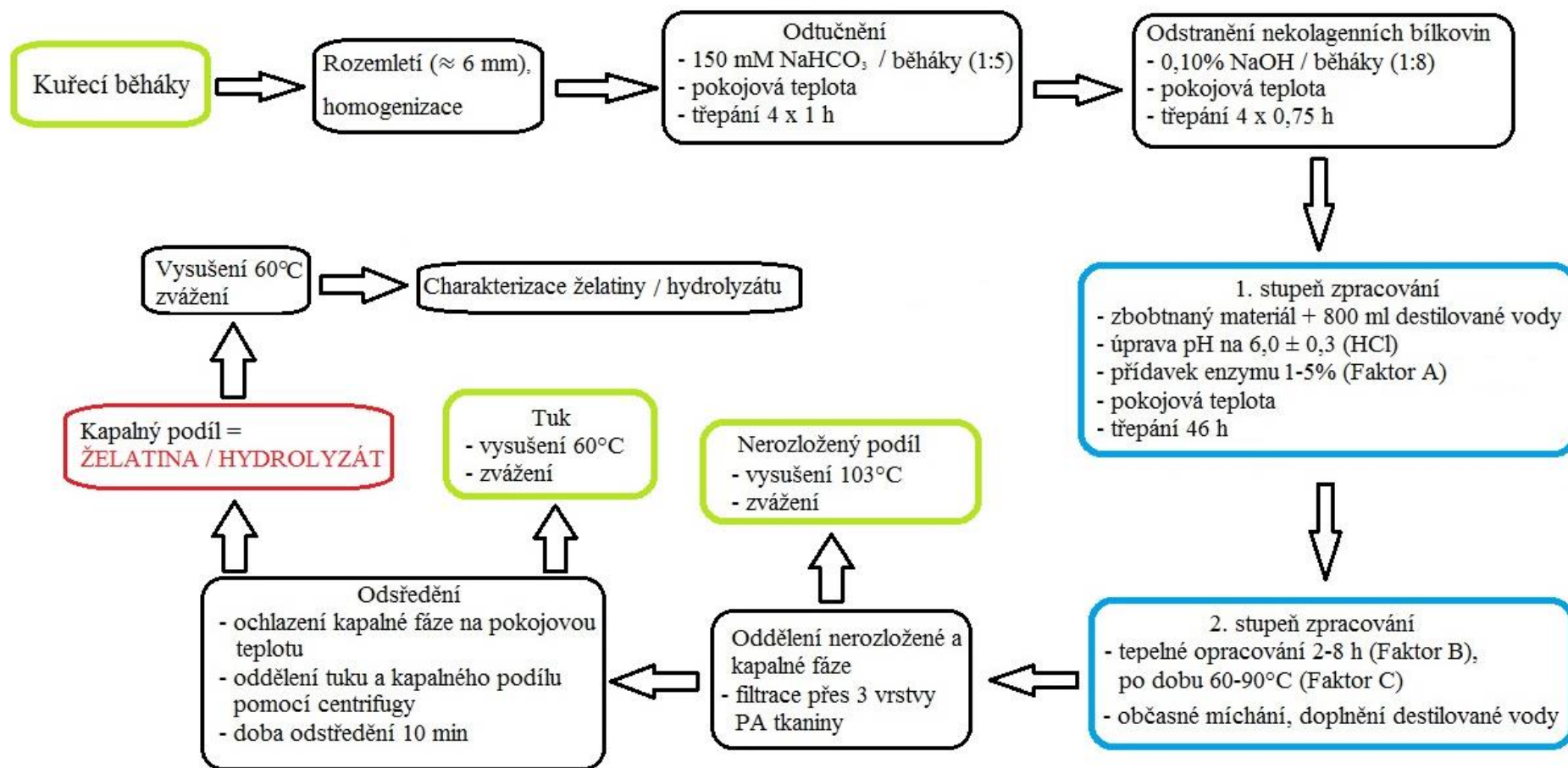
Výpočet bilanční chyby:

$$|BCh| = 100 - \left(\frac{KP + NP + T}{VMS} \cdot 100 \right) (\%)$$

Kde: BCh..... bilanční chyba

Stupeň konverze η se vypočítal podle vzorce:

$$\eta = \frac{KP}{VMS} \cdot 100 (\%)$$



Obrázek 12. Blokové schéma přípravy želatiny/hydrolyzátu

6 POSTUP PRÁCE

6.1.1 Metodika práce

Plánování pokusů umožňuje získat maxima informací, při stanovení vazeb a vlivů jednotlivých veličin na sledovaný výsledek. Faktorové plánování je založeno na matici vzájemně kombinovaných počátečních hodnot daného pokusu.

Pro zpracování kuřecích běháků byly stanoveny 3 faktory na 2 úrovních, tedy 2^3 + centrální experiment.

Faktor A:	Přídavek enzymu	1 - 3 - 5% (vztaženo na sušinu zpracovávaného materiálu)
Faktor B:	Teplota extrakce	60 - 75 - 90°C
Faktor C:	Doba extrakce	2 - 5 - 8 hodin

6.1.2 Příprava kuřecích běháků

Pro přípravu byly použity kuřecí běháky cca 1,5 kg promyté ve vodě od nečistot, zbytků krve atd. Byly osušeny látkovou utěrkou a rozemlety na elektrické řezačce masa SPAR Mixer SP-100AD-B na velikost částic ≈ 6 mm. Tím bylo docíleno potřebné homogenizace materiálu, který byl uchovávan v mrazničce. Před samotnou přípravou bylo potřebné množství rozmrazeno a do samotného použití uchováno v chladničce.

Rozemleté a zhomogenizované surové běháky byly nejdříve odtučněny. Obdobný postup před-přípravy použili Badii a Howell a publikovali v roce 2006 [51]. Do Erlenmayerovy baňky byl na předvážkách navážen materiál, který byl v poměru 1:5 namočen do 150 mM NaHCO₃ (120 g rozemletých kuřecích běháků + 600 ml 150 mM NaHCO₃). Takto připravená směs byla při pokojové teplotě umístěna na 1 hodinu do třepacího inkubátoru. Po uplynutí doby třepání byl materiál odfiltrován přes kuchyňské sítko a promyt vodou (cca 1 litr). Promytý materiál byl vrácen do Erlenmayerovy baňky a opět bylo přidáno 600 ml 150 mM NaHCO₃. Celý postup byl opakován 4x po sobě.

Pro odstranění nekolagenní bílkoviny byla použita 0,10% NaOH. Odtučněný materiál byl v Erlenmayerově baňce doplněn 0,10% NaOH v poměru 1:8 (120 g rozemletých kuřecích běháků + 960 ml 0,10% NaOH) a při pokojové teplotě byl třepán na třepacím in-

kubátoru 45 min. Poté byl odfiltrován přes kuchyňské sítko a promytý vodou (cca 1 litr). Materiál byl umístěn zpět do Erlenmayerovy baňky a doplněn 960 ml 0,10% NaOH. Celý postup byl také opakován 4x po sobě.

Po provedené před-přípravě byl materiál zbaven mechanicky vody a to tak, že byl vložen do kuchyňského sítka a voda byla důkladně vymačkána.

6.1.3 Zpracování odtučněných a vyčištěných běháků

Postup byl rozdělen na 2 stupně.

V 1. stupni byl výchozí materiál neutrálně opracován enzymem. Materiál z bodu 6.1.2 byl v Erlenmayerově baňce doplněn 800 ml destilované vody. Při úpravě pH bylo nejdříve přidáno 10 kapek 36% HCl a po přiblížení k požadované hodnotě byly přidávány 20% nebo 2% HCl, dokud pH nemělo hodnotu $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$. Poté byl přidán enzym Protamex v množství podle faktoru A (vztaženo na sušinu). Erlenmayerova baňka byla umístěna do třepacího inkubátoru na dobu 46 hodin, po kterou docházelo k třepání materiálu.

