

Zpracování bílkovinného odpadu z výroby strojně odděleného masa

Milan Dujka

Bakalářská práce
2019

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Milan Dujka**
Osobní číslo: **T16815**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Zpracování bílkovinného odpadu z výroby strojně odděleného masa.**

Zásady pro vypracování:

1. V teoretické části zhodnoťte současný stav řešené problematiky v oblasti výskytu a zpracování pevných a kapalných vedlejších produktů z jatečných provozů a z bourárenského zpracování masa.
2. V praktické části navrhnete využití bílkovinných odpadů z bourárenského zpracování kuřecího masa na kolagenní produkty; studujte vliv vybraných technologických podmínek na účinnost procesu a charakterizujte připravené produkty.
3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, proveďte diskusi a konfrontaci s dostupnými literárními zdroji.
4. Zhodnoťte význam práce a výsledků pro praxi.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

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

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

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

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2019**

Ve Zlíně dne 25. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:

Obor:

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

.....

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

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

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

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

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či 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). Odpirá-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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská se zabývá vedlejšími živočišnými produkty, konkrétně kostním separátem získaným při strojním opracování kuřecího masa. Teoretická část se zaměřuje na produkci a spotřebu masa ve světě, dále na zpracování drůbeže, legislativu týkající se zpracování vedlejších živočišných produktů a možnosti využití bílkovinných odpadů. Dále se věnuje kolagenu a výrobě želatin. Praktická část je zaměřena na získání želatiny extrakcí z enzymově opracovaných kostí ze separace masa a posouzení jednotlivých vlivů na vlastnosti získané želatiny. Povedlo se dosáhnout pevnosti gelu v rozmezí od 87 do 357 Bloom. Tento i další výsledky jsou statisticky zpracovány a jsou navrženy optimální podmínky zpracování kostí ze separace masa na želatinu.

Klíčová slova: kostní separát, vedlejší živočišné produkty, kolagen, želatina, enzymové opracování, extrakce

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with animal by-products, namely mechanically deboned meat. The theoretical part focuses on meat production and consumption in the world, poultry processing, the legislation concerning animal products processing and the possibilities of protein waste utilization. It also deals with collagen and gelatine production. The practical part is focused on the production of gelatine by enzymatic treatment of bones from meat separation and the assessment of individual effects on properties of gelatine obtained. Gel strength was achieved from 87 to 357 Bloom. Measured results are statistically processed and optimal conditions of bone processing from meat separation to gelatine are proposed.

Keywords: mechanically deboned meat, meat by-products, collagen, gelatine, enzyme processing, extraction

Poděkování:

Mé poděkování patří zejména vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlu Mokrejšovi, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a všestrannou podporu v průběhu práce. Dále bych rád poděkoval paní laborantce Miroslavě Žaludkové za pomoc v laboratoři a samozřejmě mojí rodině za veškerou trpělivost a podporu při studiu.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 PRODUKCE A SPOTŘEBA MASA	12
1.1 PRODUKCE MASA	12
1.2 SPOTŘEBA MASA	13
1.3 DŮSLEDKY ZVÝŠENÉ PRODUKCE A SPOTŘEBY MASA	15
1.4 ZPRACOVÁNÍ MASA	17
1.4.1 Strojně opracované maso	18
2 DEFINICE A KATEGORIZACE VEDLEJŠÍCH ŽIVOČIŠNÝCH PRODUKTŮ	21
2.1 ZPRACOVÁNÍ A VYUŽITÍ VEDLEJŠÍCH ŽIVOČIŠNÝCH PRODUKTŮ	23
2.2 ENERGETIKA, POTRAVINÁŘSTVÍ A ZEMĚDĚLSTVÍ	25
2.3 LÉKAŘSTVÍ, FARMACIE, CHEMICKÉ APLIKACE A DALŠÍ VYUŽITÍ	26
3 KOLAGEN A ŽELATINA	28
3.1 STRUKTURA A SLOŽENÍ KOLAGENU	28
3.2 ŽELATINA.....	29
3.3 PŘEMĚNA KOLAGENU NA ŽELATINU	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
4 CÍLE PRÁCE	33
5 MATERIÁLY A METODY	34
5.1 KOSTI ZE SEPARACE	34
5.2 PŘÍSTROJE, POMŮCKY, CHEMIKÁLIE	34
5.3 METODIKA PRÁCE	35
5.4 POSTUP PRÁCE ZPRACOVÁNÍ KOSTÍ ZE SEPARACE.....	36
5.4.1 Příprava čistého kolagenu	37
5.4.2 Extrakce želatiny z odtučněného kolagenu	38
5.5 ANALÝZY MEZIPRODUKTŮ A KONEČNÝCH PRODUKTŮ	40
5.5.1 Stanovení obsahu sušiny	41
5.5.2 Stanovení bilanční chyby	41
5.5.3 Stanovení účinnosti extrakce.....	42
5.5.4 Stanovení pevnosti gelu želatin/ hydrolyzátů	42
5.5.5 Stanovení teploty tání gelu.....	43
5.5.6 Stanovení dynamické viskozity želatiny	43
5.5.7 Stanovení čirosti želatiny	43
5.5.8 Stanovení obsahu popela.....	43
5.5.9 pH želatinového roztoku	44
5.5.10 Stanovení zbytkového množství tuku	44
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	45

6.1	ÚČINNOSTI EXTRAKCE V ZÁVISLOSTI NA ZADANÝCH FAKTORECH.....	48
6.2	PEVNOST GELU	49
6.3	OSTATNÍ MĚŘENÉ PARAMETRY	52
6.4	NAVRŽENÍ OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK	53
ZÁVĚR		55
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		56
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		60
SEZNAM OBRÁZKŮ		61
SEZNAM TABULEK.....		62
SEZNAM PŘÍLOH.....		63

ÚVOD

Archeologické nálezy a později i písemné zdroje dokazují, že těla zvířat byla vždy efektivně využívána. Zvířecí tkáň sloužila jako potrava, kůže byly používány na ošacení a bydlení, z kostí byly vyráběny nástroje, sušené exkrementy se spalovaly, střevo sloužila při výrobě oblečení a také se z nich vyráběly nádoby na uchovávání jídla, ryby byly využívány jako hnojivo pro pěstování plodin. Později se z vedlejších produktů také vyráběly svíčky, struny do hudebních nástrojů nebo mýdlo, vlna se využívala k výrobě textilií, jako krmivo pro zvířata sloužily sušené produkty.

V současnosti však zůstávají velké části zvířecích těl nevyužité. U drůbeže jsou to především kuřecí hlavy, kosti, běháky a nepoživatelné vnitřnosti, jejichž zpracování je velmi problematické. Část zvířecích těl, které neslouží k přímé konzumaci, označujeme za „vedlejší živočišné produkty“, v podstatě jde o odpad, který končí v kafileriiích, na skládkách, nebo se spaluje. Tím vznikají producentům masa další náklady, a likvidace odpadů představuje nemalou ekologickou zátěž pro životní prostředí. Nepoživatelné odpady však mohou být za použití moderních technologií dále zpracovávány například k výrobě želatiny, která má široké využití například v lékařství, kosmetickém nebo potravinářském průmyslu.

Předložená bakalářská práce se zaměřuje na zpracování vedlejších živočišných produktů, konkrétně na bílkovinný odpad z výroby strojně odděleného kuřecího masa a hodnotí efektivitu zužitkování bílkovinného odpadu a jeho další využití. Práce je rozdělena do dvou částí. První, teoretická část je zaměřena na hodnocení současného stavu nakládání s vedlejšími živočišnými produkty. Druhá, praktická část se zabývá enzymovým opracováním a následnou extrakcí želatiny z vedlejšího živočišného produktu, získaného při výrobě strojně zpracovaného kuřecího masa. Jsou hodnoceny faktory, které extrakci ovlivňují, a analyzuje se její přínos pro praktické využití.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PRODUKCE A SPOTŘEBA MASA

V souvislosti s ekonomickým růstem dochází celosvětově ke zvyšování produkce a spotřeby masa. Podle Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) vzrostla průměrná světová produkce masa o 1,25 % na 323 milionů tun v roce 2017, při čemž došlo k mírnému zvýšení produkce skotu a drůbeže a menšímu nárůstu produkce vepřového a skopového masa. [25]

1.1 Produkce masa

Celosvětová produkce masa se za posledních 50 let rychle zvýšila, od roku 1961 to bylo 4 až 5krát. Situace se mění také regionálně. Podíl produkce masa na celkové produkci v oblastech jako Evropa a Severní Amerika, které byly tradičně velkými producenty masa, klesá, naopak produkce v Asii narůstá. V roce 1961 byly Evropa a Severní Amerika dominantními producenty masa, což představovalo 42% a 25% celkové produkce, Asie produkovala pouze 12% celkově. Do roku 2013 se podíl Evropy a Severní Ameriky snížil na 19% a 15%, a v současné době je regionálně největším producentem masa Asie, což představuje přibližně 40-45% celkové produkce masa. [27]

Toto snížení podílu výroby bylo navzdory velkému nárůstu produkce v absolutním vyjádření: produkce masa v Evropě se v tomto období přibližně zdvojnásobila, zatímco severoamerická produkce se zvýšila 2,5 násobně. Zvýšení výroby v Asii však bylo ohromující: výroba masa se od roku 1961 zvýšila 15krát. [27]

Absolutní nárůst výroby v ostatních regionech byl také značný, přičemž produkce ve všech regionech (s výjimkou karibské oblasti, která se přibližně ztrojnásobila) rostla v tomto období více než pětkrát. Dominantní typy zvířat byly drůbež, skot (včetně hovězího a buvolího masa), prasata a ovce a kozy v menším rozsahu. Celosvětová produkce drůbežího masa se za posledních 50 let rychle zvýšila a mezi lety 1961-2014 rostla více než 12krát. Distribuce druhů masa se však celosvětově výrazně liší podle regionů. V některých zemích mohou významný podíl na celkové produkci představovat další druhy masa, jako je divoká zvěř, koně a kachny. [27]

1.2 Spotřeba masa

Ruku v ruce s produkcí jde také spotřeba masa. Celosvětový průměr spotřeby masa na osobu se od roku 1961 zvýšil přibližně o 20 kilogramů, průměrná osoba spotřebovala v roce 2014 asi 43 kilogramů masa. Tento nárůst trendů spotřeby masa na obyvatele znamená, že celková produkce masa rostla mnohem rychleji než tempo růstu populace. [27]

Směr a míra změn v jednotlivých zemích jsou velmi variabilní. Růst spotřeby masa na obyvatele byl nejvýraznější v zemích, které prodělaly silný ekonomický vývoj. Spotřeba na obyvatele v Číně vzrostla od roku 1961 zhruba 15krát a v Brazílii se téměř ztrojnásobila. Hlavní výjimkou z tohoto modelu byla Indie, jejíž spotřeba je ve velké míře ovlivněna její laktovegetariánskou orientací, a jejíž spotřeba byla v roce 2013 téměř stejná jako v roce 1961 a to méně než 4 kilogramy na osobu. [27]

Spotřeba masa je nejvyšší v zemích s vysokými příjmy. Země s největší spotřebou masa na světě je Austrálie, která v roce 2013 spotřebovala kolem 116 kilogramů na osobu, v Evropě to bylo téměř 80 kilogramů a v Severní Americe asi 110 kilogramů na osobu. Změny ve spotřebě masa v zemích s vysokými příjmy však byly mnohem pomalejší, v posledních 50 letech jejich spotřeba stagnuje nebo dokonce klesá. [27]

Spotřební trendy v celé Africe variiují podle oblastí. Některé země konzumují 10 kilogramů na osobu, což je přibližně polovina kontinentálního průměru. Země s vyššími příjmy jako je Jižní Afrika spotřebovávají 60-70 kilogramů na osobu. [27]

Celosvětově však existují také výjimky, a spotřeba masa v určitých oblastech stagnuje nebo klesá. V zemích s vysokými příjmy jako je například Evropská unie nebo Austrálie dochází k nasycení spotřeby, významnou roli zde hrají také vysoké ceny masa a bezpečnost a ochrana zdraví. V rozvojových zemích je důvodem stagnace jejich neúspěch při zvyšování příjmů a vytváření efektivní poptávky. Jde především o země subsaharské Afriky a severní a východní Afriku, kde byl růst spotřeby z konce 80 let přerušen a zastaven, což bylo ovlivněno také zhroucením spotřeby v Iráku. V některých zemích stojí v cestě vyšší spotřeby masa obecně kulturní a náboženské faktory (např. Indie). Projevuje se to také na spotřebě konkrétních druhů masa (například hovězí maso v Indii a vepřového maso v muslimských zemích). [18]

Přes všechny tyto výjimky však celosvětově spotřeba masa narůstá a nejvýrazněji se to projevuje na kuřecím masa, jak ukazuje následující tabulka. [18]

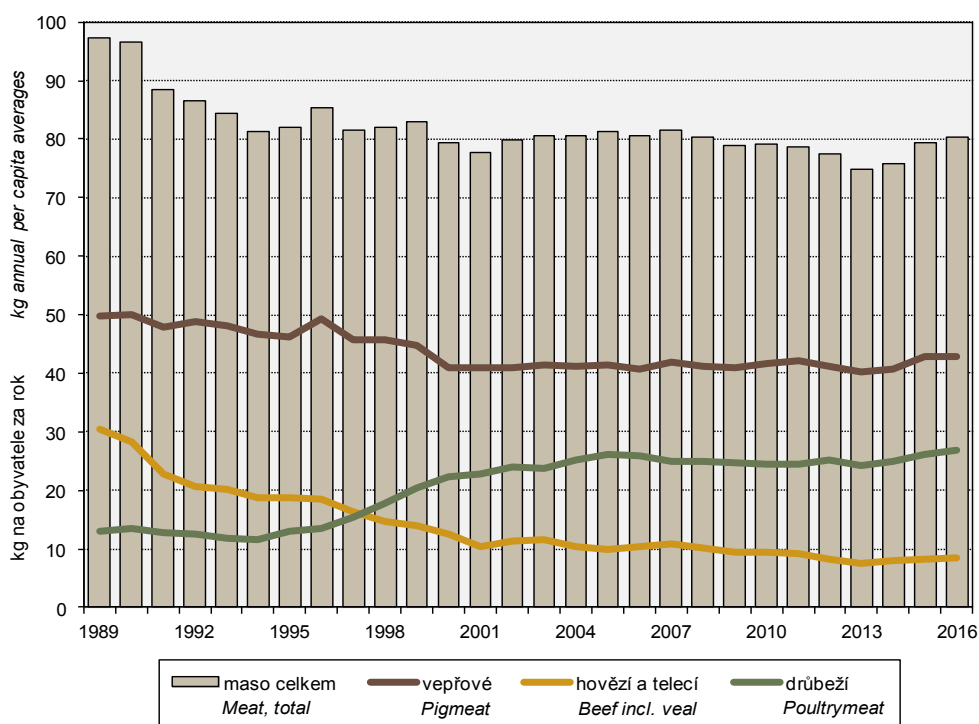
Tabulka 1: Spotřeba masa podle druhu (v kg na osobu, ekvivalent hmotnosti těla) [18]

	1964/66	1974/76	1984/86	1994/96	1997/99	2015	2030
Celosvětově							
Hovězí maso	10,0	11	10,5	9,8	9,8	10,1	10,6
Skopové a kozí	1,8	1,6	1,7	1,8	1,8	2,1	2,4
Vepřové maso	9,1	10,2	12,1	13,7	14,6	15,3	15,1
s vyloučením Číny	9,7	10,8	11,3	10,4	10,3	9,9	9,7
Drůbeží	3,2	4,6	6,4	9,3	10,2	13,8	17,2
Rozvojové země							
Hovězí maso	4,2	4,3	4,8	5,7	6,1	7,1	8,1
Skopové a kozí	1,2	1,1	1,3	1,6	1,7	2,0	2,4
Vepřové maso	3,6	4,1	6,4	9,6	10,8	12	12,2
s vyloučením Číny	2,1	2,4	2,8	3,3	3,4	4,0	4,7
Drůbeží	1,2	1,8	2,9	5,8	6,9	10,5	14,0
s vyloučením Číny a Brazílie	1,2	1,9	3,2	4,8	5,2	8,1	11,6

Z tabulky vyplývá, že spotřeba drůbežího masa výrazně narůstá, v roce 2015 byla na druhém místě za spotřebou vepřového masa. Tento trend má podle prognóz pokračovat i do budoucnosti. Spojené státy jsou vedle produkce skotu největším světovým výrobcem drůbeže, který vyprodukoval více než 20 milionů tun v roce 2014, byly následovány Evropou s 19 miliony tun ve stejném roce. Čína a Brazílie jsou také velkými producenty drůbeže ve výši 18 a 13 milionů tun ročně. [27]

Prognózy FAO naznačují, že globální průměrná poptávka masa na osobu se zvýší mezi lety 2006-2008 a 2050 o více než 20% hlavně díky ekonomickému růstu v rozvíjejících se zemích jako je Čína a také Indie, například v Číně se spotřeba drůbežího masa mezi lety 2001 a 2011 zvýšila o 40%. Ve zbytku světa s výjimkou Číny a Indie to bylo během stejného období zvýšení o 40%. [3] V rozvojových zemích rostla v posledních několika desetiletích spotřeba masa o 5-6% ročně. [18]

