

# **Příprava potravinářských želatin z netradiční kolagenní suroviny**

Bc. Terezie Miklášová

---

Diplomová práce  
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Terezie Miklášová
Osobní číslo:	T19472
Studijní program:	N0721A210004 Technologie potravin
Studijní obor:	Technologie potravin
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Příprava potravinářských želatin z netradiční kolagenní suroviny.

### Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární studii o technologických podmínkách extrakce želatin z různých surovinových zdrojů, vlastnostech želatin, zpracovatelských technikách a aplikacích želatin.
2. Na základě předchozích výsledků při řešení problematiky zpracování kufecích vedlejších produktů navrhnete procesní podmínky přípravy želatin ze zadaného surovinového zdroje. Studujte podmínky extrakce želatiny s vybranými procesními parametry.
3. Vyhodnoťte stupeň konverze suroviny na želatiny. Zaměřte se detailní charakterizaci připravených želatin, zejména na vlastnosti, které jsou důležité pro vlastnosti produktů vyrobených z želatin, zejména v potravinářském průmyslu.
4. Výsledky měření zpracujte vhodným softwarem, proveďte diskusi a zhodnoťte přínos práce pro praxi.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] Schrieber R.; Gareis H.: *Gelatin Handbook. Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH, Weinheim 2007
- [2] Ockerman H. W.; Hansen C. L.: *Animal By-Product Processing & Utilization*. Woodhead Publishing, London 2000
- [3] Gómez-Gullén, M.C.; Giménez, B.; López-Caballero, M.E.; Montero, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll.* 2011, 25, 1813-1827
- [4] Jayathilakan, K.; Sultana, K.; Radhakrishna, K.; Bawa, A.S. Utilization of by products and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. *J. Food Sci. Technol.* 2012, 49, 278-293
- [5] Sarbon, Mhd.N.; Badli, F.; Howell, K.N. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocoll.* 2013, 30, 143-151
- [6] Widjasa, R.; Rawdkuen, S. Extraction and characterization of gelatin from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. *Food Applied Biosci. J.* 2014, 2, 83-95

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

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

LS.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 8. února 2021

## PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

### Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce se zabývá přípravou želatin z netradiční suroviny, kterou jsou skelety kaprů obecných. V části teoretické je popsána technologie zpracování ryb a rybí výrobky, dále vedlejší produkty vznikající z tohoto zpracování a jejich využití v různých oborech. Všemu předchází kapitola o odpadech. Část praktická se zaměřuje na přípravu hydrolyzátů a želatin extrakcí enzymaticky opracované suroviny enzymem Protamex. Cílem práce byla příprava želatiny s vhodnými vlastnostmi pro využití v potravinářství. Sledovanými procesními faktory byly množství přidaného enzymu a koncentrace kyseliny chlorovodíkové. Vhodnou kombinací faktorů se podařilo vyextrahovat želatinu s pevností gelu 169 Bloom, kterou je možné aplikovat nejen v potravinářském průmyslu. Naměřené výsledky byly porovnány s výsledky publikovanými v odborné literatuře.

Klíčová slova: želatina, vedlejší produkty z ryb, potravinářství, příprava, vlastnosti, enzymové opracování, extrakce, procesní podmínky

## **ABSTRACT**

The diploma thesis deals with the preparation of gelatins from a non-traditional raw material, which are common carp skeletons. The theoretical part describes the technology of fish processing and fish products, further off by-products arising from this processing and their use in various fields. Everything is preceded by a chapter about by-products from the food industry and their division. The practical part focuses on the preparation of hydrolysates and gelatins by extraction of enzymatically treated raw material with the enzyme Protamex. The aim of the work was the preparation of gelatin with suitable properties for use in the food industry. The procedural factors monitored were the amount of enzyme added and the concentration of hydrochloric acid. A suitable combination of factors succeeded in extracting gelatin with a gel strength of 169 Bloom, which can be applied not only in the food industry. The measured results were compared with the results published in the literature.

Keywords: gelatine, fish by-products, food industry, preparation, properties, enzyme processing, extraction, procedural conditions

Tímto bych ráda poděkovala především mému vedoucímu práce prof. Ing. Pavlu Mokrejšovi Ph.D. za odborné a inspirativní rady, velkou trpělivost a čas strávený konzultacemi. Dále velké díky patří paní Miroslavě Žaludkové a Petře Elšíkové za pomoc a cenné rady v laboratoři. V neposlední řadě bych ráda poděkovala celé své rodině a příteli za obrovskou podporu během celého studia.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
<b>1 VEDLEJŠÍ PRODUKTY Z POTRAVINÁŘSKÝCH VÝROB .....</b>	<b>11</b>
1.1 DEFINICE, DĚLENÍ A KATEGORIZACE .....	11
1.1.1 Definice .....	11
1.1.2 Dělení .....	12
1.1.3 Katalog odpadů a kategorizace vzniklých materiálů .....	13
1.2 ZPRACOVÁNÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU .....	14
1.2.1 Masný průmysl.....	14
1.2.2 Mlékárenský průmysl.....	15
1.2.3 Cukrovarnický průmysl.....	15
1.2.4 Zpracování ovoce a zeleniny.....	16
1.3 NAKLÁDÁNÍ S ODPADY .....	16
1.3.1 Obecné povinnosti při nakládání s odpady .....	16
1.3.2 Povinnosti původců odpadů .....	17
1.3.3 Odpady potravinářského průmyslu .....	18
1.3.4 Poplatky za ukládání odpadu .....	18
1.4 PRODUKCE, VYUŽITÍ A ODSTRANĚNÍ ODPADŮ V ČÍSLECH .....	19
<b>2 ZPRACOVÁNÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ Z RYB .....</b>	<b>22</b>
2.1 SPOTŘEBA RYB U NÁS A VE SVĚTĚ .....	22
2.2 NUTRIČNÍ VÝZNAM RYB .....	22
2.3 RYBY A JEJICH ZPRACOVÁNÍ.....	23
2.3.1 Dělení ryb.....	23
2.3.2 Technologie zpracování ryb .....	24
2.3.3 Rybí výrobky.....	24
2.4 ZPRACOVÁNÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ Z RYB .....	27
2.4.1 Organické vedlejší produkty .....	27
2.4.2 Anorganické vedlejší produkty .....	29
2.4.3 Odpadní vody .....	29
2.4.4 Zpracování vedlejších produktů z ryb na želatinu .....	30
<b>3 FUNKČNÍ VLASTNOSTI A APLIKACE ŽELATIN.....</b>	<b>33</b>
3.1 GELOVÉ VLASTNOSTI A VLASTNOSTI VÁZAJÍCÍ VODU .....	33
3.2 POVRCHOVÉ VLASTNOSTI.....	34
3.3 APLIKACE ŽELATIN .....	35
3.3.1 Aplikace želatin v potravinářství .....	35
3.3.2 Další aplikace želatin .....	36
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>37</b>
<b>4 ZHODNOCENÍ LITERÁRNÍ STUDIE A CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>38</b>

<b>5</b>	<b>MATERIÁL, METODY A POSTUP PRÁCE.....</b>	<b>39</b>
5.1	SUROVINA .....	39
5.2	PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE .....	40
5.3	METODIKA PRÁCE .....	40
5.4	POSTUP PRÁCE ZPRACOVÁNÍ SUROVINY .....	41
5.4.1	Příprava čistého kolagenu .....	43
5.4.2	Příprava demineralizovaného kolagenu .....	43
5.4.3	Extrakce želatin .....	44
5.5	ANALÝZY SUROVIN A PRODUKTŮ .....	45
5.5.1	Stanovení obsahu sušiny .....	45
5.5.2	Stanovení obsahu popelovin .....	45
5.5.3	Stanovení pevnosti gelu .....	46
5.5.4	Stanovení teploty tání gelu.....	47
5.5.5	Stanovení dynamické viskozity.....	47
5.5.6	Stanovení teploty tuhnutí .....	47
5.5.7	Stanovení celkové účinnosti extrakce .....	48
5.5.8	Stanovení bilanční chyby .....	48
5.5.9	Vodu zadržující kapacita (WHC).....	48
5.5.10	Tuk vázací kapacita (FBC).....	49
5.5.11	Pěnotvorná kapacita (FC) a stabilita pěny (FS) .....	49
5.5.12	Emulzifikační kapacita (EC) a stabilita emulze (ES).....	50
5.5.13	Stravitelnost.....	50
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>52</b>
6.1	CELKOVÁ ÚČINNOST EXTRAKCE.....	59
6.2	VÝTĚŽNOST.....	60
6.3	PEVNOST GELU .....	63
6.4	VISKOZITA .....	66
6.5	VÝSLEDKY OSTATNÍCH ANALÝZ.....	69
<b>7</b>	<b>ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A VÝZNAM PRO PRAXI.....</b>	<b>70</b>
7.1	POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ S LITERÁRNÍMI ZDROJI .....	70
7.2	NÁVRH PROCESNÍCH PODMÍNEK PRO DALŠÍ VÝZKUM .....	73
7.3	NÁVRH APLIKACÍ ŽELATIN PRO POTRAVINÁŘSKÝ PRŮMYSL .....	75
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>76</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>77</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>87</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>89</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>90</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>91</b>