Ve 2. stupni byl materiál z Erlenmayerovy baňky přelit do kádinky umístěné na magnetickém míchadle s kontrolovaným ohřevem a přiveden na teplotu podle Faktoru B. Po dosažení požadované teploty byl materiál extrahován po dobu dle Faktoru C. Během extrakce bylo materiálem mícháno a bylo kontrolováno množství vody v kádince, aby nedošlo při vyšších teplotách k jejímu úplnému odpaření.

Po ukončení extrakce byl systém přefiltrován přes kuchyňské sítko opatřeného 3 vrstvami PA tkaniny. Tím byl získán kapalný a nerozložený podíl. Nerozložený podíl byl vysušen při 103°C a zvážen.

Kapalný podíl byl nejprve v odměrném válci ochlazen na pokojovou teplotu a následně umístěn přes noc do chladničky. V horní části válce byl oddělen tuk, který bylo nutno odebrat. Pro lepší oddělení kapalného podílu a tuku byla použita centrifuga. Samotný kapalný podíl byl vysušen při 60°C na plechu s nepřilnavou folií a zvážen. Stejně tak i sebraný tuk, který byl vysušen při 60°C a zvážen.

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

Tabulka 1. Rozpis experimentů a výsledky extrakce želatin/hydrolyzátů podle faktorového schématu 2³

Exp. č.	Technologické podmínky			Charakterizace procesu						Charakterizace produktu po 2. stupni zpracování	
	Faktor A Přídavek enzymu (%)	Faktor B Teplota extrakce (°C)	Faktor C Doba extrakce (h)	Výchozí materiál - sušina (g)	Nerозložený podíl - sušina (g)	Tuk - sušina (g)	Želatina / hydrolyzát - sušina (g)	Bilanční chyba - sušina (%)	Stupeň konverze (%)	Pevnost gelu (Bloom)	Obsah popelovin ** (%)
1	1	60	2	26,9	8,7	2,3	14,4	5,6	53,5	-	2,6
2	1	60	8	27,7	9,6	1,1	15,6	5,1	56,3	-	5,3
3	1	90	2	29,4	10,9	2,8	13,6	7,1	46,3	-	5,2
4	1	90	8	27,4	10,7	2,1	13,2	5,1	48,2	52 *	5,7
5	5	60	2	28,6	8,4	3,5	16,8	0,3	58,7	-	11,8
6	5	60	8	30	10,2	1,9	17,8	0,3	59,3	-	9,8
7	5	90	2	24,6	8,1	3,4	13,2	0,4	53,7	-	10,3
8	5	90	8	22,1	8,4	2,0	12,3	2,7	55,7	-	9,5
9	3	75	5	24,1	9,5	1,6	14,3	5,4	59,3	-	8,2

* Pevnost byla měřena ze vzorku o koncentraci 13,34% (htm%).

** Vztaženo na sušinu.

7.1 Studium vlivu vybraných technologických podmínek

V tabulce č. 1 je znázorněn rozpis experimentů. Jsou v ní uvedeny technologické podmínky, které byly u jednotlivých experimentů použity, jedná se o přidavek enzymu, teplotu a dobu extrakce. Pro orientační posouzení zvolených technologických parametrů byly nejprve připraveny experimenty č. 1 a 8, na základě výsledků těchto experimentů byla provedena další optimalizace technologických parametrů. Experiment č. 9 je podle faktového plánování centrální.

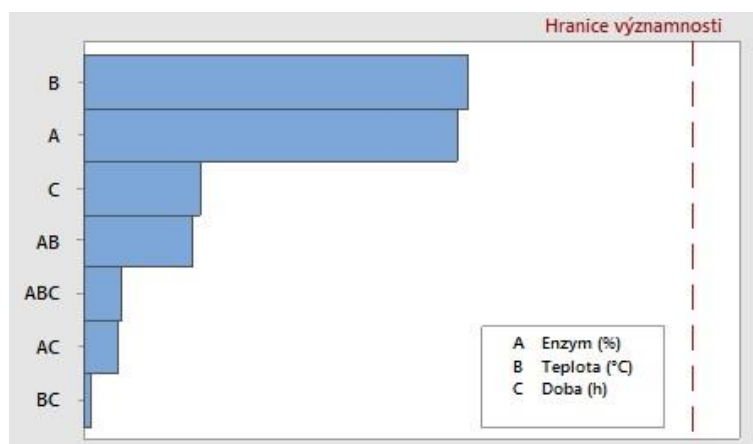
Připravené vzorky byly charakterizovány stanovením pevnosti gelu a obsahu popelovin. Za podmínek stanovení pevnosti gelu želatin u žádného vzorku gel nevznikl, tudíž připravené vzorky nejsou želatiny. Nicméně u vzorku č. 4 byla zjištěna vysoká viskozita roztoku, a proto se u něj přistoupilo k přípravě metodiky přípravy vzorku pro klihy. Vzniklý kliš měl hodnotu 52 Bloom. Nejnižší obsah popelovin byl stanoven u vzorku č. 1.

7.1.1 Stupeň konverze

Regresní rovnice pro stupeň konverze má tvar:

$$y = 65,60 + 0,7667 A - 0,2419 B + 1,050 C + 0,01194 AB - 0,2833 AC - 0,008194 BC + 0,003194 ABC$$

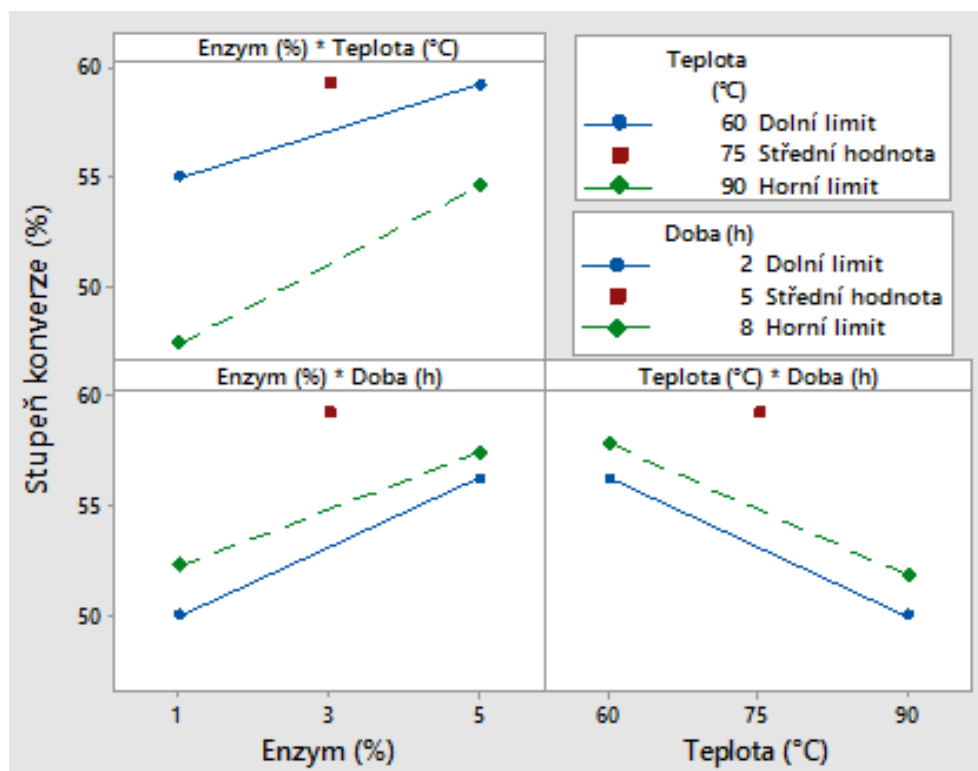
Na následujících obrázcích je graficky znázorněno vyhodnocení vlivu jednotlivých faktorů na stupeň konverze. Na obrázku 13 jsou znázorněny faktory ovlivňující stupeň konverze. Největší vliv má na celkovou účinnost extrakce zvolená teplota a přidavek enzymu. Naopak nejméně ji ovlivňuje doba extrakce.