Česká republika není výjimkou, podle Českého statistického úřadu bylo v prvním čtvrtletí roku 2016 vyrobeno 108 735 tun masa, to je meziročně o 2,8 % více. Jak uvádí ředitel odboru statistiky zemědělství Jiří Hrbek: „Nejvíce se vyrobilo vepřového a drůbežího. Výrazně vzrostla i produkce skopového a koziho masa. Souvisí to s velikonočním obdobím, které letos připadlo na první čtvrtletí“. Z obrázku č. 1 vyplývá, že mezi lety 1989 a 2015 poklesla spotřeba hovězího, telecího a vepřového masa, avšak spotřeba kuřecího masa narostla. Podle dat Českého statistického úřadu se spotřeba kuřecího masa mezi lety 1989 až 2016 zvýšila asi o 13 kg na obyvatele. [31]

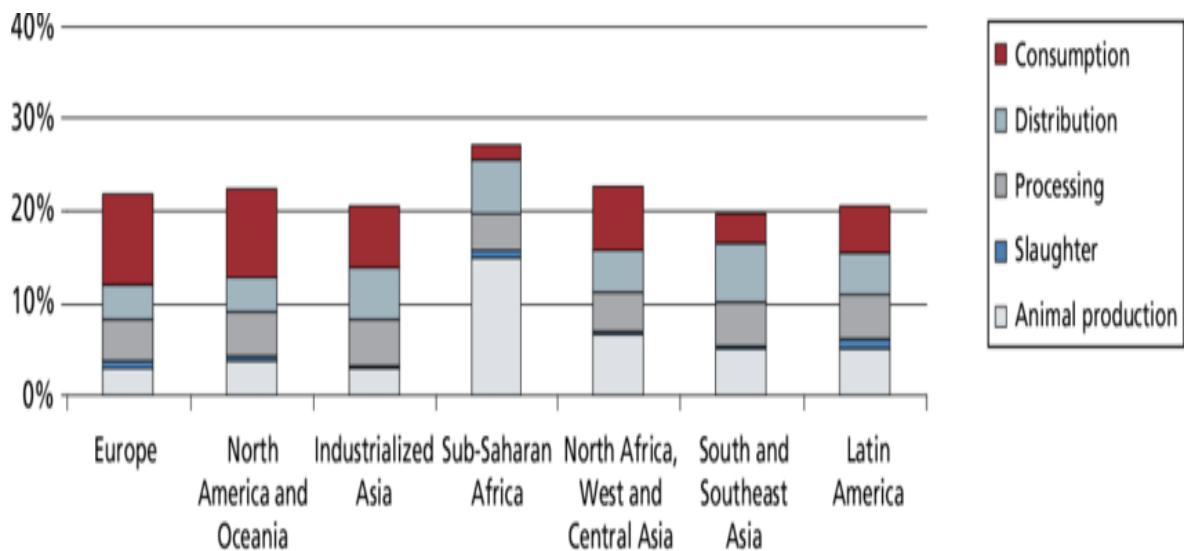


Obrázek č. 1: Graf Spotřeby masa v hodnotě na kosti [31]

1.3 Důsledky zvýšené produkce a spotřeby masa

Velká produkce a spotřeba masa s sebou nese také ztráty nejen na mase. Při zpracovávání masa zůstává více než 50% vedlejších produktů, které neslouží k přímé konzumaci, a velká část z nich končí v kafileriích. Maso a vedlejší produkty však představují hodnotný přírodní zdroj, a je tedy v zájmu všech tento přírodní zdroj smysluplně využívat a zajistit, aby s ním nebylo plýtváno. [24]

Ke ztrátám během chovu zvířat a produkci masných výrobků dochází během celého potravinového řetězce. Následující graf ukazuje, k jakému podílu ztrát dochází během produkce a výroby masných produktů v různých částech světa.



Obrázek č. 2: Graf Ztráty na masných výrobcích během celého potravinového řetězce v různých regionech. [10]

Ztráty na mase a masných výrobcích jsou ve velké míře ovlivněny regionem, ve kterém k produkci masa dochází. V průmyslových oblastech jako je Evropa nebo USA dochází k největším ztrátám na konci potravinového řetězce, což může být vysvětleno vysokou spotřebou masa na hlavu v kombinaci s velkým plýtváním. Odpad na úrovni spotřeby tvoří téměř polovinu celkových ztrát na mase. Nízkou úroveň ztrát během zemědělské výroby, manipulace a skladování lze vysvětlit kvalitní péčí, a tedy nízkou úmrtností zvířat během chovu a přepravy k porážce. [10]

Ztráty ve všech rozvíjejících se oblastech jsou rozděleny poměrně rovnoměrně během celého potravního řetězce, avšak pozoruhodné jsou relativně vysoké ztráty během chovu zvířat v subsaharské Africe. Ty jsou zapříčiněny především vysokou úmrtností zvířat způsobenou častými nemocemi (např. pneumonií, chorobami trávicího ústrojí a parazity) při chovu dobytka. [10]

Existuje hned několik důvodů, proč maso a vedlejší produkty dále zpracovávat. Jeden z nich je ekonomický, neboť v současné době náklady na živé zvíře přesahují prodejní cenu poraženého zvířete, hodnota vedlejších produktů musí tedy pokrýt náklady na porážku a generovat profit, aby masný průmysl mohl obstát v soutěži s bílkovinnými proteiny. [24] Účinné využití vedlejších produktů může vzrůst až na 11,4% a 7,5% hrubého příjmu z hovězího a vepřového masa. [33]

Jedním z dalších faktorů je ochrana veřejného zdraví, neboť vedlejší živočišné produkty zároveň představují určité riziko pro zdraví zvířat i lidí. Nezužitkování vedlejších produktů masné výroby by mohlo vést k vážným zdravotním problémům. Efektivní využití těchto produktů spolu se zavedením kanalizace a čističek odpadních vod mělo velký vliv na zlepšení zdraví obyvatel v devatenáctém století. [24]

Riziko plynoucí z nakládání s vedlejšími živočišnými by mělo být eliminováno ať už jejich neškodným odstraněním bezpečnými cestami, což však představuje velkou ekologickou zátěž, nebo využitím pro jiné účely. Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č.1069/2009 uvádí, že „neškodné odstranění všech vedlejších produktů živočišného původu není realistickým řešením, protože by vedlo k neudržitelným nákladům a rizikům pro životní prostředí. Naopak je ve zjevném zájmu všech občanů, aby se řada vedlejších produktů živočišného původu bezpečně a udržitelným způsobem využívala pro různá použití za předpokladu, že zdravotní rizika budou snížena na minimum.“ [23]

Dalším významným důvodem pro efektivní zpracování masa a masných produktů je také ekologická zátěž, kterou masný průmysl představuje pro naši planetu. Nárůst spotřeby masa vede ke ztrátě biodiverzity, dochází kvůli němu ke znečištění ovzduší, vody a také k degradaci půdy, která se projevuje odlesňováním, rozšiřováním pouští a erozí. [19]

1.4 Zpracování masa

Jako maso jsou definovány všechny části těl živočichů, včetně ryb a bezobratlých, v čerstvém nebo upraveném stavu, které se hodí k lidské výživě. Podle této definice patří ovšem mezi maso i živočišné tuky, krev, droby, kůže a kosti (pokud se konzumují), ale také masné výrobky. V užším slova smyslu se masem rozumí jen kosterní svalovina, a to buď samotná svalová tkáň, nebo svalová tkáň včetně vmezeřeného tuku, cév, nervů, vazivových a jiných částí. Chemické složení masa je obtížné charakterizovat, záleží na tom, zda bereme v úvahu

pouze čistou svalovinu, průměrné maso nebo opracovaný kus jako celek. [26] Následující tabulka ukazuje složení masa u slepic a kuřat.

Tabulka 2: Složení masa slepic a kuřat [26]

Druh drůbeže	Voda (%)	Bílkoviny (%)	Tuk (%)	Popel (%)
Slepice				
tučné	65,5	19,8	13,7	1,0
hubené	70,8	21,4	6,8	0,9
Kuřata				
tučná	67,5	19,8	11,5	1,2
hubená	72,1	22,8	4,0	1,1

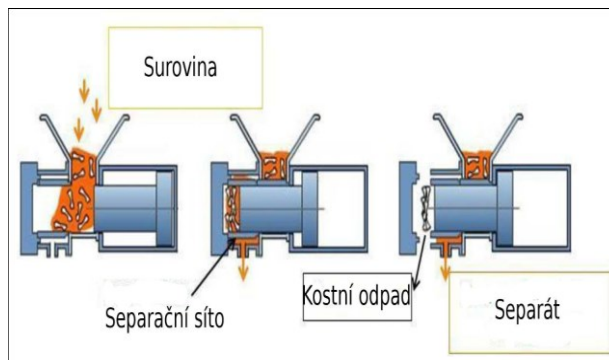
První výrobní fází v masném průmyslu je jateční opracování, během této fáze dochází k usmrcení zvířete, vykrvení, opracování povrchu těla, u drůbeže se tato fáze označuje jako kuchání, vyjmutí vnitřních orgánů a púlení. Dále dochází k bourání masa, kdy se jatečně opracovaná těla dělí na menší části. Jeho účelem je získání masa přibližně stejné jakosti, rozdělení masa na menší celky, odstranění nepoživatelných částí a upravení masa co do velikosti a tvaru. [26]

1.4.1 Strojně opracované maso

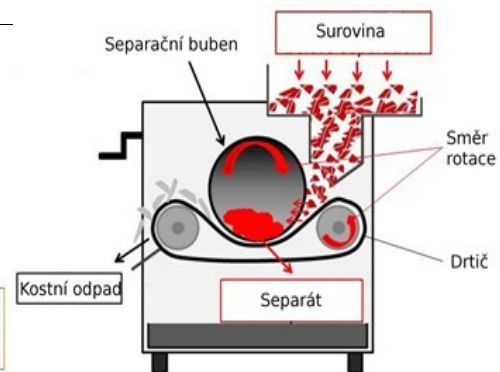
Pro efektivnější zpracování masa dochází k mechanické separaci masa. Díky tomuto způsobu zpracování se získá větší podíl masa a zároveň to umožňuje pracovníkům bouráren vykostovat jednotlivé části jatečných zvířat jen „nahrubo“. [26]

Strojně oddělené maso (SOM) je produkt získaný strojním oddělováním masa na kostech nebo kostrách, které zůstaly po vykostění. [20] Pro tento produkt se také užívá název mechanicky separované maso nebo masová pasta, separované maso, „separát“ nebo separátová pasta. [15, 26] SOM se může získávat z kostí všech zvířat s výjimkou kostí přežvýkavců, které jsou od r. 2011 zakázány jako surovina pro výrobu SOM kvůli obavám z BSE. Nesmí se používat kosti ze zmrazeného masa, kosti hlavy, kosti končetin pod zápěstními a zánártními klouby, ocasních obratlů prasat a kostí skotu, ovcí a koz. Mechanická separace mase se provádí na různých zařízeních, patří mezi ně například šnekový separátor, hydraulický separátor nebo bubnový separátor. [26]

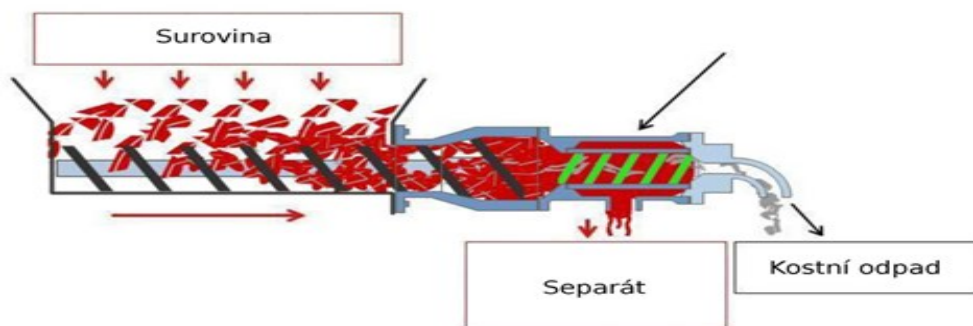
Pístový separátor



Bubnový separátor



Šnekový separátor



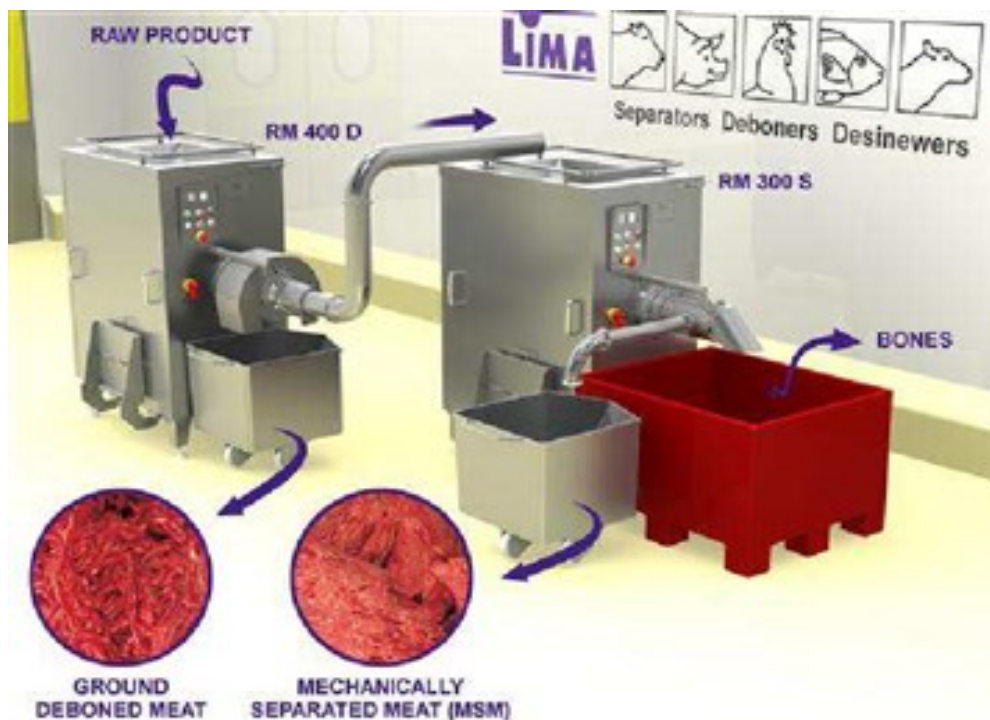
Obrázek č. 3: Pístový, bubnový a šnekový separátor [13]

V České republice se vyrábí prakticky pouze drůbeží strojně oddělené maso (DSOM). Surovinou jsou drůbeží kostry po vykostění, krky, křídla, droby, kůže i celá kuřata, pro tuto výrobu se nesmějí používat kosti ze zmrazeného masa, kosti hlavy drůbeže, kosti končetin pod zápěstními a zánártními klouby, běháky drůbeže a ocasní obratle, jakož i kůže z krku. Surovina musí být nezávadná, posouzená veterinárním dozorem jako požitelná a nesmí se před zpracováním skladovat déle než 3 dny. Pro strojní oddělování se používá surovina čerstvá zchlazená ($t_{\max} 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, zpracování do 24 h) nebo zmrazená ($t - 18\text{ }^{\circ}\text{C}$, zpracování do 3 měsíců, získané DSOM se nesmí znovu zmrazit). [20]

Mechanicky separované maso je omezeně údržné, což souvisí s velkou možností mikrobiální kontaminace, se zvýšením teploty masa při separaci a rovněž s vyšší hodnotou pH v důsledku obsahu fosforečnanu vápenatého. Po separaci probíhají v maso intenzivní oxidační pochody způsobené přítomností kostní dřevě, kromě svalové tkáně obsahuje SOM i pojivovou tkáň a kostní úlomky. [15, 26]

DSOM se používá do tepelně zpracovaných masných výrobků, za určitých podmínek lze použít DSOM vyrobené nízkotlakou separací i do výrobků, které nejsou určeny ke spotřebě po tepelné úpravě. SOM se nesmí používat do mletého masa. Negativem DSOM je jeho nižší nutriční hodnota oproti drůbežimu masu, proto výrobky s vysokým podílem DSOM nejsou vhodné pro děti. Je třeba sledovat deklaraci podílu masa a SOM na obalech potravin, bohužel někteří výrobci stále neoprávněně zahrnují SOM do položky maso. Riziko konzumace kostí je u dobře zpracovaného DSOM při správném seřízení separátoru minimální. [20]

Současným problémem je, že podíl SOM v masných výrobcích v poslední době hlavně z cenových důvodů významně vzrostl, v některých výrobcích SOM dokonce nahradilo veškeré maso. Z legislativního i výživového hlediska se však SOM nepovažuje za maso, masem se rozumí pouze kosterní svalovina spolu s přirozeným tukem a vazivovými tkáněmi (Směrnice 2001/101/ES). Strojně oddělené maso nespĺňuje dle Specifických požadavků na označování masných výrobků (2003) tuto definici pro maso a nesmí proto být při označování masných výrobků započítáváno do deklarovaného obsahu masa. Rozlišení masa a SOM při označování masných výrobků je důležité pro informování spotřebitele o skutečné povaze masných výrobků. [20]



Obrázek č. 4: Vícestupňová separace [13]

2 DEFINICE A KATEGORIZACE VEDLEJŠÍCH ŽIVOČIŠNÝCH PRODUKTŮ

Dle Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č.1069/2009 ze dne 21. října 2009 „vedlejšími produkty živočišného původu“ jsou „celá těla zvířat nebo jejich části, produkty živočišného původu nebo jiné produkty získané ze zvířat, které nejsou určeny k lidské spotřebě, včetně oocytů, embryí a spermatu.“ [23]

Vedlejší živočišné produkty se rozdělují do skupin podle různých kategorií. Steinhäuser uvádí, že podle Freudenreicha a Bacha (1993) můžeme produkty těžené při porážce rozdělit na požitelné a odpady. Mezi požitelné patří například jazyk, plíce, srdce, játra, hrtan, brzlík, slezina, ledviny, žaludek opracovaný, střeva opracovaná aj. Odpady se dále dělí na obchodovatelné jako kůže, štětiny, chlupy, žíně, hřívy, rohovina, olupky z dršťek, střevní mukóza, žlučový měchýř, žluč, obsah žaludku, střev a předžaludků. [31]

Mezi konfiskáty patří například mandle, pohlavní orgány, výkroje oční, ušní a řitní, hrtan a průdušnice, žaludek, střeva aj. Tyto produkty musí být zpracovány v asanačním ústavu nebo podobném zařízení. Dále k vedlejším jatečným produktům řadíme ořezy a požitelné části (kosti, šlachy, chrupavky, tukový ořez, hlavy, uši, nožky a ohánka) a zvláštní produkty (žlázy - hypofýza, epifýza, pankreas aj.). [31]

Láta (1984) řadí mezi významné vedlejší živočišné produkty krev, opařené droby, střeva, kosti, chrupavky a šlachy, živočišná vlákna, rohovinu a ostatní odpady, konfiskáty, tukové odpady a obsahy trávicích soustav. [17]

Podle Nařízení Evropského parlamentu se vedlejší živočišné produkty řadí do tří kategorií podle jejich rizikovosti a s tím souvisejícími možnostmi jejich dalšího využití. Nakládání s vedlejšími živočišnými produkty se řídí Nařízením Evropského parlamentu a rady (ES) č.1069/2009 ze dne 21. října 2009, kterým se stanoví veterinární předpisy pro vedlejší produkty živočišného původu a odvozené produkty, které nejsou určeny pro lidskou spotřebu, a kterým ruší Nařízení (ES) č. 1774/2002. Později bylo Evropskou komisí zveřejněno Nařízení (ES) č. 142/2011, kterým se provádí nařízení 1069/2009. [23] Podle tohoto Nařízení se vedlejší živočišné produkty dělí dle své nebezpečnosti do tří základních kategorií.