## ÚVOD

Želatina je jeden z nejznámějších a nejpoužívanějších biopolymerů. Želatiny jsou přírodní amfifilní makromolekuly a lze je získat parciální hydrolyzou kolagenu. Ačkoli želatiny mají podobné složení aminokyselin jako kolageny, mají odlišné reologické, emulgační a gelové vlastnosti. Kvalita želatiny je průmyslově určena pevností gelu, viskozitou, teplotou tání nebo gelovatění, obsahem vody a mikrobiologickou bezpečností. Pro výrobce želatiny je důležitý také výtěžek z konkrétní suroviny. Komerční želatiny jsou vyráběné ze savců. Takové želatiny jsou odmítány některými konzumenty. Ať se jedná o stravovací, náboženské či kulturní důvody, je savčí želatina nepřijatelná a hledá se její alternativa. Touto alternativou by mohla být právě rybí želatina. Rybí želatina má však horší vlastnosti než želatina komerční, proto je nutné najít optimální podmínky pro její výrobu, aby se tak mohla používat nejen v potravinářství ale i dalších odvětví průmyslu. Při zpracování vedlejších produktů z ryb se používá velké množství chemikálií, které zatěžují životní prostředí stejně jako nevyužitý odpad vzniklý po zpracování ryb. V této diplomové práci byl právě proto postup navržen i s ohledem na ekologii a zahrnuje enzymatické opracování suroviny a použití velmi nízkých koncentrací kyselin a zásad. K výrobě želatiny byly použity skelety kapra obecného, nejhojnější ryby českých vod, které jsou odpadem při zpracování ryb. Studie ukázaly, že ryby žijící ve vodách o různé teplotě poskytují želatiny různé kvality. Teplovodní ryby, kterou je i kapr obecný, poskytují želatiny s lepšími vlastnostmi než želatiny získané ze studenovodních ryb. V práci byla pozornost zaměřena na demineralizaci suroviny kyselinou chlorovodíkovou o různé koncentraci a opracování suroviny různým množstvím enzymu v procesu kondicionování a jejich vlivem na výtěžnost a vlastnosti získaných želin.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 VEDLEJŠÍ PRODUKTY Z POTRAVINÁŘSKÝCH VÝROB

Podle zákona 541/2020 Sb. o odpadech, je vedlejší produkt movitá věc, která vznikla při výrobě, jejímž prvotním cílem není výroba nebo získání této věci a není odpadem, pokud vzniká jako nedílná součást výroby; je její další využití zajištěno; je její další využití možné bez dalšího zpracování způsobem jiným, než je běžná výrobní praxe; je její další využití v souladu s jinými právními předpisy nebo přímo použitelnými předpisy Evropské unie a nepovede k nepříznivým dopadům na životní prostředí nebo zdraví lidí a jsou splněna kritéria pro jednotlivé materiály pro posouzení splnění podmínek podle písmen a) až d), pokud jsou stanovena prováděcím právním předpisem nebo přímo použitelným předpisem Evropské unie; splnění těchto kritérií je ověřeno vzorkováním a zkoušením nebo jiným způsobem stanoveným prováděcím právním předpisem nebo přímo použitelným předpisem Evropské unie a je vypracována průvodní dokumentace v rozsahu stanoveném prováděcím právním předpisem nebo přímo použitelným předpisem Evropské unie [1].

Zákon v USA uvádí, že vedlejší produkt je jakýkoli další produkt, kromě hlavního nebo zamýšleného produktu, který je výsledkem těžebních nebo výrobních činností a který má tržní hodnotu, bez ohledu na to, zda takový dodatečný výrobek byl očekávaným nebo zamýšleným výsledkem těžby nebo výrobní činnosti [2].

### 1.1 Definice, dělení a kategorizace

#### 1.1.1 Definice

Vedlejší produkty živočišného původu jsou materiály živočišného původu, které lidé nekonsumují. VP živočišného původu zahrnují mimo jiné krmivo pro zvířata (např. na základě rybí moučky a zpracovaných živočišných bílkovin), organická hnojiva a půdní přídatky (např. hnůj, guáno) a jiné výrobky (krmivo pro mazlíčky, kůže, vlna, krev). V EU se ročně vyprodukuje více než 20 milionů tun vedlejších produktů živočišného původu z jatek, mlékáren a jiných závodů vyrábějících potraviny pro lidskou spotřebu [3].

Podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, vznikají vedlejší produkty živočišného původu zejména při porážení zvířat k lidské spotřebě, při výrobě produktů živočišného původu, jako jsou mléčné výrobky, při neškodném odstraňování mrtvých zvířat a během opatření pro tlumení

nákaz. Bez ohledu na původ představují tyto produkty potenciální riziko pro zdraví lidí a zvířat (v souvislosti se vzplanutím slintavky a kulhavky, se šířením přenosných spongiformních encefalopatií jako je BSE, a s výskytem dioxinů v krmivech) a pro životní prostředí. Toto riziko je třeba vhodně zvládat, buď neškodným odstraněním těchto produktů bezpečnými prostředky, nebo jejich využitím pro jiné účely za předpokladu, že jsou dodrženy přísné podmínky, které snižují zdravotní rizika spojená s těmito produkty na minimum. Toto nařízení se vztahuje na vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které podle právních předpisů Společenství nejsou určeny k lidské spotřebě a následující produkty, které jsou na základě nevratného rozhodnutí provozovatele určeny k jiným účelům než k lidské spotřebě jako jsou produkty živočišného původu, které mohou být na základě právních předpisů Společenství určeny k lidské spotřebě a suroviny pro výrobu produktů živočišného původu [4].

Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č.1069/2009 definuje vedlejší produkty živočišného původu jako 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 [4].

### 1.1.2 Dělení

Vedlejší produkty lze dělit podle skupenství

- a) Pevné (tuhé) – lze sem zařadit nejen tuhé odpady biologického původu, ale i tuhé odpady ze zemědělství a lesního hospodářství, průmyslu, komunální a bytové sféry. Co se týče potravinářského průmyslu, můžeme sem zařadit kosti, šlachy, kůže, kopyta, vnitřnosti, rohy aj. vedlejší produkty masného průmyslu, z cukrovarnického průmyslu vyslazené řízky, mýdlový kal z výroby tuků a olejů, mláto z výroby sladu a piva apod.,
- b) Kapalné – řadí se sem zejména čistírenské kaly vznikající v čističkách odpadních vod. V masném průmyslu se jedná především o krev, ale spadá sem i odpadní voda, která obsahuje bílkoviny, tuky i mikroorganismy a například při zpracování mléka vzniká jako vedlejší produkt syrovátka atd.,
- c) Plynné – plynné spalitelné odpady prakticky v průmyslovém měřítku nevznikají, a pokud vznikají, jsou zpravidla využity jako zdroj tepla přímo v daném průmyslu,
- d) Směsné – směsi plynných, kapalných a tuhých odpadů [5].

### 1.1.3 Katalog odpadů a kategorizace vzniklých materiálů

Potravinářské výroby a technologie prakticky neprodukují nebezpečné odpady a materiály. Převážnou část těchto odpadů lze přepracovat nebo přímo používat jako krmivo hospodářských zvířat. Velkým zatížením pro životní prostředí jsou především odpadní vody z potravinářských technologií. Moderní potravinářská výroba se neobejde bez čistíren odpadních vod [6].

Odpady vznikající z potravinářských výrob a biotechnologií se podle přílohy č. 1 vyhlášky č. 8/2021 Sb., o Katalogu odpadů a posuzování vlastností odpadů (Katalog odpadů), zařazují do skupiny 02 Odpady z prvovýroby v zemědělství, zahradnictví, myslivosti, rybářství, lesnictví a z výroby a zpracování potravin. Zpracovávané rybí skelety by se mohly zahrnout do podskupiny 02 01 02 Odpad živočišných tkání [7].