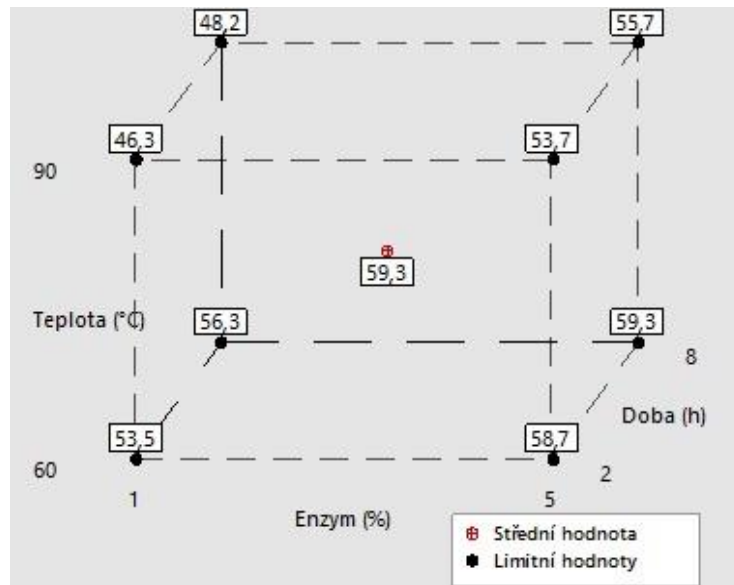
Obrázek 13. Hranice významnosti sledovaných faktorů na stupeň konverze

Obrázek 14 zobrazuje vliv interakcí sledovaných faktorů na stupeň konverze. Největší vliv na stupeň konverze má přidavek enzymu a teplota. V závislosti na teplotě je stupeň konverze největší při nízkých teplotách (60°C) a s rostoucí teplotou (90°C) klesá, přičemž doba extrakce na něj nemá téměř žádný vliv. S ohledem na použité množství enzymu je stupeň konverze nejmenší s přidavkem 1% a se zvyšujícím se množstvím roste, přičemž největší je při přidavku 5%. Použitá teplota má v závislosti na množství enzymu výrazný vliv, zatímco doba extrakce má vliv minimální.

Na obrázku 15 je kubické zobrazení vlivu sledovaných faktorů na stupeň konverze. Je z něj patrné, že největší stupeň konverze je 59,3% a bylo ho dosaženo při nejnižší teplotě, nejdelší době zpracování a největším množstvím přidaného enzymu. Tato hodnota je totožná se střední hodnotou, která měla odlišné podmínky zpracování. Naproti tomu nejmenší hodnota stupně konverze je 46,3%.

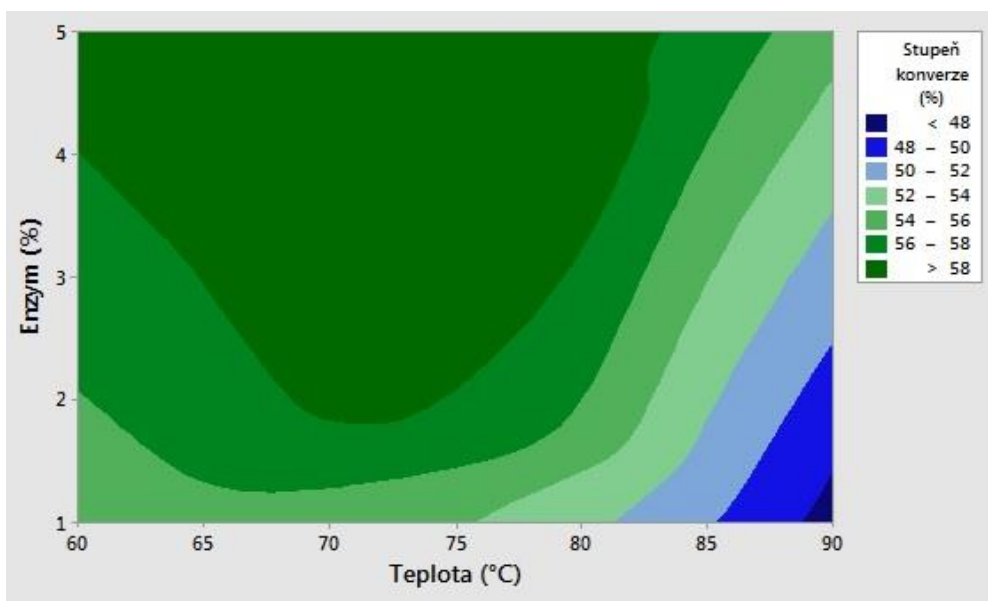


Obrázek 14. Vliv interakcí sledovaných faktorů na stupeň konverze



Obrázek 15. Kubické zobrazení vlivu sledovaných faktorů na stupeň konverze

Dále byly výsledky zpracovány do vrstevnicového grafu, který je na obrázku 16, znázorňujícího vliv teploty a enzymu na stupeň konverze. Oblast s nejvyšším stupněm konverze, nad 58%, je znázorněna tmavě zelenou barvou. Jedná se o rozmezí teplot 60-82°C s přidavkem enzymu 4-5%, přičemž vysokého stupně konverze lze dosáhnout i s přidavkem 2% enzymu při teplotách 69-73°C. Nejnižší stupeň konverze má hodnoty pod 48% a vyobrazuje ho tmavě modrá barva. Byl získán při přidavku enzymu 1-1,5% a teplotě 89-90°C, kdy právě v této oblasti hodnot bylo možno vyrobit kliš.



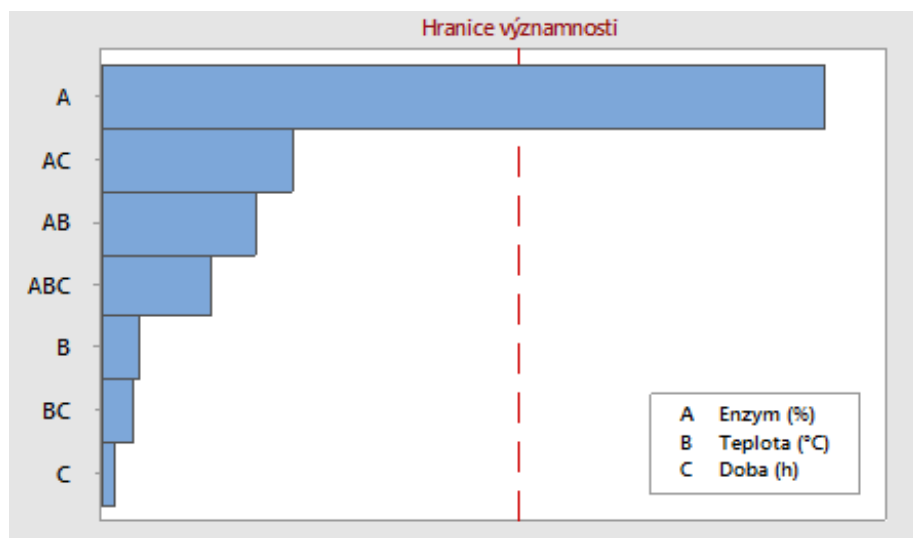
Obrázek 16. Vrstevnicový graf vlivu teploty a enzymu na stupeň konverze