Materiály kategorie 1 patří mezi nejvíce rizikové a řadí se zde rizikové materiály, části těl včetně kůží zvířat podezřelých z nákazy přenosnou spongiformní encefalopatií, zvířat nakažených nebo usmrcených z důvodu této nemoci, dále těla zvířat v zájmovém chovu a ze

zoologických zahrad a cirkusů, volně žijící zvířata podezřelá z nákazy onemocněními přenosnými na lidi nebo zvířata, produkty pocházející ze zvířat, kterým byly podávány látky zakázané podle směrnice 96/22/ES, a produkty živočišného původu obsahující rezidua těchto látek, živočišné materiály shromážděné při čištění odpadních vod a ze zpracovatelských závodů, v nichž se odstraňují specifikované rizikové materiály, kuchyňský odpad z dopravních prostředků v mezinárodní přepravě a specifikované rizikové materiály a směsi materiálů 1. [23]

Materiály kategorie 2 patří mezi rizikové, lze je využívat s určitým omezením a řadí se zde hnůj a obsah trávicího traktu, veškeré živočišné materiály shromážděné při čištění odpadních vod z jiných jatek, než jsou jatka spadající do působnosti čl. 4 odst. 1 písm. d), nebo ze zpracovatelských závodů 2. kategorie, produkty živočišného původu obsahující rezidua veterinárních léčiv a znečišťujících látek, produkty živočišného původu, které jsou dováženy ze třetích zemí a při kontrolách stanovených právními předpisy Společenství nesplňují veterinární požadavky pro dovoz do Společenství, zvířata a části zvířat, která byla usmrcena jiným způsobem než porážkou k lidské spotřebě, patří sem i zvířata utracená v rámci opatření k eradikaci nějaké nákazy zvířat, směsi materiálů 2. kategorie s materiály 3. kategorie, včetně jakýchkoli materiálů určených ke zpracování ve zpracovatelských závodech 2. kategorie a jiné vedlejší živočišné produkty, než jsou materiály 1. kategorie nebo materiály 3. kategorie. [23]

Materiály kategorie 3 patří mezi nejméně rizikové, lze je využívat s určitým omezením a řadí se zde části poražených zvířat, které jsou v souladu s právními předpisy Společenství požitelné, ale z obchodních důvodů nejsou určeny k lidské spotřebě, části poražených zvířat, které jsou vyřazeny jako nepoživatelné, které ale nevykazují žádné známky onemocnění přenosných na lidi nebo na zvířata, krev získaná z jiných zvířat než z přeživších, kůže, kopyta, paznehty, rohy, prasečí štětiny a peří pocházející ze zvířat poražených na jatkách po prohlídce ante-mortem, a byla posouzena jako vhodná k porážce k lidské spotřebě, vedlejší živočišné produkty vznikající při výrobě produktů určených k lidské spotřebě, včetně odtučněných kostí a škvarků, zmetkové potraviny živočišného původu nebo zmetkové potraviny obsahující produkty živočišného původu s výjimkou kuchyňského odpadu, které nepředstavují nebezpečí pro lidi nebo zvířata jež nejsou určeny k lidské spotřebě, syrové mléko zvířat, která nevykazují klinické příznaky žádného onemocnění pře-

nosného tímto produktem na lidi nebo na zvířata, ryby nebo jiní mořští živočišné ulovení ve volném moři za účelem výroby rybí moučky, čerstvé vedlejší produkty z ryb, skořápky, vedlejší produkty z líhní a vedlejší produkty z porušených vajec zvířat, krev, kůže, kopyta, paznehty, peří, vlna, rohy, chlupy a kožešiny pocházející ze zvířat, která nevykazovala klinické příznaky žádných onemocnění přenosných prostřednictvím těchto produktů na lidi nebo na zvířata a jiný kuchyňský odpad. [23]

2.1 Zpracování a využití vedlejších živočišných produktů

Vedlejší živočišné produkty jednotlivých kategorií se zpracovávají dle evropské legislativy, která určuje jak zacházet se získanými produkty, při čemž některé lze dále využívat, avšak rizikové produkty je nutno neškodně odstranit.

Během porážky a zpracování se odstraní 33 až 43% hmotnosti živého zvířete, a zlikviduje se jako nepoživatelný odpad. Tyto materiály, které zahrnují tuk, maso, vnitřnosti, kosti, krev a peří, jsou shromažďovány a zpracovávány zpracovatelským průmyslem za účelem výroby vysoce kvalitních tuků a bílkovin, které jsou tradičně používány v krmivech pro zvířata a v oleochemickém průmyslu po celém světě. Bez zpracovatelského průmyslu by hromadění nezpracovaných vedlejších produktů živočišného původu působilo problémy v masném průmyslu a představovalo by vážné potenciální nebezpečí pro zdraví zvířat a lidí. [12]

Možnosti jejich zpracování a využití závisí na tom, do které kategorie dle (ES) č.1069/2009 je materiál zařazen. Materiál kategorie 1 se odstraňuje jako odpad přímo spalováním bez předchozího zpracování nebo po zpracování tlakovou sterilizací a po trvalém označení výsledného materiálu. V případě materiálu kategorie 1 jiného než celých těl a jejich částí zvířat podezřelých z TSE, s potvrzenou TSE nebo usmrcených z důvodu eradikace TSE se materiál neškodně odstraní zpracováním tlakovou sterilizací, trvale se označí a neškodně odstraní zahrabáním na povolené skládce. Odpad ze stravovacích zařízení vzniklých v dopravních prostředcích mezinárodní přepravy se neškodně odstraní zahrabáním na povolené skládce. Dále se používá jako palivo pro spalování pro energetické účely po předchozím zpracování nebo bez něj a také se používá k výrobě získaných produktů (kosmetické prostředky, aktivní implantibilní zdravotnické prostředky, diagnostické zdravotní prostředky, veterinární léčivé přípravky a léčivé přípravky) a uvádí se na trh v souladu s legislativními požadavky. [23]

Přímé spalování nebo spoluspalování vedlejších živočišných produktů se s výjimkou epizootologických postupů téměř nepoužívá z důvodu obrovské ekonomické zátěže. Základní metodou je zpracování tlakovou sterilizací a následná likvidace získaných produktů. Masokostní moučka se likviduje jako odpad spoluspálením ve spoluspalovacích zařízeních (cementárny), získaný kafilerní tuk se používá jako palivo pro energetické účely. [32]

Materiál kategorie 2 se odstraňuje jako odpad přímo spálením bez předchozího zpracování nebo po zpracování tlakovou sterilizací a po trvalém označení výsledného materiálu. Dále se neškodně odstraňuje na povolené skládce po zpracování tlakovou sterilizací a trvalém označení výsledného materiálu. Využívá se také k výrobě organických hnojiv nebo půdních přísad, kompostuje se nebo se mění na bioplyn. Bez zpracování se aplikuje na půdu v případě hnoje, obsahu trávicího traktu, mléka, mléčných produktů a mleziva, které nepředstavují riziko šíření závažného přenosného onemocnění. Používá se jako palivo pro spalování pro energetické účely po předchozím zpracování nebo bez něj a také se používá podobně jako materiál kategorie 1 k výrobě získaných produktů (kosmetické prostředky, aktivní implantibilní zdravotnické prostředky, zdravotnické prostředky, diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro*, veterinární léčivé přípravky a léčivé přípravky) a uvádí se na trh v souladu s legislativními požadavky. [23]

Materiál kategorie 3 se neškodně odstraní spálením nebo spoluspálením po předchozím zpracování nebo bez něj nebo se po zpracování neškodně odstraní na povolené skládce. Dále se využívá pro výrobu krmiv pro hospodářská, kožešinová zvířata a také pro zvířata v zájmovém chovu, k výrobě organických hnojiv nebo půdních přísad. Používá se také k výrobě syrových krmiv pro zvířata v zájmovém chovu. Může se také zkompostovat, zesilážovat nebo použít na bioplyn, nebo použít jako palivo pro spalování pro energetické účely po předchozím zpracování nebo bez něj. Používá se k výrobě získaných produktů jako kosmetické prostředky, aktivní implantibilní zdravotnické prostředky, zdravotnické prostředky, diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro*, veterinární léčivé přípravky a léčivé přípravky. Bez zpracování se aplikuje na půdu v případě syrového mléka, mleziva a produktů z nich vyrobených, které nepředstavují riziko šíření onemocnění přenosného tímto produktem na člověka nebo zvířata. [23]

Všeobecně platí, že vedlejší jatečné produkty a odpady musí pocházet ze zdravých zvířat. Z nemocných nebo z nemoci nebo onemocnění podezřelých zvířat se jatečné produkty smí

používat pouze v souladu s veterinárními předpisy a povolí-li to veterinární lékař. Nevyhovující produkty se asanují v asanačních ústavech nebo podobných zařízeních, případně se zneškodňují jiným nařízeným způsobem. [31]

V současné době se studuje využití vedlejších živočišných produktů především v energetice, potravinářství, krmivářském průmyslu, zemědělství, farmacii a medicíně a také v chemickém průmyslu, neboť likvidace vedlejších živočišných produktů zvyšuje náklady zpracovatelů, a proto je důležité vyrábět nové látky nebo produkty schopné pokrýt náklady na likvidaci. [33]

2.2 Energetika, potravinářství a zemědělství

V energetice se vedlejší živočišné produkty používají k tvorbě biomasy a bioplynu. Od roku 1993 nastávají významné strukturální změny v oblasti energetiky. Při výrobě elektřiny a tepla se podíl na prvotních energetických zdrojích zdvojnásobil, ze 7,8% podílu v roce 1993 vzrostl na 15,9% podílu v roce 2013. „Od roku 1993 došlo k výraznému útlumu výroby elektřiny z uhlí ve prospěch výroby elektřiny z jádra a obnovitelných zdrojů. Může za to boom výstavby solárních elektráren v letech 2010 až 2012 a navazující rozvoj výroby elektřiny za využití biomasy a bioplynu. Tyto tři jmenované zdroje pro výrobu elektřiny zvýšily svůj podíl z téměř nuly v roce 1993 na necelých 7 % v roce 2013,“ uvedl Josef Vlášek. [28]

Do této kategorie může být zařazeno také využití bionafty. Bionafta postupně nahrazuje motorovou naftu díky svým výhodám, protože je biologicky rozložitelná, není toxická a vykazuje nižší emise při spalování, což vede ke snížení emisí oxidu uhličitého, oxidu uhelnatého, pevných částic a nespálených uhlovodíků. K výrobě bionafty mohou být použity i živočišné tuky. [33]

Odpady zemědělsko-potravinářského jsou cennými druhotnými surovinami nejenom pro zemědělství a potravinářský průmysl, ale mohou být využívány i v oblasti biotechnologii. Řada opadů je zde využitelná jako surovina pro přímou izolaci enzymů nebo jako substrát pro fermentaci mikroorganismů vykazujících potřebné enzymové aktivity. [15]

Některé vedlejší produkty, jako jsou krev, játra, plíce, srdce, ledviny, mozky, slezina a dršťky jsou součástí stravovacích a kulinářských receptů mnoha zemí světa. K vaření mohou být použity i jiné vedlejší produkty jako sádlo. [33]

V současné době se věnuje pozornost využití vedlejších produktů, především krve a kolagenu, jako zdroje bioaktivních peptidů. Krev se využívá jako složka potravin v Evropě, Asii i Africe, ale její produkce je mnohem větší než je potřeba. Kolagen je nejrozšířenějším proteinem v mnoha vedlejších produktech získaných z masného průmyslu a je hlavní složkou kůže, kostí a chrupavek. Jeho nutriční hodnota je nízká, protože postrádá esenciální aminokyseliny. [33]

Bioaktivní peptidy jsou sekvence obvykle mezi 2 a 20 aminokyselinami, které mají biologickou funkci v jednom nebo více fyziologických systémech u člověka, například hypocholesterolemické, antioxidační a antitrombotické peptidy modulují kardiovaskulární systém, zatímco minerální vazebné a imunomodulační peptidy působí v gastrointestinálním a imunitním systému. Některé skupiny peptidů se mohou podílet na více reakcích systému. Dále je v potravinářském průmyslu využívána želatina, protože má dobrou schopnost tvorby gelu, používá se také ale jako čistící činidlo, stabilizátor nebo ochranný potahový materiál. [33]

Vedlejší živočišné produkty lze přepracovat na zemědělsky či jinak využitelné druhotné suroviny, například na krmiva nebo hnojiva. [15] Živočišné produkty zahrnují moučku z masa a kostí, krevní moučku, moučku z vedlejších produktů drůbeže (drůbeží moučka) a moučku z peří. Všechny tyto produkty představují významný zdroj bílkovin a aminokyselin a některé jsou také dobrým zdrojem vitamínů a esenciálních minerálů. Tyto vedlejší živočišné produkty se v této oblasti využívají k výrobě krmiv a krmných směsí nebo krmné moučky. Jde o rohovinu (kopyta, roky, paznehty, spárky), krev, kosti a také peří se využívá k výrobě dusíkatého krmiva. [6] Krmné směsi se využívají v zájmovém chovu a hydrolyzáty proteinů jsou úspěšné i v akvakultuře. [33]

Z rohoviny se vyrábí také hnojivo [21] Při spalování vedlejších produktů živočišného původu vznikají kvalitní minerální hnojiva kvůli vysokému obsahu fosforu. Použití rekuperace tepla při spalování navíc umožňuje účinné využití energie. [33]

2.3 Lékařství, farmacie, chemické aplikace a další využití

Vedlejší živočišné produkty nacházejí využití i v lékařství a farmacii. Vepřová kůže může být použita jako obvaz pro popáleniny nebo kožní vředy. Některé žlázy a orgány jsou v zemích jako Čína, Japonsko a Indie konzumovány jako zdroj konkrétních farmaceutických látek, například žluč ze žlučníku, melatonin z epifýzy, heparin z jater nebo inzulin z pankreatu. Proteinové hydrolyzáty, zejména ty z kolagenu, mohou generovat peptidy, které mají

být použity při léčbě osteoartritidy. Hydrolyzáty kolagenu s přidanou kyselinou hyaluronovou jsou komerčně dostupné, a slouží pro lepší výkonnost kloubů a úlevu od bolesti u lidí. Tuky se využívají v kosmetickém průmyslu pro výrobu pleťových vod, krémů nebo koupelňových přípravků. Mastné kyseliny se používají v chemickém průmyslu pro polymeraci gumy a plastů, změkčovadla, maziva a změkčovadla. [33]

Kolagen, želatina a glycerin se používají v chemickém průmyslu jako přísady pro povrchově aktivní látky, barvy, laky, lepidla, nemrzoucí směsi, čisticí prostředky a leštidla. Nové aplikace využívající tavené tuky se zaměřují na produkci polyhydroxyalkanoátů s rekombinantním kmenem *Ralstonia eutropha*. Takový polymer má tu výhodu, že je biologicky rozložitelný a představuje atraktivní alternativu plastů vyrobených z ropy. [33]

Široké využití má také zvířecí srst: hovězí, telecí, kozí, zaječí a králíčí srst, ovčí vlna, vepřové štětiny a srst ze spárkaté zvěře. Z kůží se v koželužnách zpracovávají usně, vepřové štětiny, koňské hřívy a žíně se využívají v kartáčovnách, jelení, srnčí, daňčí a mufloní srst slouží k výrobě v čalounictví. Ovčí vlnu lze výborně spřádat, plstít a valchovat. Na jatkách se těží srst a chlupy z ušních boltců krav, které se používají na výrobu malířských štětců. [21]