Vedlejší produkty živočišného původu se zařazují do specifických kategorií, podle toho jaké zdravotní riziko představují pro lidi a zvířata. Vedlejší produkty zařazujeme do 3 kategorií. **Materiál kategorie 1** zahrnuje celá těla a všechny jejich části, včetně kůže a kožek zvířat podezřelých z infekce TSE, usmrcených v souvislosti s TSE, zvířat v zájmovém chovu a zvířat chovaných v zoologických zahradách a cirkusech, zvířat používaných při pokusech a volně žijících zvířat, u nichž existuje podezření na zoonózu. Také sem patří specifikovaný rizikový materiál a celá těla mrtvých zvířat nebo jejich části, které tento materiál obsahují. Vedlejší produkty živočišného původu získané ze zvířat, která byla podrobena nezákonnému ošetření nebo obsahují rezidua jiných látek a látek znečišťujících životní prostředí, která překračují povolenou přípustnou hodnotu a další. Jedná se o nejvíce rizikový materiál. **Materiál kategorie 2** zahrnuje hnůj, nemineralizované guáno a obsah trávicího traktu, též vedlejší produkty živočišného původu sebrané během úpravy odpadních vod ze zařízení nebo podniků zpracovávajících materiál kategorie 2 nebo z jiných jatek. Spadají sem i vedlejší produkty živočišného původu, které obsahují rezidua povolených látek či kontaminantů přesahující přípustné úrovně nebo byly z důvodu výskytu cizích těles v těchto produktech prohlášeny za nevhodné k lidské spotřebě. Dále produkty živočišného původu (kromě materiálů kategorie 1), které jsou dovezeny nebo propuštěny ze třetí země a nesplňují veterinární právní předpisy pro jejich dovoz nebo propuštění do Společenství, kromě případů, kdy právní předpisy Společenství umožňují jejich dovoz nebo propuštění za zvláštních omezení nebo za podmínky jejich návratu do třetí země, nebo byly odeslány do jiného členského státu a nesplňují požadavky stanovené nebo schválené právními předpisy Společenství, kromě

případů, kdy jsou vráceny za povolení příslušného orgánu členského státu. Dále zvířata, která uhynula jinak než porážkou nebo usmrcením k lidské spotřebě, včetně zvířat usmrcených za účelem tlumení nákazy, plody, oocyty, embrya a sperma, které nejsou určeny k chovným účelům a drůbež odumřelá ve vejci. Zařazujeme sem i směsi materiálu kategorie 2 a 3. **Materiál kategorie 3** je nejméně rizikovým materiálem a lze jej využívat s určitým omezením a zahrnuje těla poražených zvířat a jejich části, nebo v případě zvěře těla usmrcených zvířat nebo jejich části, které jsou podle právních předpisů Společenství vhodné k lidské spotřebě, avšak z obchodních důvodů nejsou k lidské spotřebě určeny. Také sem patří vedlejší produkty živočišného původu z drůbeže a ze zajícovců poražených na farmě, krev, placenta, vlna, peří, srst, rohy, odřezky paznehtů a syrové mléko pocházející ze živých zvířat, která nevykazovala žádné příznaky zoonóz, krmiva pro zvířata v zájmovém chovu a krmiva živočišného původu nebo krmiva obsahující vedlejší produkty živočišného původu či získané produkty, které z obchodních důvodů nebo z důvodu problémů způsobených výrobními vadami, vadami balení nebo jinými závadami, z nichž nevzniká žádné riziko pro zdraví lidí ani zvířat, již nejsou určeny ke krmení, vedlejší produkty živočišného původu, které vznikají při výrobě produktů určených k lidské spotřebě, včetně odtučněných kostí, škvarků a kalu z odstředivky a separátoru ze zpracování mléka, produkty živočišného původu nebo potraviny obsahující produkty živočišného původu, které z obchodních důvodů nebo z důvodu problémů způsobených výrobními vadami, vadami balení nebo jinými závadami, z nichž nevzniká žádné riziko pro zdraví lidí ani zvířat, již nejsou určeny k lidské spotřebě apod. [4].

## 1.2 Zpracování vedlejších produktů v potravinářském průmyslu

Potravinářský průmysl zahrnuje velké množství výroben. V této podkapitole jsem se zaměřila na vedlejší produkty a jejich zpracování u vybraných potravinářských závodů.

### 1.2.1 Masný průmysl

Při zpracování masa vzniká velké množství vedlejších produktů, které lze ovšem následně využít buď přímo v potravinářství, nebo v jiných odvětvích průmyslu. Mezi nejznámější vedlejší produkt patří tuk, který je přímo v masném průmyslu zpracováván pro potravinářské účely (hovězí lůj, vepřové sádlo, husí a kachní sádlo) nebo může být předán do tukařského průmyslu. Dalším vedlejším produktem je krev, která se může chemicky stabilizovat proti srážení a pak zpracovávat k lidské výživě (krevní masné výrobky, konzervy) nebo na krmiva. I droby jsou VP masné výroby a kvůli jejich nízké údržnosti

jsou zpracovávány do masných výrobků nebo co nejrychleji zchlazovány, popřípadě zmrazovány a předávány do tržní sítě. Střeva z masného průmyslu se zbavují sliznice (odčleňování) nebo sliznice se serózní blánou (sdírání) a po dalších úpravách se používají jako obaly masných výrobků. Kůže se dají využít v masném průmyslu (zejména vepřové), dále do koželužského průmyslu, na výrobu klišovkových střev (hovězí kůže) nebo na výrobu kolagenu a želatiny. Stejně tak hovězí a vepřové kosti slouží nejčastěji k výrobě želatiny, popřípadě krmných mouček nebo hnojiv. Z keratinových VP jako jsou rohy, spárky či paznehty, mohou být vyrobeny bílkovinné hydrolyzáty. Do kartáčoven putují štětiny a žíně. Peří z drůbežáren neslouží pouze jako náplň do polštářů a příkrývek, ale také jako dusíkaté krmivo, stabilizátor vzduchotechnické pěny hasicích přístrojů, pěnobeton či pěnová izolační tvárnice. Drůbeží hlavy a běháky se využívají k výrobě želatiny a z hřebínků se získává kyselina hyaluronová, která se používá například v kosmetice [6, 8, 9].

### 1.2.2 Mlékárenský průmysl

Při čištění mléka na odstředivkách vzniká odstředivkový kal, který obsahuje až 18 % bílkovin, ale také nečistoty a mikroorganismy. Po kyselé hydrolyze lze kal použít jako krmivo. Část podmáslí se předává do tržní sítě ke konzumaci, ale také se průmyslově zpracovává na kasein a jeho soli, které jsou dále využity v pekárenství jako aditivum. VP je i prací voda z praní máselných zrn, kterou lze zkrmovat. Nejznámějším VP mlékárenského průmyslu je syrovátka. Ta s sebou strhává až 2/3 vitaminů. Sirovátku lze využít v původním stavu na pití, ale spíše se zahušťuje nebo suší. Pak ji lze využít do pekárenských výrobků nebo při výrobě tavených sýrů. Ze syrovátky se získává laktóza, která je dále využita jak v potravinářství, tak i ve farmacii [6, 8, 10].

### 1.2.3 Cukrovarnický průmysl

Při výrobě cukru vzniká melasa, která obsahuje cca 50 % sacharózy. Melasa je surovina pro fermentační procesy, využívá se především k výrobě lihu, droždí nebo jako substrát pro výrobu kyseliny citronové, šťavelové a dalších látek, které se mohou připravovat fermentačními procesy. VP jsou také vyslazené řepné řízky, které se zkrmují, nebo se z nich vyrábí vláknina. Lze využít i saturační kal získaný po čerání a saturaci difúzní šťávy. Nejčastěji jako hnojivo pro neutralizaci kyselých půd a přídavek do krmiv [6, 8, 11].

### 1.2.4 Zpracování ovoce a zeleniny

Ze zpracování ovoce a zeleniny odpadají různé VP a odpady jako jsou výlisky, pecky, dřeně, slupky aj. Například výlisky po lisování šťáv lze využít pro krmné účely. Lze je použít v čerstvém stavu nebo se stabilizují sušením. Jablečné výlisky tvoří největší objem a právě tyto výlisky se mohou použít i k výrobě jablečného pektinu nebo po odstranění jádřinců k výrobě vlákniny. Jádra pecek lze využít k extrakci olejů pro kosmetický průmysl a následně využity jako krmivo. Skořápku pecky jde použít jako plnivo do stavebních materiálů, k výrobě aktivního uhlí nebo se může získat energie jejich spalováním. Persiko (náhražka mandlí) lze vyrobit z jader meruněk a broskví. Persiko se využívá v cukrovinkách [6, 8].

## 1.3 Nakládání s odpady

Nakládáním s odpady se rozumí sběr, přeprava, využití a odstraňování odpadů, zahrnuje i dozor nad těmito činnostmi, následnou péčí o místa odstranění a činnosti prováděné obchodníkem nebo zprostředkovatelem [12].