7.1.2 Stanovení obsahu popelovin

Regresní rovnice pro obsah popelovin má tvar:

$$y = -10,28 + 5,308A + 0,1547B + 1,663C - 0,04361AB - 0,4792AC - 0,01694BC + 0,004722ABC$$

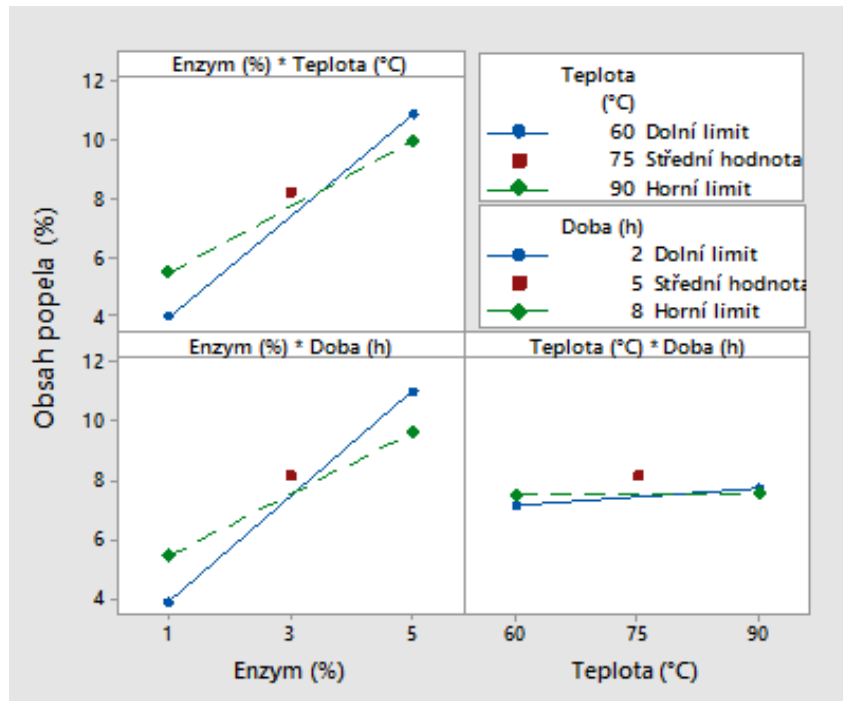
Na následujících obrázcích je graficky znázorněno vyhodnocení vlivu jednotlivých faktorů na obsah popela. Na obrázku 17 jsou znázorněny významné faktory, které ovlivňují obsah popela. Výrazně ho ovlivňuje množství enzymu, zatímco teplota a doba extrakce mají vliv minimální.



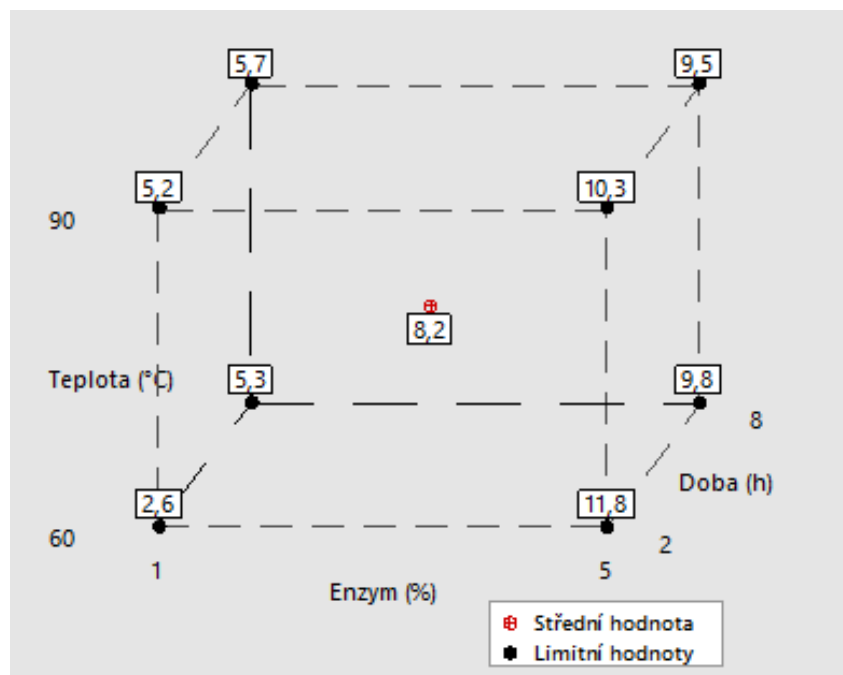
Obrázek 17. Významnost sledovaných faktorů na obsah popela

Obrázek 18 představuje vliv interakcí sledovaných faktorů na obsah popela. Je zjevné, že doba extrakce a teplota nemá na obsah popela téměř žádný vliv, zatímco množství přidaného enzymu má vliv velký. Nejmenší obsah 2,6% obsahoval vzorek č. 1 připravený při teplotě 60°C, době extrakce 2 hodiny a přidavku enzymu 1%. Zatímco 11,8% obsahu popela bylo zjištěno u vzorku č. 5 připraveného při teplotě 60°C, době extrakce 2 hodiny, při teplotě 60°C, ale s přidavkem 5% enzymu. Na obrázku 19 je kubické zobrazení vlivu sledovaných faktorů na obsahu popela. Jak už bylo vidět u předchozího grafu, nejmenší obsah popela 2,6% obsahoval vzorek č. 1 připravený při stanovených technologických podmínkách, kdy přidavek enzymu byl stanoven na 1%, teplota extrakce byla 60°C a doba extrakce byla stanovena na 2 hodiny. Zatímco největší obsah popela 11,8% obsahoval

vzorek č. 5. U vzorku č. 9, což je střední hodnota měření, byl obsah popela 8,2%. Jedná se o optimální střední hodnotu mezi nejnižší a nejvyšší hodnotou obsahu.