Využívá se také peří jako náplň do lůžkovinových povlaků nebo k výrobě lehčených stavebních materiálů. Střeva nacházejí uplatnění k výrobě strun. [6] Rohovina se využívá k výrobě uměleckých a řezbářských výrobků podobně jako slonovina. [21]

3 KOLAGEN A ŽELATINA

Kolagen patří mezi strukturní proteiny, které tvoří specifickou skupinu extracelulárních proteinů s ochrannou nebo podpůrnou funkcí. Spolu s elastiny a keratiny je řazen mezi fibrilární proteiny. Je obsažen téměř ve všech pojivových tkáních (kůži, chrupavkách, kostech). [35] Je také významnou součástí cévních stěn, bazálních membrán a rohovek. Jako složka mezi-buněčné hmoty patří ke klíčovým proteinům životních pochodů ve zdravém i nemocném organismu. [16]

Kolagen je obnovitelnou surovinou a jeho zdroje jsou téměř neomezené, a proto se preparáty z něho vyráběné neustále zdokonalují a hledají se nové možnosti jejich zpracování a využití. Biologická hodnota je z důvodů špatné stravitelnosti a složení aminokyselin u kolagenů většinou velmi nízká, je však hlavní surovinou kožedělného průmyslu pro výrobu usní, ale využívá se v řadě dalších oborů. [35] Aplikovaný kolagen je využitelný díky jeho „fyziologické blízkosti“ nebo „dokonce identitě s tělesným kolagenem, resorbovatelnosti a schopnosti zadržovat vodu“. [16]

3.1 Struktura a složení kolagenu

Kolagenní vlákna jsou tvořena molekulami tropokolagenu, které se skládají ze tří vzájemně stočených šroubovic a to převážně α -helixů. Tropokolagen spontánně agreguje za vzniku kolagenních vláken. [35]

Tři kolagenové polypeptidové makromolekuly nazývané α -řetězce (z nichž každý obsahuje kolem 1000 aminokyselinových zbytků (AMK) a měří asi 280 nm), se společně stáčí do pravidelné pravotočivé superšroubovice. Úplná otáčka trojitě spirály obsahuje 30 AMK zbytků. Šroubovice tak tvoří kolagenovou molekulu s délkou asi 300 nm a průměrem 1,5 nm. α -Řetězce jsou spirálovitě stočeny ve směru od N-koncové skupiny k C-koncové skupině a jsou levotočivé. [16]

Ve skladbě aminokyselin je pro něj typický vysoký obsah glycinu (asi 30%) a prolinu (asi 12%). Z dalších aminokyselin je to také hydroxyprolin (asi 10%) a 5-hydroxylysin (asi 0,5%). Sekvence aminokyselin se skládá z opakujících se jednotek Gly-X-Y, kde X a Y jsou jakékoliv AMK, zpravidla je jednou z nich prolin. Oblasti, tvořené AMK s nízkou molární hmotností, je možno považovat za krystalické, vysoce orientované úseky. Naopak oblasti s nashromážděnými výše molekulárními polárními AMK nemají přísně uspořádanou stavbu, jsou méně orientované až amorfní. Pro jejich konformační volnost a přítomnost polárních

skupin je lze považovat za reaktivní místa kolagenové molekuly. Toto rozložení polárních a nepolárních AMK má vztah k příčnému pružení kolagenových fibril, pozorovanému elektronovým mikroskopem. Na volné hydroxylové skupiny peptidového řetězce bývá glykosidovou vazbou vázána glukosa nebo galaktosa. Kolageny patří mezi glykoproteiny, protože cukry tvoří 0,4-12 % hmotnosti molekul kolagenů. [16, 35] Dosud bylo identifikováno 29 různých typů kolagenu, nicméně typ I je dominantní. U savců existuje 10 variant kolagenů složených alespoň ze 17 odlišných polypeptidových řetězců. [5]

S věkem jedinců dochází ke stabilizaci struktury kolagenů kovalentními příčnými vazbami, které tvoří disulfidové můstky a hlavně také příčné vazby pocházející z postranních řetězců lysinu, hydroxylysinu a histidinu. Vznik těchto struktur je jednou z příčin tuhosti masa. [35]

3.2 Želatina

Želatina je čistý přírodní protein vyrobený ze živočišných surovin, které obsahují kolagen. Skládá se z 84 až 90% bílkovin a 2% minerálních solí, přičemž zbytek tvoří voda. Želatina je tedy přirozeným zdrojem bílkovin pro lidský organismus. Lidské tělo je schopno syntetizovat všechny proteiny, které potřebuje, z aminokyselin. Existuje však devět aminokyselin, které tělo nemůže samo produkovat, a které proto musí být pravidelně konzumovány prostřednictvím stravy. Nazývají se esenciálními aminokyselinami. Želatina obsahuje celkem 18 aminokyselin, z toho osm z devíti esenciálních aminokyselin. [8]

Nejběžnějším používáním želatiny je jedlá želatina následovaná farmaceutickou, fotografickou a technickou želatinou. Želatina je jedinečná velkým počtem funkčních vlastností. Mezi ně patří schopnost gelovatět, zahušťovat, stabilizovat, pěnit nebo vázat vodu. Kromě toho je želatina 100% přírodní, neobsahuje žádné konzervační látky ani neobsahuje cholesterol, purin a tuky, neobsahuje žádné alergeny. [8]

V závislosti zadaných požadavcích lze vyrábět řadu želatin. Existuje nespočet druhů želatiny, které jsou rozlišovány na základě několika faktorů. Jedním z nejdůležitějších je hodnota Bloom, která definuje schopnost želatiny želatinovat. Převážná většina želatiny se vyrábí ve formě bílého prášku bez zápachu a chuti. [8]

3.3 Přeměna kolagenu na želatinu

Zahříváním kolagenu ve vodném prostředí vzniká želatina. Při vyšší teplotě (90 °C) dochází k narušení struktury molekuly kolagenu, přerušují se vazby mezi polypeptidovými řetězci, jednotlivé molekuly tropokolagenů se uvolní a vzniká sol rozpustné želatiny. Rozsah želatiny závisí na množství příčných vazeb v přítomných kolagenech, a tudíž také na věku zvířete a parametrech tepelného procesu (teplota, čas, tlak). [16]

Z hlediska teoretických představ přeměny kolagenu na želatinu rozeznáváme tři pochody: (1) štěpení příčných kovalentních intermolekulárních vazeb na úrovni kvarterní struktury, (2) denaturace na úrovni terciální struktury, (3) 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. [16]

Typickou vlastností želatiny je přechod sol – gel. Gel želatiny jeví tixotropii, zahřátím na určitou teplotu „taje“ a přechází na sol. Je to přeměna inverzní, ne však vratná. [16]

Z hlediska složení aminokyselinových zbytků je možné želatinu považovat za chemicky velmi čistou formu kolagenu, jsou odstraněny nevláknité bílkoviny, mukopolysacharidy a tuky. U želatiny připravené alkalicky dochází k poklesu koncentrace argininu, tyrosinu a amidicky vázaného dusíku. Kyselě připravená želatina se proto více blíží aminokyselinovému složení kolagenu. [16]

Želatina se získává především z vepřových a hovězích kůží, vzhledem k nárůstu spotřeby kuřecího masa se však hledají cesty jak efektivně zpracovávat také vedlejší živočišné produkty získané z drůbeže. V roce 2015 bylo vyrobeno přibližně 17,4 až 43,5 milionu tun kuřecích kostí. Všechny tyto kosti byly primárně však používány v krmivářském průmyslu nebo na skládkách, což není efektivní, neboť obsahují cenné zdroje kolagenu, a mohou tedy být využity k produkci želatiny. [36]

K extrakci kolagenu se tradičně používají kyselé nebo alkalické metody, v současnosti se však zkoumá, jaké další metody jsou efektivní, a velký zájem je věnován také tomu, jak podmínky ovlivňují vlastnosti získaných proteinů nebo želatiny. De Moraes a Cunha (2013) například hodnotili vliv teploty a pH na funkční vlastnosti hydrolyzátů kolagenu a zjistili, že vyšší obsah rozpustného proteinu byl získán z hovězí kůže při 80 °C ve srovnání s 50 a 60 °C. [36] Testují se také alternativní metody a jejich efektivita při extrakci proteinů z různých

zdrojů. Tyto techniky využívající méně chemikálií a kratší dobu extrakce, jde například o techniku ultra vysokého tlaku (UHP), nebo technika s názvem extrakce horkým tlakem (HPE). [36]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Experimentální část bakalářské práce se zabývá extrakcí želatiny pomocí enzymu Protamex z bílkovinného odpadu z výroby strojně odděleného masa pomocí faktorových pokusů. Tento typ odpadu se totiž v současnosti v největší míře posílá ke spálení a pouze v menší míře je využíván soukromníky ke krmení zvířat v zájmových chovech. Tito soukromníci navíc musí mít povolení veterinární zprávy. Jedinou možností jak zlepšit nakládání s těmito odpady je, že se vedlejší živočišné odpady budou dále zpracovávat, a takto vyrobené produkty najdou efektivní uplatnění. Tím by se snížily náklady spojené s jeho likvidací a my bychom získali surovinu k dalšímu využití.

Cílem experimentů bylo:

- Posoudit možnosti extrakce kvalitních želatin z kostí ze separace a sledovat vybrané procesní parametry (množství enzymu, doba opracování);
- Charakterizovat připravené produkty - pevnost gelu, obsah popelovin, viskozita;
- Navrhnout optimální podmínky zpracování.

5 MATERIÁLY A METODY

Zpracování bílkovinného odpadu ze strojně odděleného masa.

5.1 Kostí ze separace

Kostí ze separace byly poskytnuty podnikem Raciola s.r.o. Uherský Brod vyrábějícím strojně oddělené maso. Jedná se o zbytky (části kostí a chrupavek), které zůstanou z výroby strojně odděleného masa. Zbytky byly v rozemletém stavu o velikosti přibližně 3 mm, což je velikost síta. Byly skladovány v mrazničce a před pokusy byly rozmrazeny.

Složení suroviny sušina 38,15%, popelovina 28,59%, kolagen 79,85 a 26% tuku.

5.2 Přístroje, pomůcky, chemikálie

Sušárna WTB Binder, třepačka LT 2 a 3, pH metr WTW 526, elektronické analytické váhy KERN 770, elektronické laboratorní váhy 440-47, varná deska s termostatem a magnetickým míchadlem Schott, vařič Schott, Muflova pec Nabertherm, lednička, inkubátor, mixér Eta, stopky, exsikátor, plynový kahan, Sevens - LFRA analyzátor, Termostat Thermo Hauke, Übeleho viskozimetr, Thermo spektronick Helios ϵ , destilační aparatura, extrakční aparatura;

Koželužská miska, odměrný válec, odměrné baňky, pipety a balónky, Petriho misky, tyčinky, lžičky, PA tkanina na filtraci, kuchyňské sítko, žíhací kelímky, kádinky, PE lahve, kleště, LDPE samo uzavíratelné sáčky;

0,2M NaCl, 0,03M NaOH, enzym Lipolase, Aceton, enzym Protamex, Chloroform, Etanol. Enzym Protamex je vyráběný Dánskou firmou Novozymes, a jedná se o komplex proteázy Bacillus vyvinutý pro hydrolyzu potravinových proteinů. Optimální pracovní podmínky jsou při pH 5,5 – 7,5 a teplotě 35 – 60°C, enzym se dá inaktivovat za 10 minut při teplotě 85°C více viz příloha materiálový list enzymu Protamex.

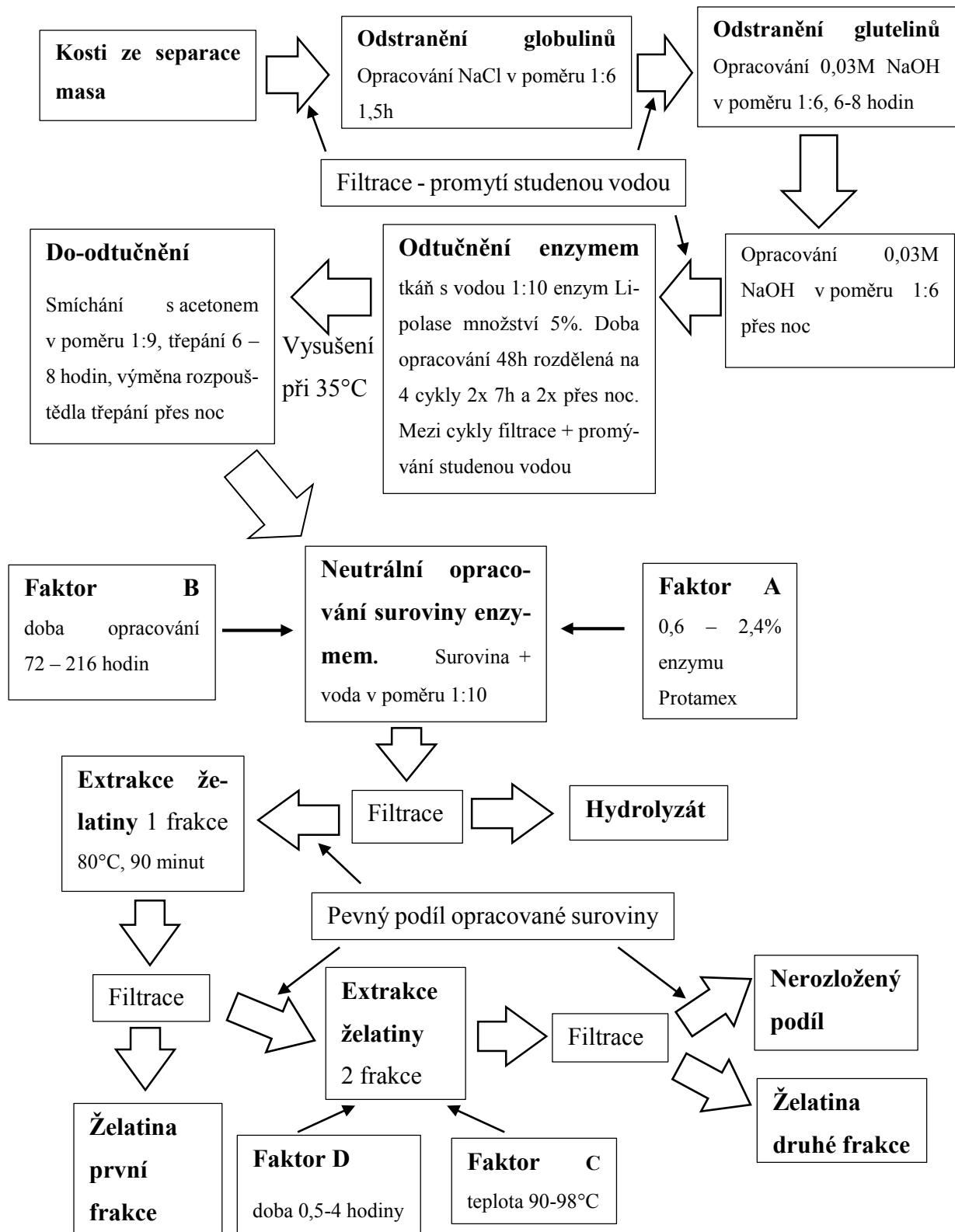
5.3 Metodika práce

Plánování experimentů je jedním z nejučinnějších nástrojů předvýrobní etapy. Umožňuje nalézt faktory, které nejvýznamněji ovlivňují výrobní proces i jeho výstupy a stanovit také jejich optimální hodnoty. Lze tedy říci, že plánování experimentů je matematickým prostředkem, který umožní kvantifikovat významnost vstupů, které jsou na počátku vytypované jako pravděpodobně vlivné. Dále stanoví, jak vybrané vstupy nastavit, aby proces dosahoval požadovaných výstupů při maximální stabilitě (tedy minimální variabilitě) a odolnosti proti tzv. šumům, tj. nepředvídatelným negativním vlivům na výrobní proces. [34]

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. V této práci byly faktorové pokusy, které se skládaly ze dvou limitních a jednoho středového experimentu nastaveny takto: Faktor A množství proteolytického enzymu Protamex v hodnotách 0,6 a 2,4%, středový 1,5% a Faktor B doba opracování enzymem 72 a 216 hodin, středový 144 hodin. Výpočet množství enzymu byl vztažen na sušinu odtučněných kostí ze separace. Podmínky extrakce první frakce želatiny byly stanoveny takto: doba extrakce 90 minut a teplota extrakce 80°C. U extrakce želatiny druhé frakce byly podmínky stanoveny: teplota extrakce dle Faktoru C v hodnotách 90 a 98°C a doba extrakce Faktor D v hodnotách 0,5; 1; 1,5 a 4 hodiny.

5.4 Postup práce zpracování kostí ze separace

Blokové schéma postupu práce zpracování kostí ze separace je znázorněno na obrázku č. 5.



Obrázek č. 5: Schéma postupu zpracování kostí ze separace

5.4.1 Příprava čistého kolagenu

Výchozí surovina byla vytažena z mrazničky, rozmrazena a cca 2 minuty promyta studenou vodou z kohoutku na kuchyňském sítu. Poté na 5 minut ponořena do hrnce se studenou vodou. Po uplynutí 5 minut byla surovina opět promyta 2 minuty studenou vodou (odstranění albuminů). Takto bylo připraveno přibližně 1kg suroviny a poté rozděleno do 7 lahví.

