

Zpracování vedlejších kolagenních produktů z drůbežáren.

Bc. Petra Berčíková

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. Petra Berčíková**
Osobní číslo: **T14782**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Zpracování vedlejších kolagenních produktů z drůbežáren.**

Zásady pro vypracování:

1. V teoretické části se zaměřte na vedlejší produkty maso-zpracujících závodů a na možnosti jejich zpracování, dále popište využití želatin a hydrolyzátů.
2. V praktické části posudte možnosti zpracování vybraných vedlejších produktů z drůbežáren biotechnologickým postupem na želatiny, respektive hydrolyzáty, studujte vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu, charakterizujte připravené produkty.
3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, provedte diskuzi.
4. Navrhněte optimální podmínky zpracování vedlejších kolagenních produktů a zhodnoťte přínos práce pro praxi.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

R. Schrieber, H. Gareis: *Geletine Handbook: Theory and Industrial Praktike*. 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 užít 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 2.5.2016

Petra Berčíková

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 nevdělečně 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 díla vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu 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 výdělku jím 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 přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce je rozdělena do dvou částí, na část teoretickou a experimentální. Teoretická část charakterizuje vedlejší živočišné produkty a popisuje nakládání s nimi. Dále je popsáno využití želatin a hydrolyzátů v potravinářském, fotografickém a farmaceutickém průmyslu. Experimentální část se zabývá využitím drůbežích běháků pro extrakci želatin (případně hydrolyzátů) po předchozím opracování proteolytickým enzymem. Byl sledován vliv vybraných technologických podmínek při zpracování (množství enzymu, doba extrakce, teplota při extrakci) na výtěžek a kvalitu připravených želatin, případně hydrolyzátů. Výsledky byly statisticky zpracovány a byly navrženy optimální technologické podmínky extrakce želatin.

Klíčová slova: drůbeží běháky, enzymové opracování, extrakce, hydrolyzát, vedlejší živočišné produkty, želatina

ABSTRACT

The diploma thesis is divided into two parts - theoretical and experimental. The theoretical part deals with characterization of animal by-products and describes usual treatment of this material. Usage of gelatines and hydrolysates in food, photographic, pharmaceutical industry is depicted. The experimental part is concerning usage of chicken feet for gelatines extraction (eventually hydrolysates) pre – treated by proteolytic enzyme. We observed defined technological conditions of manufacturing (amount of enzyme, extraction time and its temperature) influencing the yield and quality of gelatines eventually hydrolysates. The results were statistically processed and optimal technological conditions for gelatine extraction were stated.

Keywords: chicken feet, enzyme preparation, extraction, hydrolysate, animal by-products, gelatine

„Cílem vzdělání a moudrosti je, aby člověk viděl před sebou jasnou cestu života, po ní opatrně vykračoval, pamatoval na minulost, znal přítomnost a předvídal budoucnost.“

Jan Ámos Komenský

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlovi Mokrejšovi, Ph.D. za odborné rady, cenné připomínky a velice ochotný přístup. Děkuji také laborantce paní Miroslavě Žaludkové za asistenci v laboratoři a své rodině za podporu během mých studií.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 VEDLEJŠÍ PRODUKTY JATEK A MASO-ZPRACUJÍCÍCH ZÁVODŮ	11
1.1 KATEGORIZACE VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU A ZÍSKANÝCH PRODUKTŮ	11
1.1.1 Materiál kategorie 1	11
1.1.2 Materiál kategorie 2	12
1.1.3 Materiál kategorie 3	12
1.2 NAKLÁDÁNÍ S ODPADY.....	13
2 MOŽNOSTI ZPRACOVÁNÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ JATEK A MASO-ZPRACUJÍCÍCH ZÁVODŮ	15
2.1 ZPRACOVÁNÍ DRŮBEŽÍCH VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ	15
2.2 VÝROBA ŽELATIN/HYDROLYZÁTŮ.....	17
2.2.1 Kolagen	17
2.2.2 Přeměna na želatinu	19
3 VYUŽITÍ ŽELATIN A HYDROLYZÁTŮ	21
3.1 ŽELATINA.....	21
3.2 HYDROLYZÁTY ŽELATINY	24
II PRAKTICKÁ ČÁST	26
4 CÍLE PRÁCE	27
5 MATERIÁLY A METODY	28
5.1 DRŮBEŽÍ BĚHÁKY.....	28
5.2 PŘÍSTROJE, POMŮCKY, CHEMIKÁLIE	28
5.2.1 Přístroje	28
5.2.2 Pomůcky.....	29
5.2.3 Chemikálie	29
5.3 PLÁN EXPERIMENTŮ	30
5.4 ANALYTICKÉ METODY.....	31
5.4.1 Stanovení sušiny.....	31
5.4.2 Stanovení popelovin.....	31
5.4.3 Stanovení pevnosti gelu dle Blooma.....	32
5.5 POSTUP ZPRACOVÁNÍ DRŮBEŽÍCH BĚHÁKŮ.....	33
5.5.1 Příprava drůbežích běháků na extrakci	34
5.5.2 Příprava želatin.....	35
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	39
6.1 HODNOCENÍ ÚČINNOSTI ZPRACOVATELSKÉHO PROCESU A KVALITY PŘIPRAVENÝCH PRODUKTŮ.....	39
6.2 OVĚŘENÍ Vlivu DOBY, TEPLoty A MNOŽSTVÍ ENZYMU NA EXTRAKCI ŽELATIN.....	41
6.2.1 Účinnost extrakce.....	41
6.2.2 Pevnost gelu	44

6.3	OPTIMALIZACE TECHNOLOGICKÝCH PODMÍNEK EXTRAKCE ŽELATIN	48
6.3.1	Účinnost extrakce po optimalizaci zpracování	50
6.3.2	Pevnost gelu po optimalizaci zpracování	53
6.4	PŘÍNOS VÝSLEDKŮ PRO PRAXI	57
	ZÁVĚR	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	60
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	64
	SEZNAM OBRÁZKŮ	65
	SEZNAM TABULEK	67
	SEZNAM PŘÍLOH	68

ÚVOD

Opracování jatečného těla je první výrobní fází v masném průmyslu. Zvířata jsou při něm usmrcena, získává se maso a vedlejší jatečné produkty (krev, kůže, střeva, droby, žlázy, tuková tkáň aj.). Maso je nepostradatelnou součástí lidské stravy. Ze zdravotního hlediska je ceněno zejména pro obsah biologicky hodnotných bílkovin a látek budujících organismus. Obsah plnohodnotných bílkovin v mase je od 16 do 20%. Z vitamínů maso obsahuje zejména vitaminy skupiny B. Dodává organismu železo a fosfor. Drůbeží maso je užíváno na celém světě a v průběhu posledních několika desetiletí se zvýšila jeho popularita v mnoha zemích. Jedním z důvodů jsou relativně nízké výrobní náklady, rychlý růst drůbeže a vysoká nutriční hodnota masa.

Se zvyšující spotřebou masa, roste i produkce vedlejších živočišných produktů. Použití pro nepoživatelné vedlejší produkty se neustále mění na základě dostupných technologií a zájmů spotřebitelů např. kůže a kožešiny se používají k výrobě koženého zboží, tuky k přípravě průmyslových olejů, maziv, mýdel a kosmetických přísad. Kostí se používají k výrobě krmiv a hnojiv. Některé žlázy se používají k přípravě léčiv. Například hovězí vaječníky k výtěžku estrogenu, slinivka břišní k výtěžku inzulínu, který se používá k léčbě diabetu. Plíce se používají k výrobě krmiv pro domácí zvířata.

Jedním z nejvýznamnějších vedlejších živočišných produktů je želatina. Komerční želatina je připravena přeměnou kolagenu kyselým či alkalickým způsobem. Kolagen je rozšířen v celé říši živých organismů s výjimkou jednobuněčných a patří mezi technicky nejdůležitější vláknité bílkoviny. Je hlavní složkou pojivových tkání, kterým zajišťuje správnou funkci, zejména v souvislosti s jejich mechanickými vlastnostmi. Nejvyužívanější surovinou pro získání želatiny jsou vepřová kůže, hovězí kůže a kosti. Podle účelu použití v praxi rozdělujeme želatiny do několika skupin. Nejvýznamnějšími oblastmi použití jsou potravinářský, farmaceutický a fotografický průmysl.

V diplomové práci se zabývám přípravou želatin/hydrolyzátů extrakcí z drůbežích běháků, což je vedlejší živočišný produkt při opracování jatečné drůbeže, doposud málo využívaný (Asijská kuchyně).

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VEDLEJŠÍ PRODUKTY JATEK A MASO-ZPRACUJÍCÍCH ZÁVODŮ

Vedlejší produkty živočišného původu vznikají zejména při porážení zvířat k lidské spotřebě, při výrobě produktů živočišného původu, jako jsou mléčné výrobky, při neškodném odstraňování mrtvých zvířat a během opatření pro tlumení nálezů. Bez ohledu na původ představují tyto produkty potenciální riziko pro zdraví lidí a zvířat a pro životní prostředí. Toto riziko je třeba vhodně zvládat, buď neškodným odstraněním těchto produktů bezpečnými prostředky, nebo jejich využitím po jiné účely za předpokladu, že jsou dodrženy přísné podmínky, které snižují zdravotní rizika spojená s těmito produkty na minimum.[1]

Jatečný průmysl je znám již od nepaměti, ale potenciální riziko pro životní prostředí začal odpad vznikající při bourání masa představovat v posledních desetiletích díky polarizaci do velkých masokombinátů.[2]

1.1 Kategorizace vedlejších produktů živočišného původu a získaných produktů

Nařízení (ES) č. 1774/2002 zavedlo klasifikaci vedlejších produktů živočišného původu do tří kategorií v závislosti na stupni rizika spojeného s těmito produkty. Podle uvedeného nařízení musí provozovatelé uchovávat vedlejší produkty živočišného původu různých kategorií vzájemně oddělené, jestliže mají v úmyslu využívat vedlejší produkty živočišného původu, které nepředstavují významné riziko pro zdraví lidí nebo zvířat, zejména pokud tyto produkty pocházejí z materiálů vhodných k lidské spotřebě. Uvedené nařízení zavedlo rovněž zásadu, že hospodářská zvířata by se neměla krmit materiálem, který představuje vysoké riziko, a že materiálem pocházejícím ze zvířat by se neměla krmit zvířata druhů, z nichž tento materiál pochází. Podle uvedeného nařízení smí do krmivového řetězce vstoupit pouze materiál ze zvířat, která podstoupila veterinární prohlídku.[1,3]

1.1.1 Materiál kategorie 1

Do této kategorie řadíme celá těla a všechny jejich části, včetně kůží a kožek zvířat podezřelých z infekce TSE, dále jiných než hospodářských a volně žijících zvířat, zejména zvířat v zájmovém chovu a zvířat chovaných v zoologických zahradách a cirkusech. Také zvířata používaná při pokusech a volně žijící zvířata, u nichž existuje podezření na infekci onemocněním přenosným na člověka nebo zvířata. Dále do kategorie 1 zahrnujeme vedlejší

produkty živočišného původu získané ze zvířat, která byla podrobena nezákonnému ošetření a vedlejší produkty živočišného původu sebrané během úpravy odpadních vod ze zařízení nebo podniků zpracovávajících materiál kategorie 1, nebo z jiných zařízení nebo podniků, v nichž se odstraňuje specifikovaný rizikový materiál. Odpad ze stravovacích zařízení vzniklý v dopravních prostředcích mezinárodní dopravy a směsi materiálu kategorie 1 buď s materiálem kategorie 2, s materiálem kategorie 3, nebo s materiálem obou kategorií.

1.1.2 Materiál kategorie 2

Materiál kategorie 2 zahrnuje hnůj a obsah trávicího traktu. Vedlejší produkty živočišného původu sebrané během úpravy odpadních vod ze zařízení nebo podniků zpracovávajících materiál kategorie 2. Dále vedlejší produkty živočišného původu, které obsahují kontaminanty přesahující přípustné úrovně, nebo jsou z důvodu výskytu cizích těles v těchto produktech prohlášeny za nevhodné k lidské spotřebě. Zahrnujeme zde i produkty živočišného původu, kromě materiálů kategorie 1, které jsou dovezeny nebo propuštěny ze třetí země a nesplňují veterinární právní předpisy Společenství pro jejich dovoz nebo propuštění do Společenství, kromě případů, kdy právní předpisy Společenství umožňují jejich dovoz nebo propuštění za zvláštních omezení nebo za podmínky jejich návratu do třetí země, nebo jsou odeslány do jiného členského státu a nesplňují požadavky stanovené nebo schválené právními předpisy Společenství, kromě případů, kdy jsou vráceny za povolení příslušného orgánu členského státu původu. Do této kategorie řadíme zvířata, která uhynula jinak než porážkou nebo usmrcením k lidské spotřebě, včetně zvířat usmrcených za účelem tlumení nákazy, dále plody, embrya, sperma, které nejsou určeny k chovným účelům a drůbež odumřelá ve vejci. Směsi materiálu kategorie 2 s materiálem kategorie 3.[1]

1.1.3 Materiál kategorie 3

Vedlejší produkty živočišného původu zahrnující materiály kategorie 3 jsou těla poražených zvířat a jejich části, nebo v případě zvěře těla usmrcených zvířat nebo jejich části, které jsou podle právních předpisů vhodné k lidské spotřebě, avšak z obchodních důvodů nejsou k lidské spotřebě určeny. Jatečně upravená těla a jejich části pocházející buď ze zvířat, která byla poražena na jatkách a po prohlídce před porážkou byla shledána jako způsobilá k porážce k lidské spotřebě, nebo těla a jejich části zvěře usmrcené k lidské spotřebě v souladu s právními předpisy. Jako části těla jsou myšleny hlavy drůbeže, kůže

a kožky, včetně jejich odřezků a plátků, rohy a končetiny, včetně článků prstů, zápěstních a záprstních kůstek, nártů a zánártí, prasečí štětiny, peří. Dále vedlejší produkty živočišného původu z drůbeže a ze zajícovců poražených na farmě, kteří nevykazovali příznaky onemocnění přenosného na člověka nebo zvířata, krev pocházející ze zvířat, která nevykazovala žádné příznaky onemocnění přenosného krví na člověka nebo zvířata, která byla poražena na jatkách a která po prohlídce před porážkou byla shledána způsobilými k porážce k lidské spotřebě v souladu s právními předpisy. Vedlejší produkty živočišného původu, které vznikají při výrobě produktů určených k lidské spotřebě, včetně odtučněných kostí, škvarků a kalu z odstředivky a separátoru ze zpracování mléka, produkty živočišného původu nebo potraviny obsahující produkty živočišného původu, které z obchodních důvodů nebo z důvodu problémů způsobených výrobními vadami, vadami balení nebo jinými závadami, z nichž nevzniká žádné riziko pro zdraví lidí ani zvířat, již nejsou určeny k lidské spotřebě. Dále sem řadíme krmiva pro zvířata v zájmovém chovu a krmiva živočišného původu nebo krmiva obsahující vedlejší produkty živočišného původu či získané produkty, které z obchodních důvodů nebo z důvodu problémů způsobených výrobními vadami, vadami balení nebo jinými závadami, z nichž nevzniká žádné riziko pro zdraví lidí ani zvířat, již nejsou určeny ke krmení. Krev, placenta, vlna, peří, srst, rohy, odřezky paznehtů a syrové mléko pocházející ze živých zvířat, která nevykazovala žádné příznaky onemocnění přenosného tímto produktem na člověka nebo zvířata. Vodní živočichové a jejich části, kromě mořských savců, kteří nevykazovali žádné příznaky onemocnění přenosného na člověka nebo na zvířata.[4]

1.2 Nakládání s odpady

Neškodné odstranění vedlejších produktů živočišného původu a získaných produktů by mělo být prováděno v souladu s právními předpisy z oblasti životního prostředí týkajícími se skládek a spalování odpadů. Aby byla zajištěna jednotnost, mělo by být spalování prováděno v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2000/76/ES ze dne 4. prosince 2000 o spalování odpadů. Spoluspalování odpadů, buď jako jejich využití, nebo neškodné odstranění, musí splňovat podobné podmínky pro schválení a provoz jako spalování odpadů, zejména co se týče mezních hodnot emisí do ovzduší, vypouštění odpadních vod a zbytků, kontroly a sledování a požadavků na měření. V důsledku toho by mělo být povoleno přímé spoluspalování všech tří kategorií materiálů bez předchozího zpracování. Použití vedlejších produktů živočišného původu nebo získaných produktů

jako paliva ve spalovacím procesu by mělo být povoleno a nemělo být považováno za neškodné odstraňování odpadu. Toto použití by nicméně mělo být prováděno za podmínek, které zajistí ochranu zdraví lidí a zvířat i dodržování příslušných norem v oblasti životního prostředí. Nové technologie, které jsou dnes vyvíjeny, nabízejí výhodné způsoby výroby energie na základě vedlejších produktů živočišného původu nebo zajištění bezpečného neškodného odstranění těchto produktů. Bezpečné neškodné odstraňování vedlejších produktů živočišného původu může být prováděno na základě různých metod jejich bezpečné izolace na místě a zavedených způsobů jejich neškodného odstraňování. Podpora vědy a výzkumu a umělecké činnosti mohou vyžadovat použití vedlejších produktů živočišného původu nebo získaných produktů všech kategorií. Možnost zahrabání a spálení vedlejších produktů živočišného původu, zejména mrtvých zvířat, může být v některých situacích odůvodněné, obzvláště v odlehlých oblastech nebo v situacích tlumení nákazy vyžadujících nouzové neškodné odstranění zvířat usmrcených v rámci opatření k tlumení vzplanutí závažného přenosného onemocnění.[1,5]

Neškodné odstranění a použití materiálu kategorie 1

Materiál kategorie 1 se neškodně odstraní jako odpad spálením přímo bez předchozího zpracování, po zpracování tlakovou sterilizací, nebo spoluspálením. Neškodně se také odstraní zahrabáním na povolené skládce, nebo se použije jako palivo pro spalování pro energetické účely po předchozím zpracování či bez něj.

Neškodné odstranění a použití materiálu kategorie 2

Taktéž materiál 2 se neškodně odstraní jako odpad spálením buď přímo, nebo po tlakové sterilizaci, dále spoluspálením či uložením na povolené skládce. Další možností je, že se využije k výrobě organických hnojiv, půdních přísad nebo se zkompostuje či přemění na bioplyn.