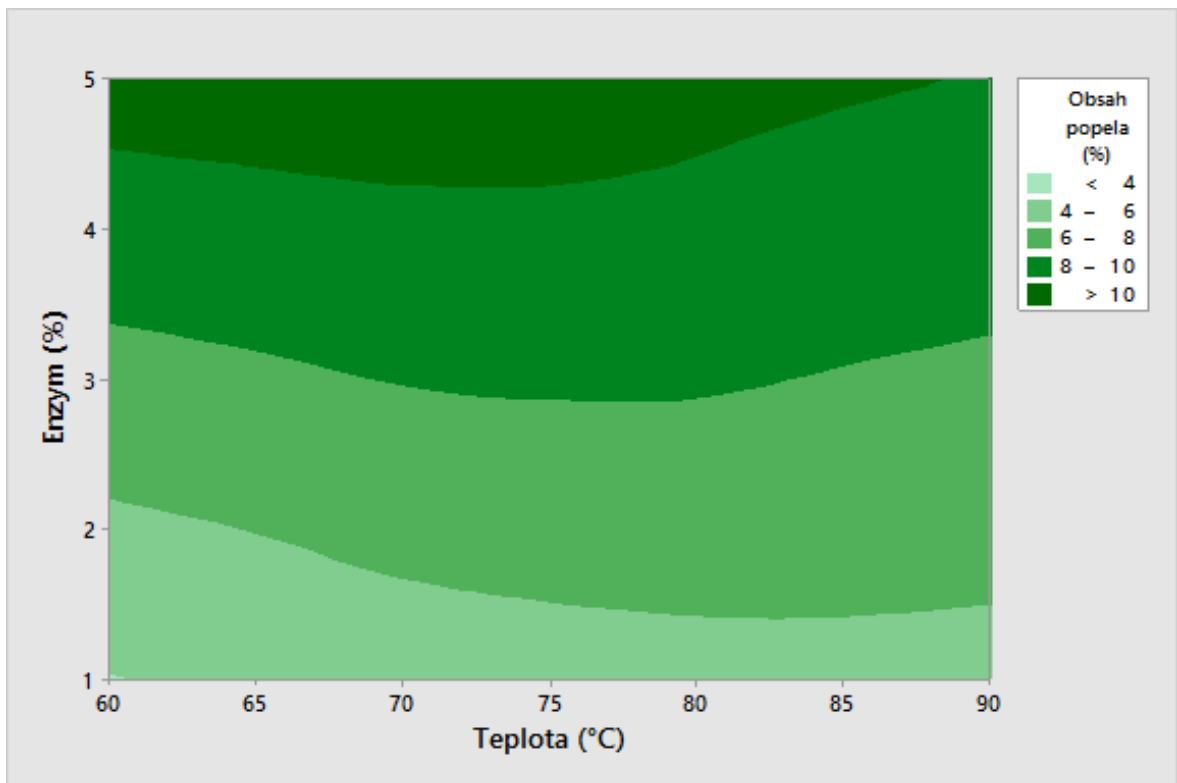


Obrázek 18. Vliv interakcí sledovaných faktorů na obsah popela



Obrázek 19. Kubické zobrazení vlivu sledovaných faktorů na obsah popela

Obrázek 20 znázorňuje vrstevnicový graf vlivu teploty a enzymu na obsah popela. Je z něho patrné, že s větším množstvím enzymu vzniklo i více popela. Největší obsah popela znázorňuje tmavě zelená barva. Více jak 10% vzniklo při teplotách 70-76°C s přidavkem 4,5% enzymu. S vyšší teplotou cca 87-90°C se obsah popela snížil na 8-10%. Světle zelená barva znázorňuje oblast s obsahem popela pod 4%. Jedná se o oblast v celém rozmezí použitých teplot, kdy při 60°C a 2,1% enzymu ukazuje graf největší oblast s tímto obsahem. Směrem k vyšším teplotám a menšímu přidavku enzymu se toto množství obsahu popela snižuje.



Obrázek 20. Vrstevnicový graf vlivu teploty a enzymu na obsah popela

7.2 Optimalizace technologických podmínek

Požadavkem bylo stanovení vhodných technologických podmínek za dodržení vzniku co největšího množství želatiny/hydrolyzátu a schopnosti jeho přípravy i za nižšího stupně konverze. Z předchozích experimentů sledujících vliv 3 faktorů (přídavek enzymu, teplota a doba extrakce) bylo zjištěno, že na výtěžnost želatiny/hydrolyzátu má největší vliv přídavek enzymu a teplota extrakce, zatímco vliv doby extrakce je zanedbatelný. Také na obsah popelovin má největší vliv přídavek enzymu, teplota extrakce má velmi malý vliv a doba extrakce je téměř zanedbatelná.

Souhrnné výsledky po optimalizaci jsou uvedeny v tabulce č. 2. Z výsledků je zřejmé, že největší množství želatiny/hydrolyzátu (17,8 g) bylo získáno u experimentu č. 6, který byl připravován za technologických podmínek s maximálním přídatkem enzymu (5%), minimální teplotou extrakce (60°C) a maximální dobou extrakce (8 hodin). Nepatrně menší zisk byl získán u experimentu č. 5 (16,8 g), který byl připravován se stejným přídatkem enzymu (5%), stejnou teplotou extrakce (60°C), ale za minimální doby extrakce (2 hodiny). Doba extrakce tudíž nemá na výtěžnost želatiny/hydrolyzátu téměř žádný vliv. Nejmenší výtěžek želatiny/hydrolyzátu byl při optimalizaci podmínek u experimentu č. 11 (11,3 g) a u kontrolního experimentu č. 4 (11,4 g). Technologické podmínky se u obou experimentů výrazně lišily dobou extrakce, kdy experiment č. 4 byl extrahován po dobu 8 hodin, zatímco experiment č. 11 pouze 0,5 hodiny. Opět bylo tudíž usouzeno, že doba extrakce výtěžnost produktů neovlivňuje.

Tabulka 2. Rozpis experimentů a výsledky extrakce želatin/hydrolyzátů po optimalizaci

Exp. č.	Technologické podmínky			Charakterizace procesu						Charakterizace produktu po 2. stupni zpracování
	Faktor A Přídavek enzymu (%)	Faktor B Teplota extrakce (°C)	Faktor C Doba extrakce (h)	Výchozí materiál - sušina (g)	Nerozložený podíl - sušina (g)	Tuk - sušina (g)	Želatina/ hydrolyzát - sušina (g)	Bilanční chyba - sušina (%)	Stupeň konverze (%)	Pevnost gelu (Bloom)
9	3	75	5	26,0	11,2	1,6	13,1	0,4	50,4	-
10	1	80	0,5	23,8	8,5	2,6	13,4	2,9	56,3	-
11	1	100	0,5	22,1	8,7	2,6	11,3	2,3	51,1	-
12	0,5	80	0,5	23,6	9,8	1,6	12,7	2,1	53,8	-
13	0,5	100	0,5	25,0	10,9	1,6	12	2,0	48,0	-
4	1	90	8	24,4	10,8	2,5	11,4	1,2	46,7	-

Želatina/hydrolyzát byly charakterizovány metodikou stanovení pevnosti gelu a stanovením obsahu popelovin. Metodikou stanovení pevnosti gelu pro želatiny bylo zjištěno, že připravené vzorky nevytvářely želatinu, tudíž byla vyzkoušena metodika na přípravu klišu. Ten byl vytvořen u vzorku č. 4 a měl hodnotu 52 Bloom. Jednalo se o vzorek připravovaný s přidavkem enzymu 1%, teplotou extrakce 90°C a dobou extrakce 8 hodin. Jelikož z předchozích poznatků bylo usouzeno, že doba extrakce nemá na přípravu želatiny/hydrolyzátu žádný vliv, optimalizovaly se technologické podmínky u vzorků č. 10-13 na přidavek enzymu 0,5-1%, teplota extrakce byla zvolena 80-100°C a doba extrakce byla u všech vzorků 0,5 hodiny. Byl také opakován pokus se vzorkem č. 4, ale při jeho opakování se skutečnost, že za daných technologických podmínek vzniká kliš, nepotvrdila. Při stanovení obsahu popela je žádoucí, aby jeho obsah byl co nejmenší, jako tomu bylo u vzorku č. 1, který obsahoval množství 2,6% při přidavku 1% enzymu, teplotou extrakce 60°C, dobou extrakce 2 hodiny. Se zvyšujícím se množstvím přidavku enzymu z 1% na 5% se ve vzorcích zvyšoval i obsah popela. Nejvyšší obsah popela obsahoval vzorek č. 6 s přidavkem enzymu 5%, teplotou extrakce 60°C a dobou extrakce 8 hodin. Teplota a doba extrakce měly na zvýšení nebo snížení obsahu popela zanedbatelný vliv.