K surovině v láhvi byl přidán 0,2 M roztok NaCl v poměru 1:6, vše bylo mírně třepáno při laboratorní teplotě 1,5 hodiny. Surovina byla dále odfiltrována přes kuchyňské síto a promývána minutu studenou vodou, aby došlo k odstranění globulinů.

Surovina byla ze síta přemístěna do lahví, byl přidán 0,03M roztok NaOH v poměru 1:6 a vše bylo opět mírně třepáno při laboratorní teplotě do odpoledne (6-8 hodin). Takto opracovaná surovina byla zfiltrována přes síto a minutu promývána studenou vodou. Surovina byla opět vrácena do lahví spolu s 0,03M roztokem NaOH v poměru 1:6. a při laboratorní teplotě mírně třepána celou noc. Druhý den byla surovina přefiltrována přes síto s 1 vrstvou PA tkaniny a promyta cca 2 minuty studenou vodou. Mechanickým vymačkáním byla surovina zbavena co největšího množství vody (odstranění glutelinů). Surovinu bylo možné buď ihned dále zpracovávat, nebo případně skladovat až maximálně dva dny v ledničce.

Před dalším zpracováním byly odebrány 3 vzorky suroviny do koželužských misek na stanovení sušiny. Misky byly sušeny při 68°C dva dny. Po vysušení byly misky zváženy na analytických vahách a byl stanoven obsah sušiny.

Surovina byla opět rozdělena do lahví, byla k ní přidána voda v poměru 1:10 a enzym Lipolase v množství 5% vztaženém na hmotnost přesušené suroviny z předchozího kroku. Surovina byla třepána při laboratorní teplotě v předepsaném počtu cyklů, na začátku a na konci bylo měřeno pH (tabulka 3). Mezi jednotlivými cykly byla surovina přefiltrována přes síto a promývána 2 minuty studenou vodou z kohoutku. Po ukončení odtučnění tkáně byla surovina přefiltrována a promývána stejně jako mezi jednotlivými cykly. Byla vymačkána přebytečná voda, tkáň byla rozprostřena na plech opatřený nepřilnavou fólií a vysušena při 35 – 40°C cca 4 dny.

Takto přesušená surovina byla smíchána s acetonem v poměru 1:9 a třepána 6-8 hodin při laboratorní teplotě. Poté byla tkáň přefiltrována, rozpouštědlo vyměněno a znovu byla třepána tentokrát přes noc. Po ukončení do-odtučnění byla surovina rozprostřena na plech a ponechána v digestoři k do-odpaření zbytku rozpouštědla.

Tabulka 3: Rozpis cyklů opracování enzymem Lipolase

Třepací cyklus	Den	Doba odtučňování	pH	
			na začátku (po 20 min)	na konci
1.	1.	7 hodin	11,14	11,44
2.	1.-2.	17 hodin	9,96	10,31
3.	2.	7 hodin	7,45	8,25
4.	2.-3.	17 hodin	7,76	7,26

Surovina byla zvážena a byly z ní odebrány 3 vzorky na stanovení sušiny, které byly potřeba k výpočtu navážky enzymu Protamex. Zbytek suroviny byl rozemlet po menších dávkách v kuchyňském mixéru. Doba mletí byla asi 15 sekund. Rozemletou surovinu bylo možno skladovat v uzavřené nádobě při laboratorní teplotě.

5.4.2 Extrakce želatiny z odtučněného kolagenu

Surovina byla smíchána s destilovanou vodou v poměru $\approx 1:10$. Bylo použito přibližně 20g suroviny, mírně třepáno cca 20 minut a poté došlo k úpravě pH na hodnotu 6,5 – 7,0 (tabulka 4). Potom byl přidán proteolytický enzym Protamex - množství podle **Faktoru A**, třepání – doba opracování **Faktor B** (Faktor A, B viz tabulka 5). Prvních 4 – 6 hodin byla surovina třepána při laboratorní teplotě, kontrolována a pH bylo doupravováno na hodnotu 6,5 – 7,0, množství a koncentrace roztoků byla zapisována, po ukončení enzymového opracování bylo pH zapsáno, ale už neupravováno (viz tabulka 4). Surovina byla přefiltrována přes kuchyňské sítko opatřené 3 vrstvami PA tkaniny.

Kapalina – *Hydrolyzáta* byla jímána do kádinky, ta byla přivedena k varu a povařena 5 minut. Celý objem hydrolyzáta byl rozlit do misky a vysušen při 60°C po dobu přibližně 2 dnů. Vysušený hydrolyzáta byl seškrábán, zvážen a dán do uzavíratelného sáčku, který byl uchováván při laboratorní teplotě.

Materiál zachycený na kuchyňském sítku a tkanině, byl nejprve důkladně promyt běžnou studenou vodou z kohoutku, aby se odstranilo co největší množství enzymu, poté byl smí-

chán s dostatečným přebytkem 0,03 M roztoku NaOH. Směs byla intenzivně třepána na třepačce cca 10 minut, zfiltrována a krátce promyta vodou z kohoutku. Celý postup byl zopakován ještě jednou. Následně byla surovina smíchána s dostatečným množstvím vody, aby byl odstraněn hydroxid, postup byl totožný jako v předchozím kroku, jenom místo hydroxidu byla použita voda. Opakování proběhlo taktéž 2x.

Promytý materiál přesypán do kádinky s destilovanou vodou v poměru $\approx 1 : 8$, bylo počítáno s 20g výchozí suroviny. Poté proběhlo zahřátí systému na teplotu 80°C a po dosažení této teploty byla **90 min** extrahována želatina. Rychlost ohřevu z laboratorní teploty na požadovanou teplotu byla 6°C za minutu. Během extrakce bylo obsahem mícháno pomocí magnetického míchadla, rychlost byla nastavena tak, aby se materiál co nejméně usazoval. Po 90 minutách byl materiál přefiltrován přes kuchyňské sítko. Kapalina - *Želatina 1. frakce* byla opět jímána do kádinky, která byla následně uvedena rychle k varu a povařena 5 minut. Celý objem roztoku želatiny byl rozlit na misku v rozumné vrstvě filmu a vysušen při 45°C po dobu cca 2 dnů. Vysušená želatina byla odloupnuta, zvážena, dána do uzavíratelného sáčku a uschovávána při laboratorní teplotě pro pozdější analýzu.

Nerozložený materiál zbylý po extrakci první (hlavní) frakce želatiny byl přesypán do kádinky a smíchán s destilovanou vodou v poměru $\approx 1 : 7$. Počítáno bylo s teoretickým množstvím 20g výchozí tkáně. Hladina vody byla označena fixou a v průběhu extrakce byla její výška udržována. Systém byl zahřátý na teplotu podle **Faktoru C** a po dosažení této teploty byla želatina extrahována po dobu podle **Faktoru D** (viz tabulka 4). Rychlost ohřevu z laboratorní teploty na požadovanou teplotu byla 7°C za minutu. Během extrakce bylo obsahem mícháno.

Po uplynutí doby extrakce byl materiál přefiltrován přes kuchyňské sítko. Kapalina - *Želatina 2. frakce* byla zfiltrována do kádinky, uvedena rychle k varu a povařena 5 minut. Celý objem roztoku želatiny byl rozlit na misku a vysušen při 45°C po dobu cca 2 dnů. Vysušená želatinu byla odloupána, zvážena, dána do uzavíratelného sáčku a uchovávána při laboratorní teplotě pro pozdější analýzu.

Nerozložený podíl po extrakci 2. želatinové frakce zachycený na tkanině byl vysušen při 103°C , zvážen a uchováván při laboratorní teplotě v uzavíratelném sáčku.

Tabulka 4: Množství a koncentrace roztoku k úpravě pH

Číslo exp.	Množství a koncentrace roztoku k úpravě pH				pH po opracování
	20 minut	1 hodina	2 hodina	4 hodina	
1	0,02ml 10%HCl	0,06ml 3%HCl	0,15ml 3%HCl	Bez úprav	6,70
2	0,02ml 10%HCl	0,04ml 10%HCl	0,04ml 10%HCl	Bez úprav	6,79
3	0,04ml 10%HCl	0,02ml 10%HCl	0,02ml 10%HCl	Bez úprav	6,97
4	0,06ml 10%HCl	Bez úprav	Bez úprav	0,02ml 10%HCl	6,61
5	Bez úprav	0,02ml 10%HCl	0,04ml 10%HCl	Bez úprav	6,90
6	Bez úprav	0,04ml 10%HCl	Bez úprav	0,04ml 10%HCl	7,14
7	Bez úprav	Bez úprav	Bez úprav	Bez úprav	7,23
8	Bez úprav	0,02ml 10%HCl	0,02ml 10%HCl	0,02ml 10%HCl	7,03
9	Bez úprav	Bez úprav	0,02ml 10%HCl	0,02ml 10%HCl	7,15
10	Bez úprav	0,02ml 3%HCl	0,06ml 3%HCl	0,02ml 3%HCl	7,26

5.5 Analýzy meziproduktů a konečných produktů

Analýza meziproduktů a konečných produktů byla prováděna dle standardních zkušebních metod pro jedlé želatiny Institutu želatinových výrobců v Americe z roku 2013. [9]

5.5.1 Stanovení obsahu sušiny

Pro stanovení obsahu sušiny bylo naváženo 3x1,5g vzorku do koželužských misek. Každá koželužská miska byla zvážena prázdná, poté se vzorkem před vysušením a se vzorkem po vysušení.

Sušilo se v sušárně při teplotě $103\pm 1^\circ\text{C}$ do konstantní hmotnosti.

Výpočet obsahu sušiny:

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

Kde: m_1 – hmotnost vzorku po vysušení [g]

m_2 - hmotnost vzorku před vysušením [g]

5.5.2 Stanovení bilanční chyby

U všech vzorků byla stanovena bilanční chyba sušiny, která byla vypočítána podle následujících vzorců:

Stanovení bilance:

$$\text{VSTUP} = \text{VÝSTUP}$$

$$\text{VÝSTUP} = \text{H} + \text{N} + \text{Ž}$$

VSTUP – hmotnost sušiny vztažena na hmotnost kostí ze separace po opracování

VÝSTUP – součet stanovených hodnot

H – hydrolysát

N – nerozložený podíl

Ž – želatina

$$\text{Balance}(\%) = \frac{\text{Výstup}}{\text{Vstup}} \times 100$$

Stanovení bilanční chyby sušiny:

$$\text{Bilanční chyba sušiny}(\%) = 100 - \text{Balance}$$

5.5.3 Stanovení účinnosti extrakce

Účinnost extrakce byla stanovena u všech vzorků a byla zjištěna podle následujícího vzorce:

$$\eta(\%) = \frac{K}{V_{stup}} \times 100$$

VSTUP – hmotnost sušiny vztažena na hmotnost kuřecích kostí po opracování

K – kapalný podíl (želatina/hydrolyzát)

5.5.4 Stanovení pevnosti gelu želatin/ hydrolyzátů

Stanovení pevnosti bylo prováděno v menší nádobě, než je standardní a to z důvodu menšího množství vzorku, proto bylo použito i menší množství navážky. Váženka měla tyto rozměry: průměr vnější 40mm, vnitřní 35mm a výška 50mm. Pro výrobu roztoku želatiny o koncentraci 6,67% bylo použito 1,5g želatiny a 21g destilované vody. Želatina ve vodě botnala 1 hodinu a poté byla ohřevem na 50°C rozpuštěna. Po úplném rozpuštění želatiny byla váženka nechána hodinu při laboratorní teplotě zchladnout a poté byla vložena na 16 hodin do lednice. Po vyjmutí byl gel okamžitě podroben zkoušce na přístroji Stevens - LFRA analyzátor. Hodnoty pevnosti gelu byly poděleny faktorem 1,6372, o který byly větší díky použití menších váženek.



Obrázek č. 6: Stevens – LFRA analyzátor

5.5.5 Stanovení teploty tání gelu

Měření byla provedena na DSC při rychlosti 5°C za minutu. Do DSC misky bylo naváženo 15 – 30 mg vzorku po stanovení pevnosti gelu. Miska byla hermeticky uzavřena. DSC s miskou byla vychlazená na cca 6°C, vzorek byl na této teplotě ponechán 10 minut, poté se začal zahřívat uvedenou rychlostí na 50°C a poté ještě poklesl zpět na počáteční teplotu. T_m se projevovalo endotermním píkem při zahřívání.

5.5.6 Stanovení dynamické viskozity želatiny

Měření bylo provedeno ze vzorku použitého na stanovení pevnosti gelu. Vzorek se nechal roztopit při 60°C na roztok. Pak byla část roztoku přelita do Übeleho viskozimetru, a ten byl vložen do předem na 60°C vytemperované vodní lázně. Pomocí balónku byl roztok vytažen do měřicí trubice. Byl měřen čas, za který roztok protekl kapilárou mezi dvěma ryskami.

Výpočet viskozity:

$$\eta = (k \times t - B/t) \times \rho$$

v – kinematická viskozita [mm²/s]

k – konstanta viskozimetru zjištěna ověřenou kalibrační kapalinou

B – konstanta korelace na kinetickou energii určená z rozměrů viskozimetru

t – aritmetický průměr změřených průtokových dob [s]

ρ – hustota želatinového roztoku

5.5.7 Stanovení čirosti želatiny

Roztok se, po stanovení kinematické viskozity, nechal zchladnout na cca 45 – 50°C a v kyvetě byla změřena jeho transmitance při vlnové délce 640nm. Kalibrace byla prováděna destilovanou vodou.

5.5.8 Stanovení obsahu popela

Nejprve byly žíhací kelímky předžíhány v muflové peci rozežháté na 650°C po dobu asi 10 min. Vyžíhané kelímky se nechaly zchladit v exsikátoru. Po vychladnutí byl na analytických vahách zvážen vyžíhaný kelímek a poté do něj byl naváženo 1g vzorku. Kelímek se vzorkem byl nejprve umístěn nad plynový kahan, kde byl vzorek v kelímku spálen na

popel a poté byl kelímek s popelem žhán v muflové peci při 650°C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí byl žhací kelímek zvážen.

Výpočet:

Obsah popela P v hm.% se vypočte podle vzorce:

$$P = \frac{m_p}{n} \times 100[\%]$$

Kde: m_p – hmotnost popela [g]

n – navážka vzorku [g]

Obsah popela přepočtený na sušinu se vypočítá podle vzorce:

$$P_s = P \times f[\%]$$

Kde f – přepočítávací faktor pro sušinu

Výpočet přepočítávacího faktoru

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

Kde v – obsah vody [%]

5.5.9 pH želatinového roztoku

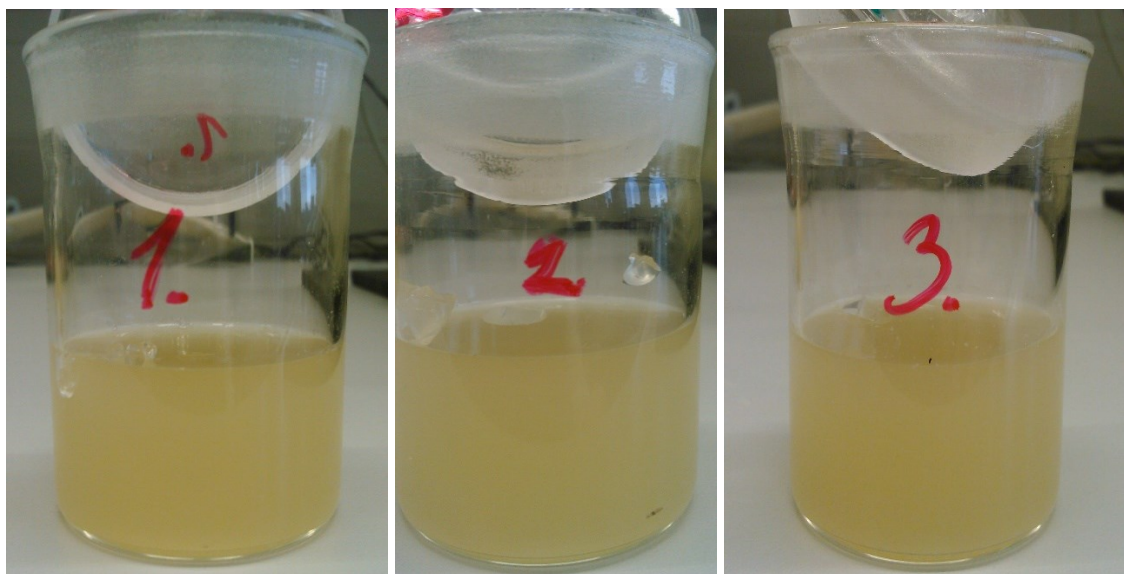
Ke stanovení pH 1,5% roztoku želatiny při teplotě 35°C byl použit pH metr.

5.5.10 Stanovení zbytkového množství tuku

Pro stanovení zbytkového množství tuku byla sestavena Soxhletova extrakční aparatura. Do patrony bylo naváženo 2 – 5g vzorku po odtučňování. Vše bylo extrahováno chloroformem cca 8 až 15 hodin a poté bylo oddestilováno rozpouštědlo. Druhý den bylo extrahováno v etanolu cca 6 - 8 hodin.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Během práce bylo provedeno celkem 10 experimentů. Ke stanovení optimálních podmínek extrakce se využívaly faktorové experimenty. Díky faktorovým plánům můžeme i s menším počtem experimentů dosáhnout optimálních podmínek. Z důvodu velmi malé účinnosti extrakce byly po prvních dvou experimentech mírně upraveny podmínky. Bylo zvýšeno množství enzymu 1,5 krát a doba opracování byla prodloužena 3 krát. Po dalších dvou experimentech byly ještě znovu upravovány podmínky, protože, obzvláště u druhého experimentu s 2,4% enzymu a dobou opracování 216 hodin při laboratorní teplotě, by vyrobená želatina i bez biologických zkoušek nebyla pro použití v praxi úplně tou nejlepší volbou. Nové podmínky byly stanoveny takto: doba opracování i množství enzymu zůstaly stejné, ale změnila se teplota, při které opracování probíhalo. Novou teplotou bylo 10°C. Při těchto nových podmínkách bylo prováděno zbylých 6 experimentů a to faktorově $2^2 + 1$ a také byl proveden slepý pokus. U všech experimentů probíhalo ověřování jejich vlastností. Výsledky a podmínky jednotlivých měření jsou vidět v příložených tabulkách 5 a 6.