Neškodné odstranění a použití materiálu kategorie 3

Neškodné odstranění materiálu 3 je provedeno spálením, spoluspálením, uložením na povolené skládce. Dále se použije k výrobě krmiv pro hospodářská zvířata, k výrobě syrových krmiv pro zvířata v zájmovém chovu, k výrobě organických hnojiv nebo půdních přísad. Další možností zkompostování nebo se přemění na bioplyn.[1,6]

2 MOŽNOSTI ZPRACOVÁNÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ JATEK A MASO-ZPRACUJÍCÍCH ZÁVODŮ

Vedlejší produkty živočišného původu, označované zkráceně VŽP, by měly být používány, pouze pokud jsou rizika pro zdraví lidí a zvířat v průběhu jejich zpracování a při uvádění získaných produktů vyrobených na bázi vedlejších produktů živočišného původu na trh snížena na minimum. Není-li tato možnost dostupná, měly by být vedlejší produkty živočišného původu za bezpečných podmínek neškodně odstraněny.[1]

Jatečně opracovaným tělem se rozumí celé tělo poraženého zvířete, s výjimkou drůbeže podle zvláštního předpisu (vyhláška č.201/2003 Sb.). Je první výrobní fází v masném průmyslu. Zvířata jsou při něm usmrcena a získávají se při něm vedlejší jateční produkty (krev, kůže, střeva, droby, žlázy, tuková tkáň aj.). Dnes se uskutečňuje na vysoce mechanizovaných a automatizovaných linkách v průmyslových jatkách či masokombinátech.[7]

VŽP v podílu cca z 100% jatečného skotu : Krev 3,5%, hlavy 3%, kůže 8,5%, střeva 8%, rohovina a rohovina z kopyt 0,15%, technické kosti, konfiskáty, technický lůj a lojové odpady 6%.[8]

Vedlejší produkty při opracování jatečných kuřat jsou: peří, krev, běháky, hlavy, střeva, část zpracují asanační ústavy (krev, peří) za úplatu a zbytek se prodá výrobcům krmení, snaha je získat vyrovnanou bilanci. Jatečné kuře 100%, pak cca hlava 3%, běháky 5%, krev 3%, peří 5,5%, střeva 6%.[9]

2.1 Zpracování drůbežích vedlejších produktů

V současné době jsou vedlejší živočišné produkty využívány pro prospěšné účely. Závody na celém světě zpracovávající drůbež vytváří velké množství pevných vedlejších produktů v podobě hlav, končetin, kostí, vnitřností a peří. Tyto odpady jsou často zpracovány na krmiva pro hospodářská zvířata, hnojiva, krmiva pro domácí zvířata, nebo jsou zcela zlikvidovány. Nevhodná likvidace těchto odpadů způsobuje znečištění životního prostředí, nemoci a ztrátu užitečných biologických zdrojů, jako jsou bílkoviny, enzymy a lipidy. Metody využívající těchto biologických komponentů pro výrobu produktů s přídavnou hodnotou by mohla být další možnou alternativou pro nakládání s těmito odpady.

Živočišné odpady jsou složeny z biologicky odbouratelných C, N, H, O sloučenin. Tyto sloučeniny mohou být získány a používány v různých průmyslových odvětvích např.

v mikrobiologii, v medicíně, ve farmacii, v kosmetice a zároveň by snižovaly objem výchozího odpadního produktu.[10]

Odpady určené pro krmivářské účely se rozmělní v drtiči a získaná směs se následně opracuje při 121°C asi 30 min. Vznikne tmavohnědá, drobivá, na tuk bohatá, dobře zpracovatelná a skladovatelná hmota se specifickým aroma. Obsah sušiny je cca 90%. [11]

Krev

Krev tvoří kolem 7 až 7,5% celkové živé hmotnosti drůbeže. Obsah plazmy a krevních tělísek je v poměru asi 6:4. Krev obsahuje asi 90% vody, zbytek tvoří rozpustné bílkoviny, lipidy a minerální látky. Složení a vlastnosti, ošetření a konzervace drůbeží krve jsou obdobné jako u jiných jatečných zvířat. Potravinářské využití je omezeno jejím hygienickým získáváním. Možnosti zpracování jako potraviny se využívá hlavně u krve vodní drůbeže, a to do konzerv a masných výrobků. Většina krve se zpracovává pro krmivářské účely.[12,13]

Kůže

Kůže drůbeže je požitelnou částí. Kůže drůbeže neobsahuje žlázy, kromě kostrční. Kůže je jemná, pokrytá peřím, které vyrůstá z papil.[7]

Kuřecí kůže převážně obsahují kolagen typu I a III. Možnost extrakce želatin z kuřecích kůží a její srovnání s komerční želatinou je popsána ve studii N. M. Sarbona, (2013).[14]

Droby

Droby jsou požitelné vnitřnosti a části těl jatečně opracovaných zvířat. Za droby považujeme srdce, játra, svalnatý žaludek a krk. Nejcennější pro technologické zpracování jsou játra jatečné drůbeže pro specifické vlastnosti organoleptické, technologické a výživové. Z hlediska technologického je možné zpracování na paštiky, přičemž zvláštní oblastí je produkce delikatesních výrobků z jater vodní drůbeže, které jsou typické vysokou infiltrací tuku. Je však nutno zdůraznit, že ve vnitřnostech může docházet i ke kumulaci škodlivin z prostředí, krmiv a vody.[7]

Kuřecí běháky

Kuřecí běháky se skládají z 85% bílkovin, což je hlavně kolagenu a 2,7% tuku.

Největší část kuřecích běháků se likviduje s výjimkou některých asijských zemí, kde jsou kuřecí běháky vařeny a spotřebovány konzumací. S nárůstem spotřeby drůbeže se produkce kuřecích běháků zvýšila a způsobila znepokojení ohledně životního prostředí. Kolagen z drůbežích běháků se skládá hlavně z kolagenu typu I a typu II, obsahuje 30% glycinu, 11% prolinu, 10-12,7 % alaninu a kyseliny glutamové.[15]

2.2 Výroba želatin/hydrolyzátů

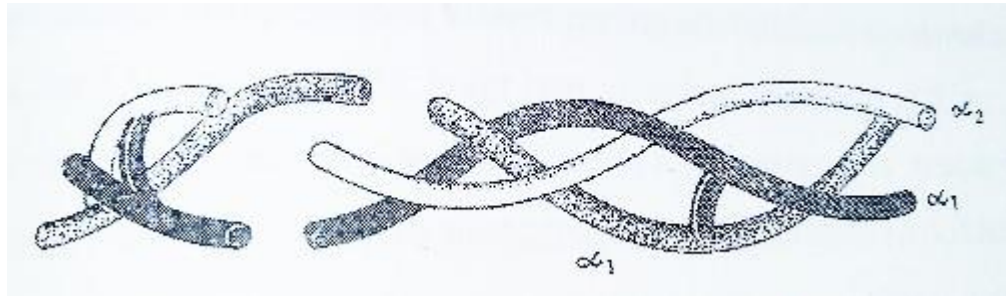
2.2.1 Kolagen

Kolagen je rozšířen v celé říši živých organismů s výjimkou jednobuněčných a patří mezi technicky nejdůležitější vláknité bílkoviny. Je hlavní složkou pojivových tkání, kterým zajišťuje správnou funkci, zejména v souvislosti s jejich mechanickými vlastnostmi.[16] To je dáno jeho specifickou strukturou, charakteristickou vysokým stupněm vnitřní organizace molekul. Kolagen představuje 25-30 % všech bílkovin v těle. Tvoří hlavní organickou složku kůže, kostí, chrupavek, šlach a vaziva. Je rovněž významnou součástí cévních stěn, bazálních membrán a rohovek. Má opěrnou a ochrannou funkci. Patří, zejména jako složka mezibuněčné hmoty, ke klíčovým proteinům životních pochodů ve zdravém i v nemocném organismu.[17]

Kolagenní vlákna jsou tvořena molekulami tropokolagenu (relativní molekulová hmotnost je asi 30 kDa), které se skládají ze tří vzájemně stočených šroubovic. Převážně se vyskytují α -helixy. Tropokolagen spontánně agreguje za vzniku kolagenních vláken. Ve skladbě aminokyselin je proti ostatním proteinům anomálií vysoký obsah glycinu (asi 30%), prolinu (asi 12%) a přítomnost hydroxyprolinu (asi 10%) a 5-hydroxylysinu (asi 0,5%). Sekvence aminokyselin se skládá z opakujících se jednotek Gly-X-Y, kde X je často prolin a Y hydroxyprolin či hydroxylysin. Na volné hydroxylové skupiny peptidového řetězce bývají glykosidovou vazbou vázány glukosa nebo galaktosa. Cukry tvoří 0,4-12 % hmotnosti molekul kolagenů. Kolageny jsou tedy glykoproteiny. V pojivových tkáních je doprovázejí proteoglykany.[18]

U savců existuje 10 variant kolagenů složených minimálně z 18 odlišných polypeptidových řetězců, které se vyskytují v různých tkáních téhož jedince. V kůži a kostech je nejrozšířenějším typem kolagen typu I skládající se ze dvou řetězců tzv. α_1 kolagenu a

jednoho řetězce α_2 kolagenu. Molekula kolagenu I má relativní molekulovou hmotnost 285 kDa, tloušťku 1,4 nm a délku 300nm.[19]



Obrázek 1. Řetězce $\alpha_{1,2,3}$. [19]

Kolagen se nerozpouští ve studené vodě ani v roztocích solí a zředěných roztocích kyselin a zásad. Jeho charakteristickou vlastností je smršťování (zkrácení molekul) při zahřívání na určitou teplotu, které je pozorovatelné také při vaření a pečení masa. Někdy se tato forma lišící se konformací označuje jako kolagen B a nativní forma jako kolagen A. Teplota při které dochází ke smrštění kolagenu závisí na jeho původu. U kolagenu rybího masa je tato teplota asi 45°C a u masa savců zhruba 60-65 °C.[18]

Kolagen je obnovitelnou surovinou a jeho zdroje jsou téměř neomezené. Je proto snaha neustále zdokonalovat preparáty z něho vyráběné a hledat nové možnosti jejich zpracování a využití. Kromě toho, že je kolagen hlavní surovinou kožedělného průmyslu pro výrobu usní (ročně se zpracují asi 4.mil. tun kolagenu[20]), využívá se v řadě dalších oborů. Přehled využití je uveden v tabulce 1. Četné aplikace vyplývají z „fyziologické blízkosti“ nebo dokonce identity aplikovaného kolagenu s tělesným kolagenem, resorbovatelnosti, a schopnosti zadržovat vodu.[17]

Strukturní rovina	Obor použití/produkty
Pletivo vláken/plocha	výroba usní, krytí ran, náhrada pokožky, náhrada cév,
Vlákna	střívka z kolagenových past, obalové fólie, membrány, hemostyptika, prášek na rány
Fibrily	biokompatibilní plastové nebo keramické materiály, kostní a čelistní chirurgie
Makromolekuly	nativní kolagen, atelokolagen, deamidovaný kolagen pro kosmetiku a medicínu
Polypeptidy	želatina, klíh, hydrolyzáty kolagenu, expandéry plazmy, kapsule, želatinační prostředky, tensidy, emulgátory, zahuš'ovadla, krmiva, hnojiva

Tabulka 1. Strukturní hierarchie kolagenu a přiřazené obory použití

2.2.2 Přeměna na želatinu

Želatina se vyrábí hydrolýzou kolagenu. Komerčním zdrojem surovin jsou kosti a kůže ze skotu a prasat. Kolagen může být hydrolyzován kyselé, nebo alkalicky. Želatiny jsou označovány podle původu a činidla použitého při zpracování surovin. Typ A zpracovaný kyselé a typ B alkalicky.[21]

Z hlediska teoretických představ přeměny kolagenu na želatinu rozeznáváme tři pochody:

- a) štěpení příčných kovalentních intermolekulárních vazeb na úrovni kvartérní struktury,
- b) denaturace na úrovni terciární struktury,
- c) hydrolytické štěpení peptidických vazeb polypeptidových řetězců na molekulární úrovni.

Zásah do struktury polypeptidového řetězce má charakter degradace, depolymerace a je jevem nežádoucím: čím méně těchto vazeb je rozštěpeno, tím lepší fyzikálně chemické vlastnosti želatina má.[17] Zdroj, věk a typ kolagenu, stejně jako použitý proces denaturace, ovlivňuje vlastnosti a strukturu želatiny.[22]

Želatina je téměř bez chuti a zápachu. Jde o křehkou pevnou látku se slabě žlutým zabarvením. Obsahuje cca 14% vlhkosti a má relativní hustotu 1,3 - 1,4. Želatina je rozpustná ve vodných roztocích s vícemocnými alkoholy, jako je glycerol a propylenglykol. Nerozpustná v méně polárních organických rozpouštědlech.[23]

Typickou vlastností želatin je přechod sol-gel. Gel želatiny jeví tixotropii, zahřátím na určitou teplotu „taje“ a přechází na sol. Je to přeměna inverzní, nikoli však vratná:



Z hlediska složení AMK je možné želatinu považovat za chemicky velmi čistou formu kolagenu. Jsou odstraněny nevláknité bílkoviny, mukopolysacharidy a tuky.[24]

Želatina je nutričně nekompletním proteinem, protože neobsahuje L-tryptofan. Hydrolytické produkty o různé M_r jsou představovány směsí volných aminokyselin a ve vodě rozpustných peptidů s obsahem L-prolinu, L-hydroxyprolinu a glycinu. Hydrolytické produkty želatiny a kolagenu jsou z hlediska obsahu aminokyselin velmi blízké.[25]

Další vlastností želatiny je její hydroskopičnost, je potřeba ji skladovat v suchu, kde nemůže absorbovat vodu. Větší pozornost musíme věnovat želatinovým roztokům, kde je vynikající prostředí pro růst bakterií. Želatina je produkt, kde je velice důležitá mikrobiologická kvalita.[21] Želatina uložená ve vzduchotěsných obalech při pokojové teplotě zůstává nezměněna po dlouhou dobu.[23]

3 VYUŽITÍ ŽELATIN A HYDROLYZÁTŮ

3.1 Želatina

Podle účelu použití v praxi rozdělujeme želatiny do několika skupin. Nejvýznamnějšími oblastmi použití jsou potravinářský, farmaceutický a fotografický průmysl. Tyto hlavní skupiny představují část odvětví průmyslu, kde želatiny nacházejí uplatnění, ale v praxi se dělí na řadu podskupin, z nichž každá klade na želatinu speciální požadavky podle účelu, kterému má být želatina použita.[26]

Potravinářský průmysl

V závislosti na chemických vlastnostech, struktuře a pevnosti gelu želatiny může mít různé aplikace v potravinářském průmyslu. Podle Moritaka a Nakazawa (2010) byla želatina použita jako želatinové činidlo již od starověku a v posledních letech byla použita k úpravě fyzikálních vlastností potravin pro starší lidi, kteří mají problémy se žvýkáním a polykáním.[27]

Želatina s vyššími viskozitními vlastnostmi, s hodnotami Bloom 240-280 a dobrými pěnovými vlastnostmi je upřednostňována pro výrobu marshmallows.[28,29] Marshmallows a pusinky se skládají ze čtyř hlavních složek - glukóзовého sirupu, sacharózy, roztoku želatiny a vody. Jedná se o kontinuální proces, rychlý průběh šlehání se stabilizací pěny. Jsou umístěné na nekonečný pás, a aby se zabránilo vzájemnému slepení, tak jsou pokryty tenkou vrstvou škrobu, nebo cukru.

Želatinové dezerty představují jednu z největších aplikačních oblastí pro potravinářskou želatinu. V Mexiku je spotřeba na obyvatele dokonce větší než ve Spojených státech a v Polsku. Nejen v těchto zemích je želatina využívána v celé řadě forem, barev a chutí. Podávají se k snídani, jako dezert, nebo se používá pro přípravu ovocných koláčů. Želatinový dezert se skládá z práškové želatiny, cukru, ovocných příchutí, barviv a okysličovacími složkami.[29]

Želatina v mase - želatina se používá do aspiků, sýrů, kuřecích rolek, ke konzervování šunky, přidává se do masných výrobků všeho druhu. Její funkcí je absorbovat masové šťávy, dát tvar a strukturu, která by se jinak rozpadla. Její použití se pohybuje od 1 do 5%, v závislosti na druhu masa, vývaru, struktuře požadované v konečném výrobku.[24]

Velmi významnou vlastností želatin je schopnost tvorby filmu. Želatinové filmy a povlaky se používají jako jedlé obalové materiály na ovoce, zeleninu, chlazené a mražené potraviny, na potravinové polotovary, na oříšky atd. Přídavkem změkčovadel o nízké molekulové hmotnosti se snižuje teplota tání (T_m) a teplota skelného přechodu (T_g) želatinových filmů. Mechanické vlastnosti filmů jsou výrazně ovlivněny způsobem jejich přípravy. Filmy získané odpařováním při vyšších teplotách (cca 60 °C) měly nižší pevnost v tahu a % prodloužení než filmy připravené odpařováním při nízkých teplotách s přídavkem plastifikátorů do 25%. [11]

Farmaceutický průmysl

Želatina je nesmírně důležitá a všestranná pomocná látka pro farmaceutické a lékařské aplikace, je uvedena ve všech hlavních lékopisech. [29]

Farmaceutická želatina musí splňovat náročné požadavky:

- a) mikrobiologické vlastnosti – nepřítomnost patogenních a nepatogenních mikrobu
- b) fyzikálně-mechanické vlastnosti – struktura, viskozita, pevnost gelu
- c) chemické vlastnosti – hodnota pH
- d) nepřítomnost těžkých kovů

Při výrobě léků a v lékařství se využívá želatin, které se svými vlastnostmi blíží jedlé želatině.

Farmaceutická želatina se vyrábí hlavně z hovězích nebo vepřových kůží. Barva je světle žlutá až bílá. Roztok želatiny je čirý. Želatina se dodává granulovaná. Je velmi dobře rozpustná. Vzhledem k tomu, že obsahuje 9 z 10 esenciálních aminokyselin, její nutriční hodnota je velmi dobrá.

Především se želatina používá na výrobu tvrdých želatinových kapslí, měkkých želatinových kapslí, tablet (a k potahování tablet), mikroenkapsulí. Historie výroby tvrdých želatinových kapslí sahá do roku 1833, kdy byly kapsle vynalezeny a zpočátku se používaly k maskování nepříjemné chuti léčiv. [11] Podobně jako měkké želatinové kapsle se léčivo v kapslích lépe polyká, protože mají příznivý tvar pro polknutí a jsou kluzké po smožení v ústech. [30]

Fotografický průmysl

Želatina se používá již více než 100 let jako pojivo světlocitlivých produktů. Funkci želatiny ve fotografickém průmyslu předurčuje její ochranná koloidní vlastnost, filmtvorná vlastnost během potahování a botnání při zpracování exponovaných fólií nebo papíru.[31]

Získává se převážně z kostí, přičemž proces přípravy a extrakce surového materiálu je veden za přísně kontrolovatelných podmínek vedoucích k želatině s požadovanými fotografickými vlastnostmi (citlivost, neutralita, minimální zákal).

Inertní fotografická želatina tvoří také podkladní vrstvu barevných fotografických materiálů. Zabezpečuje dobré přilnutí celé emulze skládající se z několika vrstev (každá je citlivá na jednu ze základních barev) k podložce. Tvoří i ochranné vrstvičky citlivých vrstev.[11] Spektrum želatinových aplikací zahrnuje mnohem více než jen tisk, diapozitiv, film, kinofilm. Průmysl zpracovává fotografickou želatinu k různým typům filmů pro polygrafii, k vědeckým a technickým emulzím jako jsou jaderné emulze v nukleární medicíně.[32]

Fotochemický průmysl požaduje želatiny standardních fyzikálních i fotochemických vlastností, což značně usnadňuje práci a bezprostřední použití želatiny pro výrobu určitého druhu fotografického materiálu s minimálním počtem změn a úprav procesu vaření emulze a jejího dalšího zpracování. Termín fotografické emulze se vztahuje k disperzi halogenidu stříbrného (fotografických mikrokrystalů) v želatině potažené na nosiči.[33]

Fotochemické vlastnosti želatiny je možno zlepšit správným výběrem vhodných druhů surovin. Vhodné jsou hovězinové štípenky, zaječí nudle, teletinové štípenky a hlavy a kvalitní druhy kostí. Velký vliv na fotochemické vlastnosti má skutečnost, zda surovina byla opracována v kyselém nebo alkalickém prostředí, a rovněž důkladnost praní. Delší vápnění klišovek poskytuje želatiny s nižší citlivostí a s měkkou gradací. U kostních želatin se důkladnější vápnění projeví zvýšením rychlosti zrání a dobrým černáním. Důležitá je také kvalita používané vody.