Nguyen a kol. zkoumali účinky enzymu Protamex na vedlejší produkty (hlava, ocas a vnitřnosti) tuňáka žlutoploutvého (*Thunnus albacares*). Směs destilované vody a materiálu byla míchána rychlostí 300 ot/min dokud teplota nedosáhla 45°C. Po dosažení požadované teploty byl přidán enzym v množství 0,1% na hmotnost suroviny. Hydrolyza byla prováděna po dobu 12 hodin při teplotě 45°C, bez kontroly pH (počáteční hodnota pH substrátu byla 6,3-6,5). Cílem jejich studie bylo navrhnout rybářskému průmyslu jednoduchý (rychlý a ekonomický) způsob, jak tento odpad využít. Bylo prokázáno, že i přes vysoké množství endogenních enzymů obsažených ve vnitřnostech, použití endogenních a exogenních enzymů zvyšuje rozpustnost v sušině. [4]

Další, kdo zkoumal účinky enzymu Protamex byl Dumay s kolektivem. Zabývali se jeho účinky při hydrolyze sardinek (*Sardina pilchardus*). Při pokusu použili množství enzymu 0,7-2,3 g/ 1 kg zpracovávaného materiálu při teplotě extrakce 36-51°C. Hodnoty vynesené do trojrozměrného grafu ukázaly vliv každé proměnné na uvolnění tuku. Ten byl ve větším množství získán při krátkodobé hydrolyze, vysoké koncentraci enzymu a mírné teplotě. Tyto grafy zdůraznily silný vliv teploty a enzymu. [45]

Rafieian a kol. se zabývali výzkumem fyzikálně-chemických vlastností želatiny z kuřecích vykostěných zbytků v porovnání s komerční želatinou. Materiál byl předzpracován kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci 6,73%. Želatina z kuřecích vykostěných zbytků byla získána extrakcí vodou za stanovených optimálních podmínkách (teplota 86,8°C a doba extrakce 1,95 hodiny). Při srovnání obsahu tuku, popelovin, bílkovin a vody nebyly zjištěny u želatin žádné významné rozdíly. Stanovením pevnosti gelu želatiny měla želatina z kuřecích vykostěných zbytků pevnost gelu ($520 \pm 10,00$ Bloom) a komerční želatina ($290 \pm 10,00$ Bloom). Pevnost Bloom byla významně nižší u komerční želatiny ($P < 0,05$), což mohlo být způsobeno nižším obsahem prolinu a hydroxyprolinu, jelikož tyto dvě aminokyseliny jsou pro tvorbu gelu zvláště důležité. [34]

Bylo nutné navrhnout optimální podmínky zpracování s ohledem na maximální stupeň konverze, který byl 59,3% u experimentu č. 6 (přídavek enzymu 5%, teplota extrakce 60°C, doba extrakce 8 hodin) a u centrálního experimentu č. 9 (přídavek enzymu 3%, teplota extrakce 75°C, doba extrakce 5 hodin). Při maximálním stupni konverze žádná želatina/hydrolyzát nevznikly. Produkty se schopností tvořit gel vznikly při nižším stupni konverze (48,2%) u vzorku č. 4. Přídavek enzymu byl na dolním limitu (1%) a teplota extrakce na horním limitu (90°C). Byl připraven podle metodiky pro přípravy klišu vzorek, u něhož bylo možné změřit pevnost gelu (52 Bloom). Po optimalizaci technologických podmínek u vzorků č. 10-13, kdy vzorek č. 13 měl téměř stejnou hodnotu stupně konverze (48,0%) jako vzorek č. 4, kliš nevznikl. Pro potvrzení vzniku klišu u vzorku č. 4 byl za stejných technologických podmínek připraven nový vzorek. Stupeň konverze nově připraveného vzorku byl 46,7%. Metodou pro měření pevnosti klišu byl připraven vzorek pro charakterizaci. Tento nově připravený vzorek nevytvořil kliš, a tudíž se vznik klišu nepotvrdil. Mohlo to být způsobeno obsahem tuku ve vzorku, jelikož nebylo možno ho dokonale odstranit. Bylo zjištěno, že obsah popela v připravených produktech je velkou mírou ovlivněn přídavkem enzymu, zatímco teplota a doba extrakce byly téměř zanedbatelné. Nejmenší obsah popela (2,6%) byl naměřen u vzorku č. 1, při jehož přípravě byl použit přídavek enzymu 1%. Se zvyšujícím se přídavkem enzymu až na horní limit 5% se obsah popela zvyšoval. Nejvíce ho obsahoval vzorek č. 5 s přídavkem enzymu 5%.

ZÁVĚR

Teoretická část byla rozdělena na tři kapitoly. V první byly charakterizovány bílkovinné a nebílkovinné odpady potravinářského průmyslu, jejich zdroje a možnosti dalšího využití. Tím by se předešlo jejich nadměrnému vzniku a následnému hromadění, které zatěžuje životní prostředí. Druhá kapitola byla zaměřena na výrobu želatiny z různých surovinových zdrojů, její složení a následné využití v různých průmyslových oborech, jako je potravinářství, farmacie, fotografické emulze, tkáňové inženýrství. V třetí kapitole byl popsán kolagenní hydrolyzát, jeho výroba a možnosti jeho využití pro různé aplikace. Také se zde čtenář dočetl o možnostech enzymatické hydrolyzy a o vhodnosti použití enzymu.

Pro experiment byly použity kuřecí běháky, které byly rozemlety na velikost cca 6 mm, čímž došlo k jejich homogenizaci. Takto připravený materiál byl nejdříve odtučněn uhličitánem sodným a následně byly odstraněny nekolagenní bílkoviny pomocí hydroxidu sodného. Odtučněné a očištěné pařáty byly zpracovány ve 2 stupních. V 1. stupni byl zbobtnaný materiál smíchán s destilovanou vodou a pH bylo upraveno přidavkem HCl na $6,0 \pm 0,3$, poté bylo přidáno množství enzymu (1-5%) podle Faktoru A a vše bylo třepáno po dobu 46 hodin. Ve 2. stupni došlo k tepelnému opracování materiálu ($60-90^{\circ}\text{C}$) podle Faktoru B, které probíhalo po dobu (2-8 h) podle Faktoru C. Kapalný podíl byl separovaný filtrací. Nerozložený podíl byl vysušen; kapalný podíl (želatina/hydrolyzát) byl po ochlazení odstředěn pomocí centrifugy (aby se lépe oddělil zbylý tuk) a vysušen. Želatina/hydrolyzát byly podrobeny charakterizaci: stanovení obsahu popelovin a pevnost gelu. Byly stanoveny cíle práce, které byly v praktické části vyhodnoceny.

Za uvedených technologických podmínek je možné připravit bílkovinné produkty (želatiny/hydrolyzáty) se stupněm konverze od 46,3-59,3%. Obsah popelovin se u připravených produktů pohyboval od 2,6-11,8%; rostl se zvyšujícím se přidavkem enzymu. Nejmenší množství želatiny/hydrolyzátu (stupeň konverze 55,7%) bylo získáno při přidavku enzymu 5%, teplotě extrakce 90°C a době extrakce 8 hodin, zatímco největší množství (stupeň konverze 59,3%) bylo získáno při stejném přidavku enzymu 5%, stejné době extrakce 8 hodin, ale teplotě 60°C .

Pomocí metodiky na přípravu želatiny bylo ověřeno, že připravené vzorky nevytvářejí želatinu, a tudíž byla vyzkoušena metodika na přípravu klihu. Ten se vytvořil pouze u experimentu č. 4 a měl hodnotu 52 Bloom; stupeň konverze u tohoto experimentu byl

48,2%. Při stanovování obsahu popela je žádoucí, aby jeho obsah byl co nejmenší, jako tomu bylo u vzorku č. 1. U tohoto vzorku bylo zjištěno množství 2,6% při přidavku 1% enzymu a se zvyšujícím se množstvím přidavku enzymu se ve vzorcích zvyšoval i obsah popela.