Předtím než z vedlejších produktů vznikne odpad, je každý povinen předcházet jejich vzniku a omezit jejich množství a nebezpečné vlastnosti na minimum. Odpady se mohou zneškodňovat s materiálovým využitím (např. přepracování, recyklace), s energetickým využitím (spalování, pyrolýza) nebo ukládáním (solidifikace, skládkování). Jak již bylo zmíněno, odpady z potravinářských výrob zahrnují nejen tuhé odpady, ale především odpadní vody, popř. i plynné polutanty, které většinou znečišťují životní prostředí. Především proto je nutné najít řešení pro jejich využití předtím, než budou definitivně považovány za odpad [13].

### 1.3.1 Obecné povinnosti při nakládání s odpady

Každý je povinen

- 1) Nakládat s odpadem pouze způsobem stanoveným tímto zákonem a jinými právními předpisy vydanými na ochranu životního prostředí a zdraví lidí pro daný druh a kategorii odpadu; při nakládání s odpady nesmějí být překročeny limity znečišťování, které jsou stanovené jinými právními předpisy,
- 2) Nakládat s odpadem v zařízení, které je určeno pro nakládání s daným druhem a kategorií odpadu, s výjimkou shromažďování odpadu, přepravy odpadu, obchodování s odpadem a nakládání se vzorky odpadu,



- 3) Soustřeďovat odpady odděleně,
- 4) Nakládat s odpadem tak, aby jej zabezpečil před odcizením nebo únikem nebo aby nedošlo k jeho znehodnocení, které by zhoršilo možnost nakládání s daným odpadem v souladu s hierarchií odpadového hospodářství, do okamžiku, kdy jej sám zpracuje, pokud je provozovatelem zařízení, nebo do okamžiku předání,
- 5) Odpad, který sám nezpracuje předat, s výjimkou předání odpadu v rámci školního sběru nebo předání nezbytného množství vzorků odpadu k rozborům, zkouškám nebo analýzám pro účely vědy, výzkumu a vývoje, zjištění přijatelnosti odpadu do zařízení určeného pro nakládání s odpady, zařazení odpadu do kategorie, hodnocení nebezpečných vlastností odpadů a dalším rozborům a zkouškám nezbytným pro zajištění nakládání s odpady v souladu s právními předpisy, v souladu s hierarchií odpadového hospodářství:
  - Přímou nebo prostřednictvím dopravce odpadu pouze do zařízení určeného pro nakládání s daným druhem a kategorií odpadu nebo do dopravního prostředku provozovatele takového zařízení,
  - Obchodníkovi s odpady s povolením pro daný druh a kategorii odpadu, popřípadě dopravci odpadu určenému tímto obchodníkem,
  - Na místo určené obcí [1].

### 1.3.2 Povinnosti původců odpadů

Původce odpadu je povinen zařadit odpad podle druhu a kategorie a nakládat s ním podle jeho skutečných vlastností; prokázat orgánům provádějícím kontrolu, že předal odpad, který produkuje, v odpovídajícím množství; v případě komunálního odpadu, který běžně produkuje, mít jejich předání v odpovídajícím množství zajištěno písemnou smlouvou před jejich vznikem; předat provozovateli zařízení nebo obchodníkovi s odpady údaje o své osobě a údaje o odpadu nezbytné pro zjištění, zda smí být s daným odpadem v zařízení nakládáno nebo zda smí obchodník s odpady takový odpad převzít (tyto údaje mohou být nahrazeny základním popisem odpadu); v případě odpadu určeného k uložení na skládce odpadů nebo k zasypávání předat údaje formou základního popisu odpadu a před ukončením činnosti provozovny předat odpady soustředěné v provozovně do zařízení určeného pro nakládání s odpady [1].

### 1.3.3 Odpady potravinářského průmyslu

V potravinářském průmyslu prakticky neexistují nebezpečné odpady. Přesto se najdou látky, jejichž likvidace je problematická. Mezi problematické odpady zahrnujeme potravinářské suroviny, jako jsou živočišné tuky nebo mléko, obsahující v nepřipustných koncentracích těžké kovy a PBC, odpadní vody, ve kterých se nachází vysoký obsah chloridů, dusičnanů a dusitanů, odpadní vody se zvýšeným obsahem organických látek a odpady z biotechnologických výrob obsahující zbytky antibiotik. Tuhé odpady z potravinářství se používají nejčastěji jako krmivo a hnojivo. Odpady mají i energetický potenciál a tak je lze biologickými metodami přeměnit na bioplyny, kompost, biolih nebo bionaftu [6].

### 1.3.4 Poplatky za ukládání odpadu

Poplatky za odpad jsou rozsáhlejšího rázu. Neplatí se jen za jeho uložení, ale i za jeho dopravu a likvidaci. Americká literatura dělí poplatky pro země s vysokým příjmem a země s nízkým příjmem. Uvádí, že lidé v zemi s vysokým příjmem zaplatí za provozní náklady pro nakládání s odpady více než 2200 Kč za tunu odpadu. Naopak v zemi s nižším příjmem se za odpad platí cca 800 Kč za tunu odpadu. Sazby za různé typy odpadů v ČR jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2 [1, 14].

Tabulka 1: Sazba pro jednotlivé dílčí základy poplatku za ukládání odpadů na skládku v Kč za 1 tunu [1]

Dílčí základ poplatku za ukládání	Poplatkové období v roce 2021
Využitelných odpadů	800
Zbytkových odpadů	500
Nebezpečných odpadů	2000
Vybraných technologických odpadů	45
Sanačních odpadů	1000

Tabulka 2: Částky za skladování odpadu po dobu 90 dnů v Kč za 1 tunu [1]

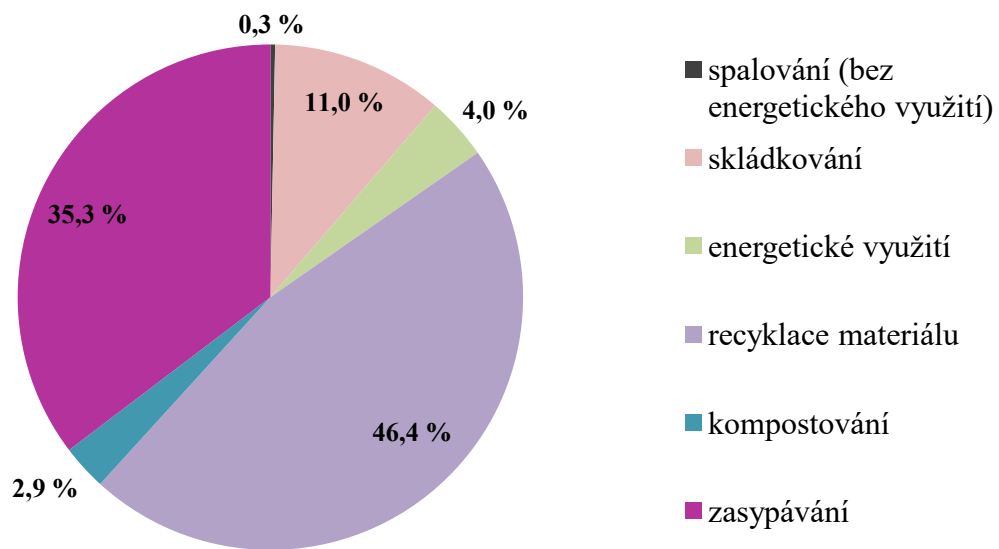
Typ odpadu	Nebezpečný odpad	Ostatní odpad
Tuhý odpad	4000	2000
Pasty, kaly	6000	3000
Prach, prášek	8000	4000
Tuhý odpad obsahující kapalinu	12000	6000
Kapalný odpad	16000	8000

#### 1.4 Produkce, využití a odstranění odpadů v číslech

Skupiny činností jako jsou produkce, nakládání s odpady a jejich využívání jsou úzce propojeny, vzájemně na sebe navazují a závisí na sobě. Produkce odpadů pak také souvisí s odpovědnou spotřebou. Využití odpadů je v současnosti frekventované téma a to hlavně v souvislosti s problematikou obnovitelnosti zdrojů [12].