Požadavky každého výrobce fotografického materiálu jsou velmi přesné, a proto se fotografická želatina prodává většinou podle vzorků. Fotochemické závody si je vyzkoušejí a podle výsledků zkoušek kupují.

Želatinárny mnohdy upravují vlastnosti fotografických želatin vzájemným smícháním jednotlivých vyrobených šarží v takovém poměru, aby vyhovovaly emulzní zkoušce a jejímu vyhodnocení.[11]

3.2 Hydrolyzáty želatiny

Hydrolyzát želatiny je speciální typ želatiny. Je vyroben ze stejných surovin, které se používají pro výrobu prášků, lupenů a instantní želatiny. Nicméně proteinové řetězce kolagenní suroviny jsou dále chemicky, tepelně, nebo biochemicky štěpeny. Takto získané frakce s malou molekulovou hmotností mají, na rozdíl od želatiny, množství speciálních technologických vlastností. Například jsou rozpustné ve studené vodě a netvoří gely i z vysoce koncentrovaných roztoků. Mají však jiné vlastnosti, které nejsou typické pro želatiny. Při výrobě hydrolyzátu želatiny je produkováno velmi malé množství hořkého peptidu v porovnání s množstvím vytvořeného s jiných hydrolyzovaných proteinů tak, že je více neutrální v chuti. Hlavní technologickou vlastností hydrolyzátu želatiny je jeho molekulární profil. To přispívá k jeho široké škále aplikací. Molekulární profil je závislý na surovinách a na výrobním procesu, který se použije. Obecně platí, že průměrná molekulová hmotnost hydrolyzátu želatiny je asi 2000-20000 g/mol.[29]

Hydrolyzáty jsou doporučovány při degenerativních kloubních onemocněních. Mechanismus účinku není dosud přesně objasněn. Předpokládá se, že tyto fragmenty vstupují do biosyntézy oligopeptidů, které mohou stimulovat syntézu kolagenu.[25]

Želatinové hydrolyzáty jsou považovány jako doplněk životně důležitých proteinů v lidské potravě. Technologií hydrolyzy dochází u želatiny ke zkrácení molekulových řetězců a tím se zvyšuje stravitelnost a využití aminokyselin v želatině obsažených.[34]

Potravinářský průmysl

Hydrolyzáty pro potravinářské účely se dodávají jako tzv. natrávené bílkoviny a obsahují štěpné produkty bílkovin. Přípravky jsou různé, podle způsobu přípravy, stupně odbourání původní bílkoviny, složení, čistoty a smyslových vlastností.

Objevitelem zajímavých chuťových vlastností bílkovinných hydrolyzátů je švýcarský mlynář J. Maggi (1890). Hydrolyzát kolagenu se od té doby používá zejména jako kořenící směs např. do polévek, omáček, salátů a dalších pokrmů. Hlavní a účinnou složkou bílkovinných hydrolyzátů je kyselina glutamová (kyselý glutaman amonný), která určuje jejich smyslové vlastnosti.[11]

Hydrolyzát želatiny snižuje povrchové napětí a umožňuje tvorbu pěny a její stabilizaci. Při určité koncentraci přidané do dezertů změkčí jejich texturu, zvýší objem a jsou poté mnohem krémovější a také stabilnější.

Želatinový hydrolyzát se přidává do ovocných nápojů pro zvýšení nutriční hodnoty, ale také nedávné studie ukázaly, že hydrolyzát želatiny v ovocných šťávách zvyšuje jejich sladkou a ovocnou chuť. Další aplikací hydrolyzátu želatiny je čištění piva, vína a ovocných šťáv. To je založeno na skutečnosti, že hydrolyzát želatiny reaguje s negativně nabitými pektiny a tříslovinami za vzniku síťovaných sloučenin. Po vysrážení dochází ke zlepšení chutí.

Přidává se do vařené šunky pro zachování obsahu šťáv, také do různých cereálních a proteinových tyčinek, tablet, pastilek, lékořice kvůli soudržnosti a přilnavosti. Do instantních čajů, bílkovinných směsí, nápojů, koktejlů pro zvýšení rozpustnosti. Dále ke stabilizaci pomazánek, nízkotučných sýrů.[29]

Růstové stimulanty

Růstové stimulanty (hnojiva) se dodávají na trh jako kapalné koncentráty nebo jako pevné substráty. Jedná se o kolagenní hydrolyzáty vyráběné hlavně z chemočinných postužin s přidanými mikroelementy aktivující výživu a růst rostlin. Principem přípravků je optimální kombinace vlastností proteinové báze (obsah dusíku), některých makroživin a mikroelementů v poměrech doporučených odborníky na výživu rostlin.

Některé další aplikace hydrolyzátu želatiny jsou doplňky stravy pro sportovce, součást kosmetických výrobků, mikroenkapsulace v zemědělství, plniva do plastů, adheziva (např. na etikety) a přísady do pracích prášků a šampónů.[11,29]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Experimentální část diplomové práce se zabývá možností extrakce želatin/hydrolyzátů z drůbežích běháků po jejich předzpracování enzymem POLARZYME 6.0 T. Vedlejší živočišné produkty zatěžují životní prostředí. Vzhledem k tomu, že spotřeba drůbežího masa stoupá, tak produkce živočišných odpadů nemůže klesat. Jedinou možností je, že vedlejší živočišné produkty budou dále zpracovány a že pro produkty z nich vyrobené najdeme uplatnění. Jatkám by ubyla práce s nakládáním VŽP a pozitivně by zasáhla do jejich bilance. Pokud je mi známo, doteď není žádná studie, která by se zabývala přeměnou drůbežích běháků na želatinu pomocí proteolytického enzymu. Metoda popsaná v této práci by mohla přinést, s rostající poptávkou po drůbežím mase, rychlý a energeticky výhodný postup přípravy želatin z vedlejších živočišných produktů z drůbežáren - drůbežích běháků.

Cílem experimentu bylo:

- posoudit možnosti přípravy želatin/hydrolyzáta z drůbežích běháků (vedlejší živočišný produkt z drůbežáren) a sledovat vybrané technologické podmínky při zpracování na výtěžek produktů – doba, teplota, množství enzymu
- sledovat účinnost procesu tzn. stupeň konverze
- charakterizovat připravené produkty – obsah sušiny a popelovin, pevnost gelu
- navrhnout optimální podmínky zpracování

5 MATERIÁLY A METODY

5.1 Drůbeží běháky

Surové drůbeží běháky byly dodány firmou Raciola Uherský Brod a jejich složení je:

	Obsah popelovin	Obsah bílkovin	Obsah tuku
Drůbeží běháky	16,1%	48,3%	29,9%

5.2 Přístroje, pomůcky, chemikálie

5.2.1 Přístroje

- řezačka masa SPAR Mixer SP-100AD-B
- muflová pec Nabatherm (Německo)
- pH metr WTW pH 526 (Německo)
- třepací přístroj LT2 firmy Kavalier
- analytické váhy Kern 770
- laboratorní váhy Kern 440-47
- sušárna MEMMERT ULP 400
- sušárna WTB Binder E-28-TB1
- horkovzdušná trouba Mora
- lednička s mrazničkou Samsung Calex
- magnetické míchadlo IKA LABORTECHNIK RCT BASIC s topením
- magnetické míchadlo IKA C-MAG HS7 s topením
- magnetická míchadélka (8 x 40 mm)
- exsikátor (s vysušeným silikagelem)
- topná deska Schott s magnetickým míchadlem
- Sevens-LFRA analyzátor (určený pro stanovení pevnosti gelu)
- centrifuga universal 32

5.2.2 Pomůcky

- 4x Erlenmayerova baňka
- 3x PE láhev 2 l
- odměrný válec 50 ml, 500 ml, 1000 ml
- 8x koželužská miska s víčkem
- exsikátor
- laboratorní lžice a lopatka
- pipeta 1 ml, 40 ml
- kádinka 250 ml, 1000 ml
- 2x plastový cedník
- stříčka s destilovanou vodou
- nůžky
- PA tkanina (průměr pórů 100 μm)
- váženka
- balónek
- 4x Petriho miska
- laboratorní kleště
- žíhací kelímek
- 4x váženka pro stanovení pevnosti gelu dle Blooma

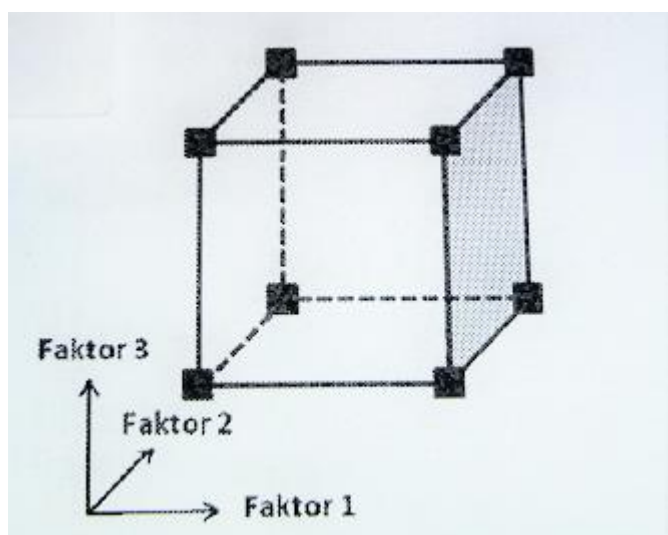
5.2.3 Chemikálie

- destilovaná voda
- 0,15 M NaHCO_3
- 0,10% NaOH
- enzym POLARZYME 6.0 T (Novozymes – Dánsko) – materiálový list viz příloha 1
- 12% HCl
- 20% NaOH

5.3 Plán experimentů

Klasické experimentální postupy používají vždy jen jednu veličinu jako proměnný faktor a ostatní veličiny se při měření nemění. V případě potřeby prozkoumat několik vstupních veličin je tento postup velice zdlouhavý a také velmi nákladný. Faktorové plány minimalizují náklady díky využití ortogonality, která umožní snížení počtu pokusů na takovou míru, abychom byli schopni popsat daný jev bez nutnosti hledání všech variant řešení. K tomu nám postačí okrajové podmínky. Struktura faktorových pokusů je založena na matici vzájemně kombinovaných vstupních hodnot daného pokusu.[35]

Počet pokusů závisí vždy na množství vstupních proměnných a hodnotách bodů těchto proměnných. Nejčastěji používanými plány pokusů jsou typu N^P , kde N je počet úrovní faktorů a P je počet faktorů. Na obrázku 2. je znázorněn úplný faktorový pokus 2^3 (2 úrovně, 3 studované veličiny neboli faktory). Tento jednodušší model se hodí pro zjišťování významnosti faktorů, kdy závislost mezi faktory je lineární.[36]



Obrázek 2. Schéma úplného faktor. plánu pro 3 proměnné

Pro ověření technologických procesů byly vybrány tyto tři faktory: faktor A – přídavek enzymu, faktor B – teplota extrakce a faktor C – doba extrakce. Tyto faktory mají významný vliv na extrakci želatin.

Faktor A (1-5 %)	Faktor B (60-90 °C)	Faktor C (1-4 h)
-------------------------	----------------------------	-------------------------

5.4 Analytické metody

5.4.1 Stanovení sušiny

Bylo stanoveno podle normy ČSN EN 14346, která specifikuje metody pro výpočet sušiny ve vzorcích, pro které jsou výsledky provedených analýz vztaženy na sušinu. Výpočet byl založen na stanovení podílu sušiny.[37]

Sušina se stanovovala u vstupního materiálu (drůbeží běháky), u materiálu po odtučnění a odstranění nekolagenních bílkovin, kvůli navážce enzymu, které bylo vztaženo na sušinu pařátů a u produktů po extrakci (želatiny/hydrolysáty). Byla vždy provedena 2 - 3 stanovení, ze kterých se poté vytvořil průměr. Do předsušených misek bylo na analytických vahách naváženo přibližně 1,5 g materiálu s přesností na 4 desetinná místa. Misky byly poté vloženy do sušárny a sušeny při 103 ± 1 °C po dobu 7,5 h. Poté byly misky vloženy do exsikatoru a po vychladnutí zváženy.

Výpočet sušiny se následně provedl dle následujícího vztahu:

$$S = \frac{m}{m_0} \cdot 100 (\%)$$

m...hmotnost vzorku po vysušení (g)
m₀...hmotnost vzorku před vysušením (g)
S...obsah sušiny ve vzorku (%)

5.4.2 Stanovení popelovin

Stanovení bylo vždy provedeno dvakrát pro jeden vzorek ze sušiny vzorku. Do vyžihaného kelímku bylo s přesností na 4 desetinná místa naváženo 0,5 g vzorku. Vzorek v kelímku byl spalován nad kahanem v digestoři po dobu přibližně 0,5 hodiny. Následně byl kelímeček umístěn na dobu 1 hodiny do muflové pece předem vyhřáté na 600°C. Po mírném ochlazení při pokojové teplotě byl vzorek vložen do exsikatoru, kde vychladl a byl zvážen.

Výpočet popelovin ve vzorku je pak stanoven dle následující rovnice:

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

m₂...hmotnost vzorku po zpopelnění (g)
m₁...hmotnost navážky vzorku (g)
P...obsah popelovin ve vzorku (%).

5.4.3 Stanovení pevnosti gelu dle Blooma

Tvorba gelu ve vodě je jedna z nejdůležitějších vlastností želatiny. Tuhost a pevnost gelu závisí na koncentraci želatiny, vnitřní pevnosti želatiny, pH, teploty a přítomnosti přísad. Vnitřní síla želatiny závisí na struktuře a molekulové hmotnosti. Bloom gelometr byl vyvinut a patentován v roce 1925 O. T. Bloomem. Metoda je založená na vtlačování válečku do gelu, čím větší je síla nutná (g), tím vyšší je pevnost gelu. Pevnost gelu je udávána v jednotkách g nebo Bloom.[31]

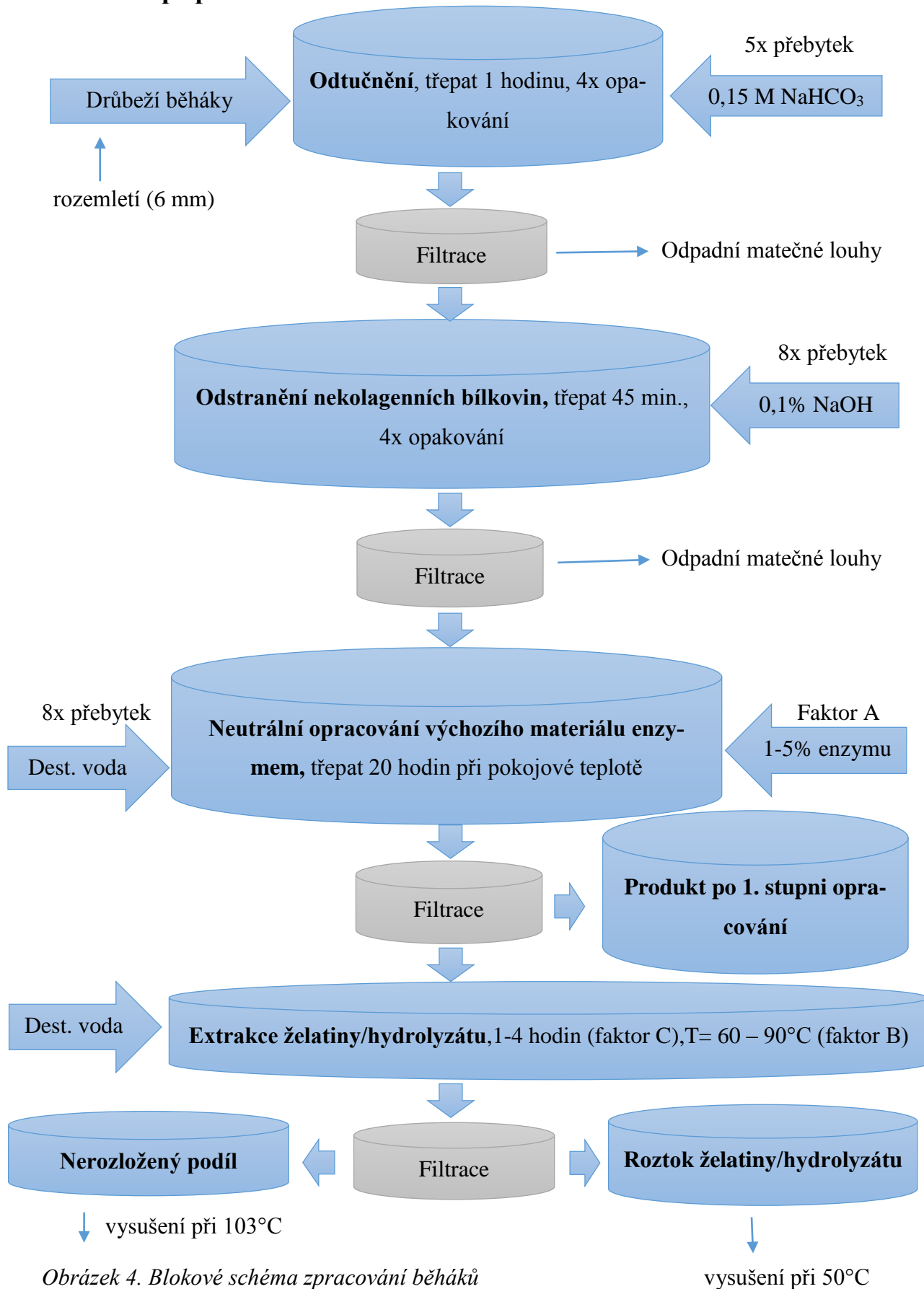
Vzhledem k omezenému množství připravených želatin bylo použito menších navážek želatiny, do nádob o menším objemu než standardní nádoby (průměr vnější/vnitřní mm a výška mm). Měření bylo provedeno vhodně upravenou metodikou ve vážence; průměr 50 mm (vnější) 44 mm (vnitřní), výška 50 mm. Byly naváženy 3 g želatiny a 42 g destilované vody. Vzorek se nechal botnat 30 min. a poté byl mírným ohřevem rozpuštěn. Roztok o koncentraci 6,67% (w/w) byl ponechán zchladnout a následně byl vložen na 17 hodin do lednice. Po vyjmutí byl gel podroben zkoušce na přístroji Sevens - LFRA analyzátor Obr. 3.[23,38]

Byl stanoven přepočítávací koeficient $f = 1,2627$, aby výsledky dosažené v jiných podmínkách odpovídaly výsledkům dosažených za standardních podmínek, byla naměřená hodnota ponížena o tento faktor.



Obrázek 3. Sevens - LFRA analyzátor

5.5 Postup zpracování drůbežích běháků



5.5.1 Příprava drůbežích běháků na extrakci

Surové běháky byly promyty ve vodě, kdy se odstranily zbytky nečistot, krve atd. Osušily se utěrkou a rozemlely na masovém mlýnku SPAR Mixer SP-100AD-B. Zhomogenizovaly se a byly skladovány v ledničce při 6 ± 1 °C. Z rozemletých a zhomogenizovaných surových běháků bylo odebráno cca 100 g na vstupní analýzy, byl zjištěn podíl sušiny (gravimetricky) a ze sušiny byl stanoven obsah popelovin (gravimetricky), obsah tuku (extrakcí rozpouštědlem podle Soxhleta), obsah kolagenu (vyvařením v NaOH).