Výsledky v diplomové práci mohou být využitelné pro drůbežářské závody, které se potýkají s problémem likvidace kuřecích běháků. Příprava bílkovinných produktů popsána v této práci probíhá za mírných technologických podmínek a vede k zisku relativně čistých produktů, které by mohly být využity v potravinářském průmyslu. Dále bych doporučovala se touto problematikou zabývat; úpravou technologických podmínek, případně použitím jiných enzymů, by bylo možno získat lepší kvalitu připravených želatin/hydrolyzátů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] V. Oreopoulou and W. Russ, Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry. Springer US, 2007, ISBN 978-0-387-33511-7.
- [2] U. Sannik, T. Reede, L. Lepasalu, J. Olt, A. Karus, A. Põldvere, R. Soidla, K. Veri, and V. Poikalainen, “Utilization of animal by-products and waste generated in Estonia,” *Agron. Res.*, vol. 11, no. 1, pp. 255–260, 2013.
- [3] F. Toldrá, M.-C. Aristoy, L. Mora, and M. Reig, “Innovations in value-addition of edible meat by-products,” *Meat Sci.*, vol. 92, no. 3, pp. 290–296, 2012.
- [4] H. T. M. Nguyen, K. S. B. Sylla, Z. Randriamahatody, C. Donnay-Moreno, J. Moreau, L. T. Tran, and J. P. Bergé, “Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using protamex protease,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 49, no. 1, pp. 48–55, 2011.
- [5] K. Marshall, “Therapeutic applications of whey protein,” *Altern. Med. Rev.*, vol. 9, no. 2, pp. 136–156, 2004.
- [6] R. Lo, T. Xue, M. Weeks, M. S. Turner, and N. Bansal, “Inhibition of bacterial growth in sweet cheese whey by carbon dioxide as determined by culture-independent community profiling,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 217, pp. 20–28, 2016.
- [7] M. W. Sadik and A. a Halema, “Production of ethanol from molasses and whey permeate using yeasts and bacterial strains,” *Int. J. Curr Micro App Sci*, vol. 3, no. 3, pp. 804–818, 2014.
- [8] P. Pal and J. Nayak, “Development and analysis of a sustainable technology in manufacturing acetic acid and whey protein from waste cheese whey,” *J. Clean. Prod.*, vol. 112, pp. 59–70, 2015.
- [9] A. K. Bledzki, A. A. Mamun, N. N. Bonnia, and S. Ahmad, “Basic properties of grain by-products and their viability in polypropylene composites,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 37, no. 1, pp. 427–434, 2012.

- [10] D. Dhanasekaran, S. Lawanya, and S. Saha, "Production of single cell protein from pineapple waste using yeast," *Innov. Rom. Food Biotechnol.*, vol. 8, pp. 26–32, 2011.
- [11] J. Pulkrábek, J. Urban, L. Bečková, and J. Valenta, *Řepa cukrová - Pěstitelský rádce*. Kurent, s.r.o., 2007, ISBN 9788087111000.
- [12] C. Fang, K. Boe, and I. Angelidaki, "Anaerobic co-digestion of by-products from sugar production with cow manure," *Water Res.*, vol. 45, no. 11, pp. 3473–3480, May 2011.
- [13] M. Gumienna, A. Szwengiel, A. Szczepańska-Alvarez, K. Szambelan, M. Lasik-Kurdyś, Z. Czarnecki, and A. Sitarski, "The impact of sugar beet varieties and cultivation conditions on ethanol productivity," *Biomass and Bioenergy*, vol. 85, pp. 228–234, 2016.
- [14] C. Akar and M. Canbaz, "Effect of molasses as an admixture on concrete durability," *J. Clean. Prod.*, vol. 112, pp. 2374–2380, 2016.
- [15] L. Fillaudeau, P. Blanpain-Avet, and G. Daufin, "Water, wastewater and waste management in brewing industries," *J. Clean. Prod.*, vol. 14, no. 5, pp. 463–471, 2006.
- [16] W. Russ, H. Mörtel, R. Meyer-Pittroff, and A. Babeck, "Kieselguhr sludge from the deep bed filtration of beverages as a source for silicon in the production of calcium silicate bricks," *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 26, no. 13, pp. 2547–2559, 2006.
- [17] Y. Narita and K. Inouye, "Review on utilization and composition of coffee silverskin," *Food Res. Int.*, vol. 61, pp. 16–22, 2014.
- [18] R. Helms, "Processing the coffee cherries," [online]. Dostupný z [www: http://coffeetroupe.com/coffeetroupe/processing-the-coffee-cherries/](http://coffeetroupe.com/coffeetroupe/processing-the-coffee-cherries/), 2011.
- [19] L. Alibardi and R. Cossu, "Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products," *Waste Manag.*, vol. 47, pp. 69–77, 2016.
- [20] I. J. Haug and K. I. Draget, "Gelatin," in *Handbook of Hydrocolloids*, P. A. Phillips, G.O.; Williams, Ed. Woodhead Publishing, 2009, pp. 142–163, ISBN 978-1-84569-414-2

- [21] A. A. Mariod and H. F. Adam, "Review: Gelatin, Source, Extraction and Industrial Applications," *Acta Scientiarum Pol. Technol. Aliment.*, vol. 12, pp. 135–147, 2013.
- [22] R. Schrieber and H. Gareis, *Gelatine Handbook: Theory and industrial practice*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007, ISBN 978-3-527-31548-2.
- [23] M. Bode, *Characterization of type I and type III collagens in human tissues*. Oulu: University of Oulu, 2000, ISBN 9514255534.
- [24] M. D. Shoulders and R. T. Raines, "Collagen structure and stability," *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 78, no. 1, pp. 929–958, 2009.
- [25] J. Poppe, "Gelatin," in *Thickening and Gelling Agents for Food*, Second., vol. 1, no. 1, A. P. Imeson, Ed. Springer US, 1997, pp. 144–168, ISBN 978-1-4615-2197-6.
- [26] K. Gelse, E. Pöschl, and T. Aigner, "Collagens—structure, function, and biosynthesis," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 55, no. 12, pp. 1531–1546, 2003.
- [27] T. T. Nguyen, C. Gobinet, J. Feru, S. B. -Pasco, M. Manfait, and O. Piot, "Characterization of Type I and IV Collagens by Raman Microspectroscopy: Identification of Spectral Markers of the Dermo-Epidermal Junction," *Spectrosc. An Int. J.*, vol. 27, no. 5–6, pp. 421–427, 2012.
- [28] A. Duconseille, T. Astruc, N. Quintana, F. Meersman, and V. Sante-Lhoutellier, "Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review," *Food Hydrocoll.*, vol. 43, pp. 360–376, 2015.
- [29] S. Gorgieva and V. Kokol, "Collagen-vs. gelatin-based biomaterials and their biocompatibility: review and perspectives," in *Biomaterials Applications for Nanomedicine*, 2011, pp. 17–51, ISBN 978-953-307-661-4.
- [30] E. Van Den Bosch and C. Gielens, "Gelatin degradation at elevated temperature," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 32, no. 3–5, pp. 129–138, 2003.
- [31] H. U. Zaman, "Studies on the thermo-mechanical properties of gelatin based films using 2-hydroxyethyl methacrylate by gamma radiation," *Open J. Compos. Mater.*, vol. 02, no. January, pp. 15–21, 2012.

- [32] R. N. Raja Mohd Hafidz, C. M. Yaakob, I. Amin, and A. Noorfaizan, “Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin,” *Int. Food Res. J.*, vol. 18, pp. 813–817, 2011.
- [33] J. E. Eastoe, “The amino acid composition of mammalian collagen and gelatin,” *Biochem. J.*, vol. 61, no. 4, pp. 589–600, 1955.
- [34] F. Rafieian, J. Keramat, and M. Shahedi, “Physicochemical properties of gelatin extracted from chicken deboner residue,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 64, no. 2, pp. 1370–1375, 2015.
- [35] M. Nagarajan, S. Benjakul, T. Prodpran, P. Songtipya, and H. Kishimura, “Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures,” *Food Hydrocoll.*, vol. 29, no. 2, pp. 389–397, 2012.
- [36] R. N. Raja Mohd Hafidz, I. Amin, and B. C. M. Yaakob, “Analytical methods for gelatin differentiation from bovine and porcine origins and food products,” *J. Food Sci.*, vol. 77, no. 1, pp. R42–R46, 2012.
- [37] “Collagen Peptide and Gelatin – Customized Building Blocks of Body Proteins,” [online]. Dostupný z www: <http://www.medgadget.com/2015/11/collagen-peptide-and-gelatin-customized-building-blocks-of-body-proteins-2.html>, 2015.
- [38] R. A. Ofori, “Preparation of gelatin from fish skin by an enzyme aided process,” *Natl. Library Canada*, no. August, pp. 1–146, 1999.
- [39] T. R. Keenan, “Gelatin,” in *Handbook of Biodegradable Polymers*, D. M. Wiseman, J. Kost, and A. J. Domb, Eds. CRC Press, 1997, ISBN 978-90-5702-153-4.
- [40] P. V. Kozlov and G. I. Burdygina, “The structure and properties of solid gelatin and the principles of their modification,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 24, no. 6, pp. 651–666, 1983.
- [41] J. Hatmaker and G. Krauss, “Gelatin,” in *Cooking Innovations: Using hydrocolloids for thickening, gelling, and emulsification*, A. Nussinovitch and M. Hirashima, Eds. CRC Press, 2013, pp. 149–166, ISBN 978-1-4398-7589-6.