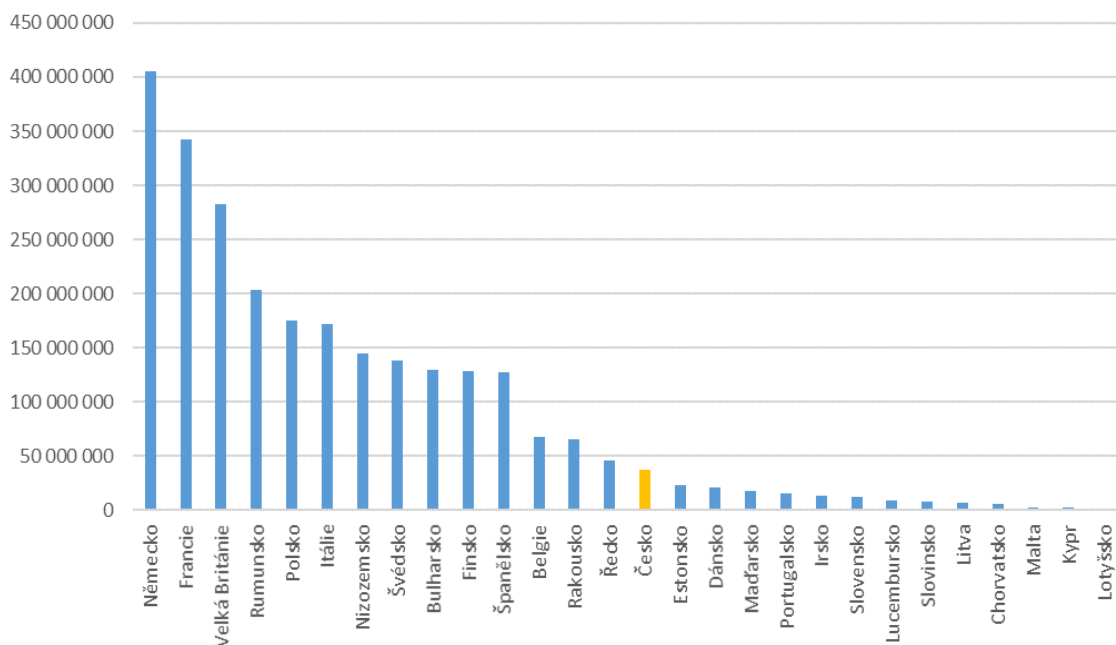
S růstem populace a rozšiřující se ekonomikou ve světě, země nadále vytvářejí větší množství odpadu. Podle odhadů Světové banky vzroste do roku 2050 produkce odpadu o 70 % [15].

Podle Českého statistického úřadu (dále jen ČSÚ) dosáhla celková produkce odpadů v České republice v roce 2019 hodnoty 37 milionů tun. Z toho 5,3 mil. tun byl komunální odpad. Využito, ať už energeticky, recyklací či kompostováním, bylo 28,8 mil. tun a 3,7 mil. tun bylo odstraněno [16]. Procentuální vyjádření nakládání s odpady lze vidět na obrázku 1.



Obrázek 1: Nakládání s odpady v roce 2019 dle ČSÚ [12]

V porovnání s rokem 2018, kdy Česká republika vyprodukovala 37,7 mil. tun odpadu, se v roce 2019 vyprodukovalo méně odpadu. I přesto na tom, dle údajů ČSÚ, není ČR v porovnání s jinými státy Evropy nejhůře. Na obrázku 2 jde vidět, že ČR zaujímá až 15. místo v produkci odpadu v porovnání se státy Evropy. Nejvíce odpadu produkuje Německo, Francie a Velká Británie [12, 16].



Obrázek 2: Grafické znázornění mezinárodního srovnání odpadů v r. 2018 (v tunách) [12]

Ve světě je největším producentem odpadu Kanada s 36,1 tuny na obyvatele za rok. Ročně Kanada vyprodukuje asi 1,3 miliardy tun odpadu, přičemž z toho průmyslový odpad vyprodukuje 1,1 miliardy tun odpadu. USA produkuje nejvíce tuhého komunálního odpadu a to 258 milionů ročně [15].

Bohaté země (jako USA, Kanada a členové Evropské unie) představují pouze 16 % světové populace, ale produkuje 34 % světového odpadu. Spalování odpadu za účelem přeměny na energii je rozšířenější právě v těchto bohatších zemích, kde se přibližně 22 % odpadu zpracovává v zařízeních na využívání energie z odpadu [17].

## 2 ZPRACOVÁNÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ Z RYB

Přestože se některé oblasti snaží využívat vedlejší produkty a odpadní vody ze zpracování ryb, ve většině továren není obnova běžná a tak skončí pevné látky na skládkách a odpadní vody se vypouští do vodního prostředí. Lze však také navrhnout alternativní způsoby zpracování těchto produktů a zaměřit se na získání cenných sloučenin [18].

### 2.1 Spotřeba ryb u nás a ve světě

V posledních letech činí světový roční výlov ryb přes 100 mil. tun. Z toho 80 % představují mořské ryby a pouhých 20 % připadá rybám sladkovodním. Obyvatel ČR spotřebuje ročně asi 5 kg ryb, přičemž podle výživových poradců by každý člověk měl optimálně sníst alespoň 17 kg ryb za rok. Z těchto 5 kg představují tuzemské ryby 1,3 kg. V roce 2019 byla spotřeba rybiho masa 6 kg/osoba/rok. Ve stejném roce každý Čech spotřeboval 9,2 kg hovězího, 43 kg vepřového a 29 kg drůbežího masa [19].

V Evropě (data z roku 2017) je největším konzumentem ryb za rok Belgie (57 kg/osoba), dále pak Španělsko (46 kg/osoba), Lucembursko (37 kg/osoba), Malta (35 kg/osoba) a Francie (33 kg/osoba). Země, které spotřebují nejvíce ryb za rok, jsou Čína (2 mil. tun), Myanmar (1,5 mil. tun), Vietnam (1,1 mil. tun) a Japonsko (0,7 mil. tun). Obyvatelé USA v roce 2018 zkonsumovali 7,3 kg/osoba/rok ryb včetně mořských plodů [20, 21].

### 2.2 Nutriční význam ryb

Ryby a produkty rybolovu hrají důležitou roli v zajišťování potravin a výživy po celém světě. Spotřeba nabízí jedinečné výživové a zdravotní výhody a je považována za klíčový prvek zdravé výživy. Zvýšená pozornost je věnována rybám jako zdroji základních živin v naší stravě, a to nejen vysoce hodnotných bílkovin, ale hlavně jako jedinečného zdroje mikroživin a omega-3 mastných kyselin s dlouhým řetězcem [22].

Ryby jsou naplněny omega-3 mastnými kyselinami a vitaminy. Jedná se především o vitaminy rozpustné v tucích, jako jsou vitaminy A a D, ale i vitaminy rozpustné ve vodě jako je vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin). Ryby jsou bohaté na vápník a fosfor a jsou skvělým zdrojem dalších minerálních látek, jako je železo, zinek, jód, hořčík a draslík. Je doporučováno jíst ryby alespoň dvakrát týdně jako součást zdravé výživy. Ryby jsou nabitě bílkovinami, vitamíny a živinami, které mohou snižovat krevní tlak a pomáhat snižovat riziko infarktu nebo mrtvice. Ryby jsou důležitým zdrojem omega-3 mastných kyselin, které udržují naše srdce a mozek zdravé. Dvě omega-3 mastné kyseliny nalezené v

rybách jsou EPA (kyselina eikosapentaenová) a DHA (kyselina dokosahexaenová). Naše těla tyto omega-3 mastné kyseliny neprodukuje, takže je musíme dostat do jídla, které jíme. Omega-3 mastné kyseliny pomáhají udržovat zdravé srdce tím, že napomáhají k udržení normálního krevního tlaku a tím snižují riziko infarktu nebo abnormálních srdečních rytmů. Jejich užívání během těhotenství má vliv na správný vývoj mozku, zraku a nervů plodu. Dále tyto mastné kyseliny snižují riziko vzniku deprese, ADHD, demence, cukrovky či artritidy [23].

Kapr obsahuje lehce stravitelné bílkoviny a málo tuků. Kapří maso obsahuje 70 % vody a 2-9 % tuku. Bílkoviny v kapřím masu jsou charakteristické svojí vysokou biologickou hodnotou. Co se týče obsahu všech esenciálních aminokyselin, jsou srovnatelné s bílkovinami teplotokrevných zvířat. AMK v kapřím masu se zároveň nacházejí ve velmi příznivých poměrech. Lehká stravitelnost kapřího masa je ovlivněna obsahem krátkých svalových vláken. Velmi nízký obsah vazivových bílkovin a nepřítomnost elastinu umožňuje velmi snadnou a rychlou kulinářskou úpravu [24].

## 2.3 Ryby a jejich zpracování

### 2.3.1 Dělení ryb

Ryby lze rozdělit podle vodního prostředí, ve kterém žijí, na:

- a) Sladkovodní – kdy ryby žijí ve sladké vodě,
- b) Mořské – ryby obývají slanou vodu moří a oceánů,
- c) Brakické – ryby žijící např. v ústí řek, kde se mísí sladká a slaná voda, tzv. brakická voda,
- d) Tažné
  - Anadromní – zde jedná např. o lososa, který sice žije ve slané vodě, ale rozmnožuje se ve vodě sladké,
  - Katadromní – opak anadromních ryb, tedy tyto ryby žijí ve sladké vodě a ve slané se rozmnožují (např. úhoř),
- e) Polotažné – ryby během svého života mění místa svého pobytu.