Obrázek 5. Rozemleté surové běháky

Příprava drůbežích běháků na extrakci probíhala ve dvou krocích, v odtučnění a v odstranění nekolagenních bílkovin. Rozemleté a zhomogenizované běháky byly rozmrazeny den předem. Do Erlenmayerovy baňky bylo naváženo 120 g pařátů a smícháno s 600 ml 0,15 M NaHCO_3^* . Třepáno na třepacím stroji 1 hodinu při pokojové teplotě a následně odfiltrováno na kuchyňském sítku, kde byl materiál důkladně promyt vodou (cca 1 litr). Odtučnění bylo provedeno opakovaně 4x po sobě. Po 4. opracování nebyl už v supernatantu viditelný tuk.

*Výpočet navážky NaHCO_3 pro přípravu odměrného roztoku o přesné koncentraci

$$m = c \cdot V \cdot M$$

c...požadovaná koncentrace roztoku

V...požadovaný objem roztoku v litrech

M...molekulová hmotnost chemikálie

Odtučněný materiál byl smísen s 0,10 % NaOH v poměru 1:8, tj. na 120 g navážky běháků bylo přidáno 950 ml 0,10% NaOH. Bylo třepáno na třepacím stroji 45 minut při pokojové teplotě. Poté byl odtučněný materiál odfiltrován na kuchyňském sítku a důkladně promyt vodou. Odstranění nekolagenních bílkovin bylo provedeno opakovaně 4x po sobě.

Po provedené před-přípravě byla rozemletá várka zbavena vody mechanicky tak, že byla várka vložena do síta a voda byla důkladně vymačkána.

Z materiálu bylo odebráno 2 x 1,5 g na analytické stanovení sušiny materiálu pro navážku enzymu pro další zpracování a i pro bilanční výpočty.

5.5.2 Příprava želatin

Neutrální opracování výchozího materiálu enzymem

Opracované a zvážené běháky z předchozích stupňů byly smíchány s 800 ml destilované vody. Bylo upraveno pH na $7,5 \pm 0,3$. Poté byl přidán enzym Polarzyme 6.0 T v množství podle *Faktoru A* (1–5 %). Množství enzymu bylo vztaženo na sušinu drůbežích běháků. Třepáno na třepacím stroji při pokojové teplotě 20 hodin. Po této době byl materiál přefiltrován přes kuchyňské sítko a důkladně vymačkán.

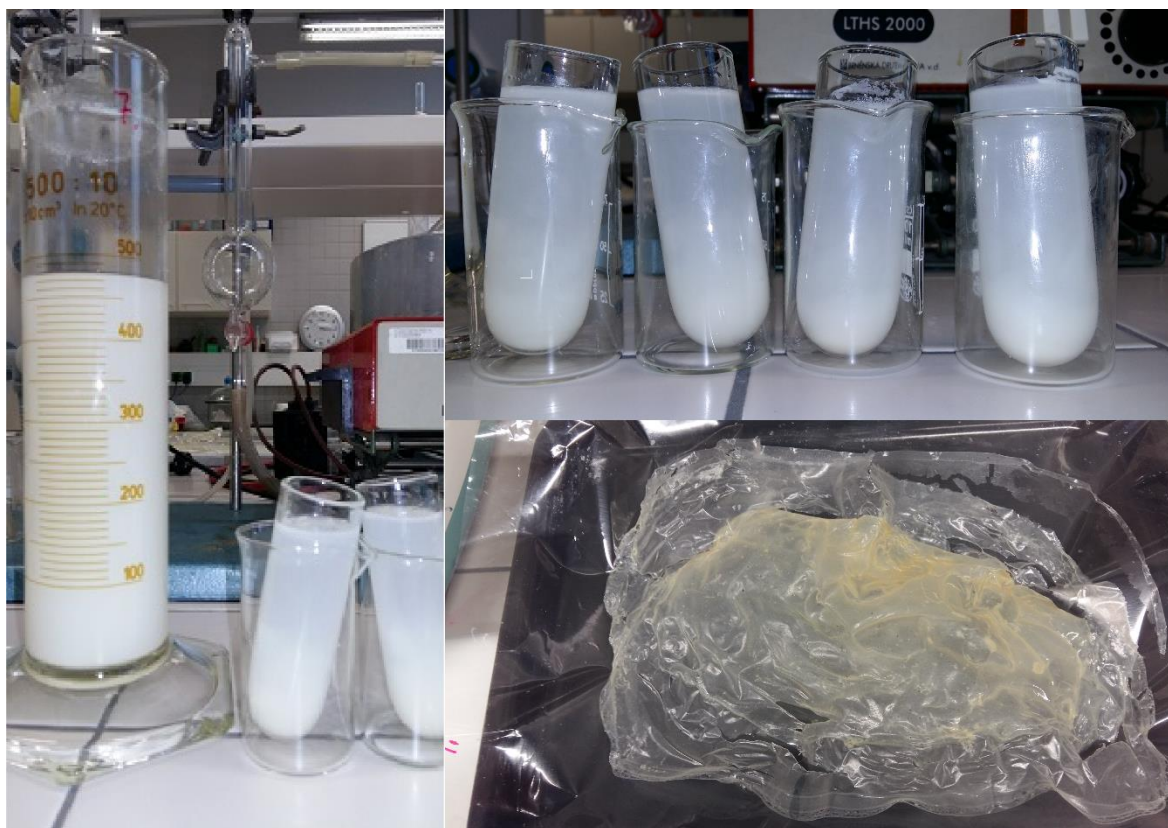
Kapalina byla nalita do 1000 ml odměrné baňky, doplněna po značku a promíchána. Z této odměrné baňky bylo odebráno 3x40 ml do koželužských misek, vysušeno při 103°C a zváženo, poté byl vypočítán obsah sušiny v 1000 ml. Po zjištění množství sušiny byl celý obsah přelit na plech a vysušen při 50-60 °C. Získal se produkt po prvním stupni opracování.

Materiál zachycený na kuchyňském sítku byl důkladně promyt běžnou vodou z kohoutku a zpracován v dalším stupni.

Extrakce želatiny/hydrolyzátu

Promytý materiál byl převeden do 1000 ml kádinky a smísen s destilovanou vodou v poměru 1:8, tj. přidalo se 800 ml vody a systém byl zahřát na teplotu podle **Faktoru B** (60–90 °C). Po dosažení předepsané teploty byla extrahována želatina/hydrolyzát po dobu podle **Faktoru C** (1–4 h). Během extrakce bylo obsahem mícháno. Po ukončení extrakce byl systém přefiltrován přes kuchyňské sítko, které bylo opatřeno ještě třemi vrstvami PA tkániny.

Kapalný podíl byl přelit do odměrného válce a ponechán stát 4 hodiny. Poté byl stáhnut tuk, který se vytvořil po vychlazení na povrchu kapaliny. Tuk byl vysušen při 103°C, zvážen a započítán do hmotové bilance. U experimentů č.1, 2, 5, 6 byl kapalný podíl odstředěn na odstředivce, kapalný podíl byl slit do kádinky a usazený zbytek vysušen při 103°C, zvážen a taktéž započítán do hmotové bilance. Kapalina byla přelita na plech s nepřilnavou fólií a vysušena při 50°C. V případě, že kapalný podíl po 4h stání ztuhl již v odměrném válci (exp.č.3, 4, 7, 8, 9), tak byl zahřátím na 50°C rozpuštěn a vylit na plech bez předchozího odstředění a vysušení při 50°C.



Obrázek 6. Odstředování kapalného podílu a vysušený materiál

Pevný nerozložený podíl byl vysušen při 103°C a zvážen. Následně byla provedena hmotová bilance a vypočítala se účinnost extrakce.

Výpočet účinnosti extrakce

Účinnost procesu je vyjádřena stupněm konverze výchozího materiálu na vodo-rozpustný produkt - želatinu, respektive hydrolyzát. Množství rozložených kuřecích běháků se stanovovalo z hmotnosti vysušeného filtračního koláče (103±1°C).

Výpočet účinnosti rozkladu kuřecích běháků (η):

$$\eta = \frac{m_1}{m} \cdot 100$$

η ...účinnost extrakce kuřecích běháků (%)

m_1 ...množství želatiny/hydrolyzátu po vysušení (g)

m ... sušina vstupu (g)

Bilance hmoty

Jelikož drůbeží běháky byly již dříve odtučněny, měla by jejich sušina obsahovat pouze bílkoviny a popeloviny. Byla proto provedena procentuální bilance ze zjištěných výsledků obsahu sušiny ve zkoumaných běhácích a jejich želatin/hydrolyzátů.

Výpočet bilance zjištěných látek obsažených v sušině:

$$SV = NP + B + T$$

$$BCH = \frac{SV - (P_{1,2} + NZ + T)}{SV} \cdot 100$$

SV...sušina vstupu (g)

NP...hmotnost nerozloženého podílu (g)

$P_{1,2}$...hmotnost produktu po 1. a 2. stupni opracování (g)

T...hmotnost tuku (g)

BCH...bilanční chyba (%)

Exp.č.	SV Sušina vstupu (g)	P _{1,2}		T	NP		BCH Bilanční chyba sušiny (%)
		Produkt po 1. stupni opracování (g)	Produkt po 2. stupni opracování (g)	Tuk po 2. stupni opracování (g)	Zbytek po odstředování (g)	Zbytek po filtraci (g)	
1	25,4	3,1	6,8	0,1	2,7	10,5	8,7
2	26,2	3,2	11,2	0,0	0,3	9,0	9,5
3	24,4	2,9	9,4	0,5	0,4	11,0	0,8
4	22,8	2,2	9,6	0,0	0,1	8,7	9,7
5	24,1	3,3	10,5	0,4	0,3	9,4	0,8
6	23,2	3,6	11,4	0,0	0,4	7,5	1,3
7	25,3	3,4	10,4	1,5	0,0	7,7	9,1
8	22,4	3,5	9,4	0,3	0,4	8,6	0,9
9	26,5	3,7	10,4	1,2	0,3	8,4	9,4

Tabulka 2. Bilance hmot po extrakčním procesu

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Bylo provedeno celkem 15 experimentů, nejprve 9 pokusů (2^3+1) a kvůli následné optimalizaci podmínek dalších 5 experimentů (2^2+1). Produkty, vzniklé extrakcí drůbežích běháků za různých podmínek, jsou v následující kapitole porovnány. Při extrakci želatin/hydrolyzátů byly sledovány tři faktory (přídavek enzymu – faktor A, teplota extrakce – faktor B, doba extrakce – faktor C). Veškeré výsledky analýz vzniklých produktů jsou uvedeny v tabulce 3. a 4.

6.1 Hodnocení účinnosti zpracovatelského procesu a kvality připravených produktů

Výsledky účinnosti extrakce drůbežích běháků jsou zaznamenány v tabulce 3. Bylo zjištěno, že účinnost rozkladu se pohybovala od 34,1% u experimentu č.1 (tzn. 1h / 60°C / 1% přídavek enzymu) až po 72,6% u experimentu č.6 (tzn. 4h / 60°C / 5% přídavek enzymu). Obecně největších výtěžků želatiny/hydrolyzátu bylo zaznamenáno při použití 5% enzymu (vztaženo na sušinu zpracovávaného materiálu), době extrakce 4 hodiny a teplotě 60°C. Nejmenší účinnost rozkladu drůbežích běháků byla zaznamenána u experimentu č.1 (34,1 %), kdy podmínky při extrakci byly nejmírnější.

Tvorba gelů ve vodě je jednou z nejvýznamnějších vlastností želatiny. Gel vznikl u experimentů č.3, 4, 7, 8, 9, u těchto experimentů ztuhl kapalný podíl po extrakci již v odměrném válci před odstředěním. Nejvyšší hodnoty pevnosti gelu byly naměřeny u experimentu č.3 (tzn. 1h / 90°C / 1% přídavek enzymu) a to 167 Bloom viz tabulka 3. Želatina je používána v mnoha výrobcích právě kvůli svým gelačním schopnostem. Pro obchodní účely je používána želatina s hodnotou v rozmezí od 50 do 300 Bloom, což splňují všechny utvořené gely.

Z tabulky 3 je patrné, že na obsah popelovin nemá významný vliv žádný faktor použitý při extrakci želatin/hydrolyzátů. Bylo dosaženo od 0,58 % do 1,42 % obsahu popelovin. Tyto hodnoty odpovídají kvalitě farmaceutické želatiny, kde limit je do 2 % obsahu popelovin. Vyšší hodnoty obsahu popelovin byly nejspíše způsobeny použitím většího množství roztoku hydroxidu sodného při úpravě pH před přídavkem enzymu.

Exp. č.	Technologické podmínky			Produkt po 1. stupni zpracování		Účinnost extrakce po 1. stupni zpracování (%)	Produkt po 2. stupni zpracování			Účinnost extrakce po 2. stupni zpracování (%)	Celková účinnost extrakce (%)
	Faktor A Přídavek enzymu (%)	Faktor B Teplota extrakce (°C)	Faktor C Doba extrakce (h)	Obsah sušiny (%)	Obsah popelovin (%)		Obsah sušiny (%)	Obsah popela (%)	Pevnost gelu (Bloom)		
1	1	60	1	95,6	22,0	10,6	93,4	0,99	-	23,5	34,1
2	1	60	4	96,4	20,8	10,6	93,7	1,06	-	37,7	48,3
3	1	90	1	96,2	27,9	11,8	93,3	1,23	167	34,0	45,8
4	1	90	4	96,5	22,8	11,3	96,2	0,67	56	38,9	50,2
5	5	60	1	98,5	28,3	16,7	96,5	1,41	-	48,2	64,9
6	5	60	4	98,6	27,7	18,3	97,1	0,58	-	54,4	72,6
7	5	90	1	98,1	29,2	14,5	93,9	0,58	105	39,0	53,5
8	5	90	4	97,1	30,2	16,9	93,1	0,99	78	45,6	62,5
9	3	75	2,5	97,5	25,4	13,6	95,7	1,17	148	38,5	52,0

Tabulka 3. Výsledky po prvním a druhém stupni zpracování

6.2 Ověření vlivu doby, teploty a množství enzymu na extrakci želatin

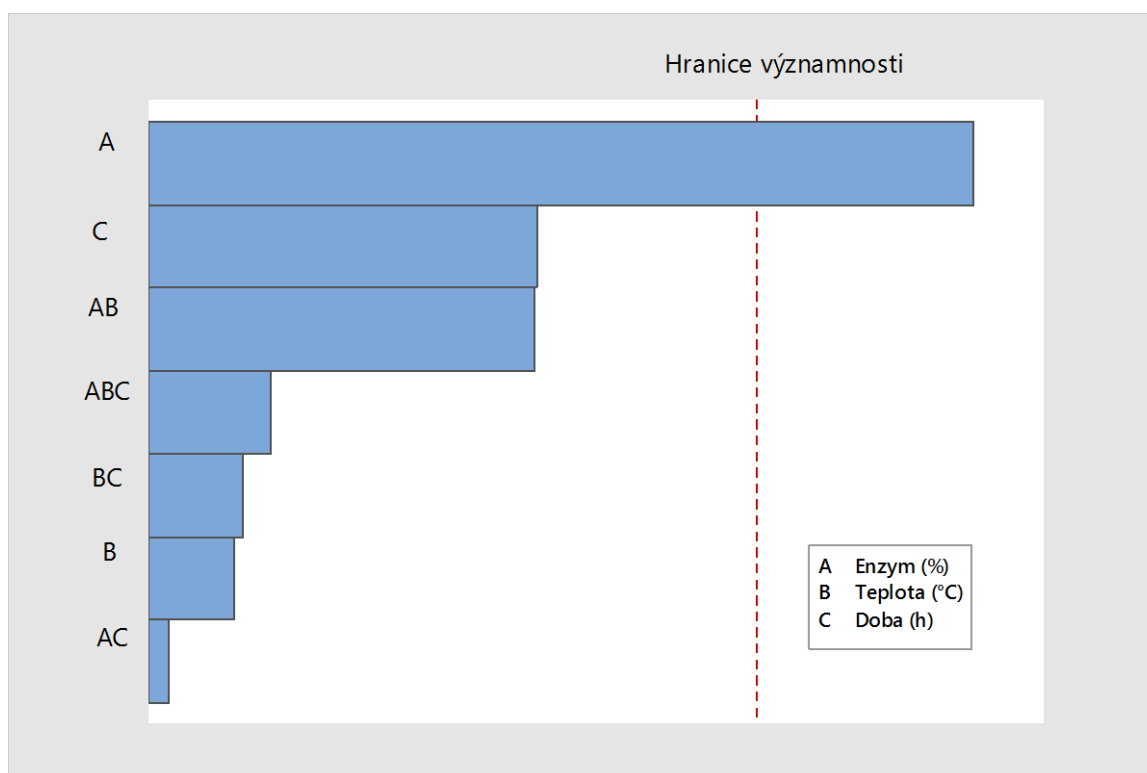
6.2.1 Účinnost extrakce

Rovnice pro celkovou účinnost extrakce má tvar:

$$y = -22,21 + 21,64 \cdot A + 0,7222 \cdot B + 13,66 \cdot C - 0,2233 \cdot AB - 2,392 \cdot AC - 0,1397 \cdot BC + 0,03063 \cdot ABC$$