Obrázek č. 7: Vzorčky gelů

Tabulka 5: Faktorové podmínky a výtěžek extrakcí

Experiment číslo	Faktor A	Faktor B	Výtěžek hydrolyzátu [%]	Výtěžek želatiny po 1. extrakci [%]	Faktor C	Faktor D	Výtěžek želatiny po 2. extrakci [%]	Celková účinnost extrakce [%]	Bilanční chyba [%]
	Množství enzymu [%]	Doba opracování [h]			Teplota extrakce [°C]	Doba extrakce [h]			
1	0,4	24	3,84	13,15	90	0,5	3,29	16,44	4,65
2	1,6	72	5,99	17,45	98	1	4,91	22,36	2,40
Úprava podmínek (přidání množství enzymu – 1,5x vyšší, prodloužená doba enzymového opracování – 3x delší)									
3	0,6	72	3,81	21,81	90	0,5	3,82	25,63	6,21
4	2,4	216	7,60	24,42	98	1	3,8	28,22	2,88
Úprava podmínek (enzymové opracování prováděno v inkubátoru při 10°C)									
5	0,6	72	3,82	26,72	90	0,5	3,82	30,54	0,76
6	0,6	216	2,74	21,37	90	1,5	3,84	25,21	4,65
7	2,4	72	4,91	31,64	90	4	3,82	35,46	3,47
8	2,4	216	3,80	28,76	98	1	2,17	31,47	0,71
9	1,5	144	3,78	31,31	98	4	6,48	37,79	4,44
10	0	144	1,64	6,03	98	4	7,67	13,7	9,04

Tabulka 6: Vlastnosti želatiny – gelu

Experiment číslo	Technologické podmínky		Vlastnosti želatiny - gelu						
	Faktor A Množství enzymu [%]	Faktor B Doba opracování [h]	Účinnost extrakce po prvním stupni opracování [%]	Pevnost gelu [Bloom]	Dynamická viskozita [mPa.s]	Čírost [%]	pH želatiny	Obsah sušiny [%]	Obsah popele [%]
1	0,4	24	13,2	333	5,8	8,5	7,06	89,5	1,95
2	1,6	72	17,5	264	4,2	7,1	7,25	90,2	1,85
3	0,6	72	21,8	279	3,7	4,1	7,47	90,2	2,0
4	2,4	216	24,4	172	2,5	0,9	7,28	90	2,58
5	0,6	72	26,7	266	4,2	8,0	7,60	89,8	1,42
6	0,6	216	21,4	202	3,7	1,7	7,42	92,2	5,0
7	2,4	72	31,6	140	2,5	1,4	8,08	91,7	3,02
8	2,4	216	28,8	87	1,9	1,4	8,20	89,8	1,85
9	1,5	144	31,3	173	3,1	0,9	7,38	91,7	2,14
10	0	144	6	357	6,3	2,7	9,10	92,9	3,52

6.1 Účinnosti extrakce v závislosti na zadaných faktorech

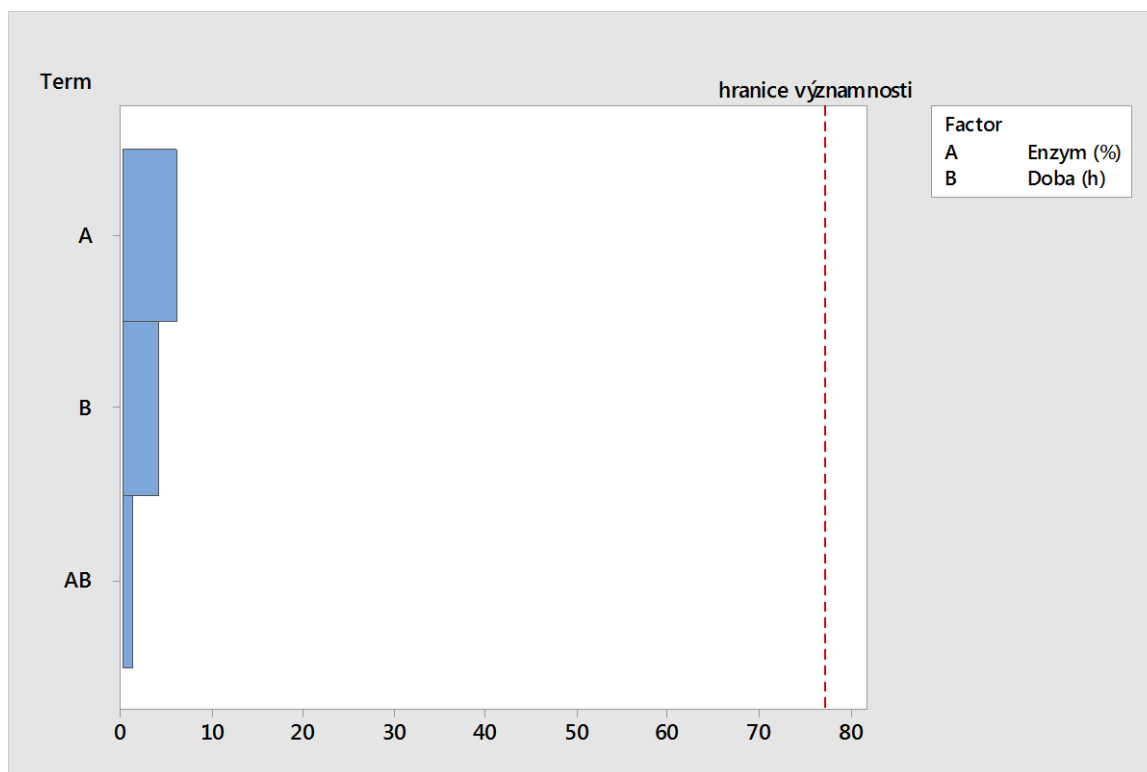
Účinnost zpracování je dána následnou regresní rovnicí:

$$y = 28,13 + 2,028 \text{ Enzym (\%)} - 0,04259 \text{ Doba (h)} + 0,009645 \text{ Enzym (\%)*Doba (h)} + 4,175 \text{ Ct Pt}$$

koeficient korelace $R^2 = 97,76\%$

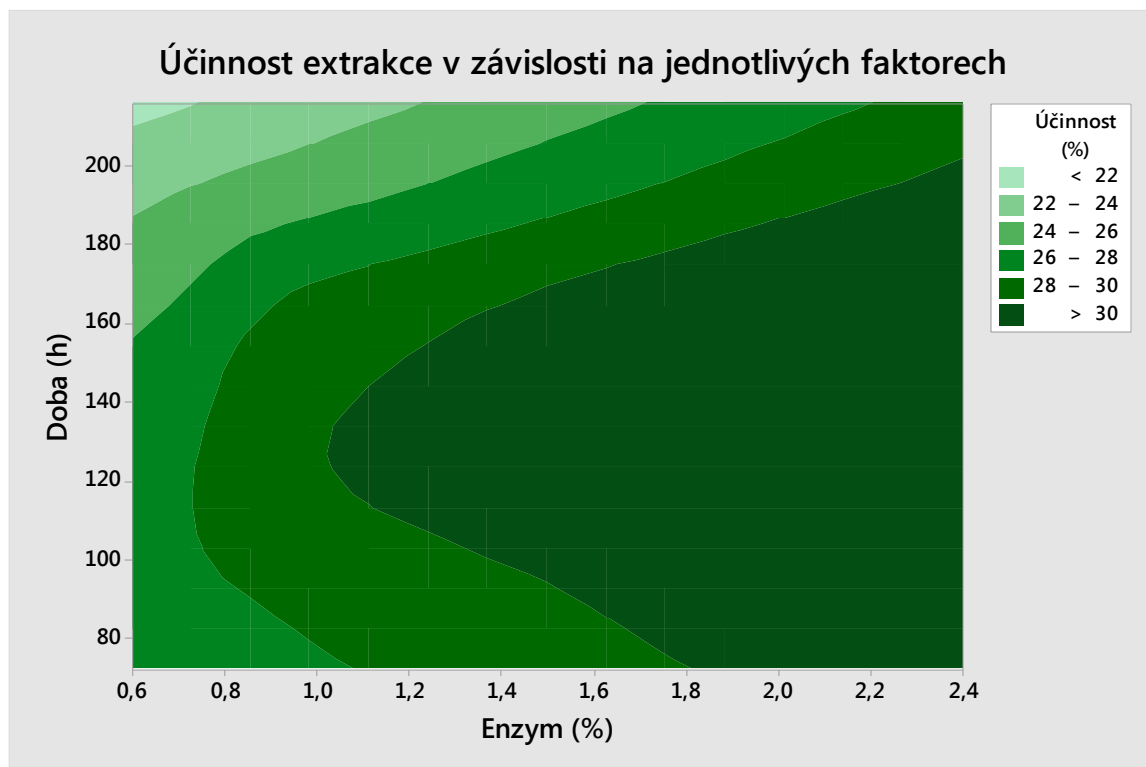
Analýza odchyly

	DF	Adj SS	Adj MS	F-hodnota	P-hodnota
Model	3	68,170	22,723	14,54	0,190
Lineární	2	54,225	27,113	17,35	0,167
Enzym (%)	1	37,823	37,823	24,21	0,128
Doba (h)	1	16,402	16,402	10,50	0,191
Zakřivení	1	13,945	13,945	8,92	0,206
Chyba	1	1,563	1,563		
Celkem	4	69,732			



Obrázek č. 8: Významnost sledovaných faktorů na účinnosti extrakce

Z obrázku č. 8 je patrné, že žádný ze zadaných faktorů zdaleka nedosahuje hranice významnosti. Nepatrně větší vliv na účinnost extrakce má množství enzymu.



Obrázek č. 9: Vrstevnicový graf výtěžku extrakce

Z obrázku č. 9, který znázorňuje výtěžek extrakce, je vidět, že největšího výtěžku bylo dosaženo při použití většího množství enzymu a kratší doby. Tento výsledek je poněkud zarážející, protože očekávaným výsledkem by bylo, že s rostoucí dobou opracování a množstvím enzymu by měl vzrůstat i samotný výtěžek. Důvodem, proč bylo dosaženo tohoto výsledku, může být kupříkladu větší množství kostí, a z toho vyplývající i větší množství nerozložených podílů v jednotlivých vzorcích. Měření bylo prováděno pouze jedenkrát. Při větším počtu opakování, a tím i zmenšení případné chyby, by samotný výsledek měření nejspíše vypadal jinak.

6.2 Pevnost gelu

Nejdůležitější vlastností želatiny je pevnost gelů. Pevnost gelů určuje kvalitu želatiny: pohybuje se od nízké (do 150Bloom), přes střední (150 – 220Bloom) až po vysokou (220 – 300Bloom).

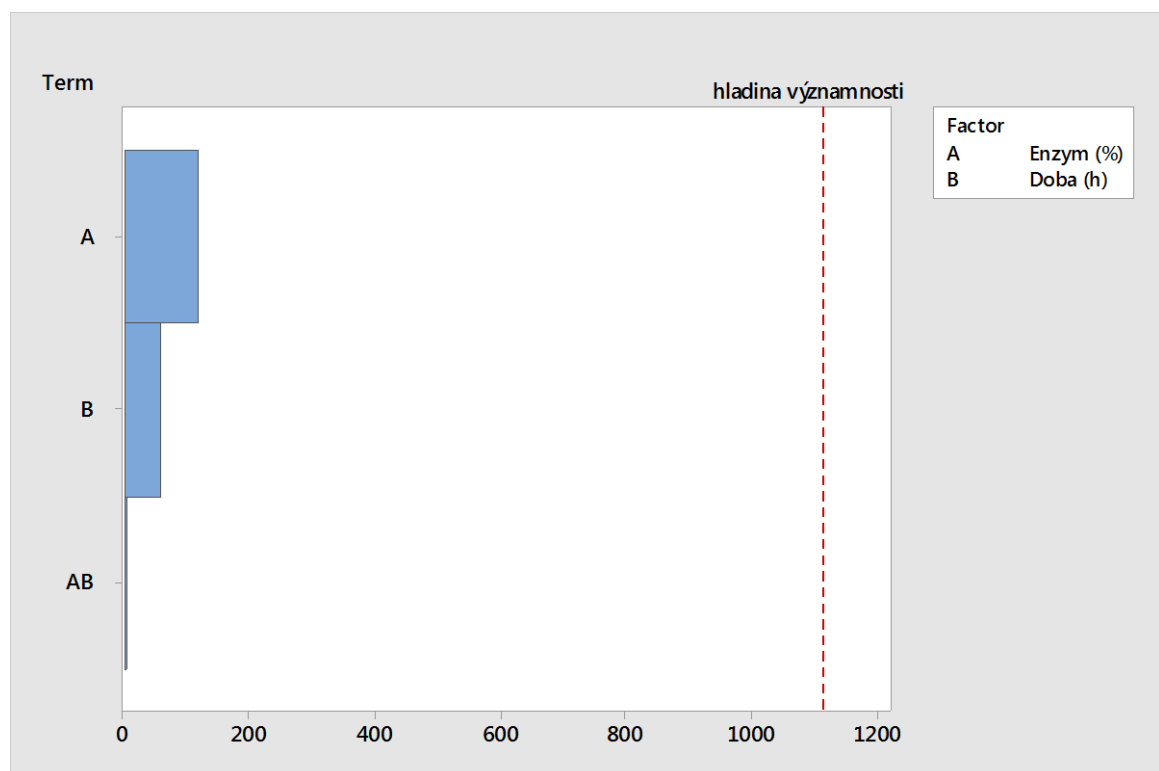
Regresní rovnice pro pevnost gelu má tvar:

$$y = 341,8 - 73,06 \text{ Enzym (\%)} - 0,4699 \text{ Doba (h)} + 0,04244 \text{ Enzym (\%)*Doba (h)} - 0,7500 \text{ Ct Pt}$$

koeficient korelace $R^2 = 100\%$

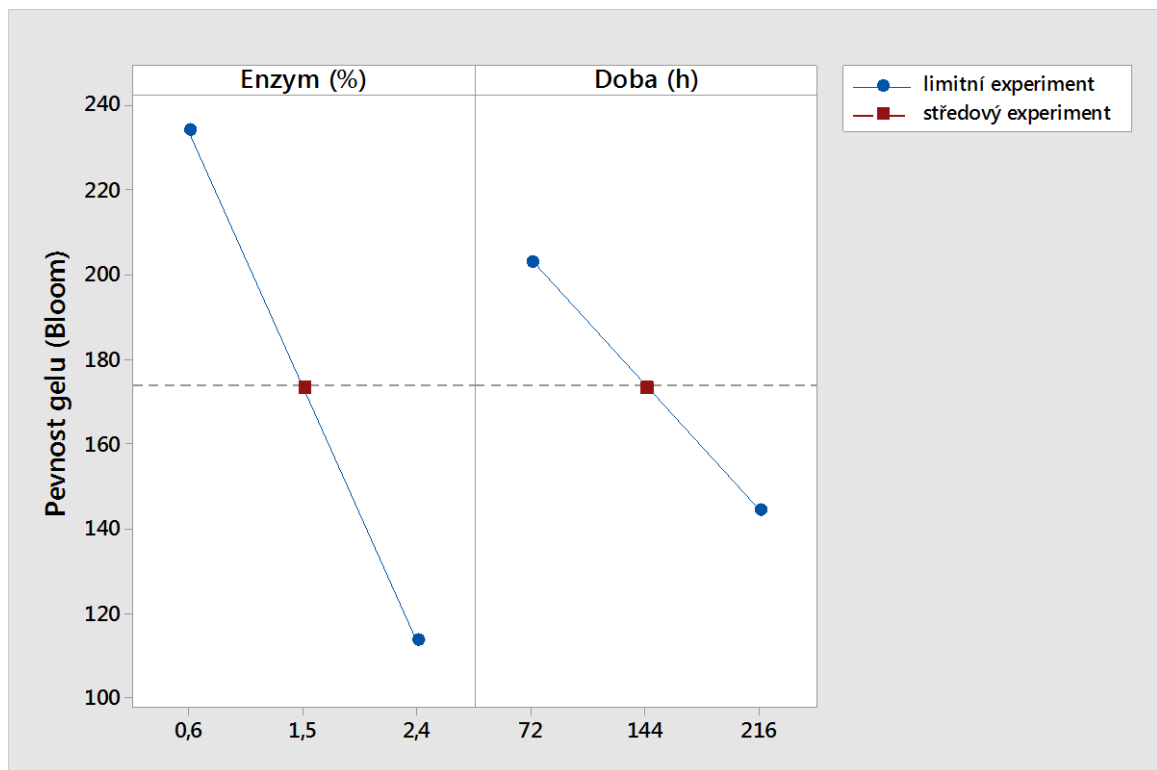
Analýza odchylky

	DF	Adj SS	Adj MS	F-Hodnota	P-Hodnota
Model	4	17973,2	4493,3	*	*
Lineární	2	17942,5	8971,2	*	*
Enzym (%)	1	14520,2	14520,2	*	*
Doba (h)	1	3422,2	3422,2	*	*
2 pásmové interakce	1	30,2	30,2	*	*
Enzym (%)*Doba (h)	1	30,2	30,2	*	*
Zakřivení	1	0,5	0,5	*	*
Chyba	0	*	*		
Celkem	4	17973,2			