- [42] J. Rose, S. Pacelli, A. Haj, H. Dua, A. Hopkinson, L. White, and F. Rose, "Gelatin-based materials in ocular tissue engineering," *Materials (Basel)*, vol. 7, no. 4, pp. 3106–3135, 2014.
- [43] M. M. Al-mousilly, I. S. Alajeli, and L. K. Abdulrahman, "Study the healing effect of collagen hydrolysate for the treatment of bone tail fracture in mice," *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 6, no. 6, pp. 67–71, 2014.
- [44] A. W. Mohammad, A. G. Kumar, and R. K. Basha, "Optimization of enzymatic hydrolysis of tilapia (*Oreochromis Spp.*) scale gelatine," *Int. Aquat. Res.*, vol. 7, no. 1, pp. 27–39, 2014.
- [45] J. Dumay, M. Allery, C. Donnay-Moreno, G. Barnathan, P. Jaouen, M. E. Carbonneau, and J. P. Bergé, "Optimization of hydrolysis of sardine (*Sardina pilchardus*) heads with Protamex: Enhancement of lipid and phospholipid extraction," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 89, no. 9, pp. 1599–1606, 2009.
- [46] K. Dybka and P. Walczak, "Collagen hydrolysates as a new diet supplement," *Food Chem. Biotechnol.*, vol. 73, no. 1058, pp. 83–91, 2009.
- [47] A. McCarthy, Y. O'Callaghan, and N. O'Brien, "Protein hydrolysates from agricultural crops—bioactivity and potential for functional food development," *Agriculture*, vol. 3, no. 1, pp. 112–130, Feb. 2013.
- [48] AOAC 948.21; Jelly strength of gelatin, Official methods of analysis of AOAC international: Gaithersburg, 1998.
- [49] ISO 9665:1998. Adhesives -- Animal glues -- Methods of sampling and testing.
- [50] ISO 936:1998. Meat and meat products -- Determination of total ash.
- [51] F. Badii and N. K. Howell, "Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins," *Food Hydrocoll.*, vol. 20, no. 5, pp. 630–640, 2006.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BSE	Bovinní spongiformní encefalopatie lidově „nemoc šílených krav“
CO ₂	Oxid uhličitý
-CO	Karbonylová skupina
Da	Jednotka molární hmotnosti - Dalton
DH	Stupeň hydrolyzy
DSC	Diferenční skenovací kalorimetrie
ECM	Extracelulární matrice
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí
EU	Evropská unie
FAO	Organizace spojených národů pro potraviny a zemědělství
FCC	Kodex pro potravinářskou chemii
GAG	Glykosaminoglykan
Gly-XY	Sekvence opakování v 3-šroubovici kolagenu
g/cm ³	Jednotka hustoty – gram na centimetr krychlový
g/kg	Jednotka hmotnosti – gram na kilogram
g.mol ⁻¹	Jednotka molární hmotnosti – gram na mol
h	Jednotka času - hodina
HCl	Kyselina chlorovodíková
htm%	Hmotnostní procento
JEFTA	Společný výbor odborníků pro potravinářská aditiva
kDa	Jednotka molární hmotnosti
kg	Jednotka hmotnosti - kilogram
KTJ/g	Jednotky tvořící kolonie v 1 g vzorku
μg	Jednotka hmotnosti - mikrogram

mM	Jednotka molární (látkové) koncentrace - milimolární
mm	Jednotka délky - milimetr
MMP	Matice metaloproteinázy
M_w	Molekulová hmotnost
NaHCO_3	Hydrogenuhličitan sodný
NaOH	Hydroxid sodný
-NH	Amidová skupina
ot/min	Jednotka frekvence – otáčky za minutu (1 Hz = 60 ot/min)
pH	Záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů
ppm	Parts per million (z angličtiny, česky „dílů či částic na jeden milion“), zkráceně též ppm, je výraz pro jednu miliontinu (celku)
WHO	Světová zdravotnická organizace
X	Prolin
Y	Hydroxyprolin

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Stavba řepné bulvy [11]	17
Obrázek 2. Řez bobulí kávovníku [18].....	19
Obrázek 3. Želatina v podobě granulí [22]	21
Obrázek 4. Molekulární struktura vlákna kolagenu typu I. s různými subdoménami, jakož i místa štěpení na N- a C-prokolageny [26]	22
Obrázek 5. <i>Agonoscelis pubescens</i> (vlevo) a <i>Aspongopus viduatus</i> (vpravo) [21]	24
Obrázek 6. Schéma předúpravy želatiny [37]	25
Obrázek 7. Možné cesty přeměny kolagenu na želatinu [38]	26
Obrázek 8. Chemická struktura želatiny [38]	27
Obrázek 9. Různé prostorové uspořádání řetězců v želatině [28]	28
Obrázek 10. Schéma želatinových filmů: a) amorfní; b) 3-šroubovice; c) spojené 3- šroubovice [28].....	28
Obrázek 11. Rozemleté kuřecí běháky	39
Obrázek 12. Blokové schéma přípravy želatiny/hydrolyzátu	43
Obrázek 13. Hranice významnosti sledovaných faktorů na stupeň konverze.....	47
Obrázek 14. Vliv interakcí sledovaných faktorů na stupeň konverze.....	48
Obrázek 15. Kubické zobrazení vlivu sledovaných faktorů na stupeň konverze	49
Obrázek 16. Vrstevnicový graf vlivu teploty a enzymu na stupeň konverze.....	49
Obrázek 17. Významnost sledovaných faktorů na obsah popela.....	50
Obrázek 18. Vliv interakcí sledovaných faktorů na obsah popela.....	51
Obrázek 19. Kubické zobrazení vlivu sledovaných faktorů na obsah popela.....	51
Obrázek 20. Vrstevnicový graf vlivu teploty a enzymu na obsah popela.....	52

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Rozpis experimentů a výsledky extrakce želatin/hydrolyzátů podle faktorového schématu 2^3	46
Tabulka 2. Rozpis experimentů a výsledky extrakce želatin/hydrolyzátů po optimalizaci	54

SEZNAM PŘÍLOH

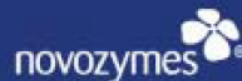
PŘÍLOHA 1. materiálový list enzymu protamex.....	69
--	----

PŘÍLOHA 1. MATERIÁLOVÝ LIST ENZYMU 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.

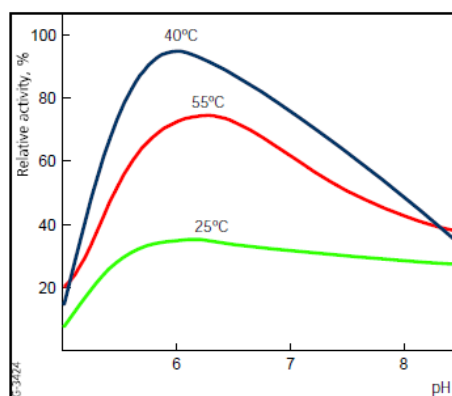


Fig. 1. Influence of pH at various temperatures on the activity of Protamex.

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.