A,B,C sledované faktory při hydrolýze

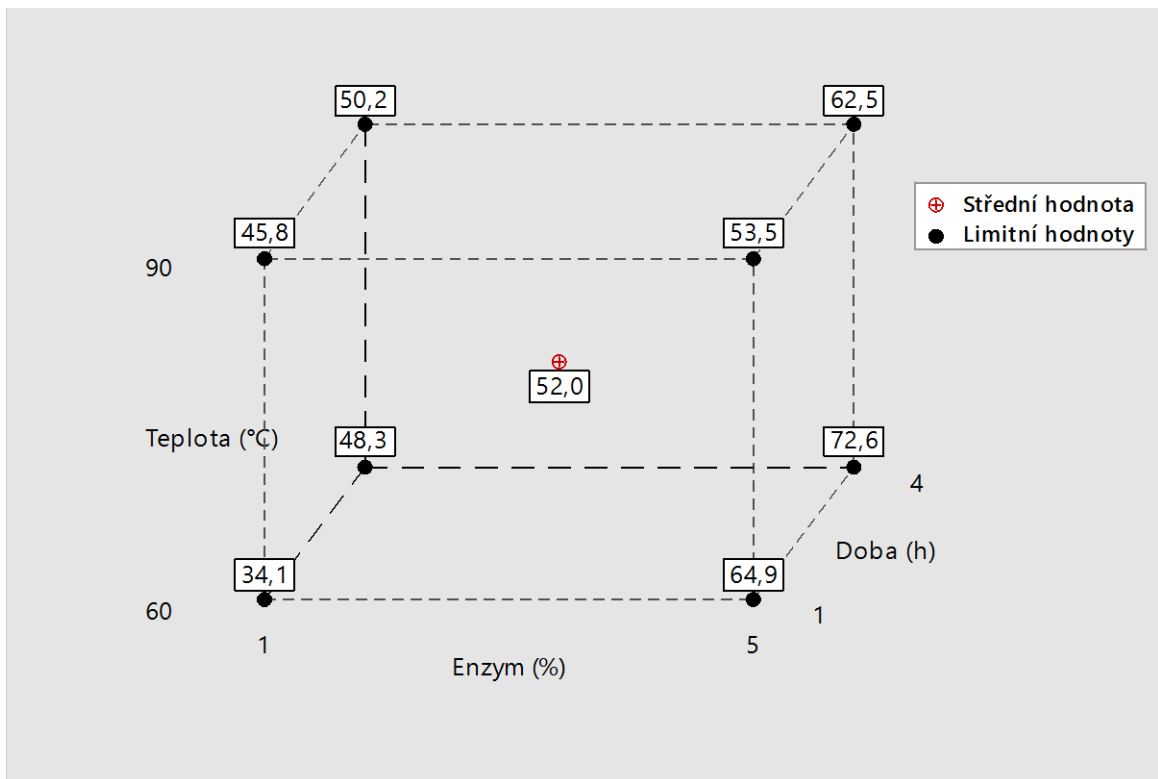
AB, AC, BC interakce faktorů



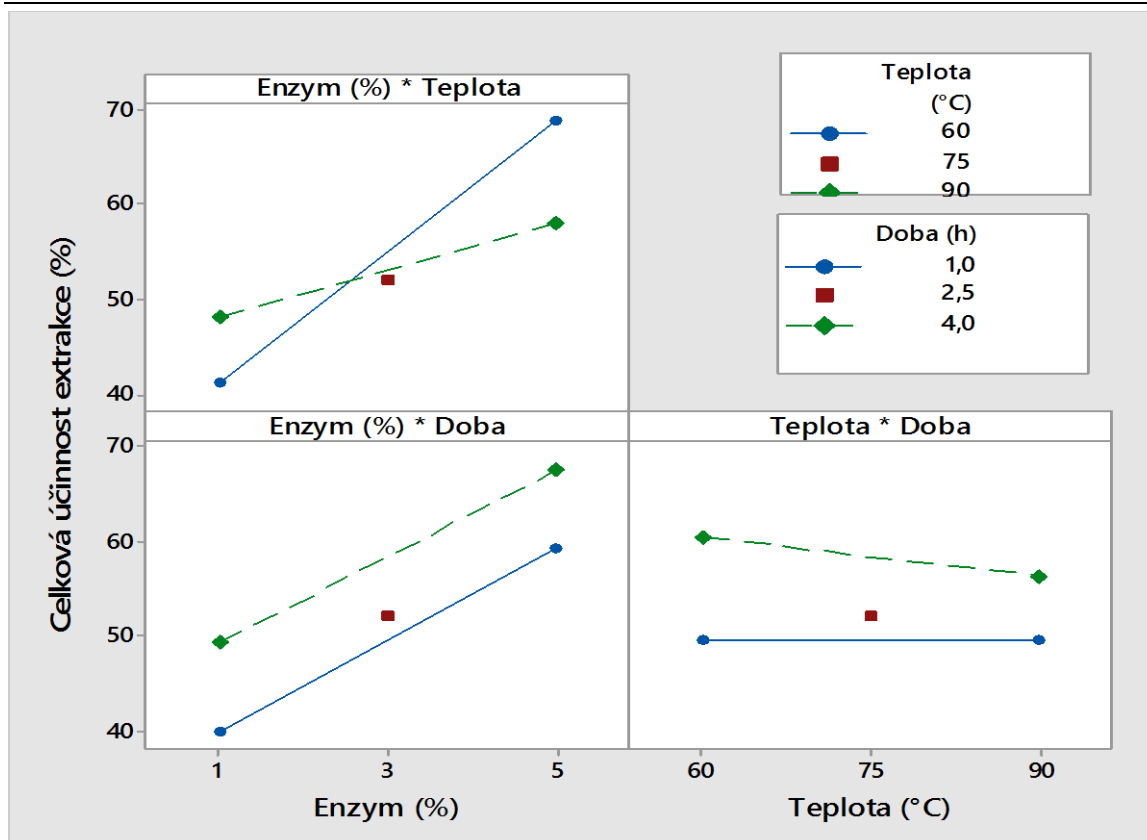
Obrázek 7. Významnost sledovaných faktorů na účinnost extrakce

Z obrázku 7 je zřejmé, že největší význam na účinnost extrakce má jednoznačně faktor A tzn. % přidavek enzymu a následně faktor C tj. doba extrakce. Obrázek 8 vykresluje vliv sledovaných faktorů na účinnost extrakce. Nejvyššího stupně konverze 72,6% je dosaženo

při použití většího množství enzymu a delší doby extrakce. Vliv teploty (faktor B) na účinnost extrakce je velmi malý, při 4 hodinovém působení a použití vyššího % přídatku enzymu se tento vliv zvyšuje, ale zásadně snižuje stupeň konverze 62,5%.

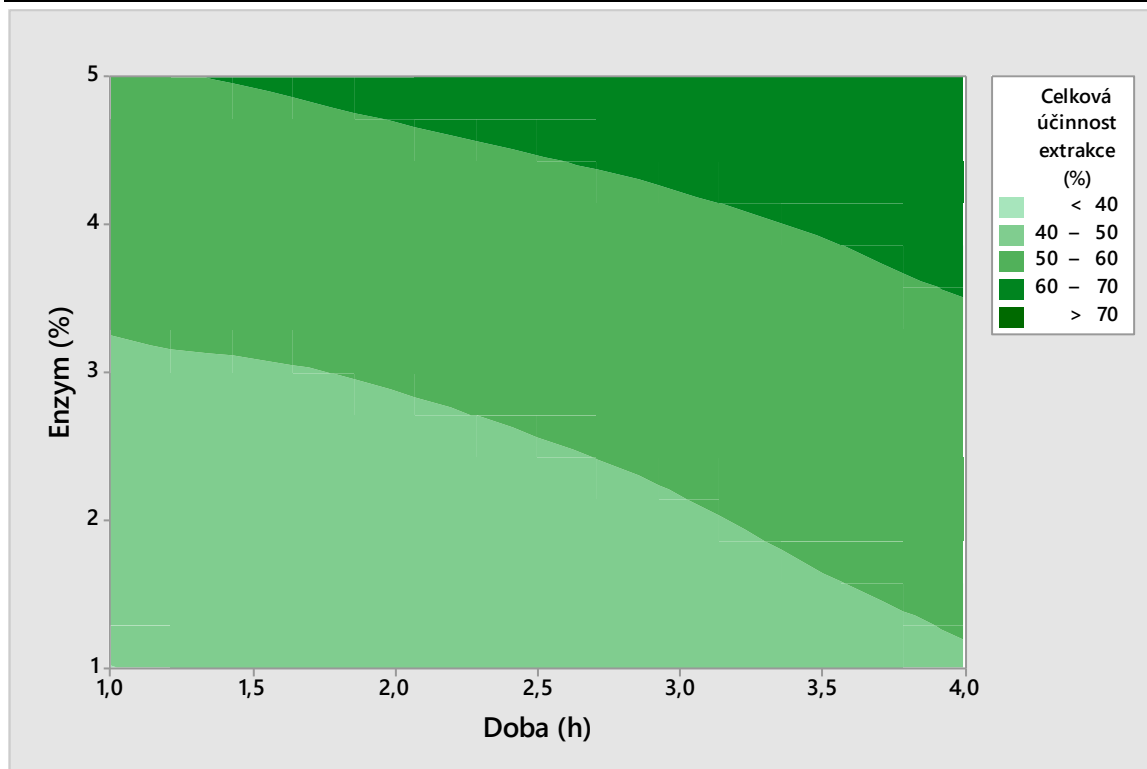


Obrázek 8. Vliv sledovaných faktorů na účinnost extrakce



Obrázek 9. Vliv interakcí sledovaných faktorů na účinnost extrakce

Vliv interakcí sledovaných faktorů je znázorněn na obrázku 9. Vzájemná interakce teploty a doby extrakce nemá žádný vliv na celkovou účinnost extrakce. Vzájemné působení množství enzymu (faktor A) a teploty (faktor C) je důležité, u teploty 60°C a přídavku 5% enzymu dosahujeme vysokého stupně konverze, se zvyšující teplotou a % přídavku enzymu tento vliv na celkovou účinnost extrakce drůbežích běháků klesá. Vliv na stupeň konverze má vzájemná interakce faktoru A (množství enzymu) a faktoru C (doba extrakce). Se zvyšujícím množstvím enzymu a delší doby extrakce je celková účinnost přeměny nejvyšší.



Obrázek 10. Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a přídavku enzymu na celkovou účinnost extrakce

Obrázek 10 je vrstevnicový graf znázorňující vliv doby hydrolýzy a přídavku enzymu na množství rozložených drůbežích běháků. Z grafu vyplývá, že nejvyšší účinnosti extrakce je dosaženo při vyšším přídavku enzymu a delší doby extrakce. Čím kratší dobu hydrolýzy zvolíme, tím musí být vyšší přídavek enzymu, abychom dosáhli požadovaného procentuálního rozkladu. Pokud by nám tedy záleželo na celkové přeměně drůbežích běháků, volili bychom tyto podmínky. Vysokého stupně konverze je dosahováno na úkor kvality připravených želatin/hydrolyzátů.

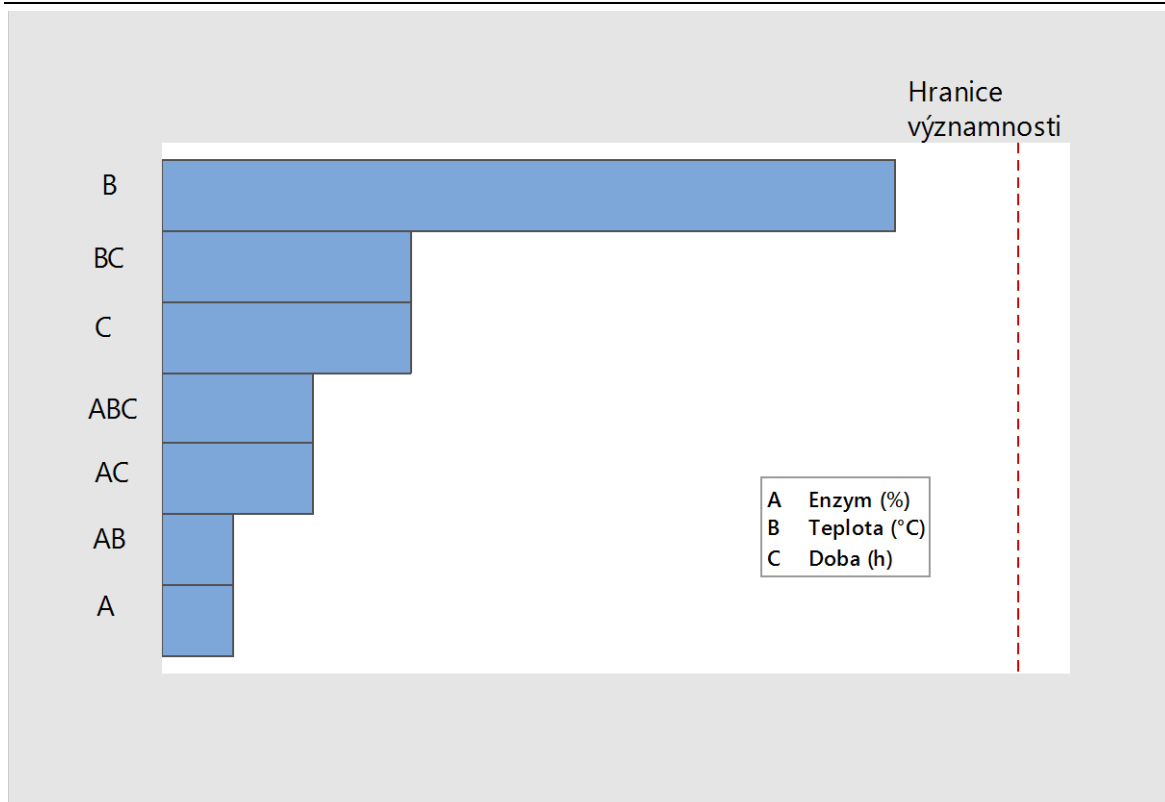
6.2.2 Pevnost gelu

Rovnice pro pevnost gelu má tvar:

$$y = -453,0 + 45,00 \cdot A + 7,55 \cdot B + 88,00 \cdot C - 0,75 \cdot AB - 14,00 \cdot AC - 1,467 \cdot BC + 0,2333 \cdot ABC$$

A,B,C sledované faktory při hydrolýze

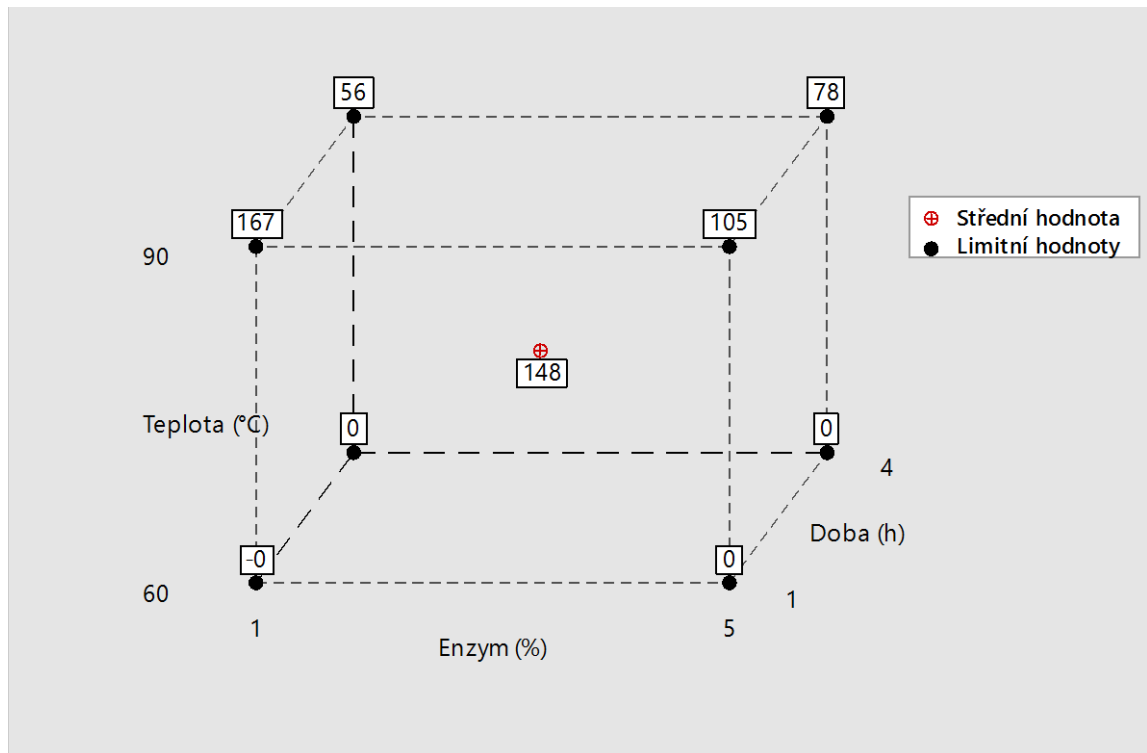
AB, AC, BC interakce faktorů



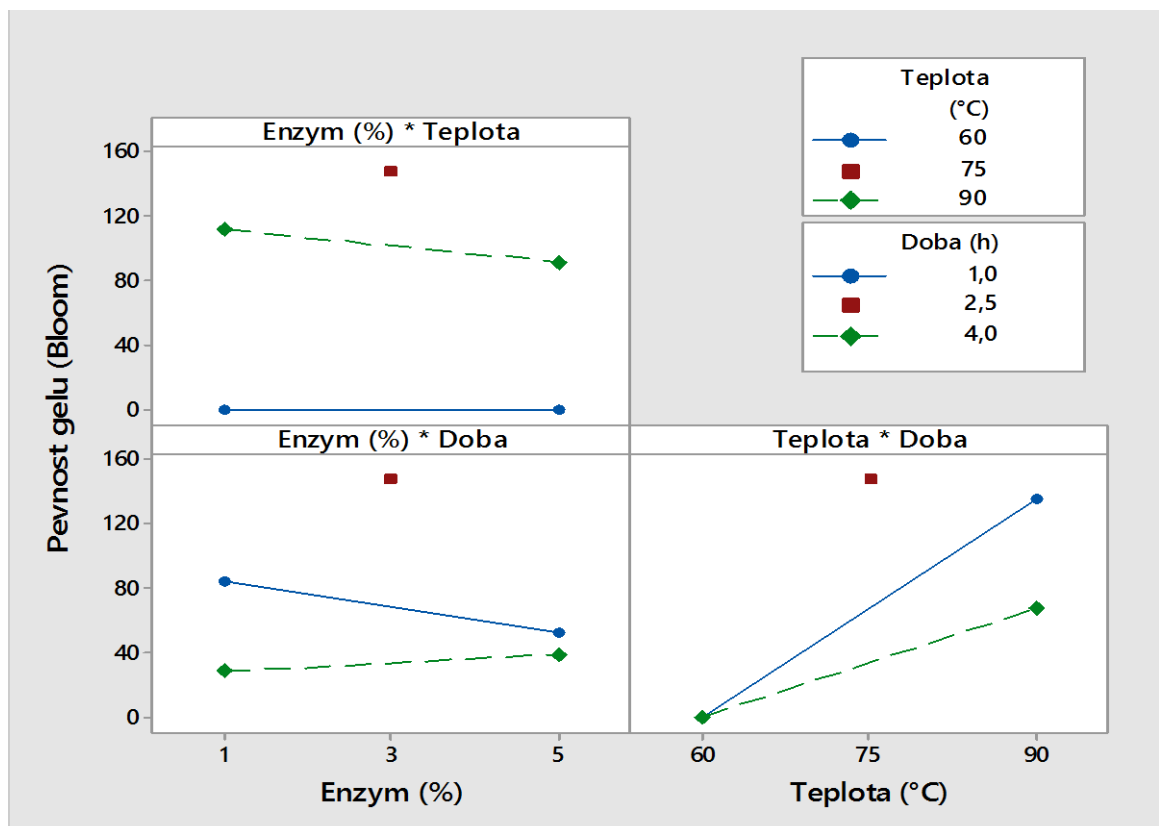
Obrázek 11. Významnost teploty, doby a množství enzymu na pevnost gelu

Nejdůležitějším faktorem želatiny je její pevnost gelu. Pevnost gelu určuje kvalitu želatiny. Pohybuje se od nízké (150 Bloom), střední (150 – 220 Bloom) a vysoké (220 – 300 Bloom).[40]

Z významnosti sledovaných faktorů na pevnost gelu (obrázek 11) je patrné, že největší vliv má teplota (faktor B) při extrakci a následně doba (faktor C) extrakce. Nejméně významným faktorem je faktor A (množství přidaného enzymu) použitého k porušení vazeb před extrakcí drůbežích běháků. Na následujícím obrázku 12, který vyjadřuje vliv teploty, doby a enzymu na pevnost gelu, je vidět vzrůstající hodnota Bloom se snižujícím množstvím enzymu. Nejvyšší hodnota Bloom 167 je dosažena při použití 1 % přídatku enzymu, době extrakce 1h při teplotě 90°C.