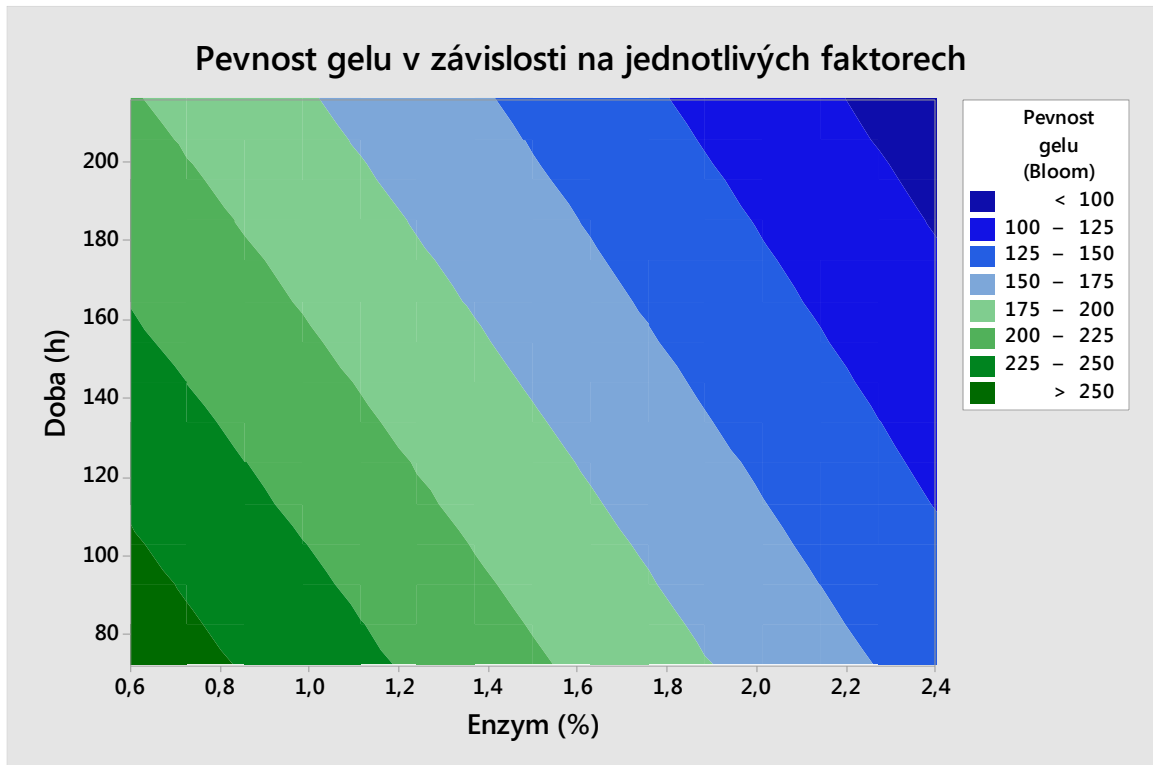
Obrázek č. 10: Význam faktorů na pevnost gelu

Jak je vidět z obrázku č. 10 tak o něco významněji byla ovlivněna hodnota pevnosti gelu množstvím enzymu, ale ani tento faktor nedosahoval hladiny významnosti.



Obrázek č. 11: Vliv faktorů na pevnost gelu

Obrázek č. 11 ukazuje vliv faktorů na pevnost gelu. Je na něm vidět, že se zvyšujícím se množstvím enzymu dochází ke snižování pevnosti gelu. Doba opracování ukazuje, že s delším opracováním se snižuje pevnost gelu, ale ne tolik jako se mění s množstvím enzymu. Je vidět, že i středový experiment je opravdu uprostřed.



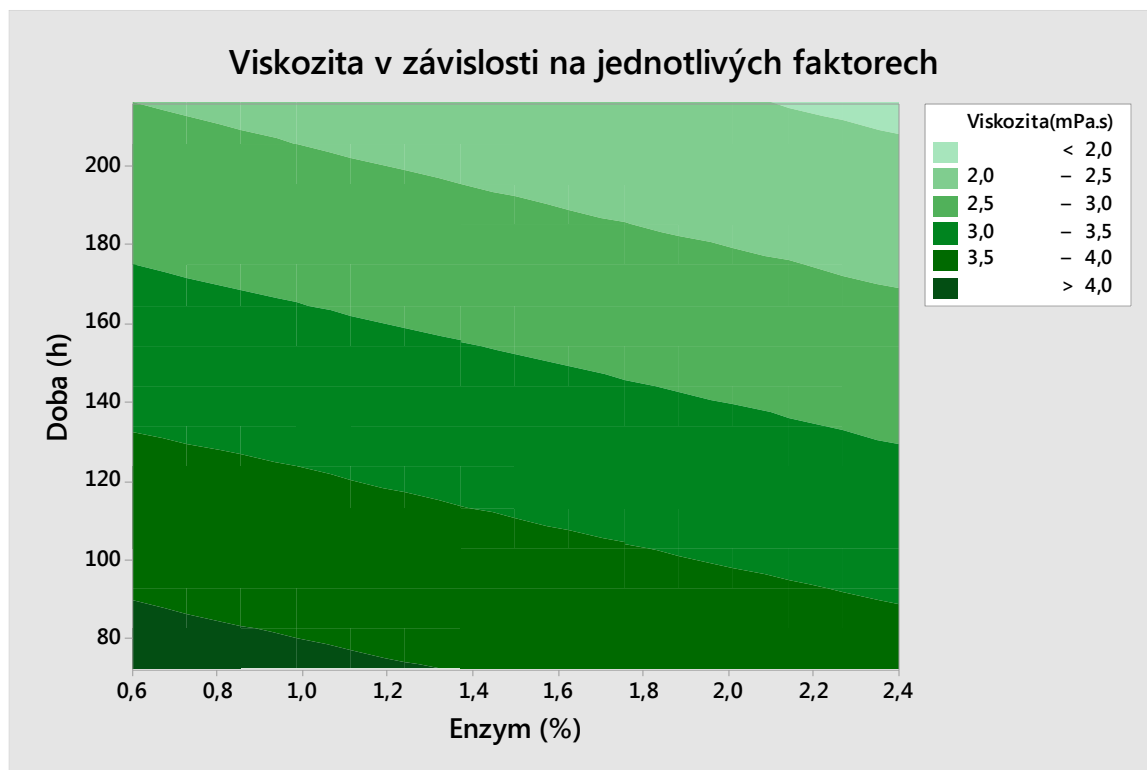
Obrázek č. 12: Vrstevnicový graf pevnosti gelu

Obrázek č. 12 nám ukazuje, že nejvyšší pevnosti gelu bylo dosaženo při malém množství enzymu a krátké době opracování. Nejmenší pevnost by byla naopak při větším množství enzymu a delším čase. Optimálními podmínkami by tedy v tomto případě byla menší doba opracování a menší množství enzymu.

6.3 Ostatní měřené parametry

Ostatní měřené parametry byly viskozita, teplota tání, pH želatiny, čírost, obsah sušiny, obsah popela a množství zbytkového tuku po opracování.

Viskozita celkem věrně kopíruje měření pevnosti gelu. Jak je vidět z přiloženého obrázku č. 13, tak nejvyšší viskozity bylo dosaženo při nejmenším množství enzymu a nejkratší době.



Obrázek č. 13: Vrstevnicový graf viskozity

Ostatní hodnoty si byly celkem podobné, proto už graficky nebyly vyhodnoceny. Jenom čírost u jednoho experimentu byla a to při 0,6% enzymu a době opracování 72 hodin u zbylých experimentů byla od 0,9% do 2,7%. T_m byla stanovena u vzorku 9 a její hodnota činila 36,0°C. Obsah popela byl v rozmezí od 1,42% do 5%, obsah sušiny od 89,8% do 92,9% a pH se pohybovalo v rozmezí od 7,6 do 9,1.(viz tabulka 6). Hodnota zbytkového tuku po opracování suroviny byla 8,24%.

6.4 Navržení optimálních podmínek

Optimálními podmínkami při zpracování kostí ze separace by byly takové, které nám pomůžou k co největší účinnosti extrakce s co nejvyšší pevností gelu. Nejvyšší účinnosti by bylo dosaženo přidáním množství enzymu a prodloužením doby opracování, což neodpovídá úplně přesně měřením v této práci, protože nejvyšší účinnost opracování byla stanovena při 2,4% enzymu a 72 hodinách opracování, její hodnota byla 31,6%. Pro nejvyšší pevnost gelu by bylo nejlepší co nejmenší množství enzymu a co nejkratší doba opracování. V této práci měl nejlepší pevnost gelu slepý pokus (bez přídavku enzymu), jehož hodnota byla

357Bloom. Nejnižší pevnost měl experiment s těmito podmínkami: 2,4% enzymu a 216 hodin opracování, jeho hodnota byla 87Bloom. Tyto dvě podmínky jdou ovšem proti sobě, což znamená, že optimální podmínky pro výrobu co největšího množství želatiny s co nejvyšší pevností gelu by byly někde uprostřed. Proto by bylo dobré se zaměřit na tuto oblast v přípravě dalších experimentů.

Almeida a da Silva Lannes (2013) extrahovali želatinu z kuřecích nohou, tak že nejprve opláchli surovinu vodou a poté ji namočili na 16 hodin do 4% kyseliny octové. Po opláchnutí provedli extrakci za horka s destilovanou vodou (v poměru 1 : 2) při 55°C po dobu 6 hodin. Takto se jim podařilo získat nejvíce 7,83% kolagenního materiálu a nejvyšší hodnota pevnosti gelu byla 294Bloom. [1]

Chakka, Muhammed, Sakhare, Bhaskar (2017) extrahovali želatinu z kuřecích nohou pomocí různých potravinářských kyselin (kyselina octová, citrónová a mléčná) o různých koncentracích. Opracování probíhalo tak, že materiál nejprve opláchli vodou a poté rozemleli mlýnkem na maso. Takto připravenou surovinu nechali v 0,5M roztoku NaOH 20 hodin. Poté opracovávali buď 1,5; 3; 4,5% roztokem kyselin po dobu přibližně 18 hodin. Želatinu extrahovali 20 minut při 55°C. Nejlepší výtěžnost měli s 4,5% roztokem kyseliny mléčné a to 14,47% a nejnižší s 1,5 % roztokem kyseliny octové a to 6,59%. Nejlepší výsledky pevnosti gelu byly u jednotlivých kyselin s 1,5% kyselinou octovou 204Bloom, 4,5% kyselinou citrónovou 166Bloom a s 1,5% kyselinou mléčnou 164Bloom. [2]

Pokud se zvolí správné podmínky, může se takto připravená želatina v pevnosti gelů rovnat želatině vyráběné z vepřových, hovězích kostí a kůží. Proto by se mohla kuřecí želatina použít v podstatě ve všech odvětvích tak jako vepřová a hovězí. To znamená v potravinářství, ve fotografickém průmyslu nebo v kosmetickém průmyslu. Navíc by se v potravinářství mohla použít jako Halal – Košer želatina.

ZÁVĚR

Bakalářská práce byla rozdělena na dvě části. První, teoretická část byla zaměřena na produkci a spotřebu masa ve světě. Věnovala se výrobě strojně opracovaného kuřecího masa. Popisovala nakládání s vedlejšími živočišnými produkty a možnosti jejich dalšího využití.

Druhá, praktická část byla zaměřena na alkalicko-enzymatické opracování kostního separátu získaného jako vedlejší produkt při strojním opracování kuřecího masa. Alkalické opracování bylo prováděno pomocí 0,03M roztoku NaOH. Navazující enzymatické opracování bylo prováděno dvěma enzymy. Nejdříve byl použit enzym Lipolase v množství 5%. Poté byl použit proteolytický enzym Protamex, kterého v jednotlivých experimentech bylo různé množství, a to od 0,6% do 2,4%. Enzymatické opracování se nelišilo pouze množstvím enzymu, ale i dobou opracování pohybující se v rozmezí od 72 po 216 hodin, opracování se provádělo při 10°C. Takto získaný produkt byl zfiltrován. Získanými podíly byly hydrolyzát a pevný podíl. Tento pevný podíl byl extrahován vodou. Extrakcí byly získány kapalné podíly želatiny 1., 2. frakce a pevný nerozložený podíl. U želatiny 1. frakce, která byla získána po 90 minutách extrakce při teplotě 80°C, byly zjišťovány další vlastnosti dle metodiky GMIA. Jedním z nejdůležitějších parametrů želatiny je pevnost gelu, její hodnota v jednotlivých měřeních byla od 87 do 266Bloom. Účinnost extrakce 1. frakce želatiny byla u jednotlivých experimentů od 21,4% do 31,6%. Nejlepšího výsledku účinnosti extrakce 31,6% bylo dosaženo při 72 hodinovém opracování s 2,4 % enzymu Protamex, hodnota pevnosti gelu byla 140Bloom. Nejlepšího výsledku pevnosti gelu 266Bloom bylo dosaženo při použití 0,6% enzymu Protamex a době opracování 72 hodin.

Pokud bychom ji chtěli takto získanou želatinu použít pro praxi, musela by být podrobena ještě dalšímu ověřování, hlavně mikrobiologickému. Z toho, co ale bylo zjištěno v této práci, by tento postup mohl mít pro praktické použití velké uplatnění. Bylo totiž dosaženo celkem dobré účinnosti extrakce i pevnosti gelu. Jak je vidět i z dalších prací, možnosti extrakce želatiny z vedlejších živočišných produktů jsou, a želatina takto vyrobená by mohla najít uplatnění v dalším zpracování.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ALMEIDA, Poliana Fernandes, DA SILVA LANNES, Suzana Caetano. Extraction and Physicochemical Characterization of Gelatin from Chicken By-Product. *Journal of Food Process Engineering*. *Journal of Food Process Engineering* [online]. 2013, 36(6), 824-833 [cit. 15.4.2019]. Dostupný z: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/abs/10.1111/jfpe.12051>
- [2] CHAKKA, Ashor Kumat, MUHAMMED, Ali, SAKHARE, P.Z., BHASKAR, Narayan. Poultry Processing Waste as an Alternative Source for Mammalian Gelatin: Extraction and Characterization of Gelatin from Chicken Feet Using Food Grade Acids. *Waste and Biomass Valorization* [online]. 2017, 8(8), 2583–2593 [cit. 26.4.2019]. Dostupný z: <https://link-springer-com.proxy.k.utb.cz/article/10.1007%2Fs12649-016-9756-1>
- [3] DANHONG, Chen, ADLER, David. Demand Growth for Animal Products in the BRIC Countries. *Agribusiness* [online]. 2014, 30(1), 85–97 [cit. 26.4.2019]. Dostupný z: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/epdf/10.1002/agr.21368>
- [4] EUR-Lex, NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1243/2007: Ze dne 24. října 2007 [online]. 2007 [cit. 5.11.2018]. Dostupný z: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2007/1243/oj?locale=cs>
- [5] FERRATO, Vincenza, ANTON, Marc, Santé-Lhoutellier, Veronique. The „sisters“ a-helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: Functionality, bioactivity and trends of application. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2016, 51, 65-75 [cit. 6.1.2019]. Dostupný z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0924224415300996>
- [6] FIEDOR, Jiří. *Odpadové hospodářství I*. Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, 2012. ISBN 978-80-248-2573-1.
- [7] Global Meat Production and Consumption Continue to Rise. In: *Worldwatch Institute* [online]. 2. 4. 2019 [cit. 10.4.2019]. Dostupný z: <http://www.worldwatch.org/global-meat-production-and-consumption-continue-rise>
- [8] GME. *Gelatine Manufacturers of Europe* [online]. 2019 [cit. 26.3.2019]. Dostupné z: <https://www.gelatine.org/en.html>
- [9] GMIA *Gelatine Manufacturers Institute of America*. [online]. 2019 [cit. 28.4.2019]. Dostupné z: <http://www.gelatin-gmia.com/>

- [10] GUSTAVSSON, Jenny, CEDERBERG, Christel, SONESSON, Ulf, van OTTERDIJK, Robert, MEYBACK, Alexandre. *Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention* [online]. Food and Agricultural Organisation: Rome, 2011. [cit. 26.4.2019]. Dostupný z: <http://www.fao.org/3/mb060e/mb060e00.pdf>
- [11] Hages pro Českou republiku. Želatina [online]. 2005 [cit. 6.12.2018]. Dostupné z: <http://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>
- [12] HAMILTON C.R. Real and perceived issues involving animal proteins. *Protein sources for the animal feed industry* [online]. FAO, © 2003 [cit. 6.12.2018]. Dostupný z: <http://www.fao.org/3/y5019e/y5019e0g.htm#bm16>
- [13] HULÁNKOVÁ, Radka. *Strojně oddělené maso. Hygiena a technologie drůbeže, králíků a zvěřiny* [online]. 2013 [cit. 3.5.2019]. Dostupné z: https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/VY_04_217.pdf
- [14] JAYATHILAKAN, K, SULTANA, Khudsia,, BAWA, A S. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2012, 49(3), 278–293 [cit. 20.2.2019]. Dostupné z: <https://search-proquest-com.proxy.k.utb.cz/docview/928750683?pq-origsite=summon>
- [15] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007. ISBN: 80-7080-509-9.
- [16] LAPČÍK, Ľubomír, RAAB, Miroslav. *Nauka o materiálech II*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2004. ISBN 80-7318—229-7.
- [17] LÁTA, J a kol. *Technologie masa*. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1984.
- [18] Livestock production. *World Agriculture: towards 2015-2030* [online]. 2003 [cit. 12.12.2018]. Dostupný z: <http://www.fao.org/3/y4252e/y4252e00.htm#TopOfPage>
- [19] LUDASOVÁ, Denisa. *Dopad živočišné výroby na životní prostředí* [online]. 2011 [cit. 11.10.2018]. Dostupný z: https://www.rozvojovka.cz/download/pdf/pdfs_372.pdf
- [20] MÍKOVÁ, Kamila. Strojně oddělené drůbeží maso. *Výživa a potraviny* [online]. 2013, 68(3), 42-43. [cit. 15.4.2019]. Dostupný z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/strojne-oddelene-drubezi-maso.aspx>