Podle teploty vody, ve které žijí, můžeme ryby rozdělit na

- a) Teplomilné (tepl vodní) – teplejší vody, nižší obsah kyslíku (př. kapr),

- b) Studenomilné (studenovodní) – chladnější vody, vyšší obsah kyslíku (př. losos) [25, 26].

### 2.3.2 Technologie zpracování ryb

Zpracování ryb začíná jejich omráčením v omračovací kleci či bubnu nejčastěji střídavým elektrickým proudem o napětí 220 V. Dále je možné využít CO<sub>2</sub> nebo směs plynů. Pokud jsou ryby omračovány elektrickým proudem, dosahuje jeho intenzita 2,2-6 A. Pokud se jedná o ryby se šupinami, jsou po usmrcení dopraveny pomocí hydrauliky a skluzu do tzv. odšupinovačky, kde jsou zbaveny šupin. V případě potřeby jsou ryby dočištěny ručně pomocí škrabky nebo elektrického odstraňovače šupin. Šupiny jsou materiály 3. kategorie. Po odšupení je rybám odseknuta hlava pomocí gilotiny. Poté se rozřízne dutina břišní, aby mohla být ryba vykuchána. Řez je veden od močopohlavního orgánu k hlavě. U kapra se z vyjmutých orgánů oddělí mlíčí (testes) a jikry (ovaria), které se vyperou v pitné vodě a zchladí na teplotu -1 až 2 °C. Zbytek orgánů (ledviny, močový měchýř, žlučník aj.) je považován za materiál kategorie 3. Dutina břišní se dočistí od zbytků vnitřních orgánů a vypere v čisté vodě. Po vykuchání následuje odstranění hřbetní, ocasní a řitní ploutve použitím sekáčku nebo přístroje složeného z rotujících diskových nožů s řezacími štěrbinami. Další operací je půlení nebo filetování, kdy se ryba zbaví páteře a velkých kostí. Takto získané půlky či filety se perou v pitné vodě se šupinkovým ledem, čímž se také chladí. Nejčastěji se využívá bubnových či talířových praček. Po každém pracovním cyklu je voda vyměněna za čistou. Po osušení se ryby balí do polyethylenových sáčků a zmrazují nebo uchovávají v modifikované atmosféře a distribuují, popř. se dále zpracovávají na rybí výrobky [27, 28].

### 2.3.3 Rybí výrobky

#### 2.3.3.1 Uzené výrobky

Uzené výrobky z ryb mohou být půlené, ale i celé nebo porcované. Nejprve se opracované ryby nasolí buď na sucho, nebo v solné lázni. Solná lázeň se připraví rozpuštěním soli v pitné vodě. Koncentrace tohoto roztoku je cca 6 % a ryby se do něj naloží na 10-12 hodin. Pro rychlejší nasolování je použit 12% roztok a doba naložení se tak zkrátí na 1-2 hodiny. Odkapané ryby se navlékají na háčky či udírenské tyče. Potom následuje samotný proces uzení, který probíhá ve 3 fázích:



1. osušování – nejprve se ryby předsuší v udírenské komoře vyhřáté na teplotu 45-60 °C po dobu 60 minut. Během osušování ryba ztratí asi 12 % vody.

2. zauzování (tepelné opracování) – teplota v udírně se zvýší na 85-90 °C. Po dosažení teploty 70 °C ve všech částech ryby, je nutné tepelně opracovávat ryby po dobu 10 minut.

3. douzování (barvení a aromatizace) – se provádí při nižší teplotě než zauzování (cca 50 °C) a trvá přibližně 1 hodinu. Nejčastěji se využívá bukové dřevo. Při douzování ryba získá požadovanou barvu, vůni a chuť.

Předtím než se vyuzená ryba zabalí, musí být zchlazena na teplotu v místnosti balení (nebo nižší). Po zabalení se dále chladí na teplotu skladování, která se pohybuje od 1 do 8 °C. Při této teplotě musí být výrobky i přepravovány [27, 28].



Obrázek 3: Uzení ryb na udících háčcích [29]

### 2.3.3.2 Smažené, solené a marinované výrobky

Smažené ryby musí být dokonale tepelně opracované. Ke smažení se používá tuk nebo olej s bodem zakouření 170 °C a více. Skladování a doprava těchto výrobků je opět 1 až 8 °C.

Solené rybí výrobky můžeme dle koncentrace NaCl rozdělit na:

- a) Slabě solené – obsahují 4-10 % soli,
- b) Středně solené – obsah soli 10-14 %,
- c) Silně solené – obsahují více než 14 % soli.

Składují a přepravují se při chladírenské teplotě 1-8 °C.

Marinované ryby se provádí pomocí:

- a) Studené marinády – základní surovina je připravena studenou cestou, důležitý je poměr soli a kyseliny v marinovací lázni,
- b) Teplé marinády – základní surovina je opracovaná třeba vařením nebo pečením, její trvanlivost je zajištěna zaléváním slano-kyselým nálevem, majonézou, remuládou či rosolem.

Všechny marinády se uchovávají při chladírenských teplotách [27, 28].

### 2.3.3.3 Konzervy a polokonzervy

Podle vyhlášky č. 69/2016 Sb., o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich, je konzerva takový výrobek, který je neprodyšně uzavřený v obalu a je sterilovaný. Konzervy musí být ve všech částech ošetřeny sterilizační teplotou 121 °C po dobu nejméně 10 minut. Sterilaci jsou inaktivovány vegetativní formy mikroorganismů včetně jejich spor, což zaručuje minimální trvanlivost konzervy v neporušeném obalu při teplotě místnosti 28 °C 4 roky. Ke sterilaci se využívají autoklávy [30, 31, 32].

Vyhláška č. 69/2016 Sb., o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich, také definuje polokonzervu jako výrobek, který je neprodyšně uzavřen v obalu a je pasterovaný. Tepelné ošetření u polokonzerv trvá také minimálně 10 minut, ale za působení pasterační teploty 100 °C. Doba použitelnosti ošetřených polokonzerv pasterací se pohybuje v rozmezí 3 až 6 měsíců. K pasteraci se využívají kontinuální nebo diskontinuální pastéry [30, 31, 32].



Obrázek 4: Různé tvary rybích konzerv [33]

## 2.4 Zpracování vedlejších produktů z ryb

Vedlejšími produkty z ryb jsou tuk, kostry, hlavy, ploutve, kůže a šupiny. Při zpracování ryb se používá také voda. Odpadní voda zahrnuje vodu z čerpadla při vykládání ryb, oplachovou vodu použitou při bourání ryb (filetování, stahování z kůže, porážení aj. operace) a slanou vodu (solení, sušení). Chemické složení odpadní vody závisí na oblasti těžby, ročním období, druhu ryb a druhu a rozsahu zpracování. Hlavními složkami vedlejších produktů z ryb jsou lipidy, proteiny, kovy a vlhkost [34].

### 2.4.1 Organické vedlejší produkty

Rybí bílkoviny mají výhodné vlastnosti pro přípravu bioplastů. Mají schopnost vytvářet sítě, jsou plastické a elastické a mohou sloužit jako mechanické a plynové bariéry. Myofibrilární proteiny získané z odpadu ze zpracování ryb mohou být upraveny na bioplasty, čímž se sníží dopad likvidace odpadu na životní prostředí. Byl připraven bioplast obsahující 0,79 % myofibrilárních bílkovin a 40 % změkčovadla, který byl homogenní, transparentní, silný, pružný a měl nízkou rozpustnost a propustnost pro vodní páru, což naznačuje, že biopolymery extrahované z ryb mohou být použity k výrobě bioplastů. Nejprve se myofibrilární proteiny smíchají s destilovanou vodou a upraví se pH 2 mol.l<sup>-1</sup> hydroxidem sodným na 11. Do směsi se následně přidá změkčovadlo (nejčastěji glycerin o 99,5% čistotě) v osvědčené koncentraci. Takto připravený roztok je homogenizován při 10000 otáčkách za 1 minutu po dobu 5 minut a umístěn do vodní lázně na 30 minut při 50, 70 nebo 90 °C. Po uplynutí doby se roztok rozlije na silikonové formy a suší se. Doba a teplota sušení se liší v závislosti na teplotě vodní lázně, např. při vodní lázni zahřáté na 90 °C se roztok suší 24 h při 35 °C [35].

Druhým organickým vedlejším produktem je tuk, který představuje značnou organickou zátěž pro prostředí, z něhož ho lze omezeně likvidovat. Rybí tuk se využívá především v průmyslu jedlých tuků a olejů díky svému bohatému obsahu polynenasycených mastných kyselin řady omega-3 a omega-6. Na základě obsahu tuku jsou ryby rozděleny do 3 skupin

- 1) Libové – obsah tuku do 2 %. Patří sem například treska jednoskvrnná či treska tmavá. Ze sladkovodních ryb pak štika obecná, candát obecný a okoun říční.
- 2) Středně tučné – obsahují 2-10 % tuku. Do této skupiny z mořských ryb řadíme např. lososa obecného či platýse obecného, ze sladkovodních pak kapra obecného nebo sumce velkého.