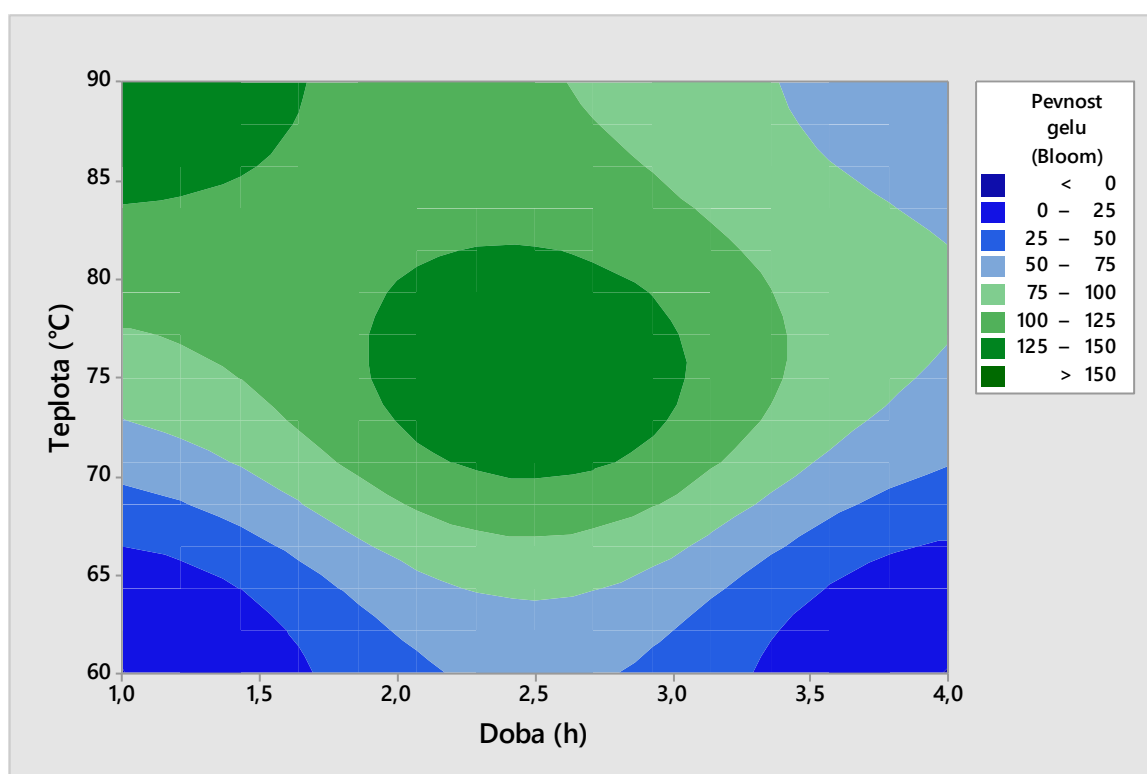
Obrázek 12. Kubické vyjádření vlivu teploty, doby a enzymu na pevnost gelu



Obrázek 13. Vliv vzájemných interakcí teploty, doby a enzymu na pevnost gelu

Se zvyšující dobou extrakce se pevnost gelu snižuje, při teplotě použití 60°C se gely vůbec neutvořily. Zajímavá je středová hodnota, kdy při použití 2,5% přídavku enzymu, teploty 75°C a doby extrakce 2,5h, dosahuje hodnota pevnosti gelu 148 Bloom.

Na obrázku 13 je znázorněn vliv vzájemných interakcí teploty, doby a enzymu na pevnost gelu. Vzájemné působení teploty a doby nám ukazuje křivka vpravo na obrázku 13. Je zřejmé, že pevnost gelu má zvyšující charakter se zvyšující teplotou a nižší dobou extrakce. Křivky vlevo na obrázku 13 značí vzájemnou interakci množství enzymu, doby extrakce a množství enzymu, teploty extrakce. Vyšší pevnosti gelu bylo dosaženo při vyšší teplotě a s nižším % přídavkem enzymu. Se zvyšujícím množstvím enzymu se dokonce pevnost gelu snižuje.



Obrázek 14. Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na pevnost gelu

Z obrázku 14 znázorňujícího vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na pevnost gelu je zřejmé, že se snížením doby extrakce a zvýšením teploty extrakce drůbežích běháků, dosáhneme nejvyšších hodnot pevnosti gelu. Optimalizace technologických podmínek popsána v následující kapitole je zaměřena na tyto dva faktory – doba extrakce a teplota extrakce. Doba extrakce drůbežích běháků je zkrácena a teplota extrakce zvýšena.

6.3 Optimalizace technologických podmínek extrakce želatin

Vzhledem k tomu, že cílem práce bylo získat želatinu v nejlepší kvalitě tj. s vysokou pevností gelu, byly po statistickém vyhodnocení experimentů navrhнутy optimální technologické podmínky přípravy želatin. Bylo připraveno dalších pět experimentů a jeden středový pro ověření získaných výsledků. Doba extrakce byla 15 – 40 min (faktor C) a teplota 80 – 100 °C (faktor B). Výsledky zpracování po optimalizaci jsou zaznamenány v tabulce 4.

Z tabulky 4 je zřejmé, že nejvyšší účinnosti extrakce po optimalizaci zpracování je docíleno u experimentů 12 a 13, kdy bylo použito vysokých teplot 100°C. Bylo dosaženo až 56,3% stupně konverze. U těchto dvou experimentů připravený materiál netvořil gel. Nejnižší celková účinnost extrakce je zaznamenána u experimentů 10, 11. U těchto pokusů byla teplota extrakce udržována na 80°C po dobu 15 – 45 min. U experimentu 10, kdy extrakce probíhala při 80°C a doby 15 min bylo dosaženo nejvyšší hodnoty pevnosti gelu - 245 Bloom.

Středový experiment byl potvrzen, dokonce ještě s lepšími výsledky. Želatina připravená extrakcí z drůbežích běháků při 75°C po dobu 2,5h měla hodnotu pevnosti gelu 204 Bloom.

Exp. č.	Technologické podmínky			Charakterizace produktu po optimalizaci					Celková účinnost extrakce (%)
	Faktor A Přídavek enzymu (%)	Faktor B Teplota extrakce (°C)	Faktor C Doba extrakce (h)	Množství nerozl. tuhého podílu (g)	Množství tuku (g)	Účinnost extrakce po prvním stupni (%)	Množství želatiny/hydrol. (g)	Pevnost gelu (Bloom)	
10	1	80	0,25	9,6	1,0	10,6	8,8	245	41,7
11	1	80	0,75	10,8	0,8	11,1	8,3	7	41,9
12	1	100	0,25	10,2	1,2	13,3	8,1	-	49,3
13	1	100	0,75	9,2	0,8	13,4	9,6	-	56,3
14	1	90	0,50	9,8	1,4	12,8	8,3	53	48,1
15	1	75	2,50	10,2	1,1	11,5	10,2	204	50,4

Tabulka 4. Výsledky zpracování po optimalizaci

6.3.1 Účinnost extrakce po optimalizaci zpracování

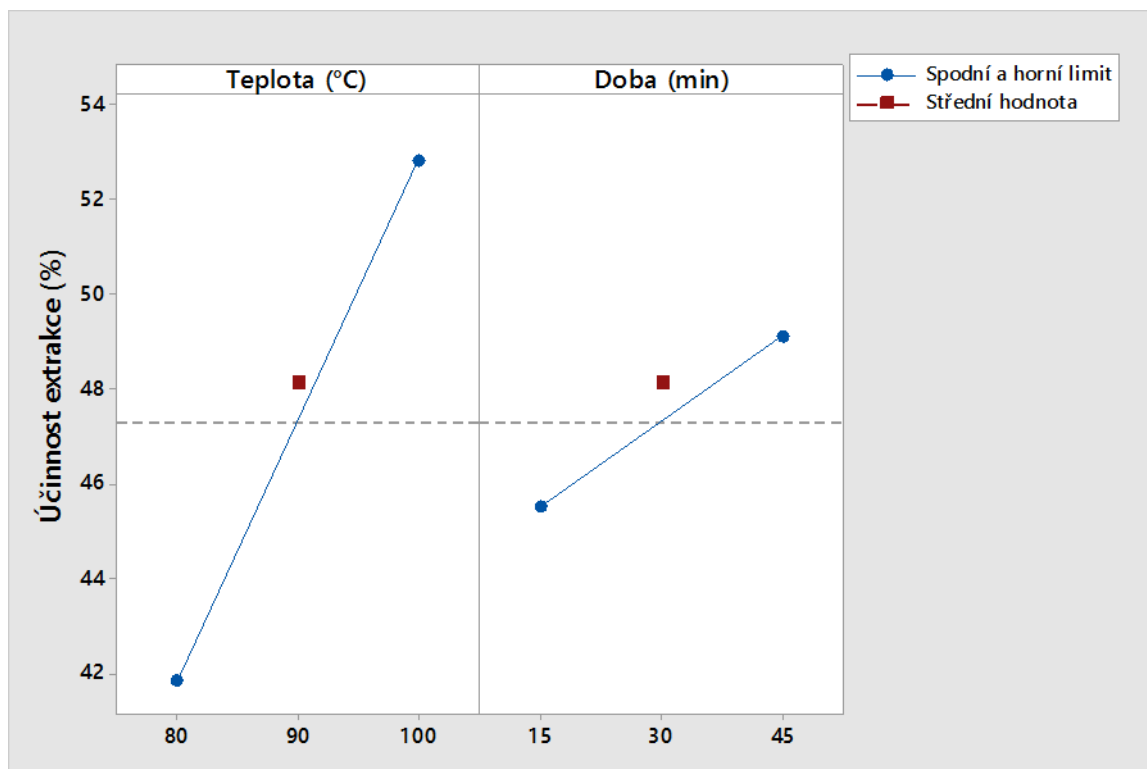
Rovnice pro celkovou účinnost extrakce po optimalizaci zpracování má tvar:

$$y = 24,80 + 0,21 \cdot A - 0,90 \cdot B + 0,0113 \cdot AB$$

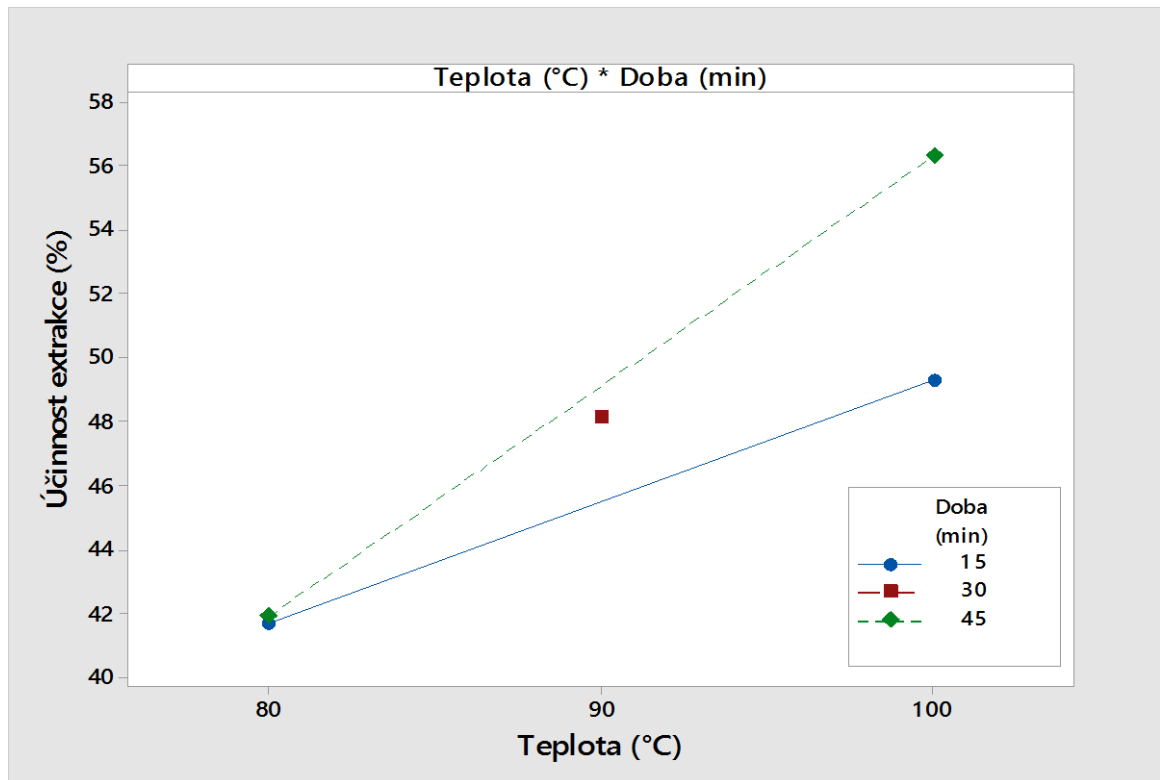
A,B,C sledované faktory při hydrolýze

AB, AC, BC interakce faktorů

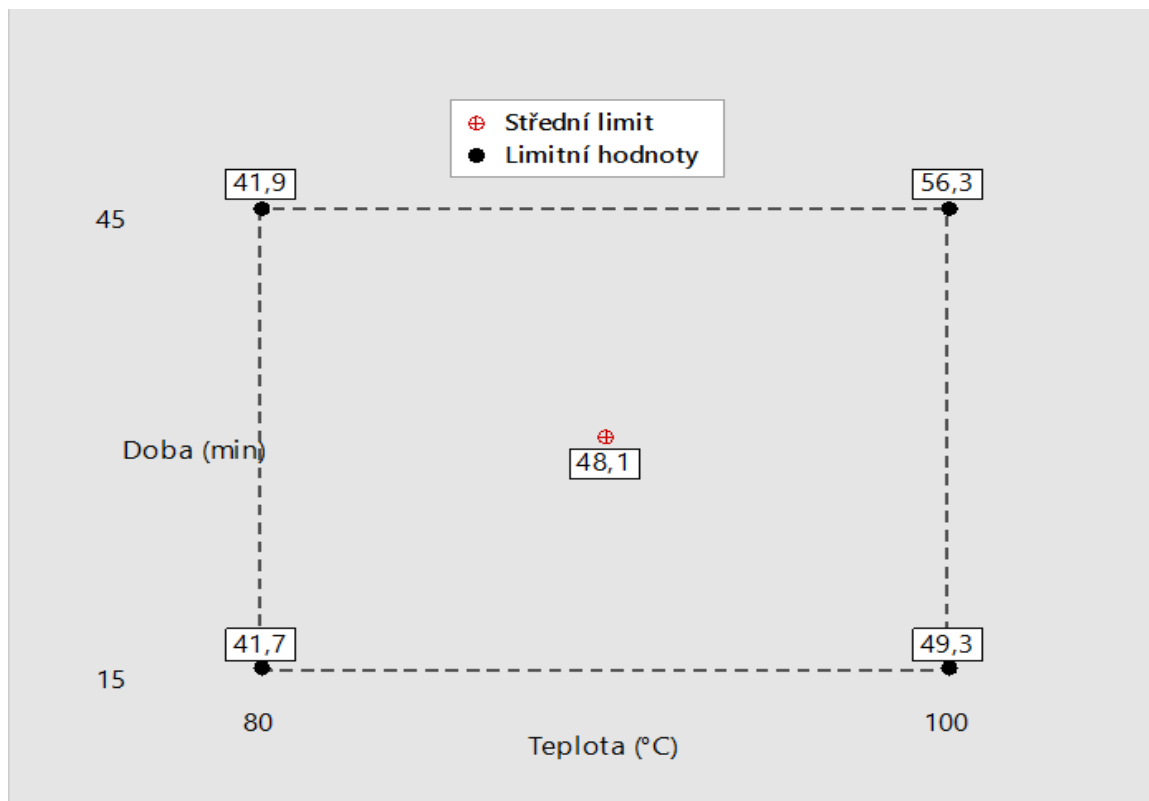
Pomocí grafů znázorněných na obrázku 15 a 16 je možné konstatovat, že s rostoucí teplotou a dobou extrakce drůbežích běháků celková účinnost extrakce po optimalizaci zpracování stoupá. Příkladem je experiment 13, kdy extrakce probíhající při 100°C a 45 min, dosahuje nejvyššího stupně konverze 56,3%. Opakem je experiment 10 (80°C, 15 min) u kterého je zaznamenán nejnižší stupeň konverze 41,7%.



Obrázek 15. Vliv teploty a doby na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování

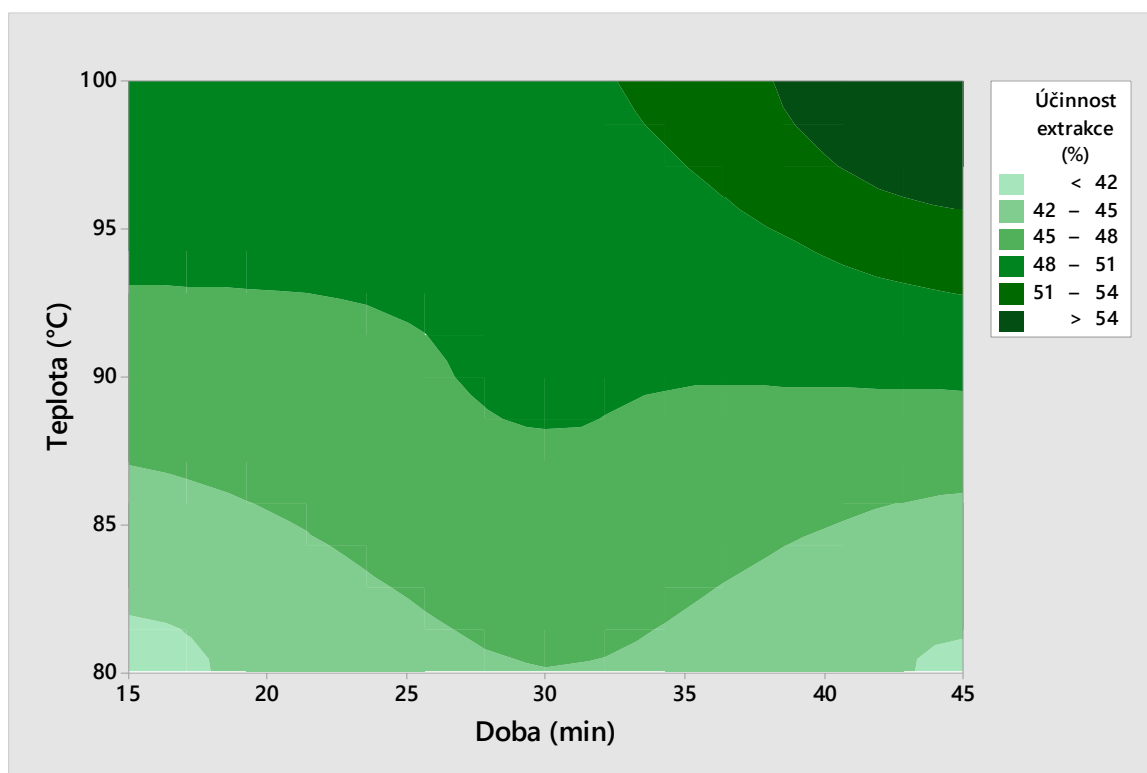


Obrázek 16. Vliv interakce teploty a doby faktorů na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování



Obrázek 17. Plošné vyjádření vlivu teploty a doby na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování

Obrázek 17 demonstruje plošné vyjádření vlivu teploty a doby na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování. Použijeme-li teplotu extrakce 100°C po dobu 15 minut stupeň konverze bude 49,3%, pokud ale dobu zvýšíme na 45 minut, stupeň konverze se zvýší na 56,3%. Celková účinnost extrakce drůbežích běháků je jednoznačně závislá na době, teplotě extrakce a % přídavku enzymu. Podmínky byly upraveny tak, že jsem dobu extrakce drůbežích běháků zkrátila, proto je nyní dosahováno nižšího stupně konverze než tomu bylo u předchozích experimentů. Dalším důležitým aspektem je, že v předchozí kapitole bylo dosahováno vysoké celkové účinnosti u experimentů, kde byl použit 5% přídavek enzymu vztaheného na sušinu materiálu. V optimalizaci zpracování byl tento přídavek snížen na 1% přídavku enzymu. Nebylo dosaženo takového stupně konverze jako v předchozí kapitole a to díky sníženému množství přídavku enzymu, ale závislost doby a teploty extrakce byla potvrzena viz obrázek 18.