- [21] MOKREJŠ, Pavel, LANGMAIER, Ferdinand. *Aplikace přírodních polymerů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. ISBN 978-80-7318-674-6.
- [22] Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Úřední věstník Evropské unie [online]. 2004 [cit. 9.11.2018]. Dostupný z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32004R0853>
- [23] Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1069/2009 ze dne 21. října 2009, o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu, které nejsou určeny k lidské spotřebě. Úřední věstník Evropské unie [online]. 2009 [cit. 9.11.2018]. Dostupný z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:300:0001:0033:CS:PDF>
- [24] OCKERMAN, Herbert W., HANSEN, Conly L. *Animal By-Product & Utilization*. Boca Raton: CRC Press, 2000. ISBN 1-56676-777-6.
- [25] OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027. Chapter 6. Meat [online]. © OECD/FAO 2018 [cit. 24.1.2019]. Dostupný z: http://www.fao.org/3/i9166e/i9166e_Chapter6_Meat.pdf
- [26] PIPEK, Petr. *Základy Technologie masa*. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska ve Vyškově, 1998. ISBN 80-7231-010-0.
- [27] RITCHIE, Hannah, ROSER, Max. Meat and Seafood Production & Consumption. In: *OurWorldInData.org* [online]. 2019 [cit. 26.4.2019]. Dostupný z: <https://ourworldindata.org/meat-and-seafood-production-consumption>
- [28] Roste výroba elektřiny z obnovitelných zdrojů. In: *Český statistický úřad* [online]. 8. 10. 2014 [cit. 5.10.2018]. Dostupný z: https://www.czso.cz/csu/czso/roste_vyroba_elektriny_z_obnovitelnych_zdroju_20141008
- [29] SCHRIEBER, R, GAREIS H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag 2007. ISBN 978-3-527-31548-2.
- [30] Spotřeba potravin 2016. In: *Český statistický úřad* [online]. 30. 11. 2016 [cit. 10.11.2018]. Dostupný z: <https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin-2016>
- [31] STEINHAUSER, Ladislav a kol. *Hygiena a technologie masa*. Brno: Last, 1995. ISBN 80-900260-4-4.
- [32] SVOBODOVÁ, Irena. *Vybrané kapitoly z veterinární prohlídky jatečných zvířat a masa* [online]. Brno: Fakulta veterinární hygieny a ekologie 2014. [cit. 2.5.2019].

Dostupný z: <https://fvhe.vfu.cz/files/vybrane-kapitoly-z-veterinarni-prohlidky-jatecných-zvirat-a-masa.pdf>

- [33] TOLDRÁ, Fidel, MORA, Leticia, REIG, Milagro. New insights into meat by-product utilization. *Meat Science* [online]. 2016, 120, 54-59 [cit. 26.4.2019]. Dostupný z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0309174016301140>
- [34] TOŠENOVSKÝ, Josef. *Plánování experimentů* [online]. Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, 2012. [cit. 2.5.2019]. Dostupný z: <http://www.person.vsb.cz/archivcd/FMMI/DOE/Planovani%20experimentu.pdf>
- [35] VELÍŠEK, Jan, HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin I*. Tábor: Osis, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [36] YUE, Jian-ying, WANG, Jin-zhi, ZHANG, Chun-hui, JIA, Wei, LI, Xia, SUN, Zhen. Effects of Hot-Pressure Extraction Time on Composition and Gelatin Properties of Chicken Bone Extracts. *Journal of Food Science* [online]. 2017, 82(5) [cit. 26.4.2019]. Dostupný z: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/full/10.1111/1750-3841.13687>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

FAO	Organizace pro výživu a zemědělství
ČSÚ	Český statistický úřad
SOM	Strojně oddělené maso
BSE	Bovinní spongiformní encefalopatie
TSE	Transmisivní spongiformní encefalopatie
DSOM	Drůbeží strojně oddělené maso
AMK	Aminokyselinové zbytky
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetrie
NaOH	Hydroxid sodný
NaCl	Chlorid sodný
HCl	Kyselina chlorovodíková
T _m	Teplota tání

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Graf Spotřeba masa v hodnotě na kosti	15
Obrázek č. 2: Graf Ztráty na masných výrobcích během celého potravinového řetězce v různých regionech	16
Obrázek č. 3: Pistový, bubnový a šnekový separátor	19
Obrázek č. 4: Vícestupňová separace	20
Obrázek č. 5: Schéma postupu opracování kostí ze separace	36
Obrázek č. 6: Stevens – LFRA analyzátor	42
Obrázek č. 7: Vzorčky gelů	45
Obrázek č. 8: Významnost sledovaných faktorů na účinnosti extrakce.....	48
Obrázek č. 9: Vrstevnicový graf výtěžku extrakce.....	49
Obrázek č. 10: Význam faktorů na pevnost gelu.....	50
Obrázek č. 11: Vliv faktorů na pevnost gelu.....	51
Obrázek č. 12: Vrstevnicový graf pevnosti gelu	52
Obrázek č. 13: Vrstevnicový graf viskozity.....	53

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Spotřeba masa podle druhu (v kg na osobu, ekvivalent hmotnosti těla).....	14
Tabulka 2: Složení masa slepic a kuřat.....	18
Tabulka 3: Rozpis cyklů opracování enzymem Lipolase	38
Tabulka 4: Množství a koncentrace roztoku k úpravě pH.....	40
Tabulka 5: Technologické podmínky a výtěžek extrakcí.....	46
Tabulka 6: Vlastností želatiny – gelu.....	47

SEZNAM PŘÍLOH

PI materiálový list enzymu Lipolase

PII materiálový list proteolytický enzym Protamex

PŘÍLOHA P I: MATERIÁLOVÝ LIST ENZYMU LIPOLASE

Product Sheet

Lipolase™

Popis

Lipolase je lipáza používaná v recepturách detergentů k usnadnění odstranění skvrn obsahujících tuk a olej, jako jsou ty, které pochází z přepáleného oleje, salátového oleje, másla, omáček, polévek, kožního mazu a kosmetických přípravků. Skvrny, které obsahují tuk, je kvůli jejich hydrofobní povaze složité odstranit praním, především při nízkých teplotách a mírné alkalitě. Lipolase hydrolyzuje tuky rozštěpením esterových vazeb na 1 a 3 pozici triglyceridových molekul. Produkty hydrolyzy jsou mono- a diglyceridy, glycerol a volné mastné kyseliny, které jsou snadno rozpuštěny nebo dispergovány v pracím roztoku. Enzym má širokou substrátovou specifičnost podporující hydrolyzu široké škály tuků a olejů.

Lipolase je lipáza s *Thermomyces lanuginosus* produkovaná submerzní fermentací geneticky modifikovaného mikroorganismu *Aspergillus oryzae*.

Vlastnosti produktu

Typy produktu

Lipolase je k dispozici jak v granulované, tak i kapalné formě:

Lipolase 100 T Deklarovaná aktivita: 100 KLU/g

Lipolase 100 L, Type EX Deklarovaná aktivita: 100 KLU/g

Aktivita

Lipolytická aktivita je vyjádřena v Kilo Lipázových jednotkách (KLU). Lipolase neobsahuje žádné výrazné postranní aktivity. Lipolytická aktivita je stanovena vzhledem k enzymovému standardu za následujících podmínek:

Substrát: tributyrin

Teplota 30 °C

pH 7,0

Novozymes používá pH-stat metodu pro měření standardizované aktivity Lipolase. Analytickou metodu lze získat na vyžádání.

Standardní balení

Granulovaný výrobek: 40 kg

Kapalný výrobek: 25 kg

Aplikace

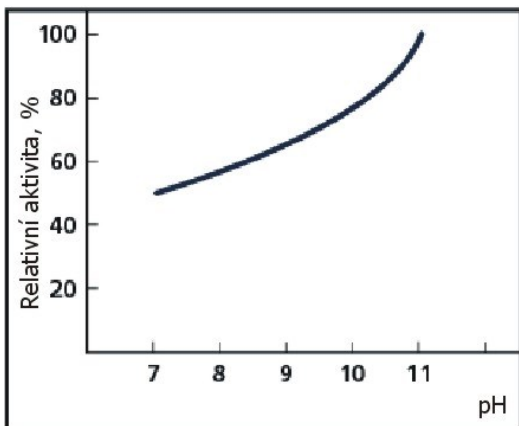
Informace o aplikaci Lipolase jsou k dispozici v aplikačním listu: Lipolase – aplikace v detergitech pro domácí praní.

Vlastnosti enzymu

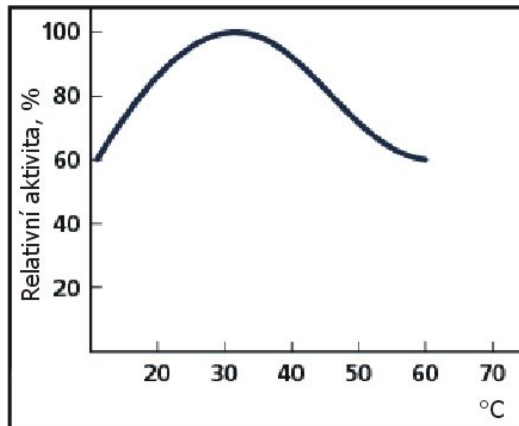
Lipolase je 1,3-specifická lipáza. Jinými slovy štěpí esterové vazby triglyceridu na pozicích 1 a 3.

Aktivita ve vztahu k teplotě a pH

Jak ukazuje obrázek 1, je Lipolase aktivní při všech pH hodnotách běžně se vyskytujících v detergen-
tech pro prádelny. Jak je vidět na obrázku 2, je teplotní křivka velmi plochá, což znamená, že teplota
nemá dramatický vliv na aktivitu Lipolase v rozsahu největšího zájmu pro aplikaci detergentů.



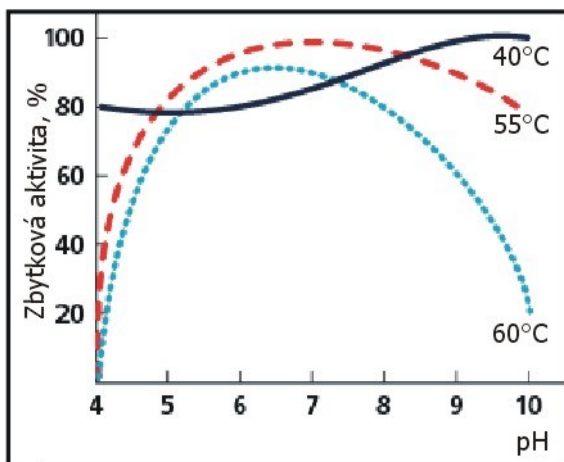
Obr.1. Aktivita Lipolase při různých pH hodnotách.
Stanoveno podle SM-0095, ale s různými pH hodnotami.



Obr.2. Aktivita Lipolase při různých teplotách.
Stanoveno podle SM-0095, ale s jinými teplotami.

Stabilita

Obrázek 3 ukazuje, že je Lipolase velmi stabilní ve vodných roztocích při teplotách do 55 – 60 °C. Nečekává se žádná zratelná ztráta aktivity během běžného kontaktního času v automatické pračce (10 - 30 minut) při teplotách pod 55 °C a pH hodnotách pod 11. Mělo by být zdůrazněno, že křivky aktivity odpovídají specifickým podmínkám používaným při laboratorních pokusech. Při jiných podmínkách a s jinými substráty jsou očekávány odchylky od těchto křivek.



Obr.3. Zbytková aktivita Lipolase po dvou hodinách skladování při různých teplotách a pH hodnotách.

Koncentrace enzymu během skladování: 14 LU/ml
Stanovení aktivity podle SM-0095

Bezpečnost

Produkt je vyráběn za hygienických podmínek a je předmětem přísné kontroly kvality.

Toxikologie

Produkt je vyráběn nepatogenním mikroorganismem a je klasifikován jako netoxický.

Bioodbouratelnost

Výrobky jsou bioodbouratelné.

Zacházení

Enzymy jsou proteiny a vdechnutí prachu nebo aerosolu může vyvolat senzibilizaci a může být příčinou alergické reakce u citlivých jedinců. Některé enzymy mohou při déletrvajícím kontaktu dráždit kůži, oči a sliznice.

T-granuláty jsou vyvinuty tak, aby odolávaly mechanickým vlivům, avšak nadměrné mechanické namáhání nebo drcení může vytvořit prach. Velká rozsypaná množství granulátu by měla být jemně smetena do plastových obalů. Použijte respirační ochranu. Malá rozsypaná množství a zbytky velkých rozsypaných množství by měly být odstraněny vysáváním nebo spláchnuty vodou (vyhněte se stříkání). Vysavače a centrální vysávací systémy by měly být vybaveny HEPA filtry.

Kapalné enzymové produkty mohou vytvořit snadno vdechnutelné aerosoly, pokud jsou stříkány nebo intenzivně míchány. Rozlitý preparát může uschnout a vytvořit prach. Rozlitý preparát by proto měl být spláchnut vodou (vyvarujte se stříkání).

Bezpečnostní list enzymu je dodáván ke všem výrobkům.

Skladování

Enzymy postupně ztrácejí aktivitu v závislosti na teplotě skladování a vlhkosti. Doporučovány jsou suché a chladné podmínky. Pokud je enzymový preparát skladován v uzavřených obalech při teplotě 25 °C, uchová si svoji deklarovanou aktivitu po dobu nejméně 3 měsíců. Při nižší skladovací teplotě stabilita roste. Dlouhodobé skladování anebo zhoršené podmínky, zahrnující vyšší teploty nebo vysokou vlhkost, mohou vést k nutnosti vyššího dávkování.

Enzymové preparáty by neměly být delší dobu ponechány na přímém slunečním světle. Kapalné preparáty by neměly zmrznout.

Registrace

Chemický katalog

Složky Lipolase jsou zapsány v příslušných katalozích, např. EINECS a TSCA.

CAS a EC čísla

Lipolase je klasifikována v Chemical Abstracts Service Registry jako „Lipase, triocylglycose“ CAS číslo 9001-62-1. Odpovídající klasifikační číslo enzymu (Mezinárodní biochemická unie) je EC 3.1.1.3.

EEC klasifikace

V koncentrované formě jsou granulované a kapalné produkty Lipolase klasifikovány jako „senzitivizéry vdechnutím“ podle EEC direktivy 88/379.

Distributor: **Ekozym, s.r.o.**
Říčanská 237, 763 12 Vizovice
Tel. 577 001 014, Fax 577 001 033
www.ekozym.cz
ekozym@ekozym.cz

Zákony, předpisy a práva třetích stran mohou bránit zákazníkům v dovozu, zpracování, aplikaci anebo dalšímu prodeji určitých výrobků uvedeným způsobem. Je zodpovědnost zákazníků, že jejich specifické použití výrobků Novozymes neporuší odpovídající zákony a předpisy a dále, že neporuší patenty nebo jiná práva třetích stran.

Obsah tohoto dokumentu může být změněn bez předchozího oznámení.

Výrobce: Novozymes A/S
Krogshøjvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark
Tel. +45 8824 9999
enzymes@novo.dk
www.novozymes.com

PŘÍLOHA P II: MATERIÁLOVÝ LIST PROTEOLYTICKÝ ENZYM PROTAMEX

Special Food / 2001-08284-03.pdf

Product Sheet

Page 1:3



Protam ex[®]

Description

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

Product Properties

Product Type

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

Activity

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

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

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

Purity

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

Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

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

Reaction Parameters

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

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

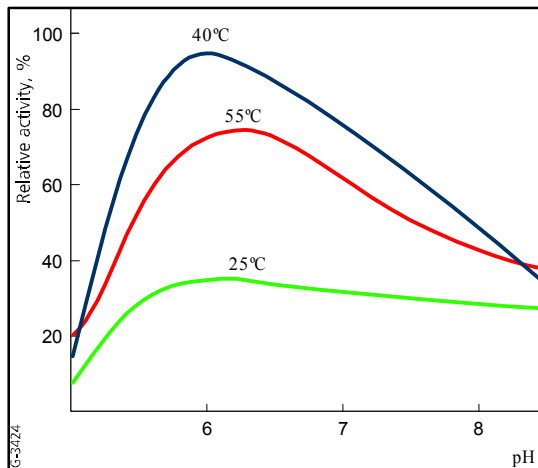


Fig. 1. Influence of pH at various temperatures on the activity of Protamex.

Method: AF 4

Substrate: Denatured hemoglobin

Inactivation

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

Safety

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

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

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

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

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

Storage

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