- 3) Tučné – tuk v rybách obsažen z 10-25 %. Zástupci této skupiny jsou sled' obecný, makrela obecná atd. [36].

Tabulka 3: Procentuální zastoupení MK v některých sladkovodních rybách [37]

Mastné kyseliny	Kapr obecný	Pstruh duhový	Tolstolobik bílý	Tolstolobec pestrý
SFA	30,4	22,5	25,1	23,9
MUFA	40,7	36,3	40,7	42,0
PUFA	28,9	41,2	34,2	34,1
$\omega$ -3	18,5	33,2	23,2	26,2
$\omega$ -6	10,4	8,0	11,0	7,9
$\omega$ -3/ $\omega$ -6	1,8	4,2	2,1	3,3

kde: SFA – nasycené MK, MUFA – mononenasycené MK, PUFA – polynenasycené MK

Čím je procentuální zastoupení omega-3 MK vyšší, tím je rybí maso kvalitnější. To platí i pro poměr omega-3 a omega-6 MK. V tabulce 3 můžeme vidět, že z těchto sladkovodních ryb má nejlepší poměr PUFA pstruh duhový [37].

Především libové druhy ryb ukládají tuk v játrech (tresčí játra), jiné ve svalovině (sled' až 21 % tuku). Platí, že obsah tuku ve filetech roste od ocasu k hlavě [38].

Dalším možným využitím rybího tuku je kontroverze na biopalivo, využití při zpracování kovů, kůží, při výrobě margarínu, inkoustu, mýdla, barev a laků, odpuzovačů vody či změkčovadel [39].



Obrázek 5: Využití rybího tuku – perorální kapsle [40]

### 2.4.2 Anorganické vedlejší produkty

Chromatofory jsou buňky, které nesou pigment. Nalézají se ve škáře, ale také na šupinách a tím udávají rybě barvu. Pigmentové buňky obsahují v cytoplazmě pigmentová zrna, podle jejichž povahy rozeznáváme následující typy chromatoforů:

- 1) Melanofory – černá barva vzniká, pokud melanofory se široce roztaženým melaninem překrývají iridocitu,
- 2) Erytrofory – červená barva tvořena pouze erytrofory s roztaženým barvivem na bázi karotenoidů,
- 3) Xantofory – žluté zbarvení je tvořeno pouze xantofory s roztaženým barvivem na bázi karotenoidů,
- 4) Iridocitu (guanofory) – stříbřité zbarvení vzniká v místech, kde jsou melanofory uloženy nad iridocitu.

Vzájemné vrstvení chromatoforů dává výsledné, strukturální zbarvení ryby. Zbarvení je výsledek kombinace a vrstvení výše uvedených typů chromatoforů [41, 42].

Pigmenty se běžně používají na výrobu barev a nátěrových hmot, i když organické pigmenty jsou v dnešní době nahrazeny spíše syntetickými. Ze šupin se dříve průmyslově získával guanin k výrobě umělých perel [42].

### 2.4.3 Odpadní vody

Voda sloužící k oplachování a dopravě ryb při jejich zpracování s sebou částečně strhává organické látky, které lze z odpadní vody vyextrahovat. Odpadní voda se používá k výrobě rybí moučky, siláží (produkt z fermentace rybího odpadu) a organických hnojiv. Rybí moučka se využívá ke krmení hospodářských zvířat, ale některé státy (např. státy EU) uložily zákaz krmení přežvýkavců rybí moučkou. Průmysl rybí moučky není rozšířen hlavně kvůli vysokým provozním nákladům, nákladům na dopravu a problémům se zápachem [43].

Novým využitím odpadní vody by mohlo být získání lipidů z odpadních vod. Průmysl konzervování ryb produkuje velké množství kapalných odpadů, které se po řádném ošetření za účelem odstranění organického odpadu zlikvidují. Lze však také navrhnout alternativní způsoby zpracování, aby se zaměřily na získání cenných sloučenin. Jako nejlepší metoda k získání omega-3 polynenasycených mastných kyselin se ukázala

extrakce hydrostatickým tlakem, kdy pomocí této metody bylo získáno největší množství omega-3 kyselin a zároveň je tato metoda nejméně nákladná a má nejnižší dopad na životní prostředí. Získané omega-3 polynenasycené mastné kyseliny jsou vhodné pro další aplikace v potravinářství (fortifikace), farmacii (doplňky stravy) i kosmetice (krémy) [44].

#### 2.4.4 Zpracování vedlejších produktů z ryb na želatinu

Filetování, primární zpracování ryb, generuje až 70-75% pevných vedlejších produktů, včetně kostí, koster, hlav, ocasů, vnitřností, kůží atd., které jsou obecně vynikajícím zdrojem vysoce kvalitních bílkovin. Asi 30 % těchto vedlejších produktů sestávajících z kůže, kostí nebo šupin lze použít k výrobě kolagenu a želatiny [34].

Obecně se rybí želatina získává čištěním rybích vedlejších produktů ve vodě, aby se odstranil všechny přebytečný materiál, a rozřezáním suroviny na menší kousky, popř. mletím. Dále se ošetří alkalickým roztokem, který po určené době působení musí být opláchnut vodou a tím odstraněn ze suroviny. Poté se surovina naloží do kyseliny a opět se po době působení opláchnou vodou. Surovina musí být po všech operacích neutrální a následně se může extrahovat ve vodě při teplotě asi 55 °C, kdy dochází k rozpuštění částečně degradovaných kolagenových materiálů. Pro odstranění nečistot se vodný solubilizovaný želatinový roztok filtruje přes desku z celulózy nebo křemeliny. Může být také deionizován pomocí pryskyřice. Dále se roztok odpařuje na koncentraci 15-35 %. Takto koncentrovaný roztok se steriluje při teplotě 130-145 °C po dobu 8-12 s. Roztok je potom zchlazen a usušen. V posledním kroku se usušený roztok rozemele na želatinový prášek [45].

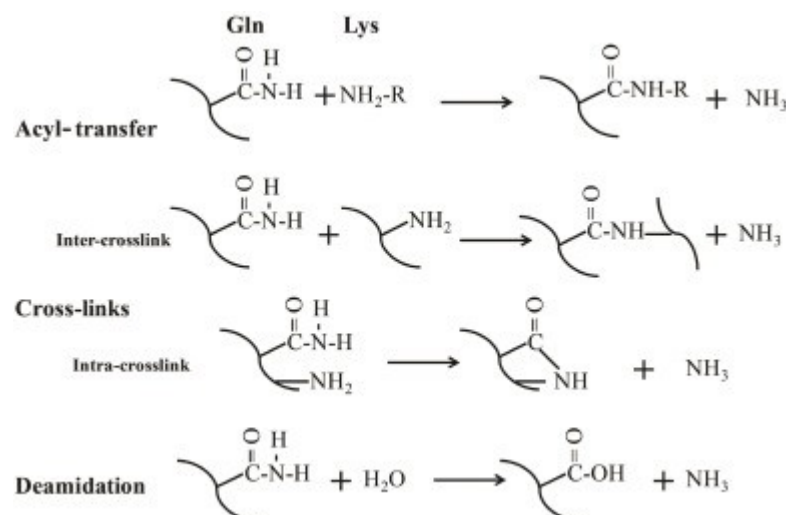
Zpracování rybích kůží na želatinu bylo prováděno následovně. Zmrzlé kůže byly rozmrazeny přes noc v lednici a poté rozstříhány na čtverce o straně cca 2 cm. Takto nastříhané kůže byly promyty ve studené vodě a naloženy do alkalického roztoku (0,01-0,21 mol.l<sup>-1</sup> NaOH) v poměru 1:3 při 7 °C, čímž se odstranil nekolagenový protein i podkožní tkáň. Po ošetření zásadou se kůže promyly do mírně zásaditého až neutrálního pH kohoutkovou vodou. Poté byly kůže ponořeny do studené kyseliny octové o stejné koncentraci i poměru k surovině jako byla použita zásada. Každé máčení trvalo 1 h a opakovalo se třikrát. Poté se kůže řádně promyly. Takto ošetřené kůže byly extrahovány v destilované vodě o teplotě 50 °C po dobu 16 hodin. Solubilizovaná želatina byla oddělena od zbytkových fragmentů kůže pomocí dvouvrstvého filtračního



plátka. Želatinový extrakt se poté koncentruje v rotační odparce (50 °C, 30 minut) a následně suší [46].