Obrázek 18. Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na celkovou účinnost extrakce po optimalizaci zpracování

Srovnáním s výtěžností želatin z odlišných zdrojů můžeme konstatovat, že stupeň konverze u želatin připravených z drůbežích běháků je o dost vyšší. Například výtěžek želatin z rybího odpadu (kosti, kůže, ploutve) dosahoval maximální hodnoty 6,6% [39] a výtěžek extrahovaný z kuřecích kůží 16%. [14]

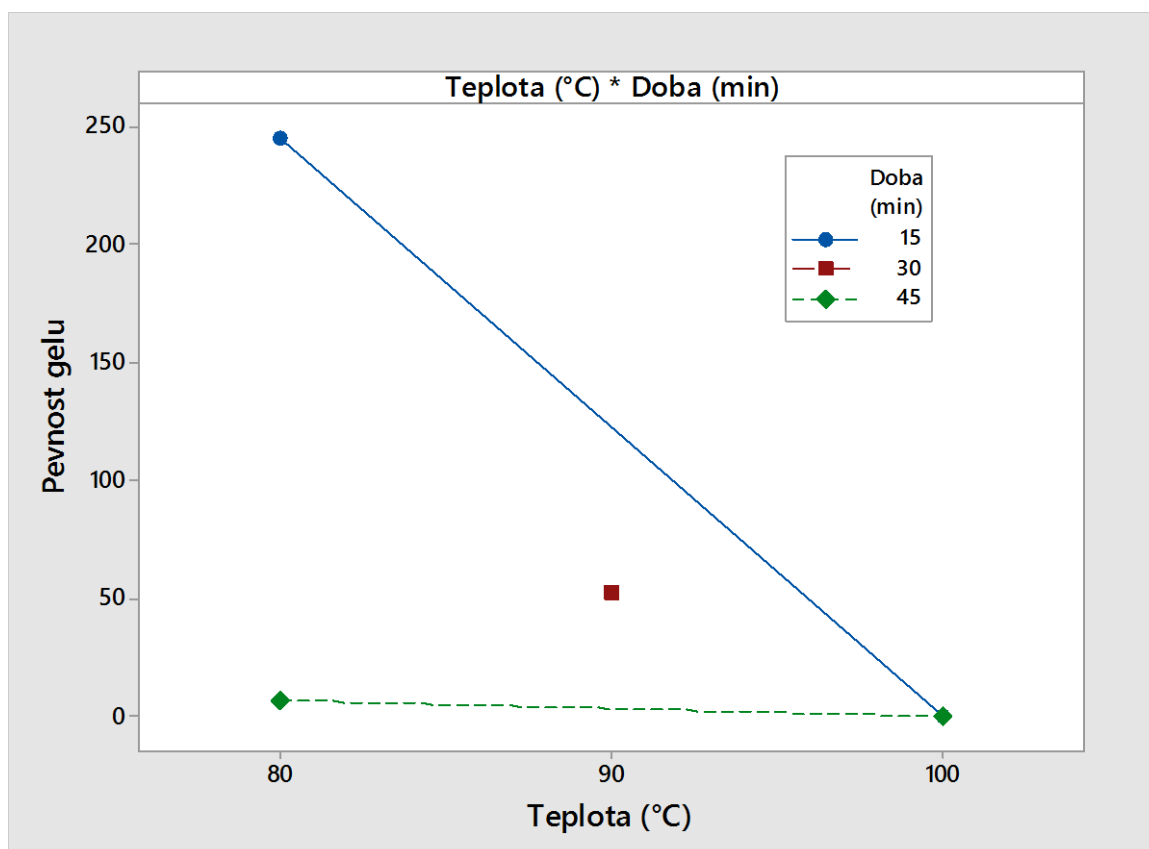
6.3.2 Pevnost gelu po optimalizaci zpracování

Rovnice pro pevnost gelu po optimalizaci procesu má tvar:

$$y = 1820 - 18,20 \cdot A - 39,67 \cdot B + 0,3967 \cdot AB$$

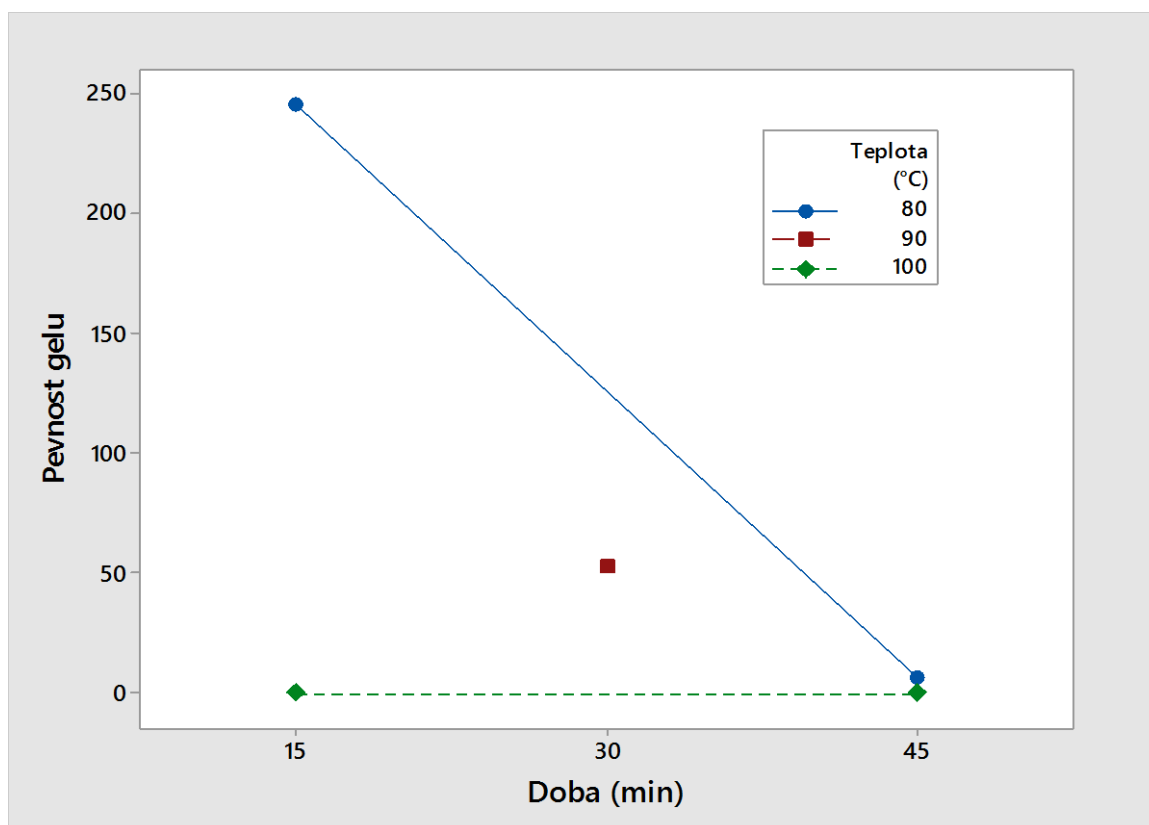
A,B,C sledované faktory při hydrolýze

AB, AC, BC interakce faktorů

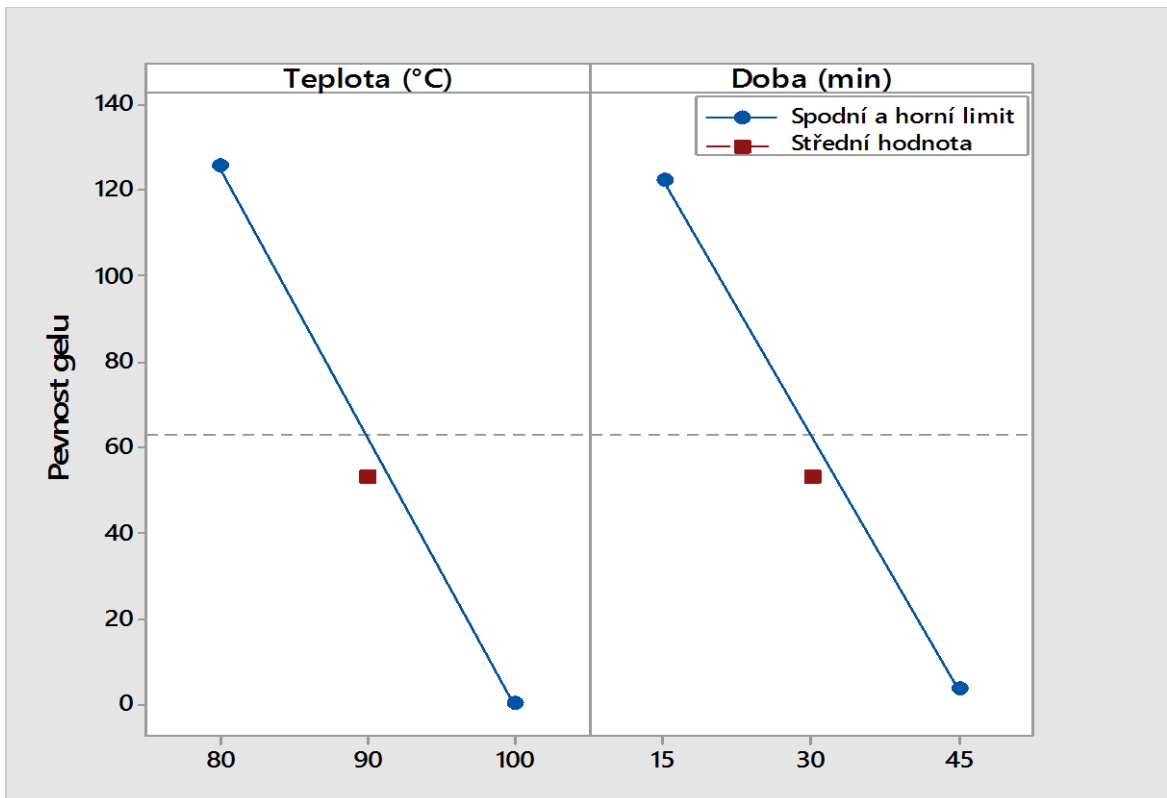


Obrázek 19. Vzájemná interakce teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování

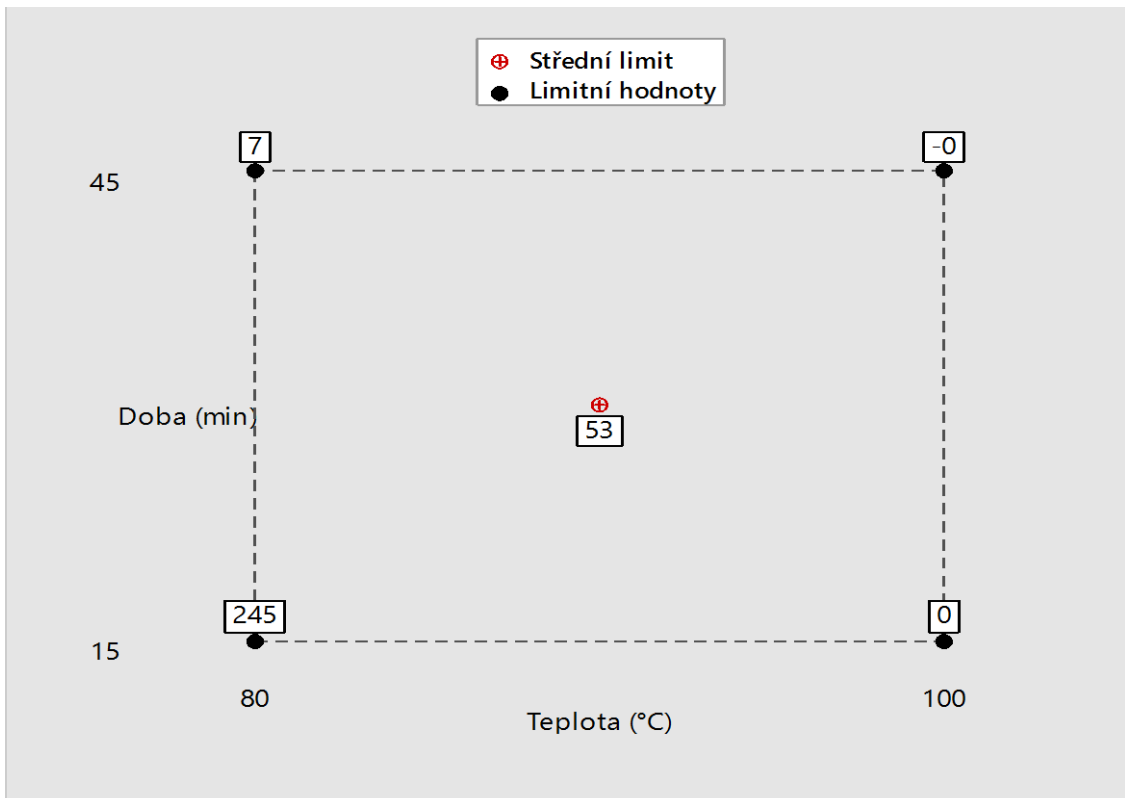
Z obrázku 19 a 20, které zobrazují vliv interakcí teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování, lze vyčíst, že s rostoucí dobou extrakce drůbežích běháků, pevnost gelu klesá. S postupným zvyšováním teploty, pevnost gelu klesá. U experimentů extrahujících 45 minut se gel netvoří nezávisle na teplotě použité při hydrolýze. Při nejvyšší teplotě 100°C a již 15 minutách dochází k hydrolýze a vzniku materiálu špatné kvality, gel nevzniká. Snížením teploty na 90°C a doby (30 min) extrakce drůbežích běháků dosáhneme přípravy materiálu s pevností gelu 53 Bloom. Jednoznačný klesající charakter křivek ukazuje obrázek 21, popisující vliv interakcí sledovaných faktorů, kdy při stoupající teplotě a době extrakce, klesá pevnost gelu až na nulovou hodnotu. Extrakce probíhající 15 minut při 80°C je optimální k dosažení nejvyšších hodnot pevnosti gelu 245 Bloom viz obrázek 22.



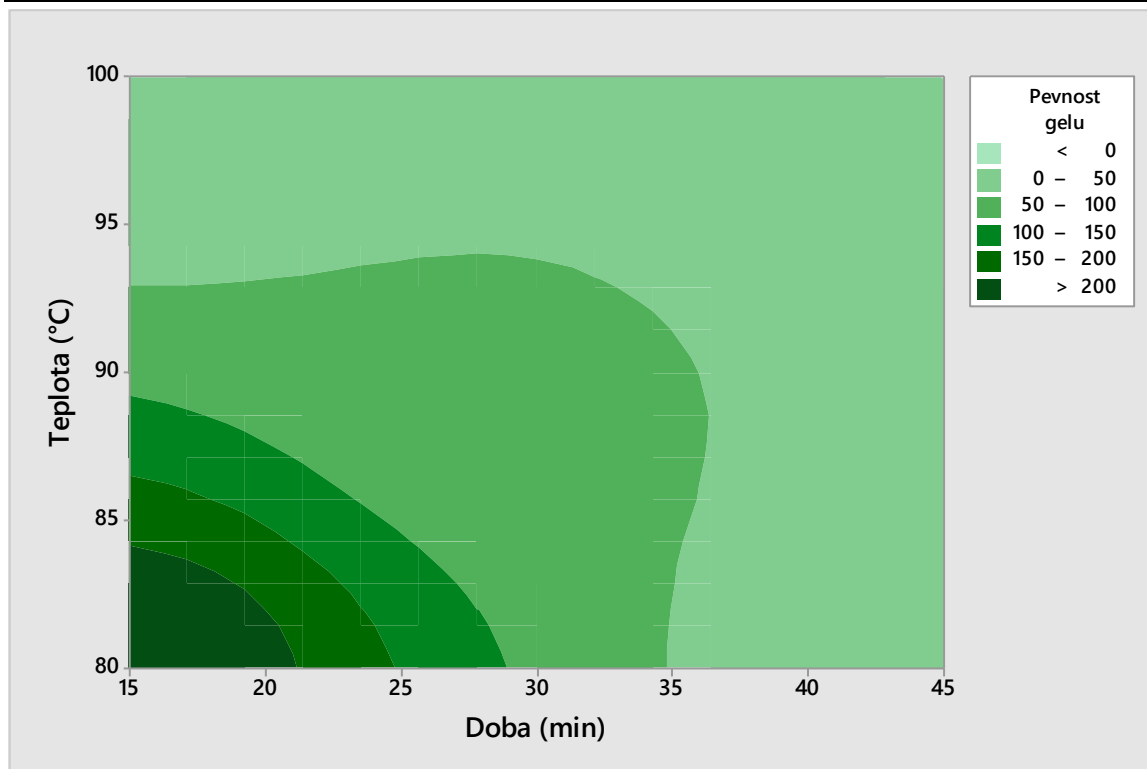
Obrázek 20. Vliv interakcí teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování



Obrázek 21. Vzájemná interakce teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování



Obrázek 22. Vliv teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování



Obrázek 23. Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na pevnost gelu po optimalizaci zpracování

Na obrázku 23 je vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na pevnost gelu po optimalizaci zpracování. Z obrázku 23 je patrné, že pro dosažení vysokých hodnot pevnosti gelu je nutné snížit teplotu a čas extrakce. Extrakcí drůbežích běháků při 80°C a době 15 minut dosahujeme 245 Bloom, což řadíme do vysokých hodnot pevnosti gelu.

Williams (2010) ve své studii připravil želatiny hydrolýzou ve vodném prostředí (50°C, 3 hod) z rybích odpadů různých ryb po předchozím namočení vstupního materiálu na 1 hodinu do 0,2 M $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a 3 hodin v 0,1 M kyselině citrónové. Získal želatiny s pevností gelu v rozmezí od 14,4 do 49,4 Bloom. Srovnával kvalitu připravených želatin s kvalitou komerčně dostupných želatin z ryb (61 Bloom), z hovězí kůže (163 Bloom) a z vepřové kůže (222 Bloom).[39]

Sarbon at al. (2013) ve své práci připravil želatinu z kuřecích kůží. Nejprve kůže odtučnil a odstranil nekolagenní bílkoviny pomocí 0,15% roztoku NaOH po dobu 40 minut 3x po sobě, to samé pak provedl v roztoku kyseliny sírové a kyseliny citrónové. Konečnou extrakci provedl v destilované vodě při 40°C přes noc bez míchání. Želatiny připravené touto metodou byly vysoce kvalitní, hodnoty pevnosti gelu dosahovaly 355 Bloom. Výsledky

z jeho studie ukazují, že želatina z kuřecí kůže by mohla být alternativou ke komerční želatině.

6.4 Přínos výsledků pro praxi

Je dobře známo, že množství želatiny použité nejen v potravinářském průmyslu na celém světě se zvyšuje každý rok. Kolagen je hlavní strukturální protein nalezený v kůži, kostech a v šlachách zvířat. Želatiny jsou jeho degradační produkty. Většina komerčních želatín je vyrobena z vepřové kůže nebo kůže a kostí skotu. Savčí želatiny vykazují vynikající funkční vlastnosti.[39] Kvalita želatiny závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech, což je ovlivněno druhem použitého materiálu a způsobu zpracování. Asi 46% želatiny na trhu je vyrobeno z prasečí kůže, 29,4% z kravské kůže, 23,1% z kostí a 1,5% z jiných zdrojů, jako například z různých druhů ryb.[40] Vývoj želatinových alternativ získal větší význam v posledních letech, kdy poptávka po hovězí a prasečí želatině se snížila v důsledku krize BSE a pro náboženské a společenské důvody.[14]

Aby se zvýšila rozpustnost zralých kolagenů v použitých surovinách, musí se výchozí surovina podrobit určitému opracování:

- dlouhodobé alkalické opracování suspenzí hydroxidu vápenatého
- působení hydroxidů alkalických kovů v přítomnosti látek brzdících botnání
- působení silných minerálních kyselin
- opracování lyotropními solemi
- enzymatické opracování.[26]

Při výrobě želatiny se v praxi především používá tzv. kyselý nebo alkalický způsob opracování, popřípadě jsou oba způsoby kombinovány. Kyselým způsobem (typ A) se zpracovávají nejčastěji vepřové kůže. Kůže se omývá a namáčí na 10 – 30 hodin do 5% roztoků anorganických kyselin, například se používá kyselina chlorovodíková, sírová, fosforečná, siřičitá. U alkalického způsobu (typ B) se převážně opracovávají hovězí kůže a kosti, které se omyjí a namáčí v lázni s nasyceným roztokem hydroxidu vápenatého na 3 až 12 týdnů i déle. Poté se upraví pH a až už po kyselém či alkalickém opracování nastává extrakce ve vodném prostředí s regulací teploty a času. Vzniklá surová želatina se filtruje, odpařuje a suší.[31]

Enzymové reakce probíhají s vysokou účinností již při mírných reakčních podmínkách. Specifičnost enzymově katalyzovaných reakcí a cenová dostupnost průmyslově vyráběných enzymových přípravků dává předpoklad, že po separaci lze získat produkty vysoké čistoty.[41]

Experimentální část se zabývá využitím drůbežích běháků pro extrakci želatin (případně hydrolysátů) po předchozím opracování proteolytickým enzymem POLARZYME 6.0 T (firma Novozymes – Dánsko). Nejprve byl surový materiál odtučněn několikanásobným třepáním v 0,15 M roztoku NaHCO_3 při pokojové teplotě. Následovalo odstranění nekola-genních bílkovin pomocí 0,1% roztoku NaOH, které bylo též opakováno několikrát po sobě při pokojové teplotě. Poté následovalo enzymové opracování. Materiál byl po provedené před-přípravě smíchan s vodou v poměru 1:8, pomocí zředěné HCl bylo upraveno pH na hodnotu 7,5 a přidáno navážené množství enzymu podle faktoru A (1-5 %) - vztaženo na sušinu běháků. Enzymové opracování probíhalo 20 hodin opět při pokojové teplotě. Následná extrakce probíhala při různých podmínkách podle faktoru B (60–90 °C) a faktoru C (1–4 h). Vycházíme-li z optimalizace procesu, pak se tato doba zkrátila na 15–45 minut a teplota se změnila na 80–100 °C. Extrakce probíhající 15 minut při 80°C se jevila jako nejvhodnější, protože materiál připraven za těchto podmínek vykazoval nejvyšší kvalitu, což nám vyjadřovala vysoká pevnost gelu, která činila 245 Bloom.

Srovnáme-li metody opracování popsané výše, pak uvidíme, že čas potřebný u různých typů zpracování je dosti odlišný. Nejdéle trvá příprava želatiny typu B, kdy je potřeba dlouhého loužení v hydroxidu (dle typu suroviny až 6 měsíců), pak želatina typu A, kdy opracování v kyselině probíhá 18–40 hodin. Metoda s použitím proteolytického enzymu trvá 20 hodin při pokojové teplotě s následnou extrakcí trvající 15 minut při 80°C. Jako největší přínos této metody tedy považuji velkou úsporu času a energie při přípravě. Kromě toho, tento nový výzkum může také vést k maximalizaci využití nedostatečně využívaných zdrojů a průmyslového odpadu.

ZÁVĚR

Diplomová práce je rozdělena do dvou částí, na část teoretickou a experimentální. Teoretická část charakterizuje vedlejší živočišné produkty a popisuje nakládání s nimi. Dále je popsáno využití želatin a hydrolyzátů v potravinářském, fotografickém a farmaceutickém průmyslu. Experimentální část se zabývá využitím drůbežích běháků pro extrakci želatin (případně hydrolyzátů) po předchozím opracování proteolytickým enzymem.

Metodika práce je založena na faktorových pokusech. Faktorové plány minimalizují náklady díky využití ortogonalitu, která umožní snížení počtu pokusů na takovou míru, abychom byli schopni popsat daný jev bez nutnosti hledání všech variant řešení. Počet pokusů závisí vždy na množství vstupních proměnných a hodnotách bodů těchto proměnných. V této práci je použit úplný faktorový pokus 2^3 (dvě úrovně, tři studované veličiny neboli faktory). Faktor A – přidavek enzymu (%), faktor B – teplota extrakce ($^{\circ}\text{C}$), faktor C – doba extrakce (h).

Experimenty extrakce želatin se skládaly z přípravy rozemletých a zhomogenizovaných surových běháků, dále z neutrálního opracování materiálu enzymem a následnou extrakcí a sušením produktu. Příprava spočívala v odtučnění a odstranění nekolagenních bílkovin pomocí roztoku NaHCO_3 a NaOH . K neutrálnímu 20 hodinovému opracování drůbežích běháků byl použit proteolytický enzym Polarzyme 6.0 T, jehož množství bylo vztaženo na sušinu běháků podle faktoru A (1–3 %). Následná extrakce želatin/hydrolyzátu probíhala při různé teplotě podle faktoru B (60–90 $^{\circ}\text{C}$) a po dosažení této teploty po dobu podle faktoru C (1–4 h).

Maximální účinnosti rozkladu drůbežích běháků (72,6%) ve vodném prostředí bylo dosaženo za těchto podmínek: 5% přidavek enzymu / 60 $^{\circ}\text{C}$ / 4h extrakce. Produkt netvořil gel. Želatina, která vykazovala vyšší kvalitu (pevnost gelu 167 Bloom, obsah popelovin 1,23%) byla připravená za těchto podmínek: 1% přidavek enzymu / 90 $^{\circ}\text{C}$ / 1h hydrolýza. Účinnost extrakce dosahovala 45,8%. Po optimalizaci technologických podmínek, kdy byla teplota extrakce zvýšena faktor B (80–100 $^{\circ}\text{C}$) a doba extrakce zkrácena faktor C (15–45 minut), byla připravena želatina ve vysoké kvalitě (1% přidavek enzymu / 80 $^{\circ}\text{C}$ / 15minut). Její pevnost gelu dosahovala 245 Bloom při účinnosti extrakce 41,7%.

Bylo dokázáno, že volbou vhodných technologických podmínek lze z drůbežích běháků, vedlejšího živočišného odpadu z drůbežáren, získat vysoce kvalitní produkt, vhodný k dalšímu zpracování v potravinářském, farmaceutickém či fotografickém průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009, laying down health rules as regards animal by-products not derived products not intended for human consumption, Úř. Věst. L 300, 1-33, 14.11.2009.
- [2] Jia Y., Gao CH., Zhang L., Jiang G.: Effects of pre-fermentation and influent temperature on the removal efficiency of COD, NH₄⁺-N and PO₄³⁻-P in slaughterhouse wastewater using SBR. *Energy Procedia*, 2012, 16, s. 1964-1971.
- [3] Svobodová I.: Vybrané kapitoly z veterinární prohlídky jatečných zvířat a masa. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, 2014.
- [4] Dikeman M., Devine C.: *Encyclopedia of Meat Science*. Elsevier, 2014. (ISBN 978-0-12-384731-7) Dostupné na: <http://app.knovel.com/holdlink/toc/id:kpEMSE0003/encyclopedia-meat-sciences/encyclopedia-meat-sciences>
- [5] Kozel R.: Bioplyn z odpadu živočišné výroby. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, 2006. Dostupné také na: <http://hdl.handle.net/10563/1887>.
- [6] České sdružení pro biomasu: Průvodce výrobou a využitím bioplynu. 2009. www.biom.cz. Dostupné na: http://www.mpo-efekt.cz/upload/7799f3fd595eeee1fa66875530f33e8a/Pruvodce_vyrobou_vyuzitim_bioplynu_2.pdf.
- [7] Hrabě J., Buňka F., Hoza I., Březina P.: *Technologie výroby potravin živočišného původu*, UTB Zlín, 2007. (ISBN 978-80-7318-521-3)
- [8] Širgel P.- vedoucí potravinářských úseků, DZ Újezd u Uničova, citace 1.3.2016.
- [9] Bednář D.-generální ředitel, DZ Klatovy, citace 10.2.2016.
- [10] Lasekan A., Abu Bakar F., Hashim D.: Potential of Chicken By-products as Sources of Useful Biological Resources. *Waste Management*. 2013, 33, s. 552-565. (ISSN 0956-053X)

- [11] Mokrejš P., Langmaier F.: Aplikace přírodních polymerů, UTB Zlín, 1. vydání, 2008.(ISBN 978-80-7318-674-6)
- [12] Březina P., Hrabě J., Komár A.: Technologie , zbožiznalství a hygiena potravin, 1. vydání Vyškov, Vysoká vojenská škola pozemního vojska ve Vyškově, 2001. 144 s. (ISBN 80-7157-253-8)
- [13] Hsieh Y-H. P., Ofori J. A.: Food-Grade Proteins from Animal By-Products, Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products. s. 13-35, 2011.
- [14] Sarbon N. M., Badii F., Howell N. K.: Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin, Food Hydrocolloids, 30, s. 143-151, 2013.
- [15] Lee J. H., Lee J., Song K. B.: Development of a chicken feet protein film containing essential oils, Food Hydrocolloids, 46, s. 208-215, 2015.
- [16] Blažej A., Deyl Z., Adam M., Galatík A., Michlík I., Smejkal P.: Štruktúra a vlastnosti vláknitých bielkovín. VEDA, Bratislava 1978.
- [17] Peterková P., Lapčík L.: Kolagen-vlastnosti, modifikace a aplikace. Chemické listy 94, s. 371-379, 2000.
- [18] Velíšek J.: Chemie potravin 1. OSSIS, Tábor 1999.(ISBN 80-902391-3-7)
- [19] Hoza I., Kramářová D., Budínský P.: Potravinářská biochemie I., Zlín 2006. (ISBN 80-7318-495-8)
- [20] Reich G.: Leder 46, 2,1995.
- [21] Edwards W.P.: The Science of Bakery Products, The Royal Society of Chemistry, 2007. (ISBN 978-0-85404-486-3)
- [22] Lagarón J.M.: Multifunctional and nanoreinforced polymers for food packaging, Woodhead Publishing Limited, 2011. (ISBN 978-0-85709-278-6)
- [23] Gelatin manufacturers institute of America GMIA: Gelatin handbook, 2012. Dostupné na: [http:// www.gelatin-gmia.com/gelatinhandbook.html](http://www.gelatin-gmia.com/gelatinhandbook.html).
- [24] Babel W.: Chem. Unserer Zeit 2, 86, 1996.
- [25] Opletal L.: Přírodní látky a jejich biologická aktivita, Karolinum, 2010. (ISBN 978-80-246-1884-5)
- [26] Hrdová L.: Želatina – vlastnosti, metody charakterizace a její použití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu, Bakalářská práce, UTB Zlín, 2008.

- [27] Almeida P. F., Lannes S. C. S.: Journal of Food Process Engineering, Extraction and physicochemical characterization of gelatin from chicken by-product, s. 1745-4530, 2013.
- [28] Rafieian F., Keramat J., Shahedi M.: LWT-Food Science and Technology, 64, s. 1370-1375, 2015.
- [29] Schrieber R., Gareis H.: Gelatine Handbook, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007. (ISBN 978-3-527-31548-2)
- [30] Gennadios A.: Protein – Based Films and Coatings, Chapter 15,16: Hard and Soft Gelatin Capsules, 2002. (ISBN 978-1-58716-107-0)
- [31] Keenan T. R.: Handbook of biodegradable polymers, Chapter 16: Gelatin, 1998. (ISBN 978-90-5702-153-4)
- [32] Phillips G. O., Williams P. A.: Handbook of Food Proteins. Woodhead Publishing, 2011. (ISBN 978-1-84569-758-7)
- [33] Buschow K. H., Cahn J., Flemings R. W., Ilshner M. C., Kramer B., Mahajan E. J., Subhash: Encyclopedia of Materials – Science and Technology, Volumes 1 – 11. 2001. Dostupné na: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpemstv001/encyclopedia-materials/encyclopedia-materials>
- [34] Hages pro Českou republiku : Želatina [online]. 2005 [cit. 2007-03-09]. Dostupné na: <http://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>.
- [35] Štrausová K., Dolejš P.: Faktorové plánování a hodnocení experimentů při úpravě vody sborník konference Pitná voda 2010, s. 95-100. Wa Et Team, České Budějovice 2010. (ISBN 978-80-254-6854-8)
- [36] Florián Č.: Použití plánovaných experimentů v chemickém výzkumu barviv a pigmentů. Chemagazín ročník XIII, č.3, s. 14-16, 2003.
- [37] ČSN EN14346 Charakterizace odpadů – Výpočet sušiny stanovením podílu sušiny nebo obsahu vody. 1.7.2007, s 20, Třídící znak 8380 16.
- [38] Bourne, Malcolm C.: Food Texture and Viscosity - Concept and Measurement (2nd Edition). Elsevier. 2002. Online version available at: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFTVCME06/food-texture-viscosity/food-texture-viscosity>

- [39] Williams P. A., Phillips G. O.: Gums and Stabilisers for the Food Industry 15. Royal Society of Chemistry. 2010. Online version available at: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpGSFI0011/gums-stabilisers-food/gums-stabilisers-food>
- [40] Rahman N., Jamalulail S.: Extraction, physicochemical characterizations and sensory quality of chicken feet gelatin. Borneo Science, 30, 1-13, 2012.
- [41] Sába L.: Enzymová hydrolýza bílkovinných nečinných odpadů, Doktorská práce, Zlín, 2000. (ISBN 80-214-1758-7)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AMK	<i>Aminokyselina</i>
PA	<i>Polyamid</i>
VŽP	<i>Vedlejší živočišné produkty</i>
M_r	<i>Relativní molekulová hmotnost</i>
T_m	<i>Teplota tání</i>
T_g	<i>Teplota skelného přechodu</i>
BSE	<i>Bovinní spongiformní encefalopatie</i>

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obrázek 1 *Řetězce α_1 a α_2 .*
- Obrázek 2 *Schéma úplného faktorového plánu pro 3 proměnné.*
- Obrázek 3 *Sevens - LFRA analyzátor.*
- Obrázek 4 *Blokové schéma zpracování drůbežích běháků.*
- Obrázek 5 *Rozemleté surové běháky.*
- Obrázek 6 *Odstředování kapalného podílu a materiál po vysušení.*
- Obrázek 7 *Významnost sledovaných faktorů na účinnost extrakce.*
- Obrázek 8 *Vliv sledovaných faktorů na účinnost extrakce.*
- Obrázek 9 *Vliv interakcí sledovaných faktorů na účinnost extrakce.*
- Obrázek 10 *Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a přídavku enzymu na celkovou účinnost extrakce.*
- Obrázek 11 *Významnost teploty, doby a množství enzymu na pevnost gelu.*
- Obrázek 12 *Kubické vyjádření vlivu teploty, doby a enzymu na pevnost gelu.*
- Obrázek 13 *Vliv vzájemných interakcí teploty, doby a enzymu na pevnost gelu.*
- Obrázek 14 *Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na pevnost gelu.*
- Obrázek 15 *Vliv teploty a doby na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování.*
- Obrázek 16 *Vliv interakce teploty a doby faktorů na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování.*
- Obrázek 17 *Plošné vyjádření vlivu teploty a doby na účinnost extrakce po optimalizaci zpracování.*
- Obrázek 18 *Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na celkovou účinnost extrakce po optimalizaci zpracování.*
- Obrázek 19 *Vzájemná interakce teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování.*
- Obrázek 20 *Vliv interakcí teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování.*

Obrázek 21 *Vzájemná interakce teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování.*

Obrázek 22 *Vliv teploty a doby na pevnost gelu po optimalizaci zpracování.*

Obrázek 23 *Vrstevnicový graf vlivu doby extrakce a teploty na pevnost gelu po optimalizaci zpracování.*

SEZNAM TABULEK

- Tabulka 1 *Strukturní hierarchie kolagenu a přiřazené obory použití.*
- Tabulka 2 *Bilance hmot po extrakčním procesu.*
- Tabulka 3 *Výsledky po prvním a druhém stupni opracování.*
- Tabulka 4 *Výsledky zpracování po optimalizaci.*

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 *Materiálový list Polarzyme 6.0 T*

PŘÍLOHA P I: POLARZYME 6.0 T

Product Data Sheet



1 of 1

Valid from 2014-03-19

Polarzyme® 6.0 T

In this product the key enzyme activity is provided by
serine endoprotease that hydrolyzes internal peptide bonds

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

Declared enzyme	Protease (Subtilisin)
Declared activity	6 KPPU/g
Color	Off-white
Physical form	Granulate
Properties	Freeflowing
Odor	Slight fermentation odor
Solubility	Readily soluble in application-relevant solutions at all levels of concentration, temperature and pH which may occur in normal usage.

SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. 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. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

COMPLIANCE

Kosher certificate is available from the Customer Center or sales representative.

CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on www.novozymes.com.



PRODUCT SPECIFICATION

	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Polarzyme Protease Unit KPPU	6		/g
Bulk density	1.0	1.3	g/ml
Laser diffraction <150 micron		0.5	%
Laser diffraction >1230 micron	-	3	%
Polarzyme elutriation dust	-	85	ng/g
Total viable count	-	10000	/g

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION

The granulate contains enzyme concentrate, inorganic salt, binder and coating materials.

GM STATUS

This product is not a GMO.

The enzyme product is manufactured by fermentation of a micro organism that is not present in the final product. The production organism and the enzyme effectiveness are improved by means of modern biotechnology.

STORAGE CONDITION

Recommended storage: 0-25 °C (32-77 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

Best before: You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

When stored as recommended, the product will maintain its declared activity up to its best-before date.

Novozymes guarantees delivery at least 3 months prior to the best-before date.

PACKAGING

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

Novozymes A/S
Krogshøjvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark

Tel. +45 4446 0000
Fax +45 4446 9999

For more information, or for more office addresses, visit www.novozymes.com

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to such effect, this document does not constitute a representation or warranty of any kind and is subject to change without further notice.

© Novozymes A/S