K extrakci kůží z tilápie bylo použito cca 50 g kůží, které byly nejprve důkladně promývány vodou a pak namočený v poměru 1:3 v 0,2% vodném roztoku NaOH na 40 minut. Máčení bylo provedeno 3x. Kůže pak byly promývány do neutrálního pH. Následovalo ošetření kůží kyselinou sírovou ve stejném poměru a koncentraci jako byla použita zásada. Stejně byly i doba namáčení kůží a počet opakování. Promyté neutrální kůže byly naloženy třikrát do 1% citronové kyseliny na 40 minut. Nezbytné bylo opět promýt kůže do neutrálního pH. Takto ošetřené kůže byly extrahovány teplotou v rozmezí 40-50 °C přes noc. Kapalina byla filtrována, centrifugována a vysušena [47].

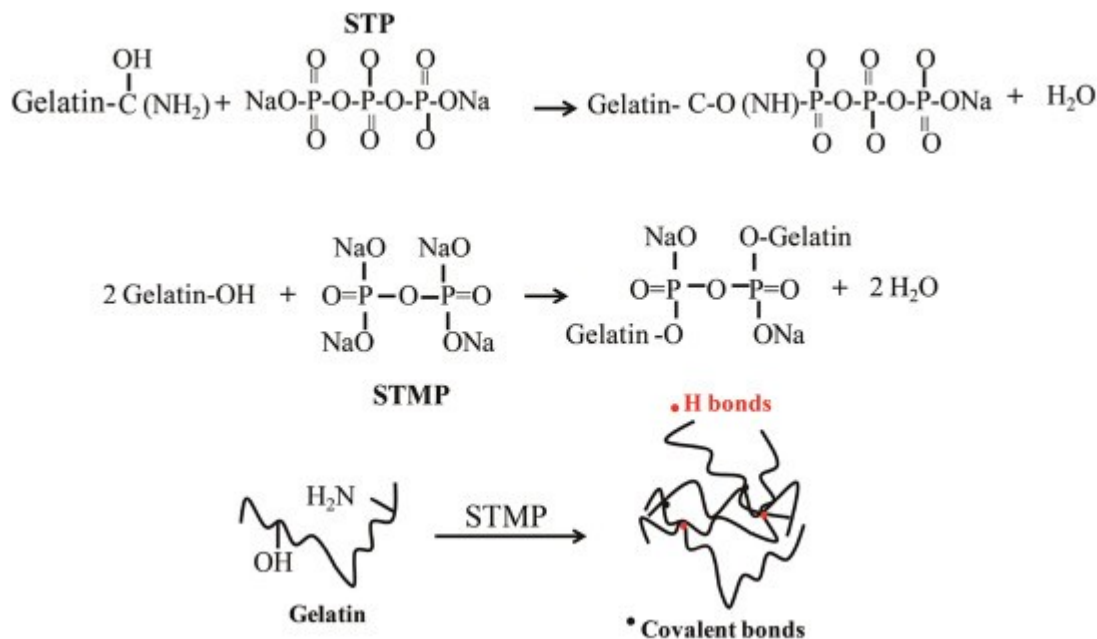
Ve srovnání se savčí želatinou má rybí želatina horší pevnost gelu a reologické vlastnosti. Proto jsou zkoumány různé fyzikální a chemické úpravy pro zajištění lepších vlastností rybích želatin. Rybí želatina má vyšší cenu, proměnlivou kvalitu, nižší reologické chování a vlastnosti gelu. To je způsobeno nízkým výtěžkem zdroje během výrobního procesu a nízkým obsahem aminokyselin hydroxyprolinu a prolinu, které omezují jeho aplikace. Hyp a Pro stabilizují uspořádanou konformaci, když želatina tvoří gelovou síť, a nižší obsah Hyp a Pro pravděpodobně dává rybí želatině nízkou sílu gelu, nízké teploty tání a tuhnutí. Rybí želatinu lze upravovat enzymaticky pomocí mikrobiální transglutaminázy, díky níž se mění struktura proteinu (viz obrázek 3) [48, 49].



Obrázek 6: Schématické znázornění modifikace želatiny transglutaminázou [48]

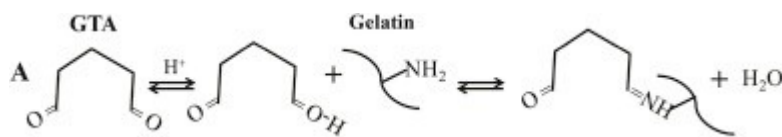
Jak je vidět na obrázku 4 další možností je fosforylace želatiny. K fosforylaci se využívají oxychlorid fosforečný, fosfokináza, trimetafosforečnan sodný aj. Dále si na obrázku lze

všimnout, jak se fosfát vybrané chemické látky naváže na hydroxy skupinu proteinu, čímž změní jeho funkční vlastnosti [48].



Obrázek 7: Reakční mechanismus fosforylace želatiny tripolyfosforečnanem sodným (STP) a trimetafosfátem sodným (STMP) [48]

Želatina byla modifikována zesíťovacími činidly na bázi aldehydu, které měly vysokou účinnost na zlepšení tepelné a mechanické odolnosti, zavedením kovalentních vazeb mezi želatinové řetězce. Želatinové zesíťované glutaraldehydem poskytovaly lepší bariéru proti kyslíku a vodní páře než komerční želatiny [48, 50].



Obrázek 8: Reakční mechanismus mezi aminoskupinami lysinu a karbonylovými skupinami glutaraldehydu za vzniku Schiffovy báze [48]

Fyzikální metodou pro zlepšení vlastností želatiny je přidavek elektrolytů. Soli mohou ovlivnit želatinu úpravou elektrostatických sil a tvorbou solných můstků. Různé soli, jako jsou CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> a NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, mohou zlepšit pevnost gelu a teplotu tání želatiny. Účinné je i použití vysokého tlaku, který vyvolá konformační změny v želatinových makromolekulách. To umožňuje agregaci do 3D sítě. Na výtěžnost měla vliv extrakce pomocí ultrazvuku [48, 51].



### 3 FUNKČNÍ VLASTNOSTI A APLIKACE ŽELATIN

Želatina se získává zahřevem kolagenu nad přechodovou teplotu kolagenové struktury trojšroubovice, nazývané také superšroubovice. Superšroubovice je tvořena třemi peptidovými vlákny se strukturou šroubovice. K těmto změnám dochází v relativně úzkém teplotním rozmezí. Zprvu se zhroutí spirálová struktura molekuly kolagenu, poté dojde k rozvinutí molekulárních řetězců a následnému snížení molekulové hmotnosti. Toto ošetření je nezbytné k narušení nekovalentních vazeb a narušení struktury proteinu, a tím k vytvoření adekvátního bobtnání a prasknutí intra- a intermolekulárních vazeb, což způsobí solubilizaci kolagenu a vede ke konverzi želatiny se zvýšenou hydratační kapacitou. Při výrobě želatiny má zpracování živočišné suroviny zředěnou kyselinou (želatina typu A) nebo zásadou (želatina typu B) za následek částečné štěpení proteinových zesíťování. Struktura kolagenu je rozložena do té míry, že vzniká „teplý, ve vodě rozpustný kolagen“, tj. želatina. Rozklad je do značné míry závislý na třech faktorech a to na teplotě, času a pH. Kromě základních hydratačních vlastností, jako je bobtnání a rozpustnost, lze nejdůležitější vlastnosti želatiny rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou vlastnosti spojené s želírujícím chováním želatiny (tvorba gelu, texturování, zahušťování a schopnost vázat vodu. Do druhé skupiny lze zařadit vlastnosti související s jejím povrchovým chováním, které zahrnují tvorbu a stabilizaci emulze a pěny, adhezi a soudržnost, ochrannou koloidní funkci a schopnost tvorby filmu [52, 53].

#### 3.1 Gelové vlastnosti a vlastnosti vázající vodu

Nejdůležitější vlastností želatiny je její schopnost vytvořit po rozpuštění a následném zchlazení gel. Pevnost tohoto gelu udává kvalitu želatiny. Čím vyšší je hodnota Bloom, tím kvalitnější je želatina. Pevnost gelu se měří pomocí gelometrů. Nejběžnějším použitím želatiny jsou její tepelně reverzibilní želírovací vlastnosti s vodou, například při výrobě želé. Vodný roztok několika procent želatiny vytváří s vodou tepelně reverzibilní gely a teplota tání gelu je nižší než teplota lidského těla, což dává želatinovým výrobkům jedinečné organoleptické vlastnosti. Termoreverzibilita tohoto procesu dává želatinovému gelu jedinečnou vlastnost tání v ústech. Želatina je pozoruhodná svými gelovacími vlastnostmi a čistým profilem chuti. Želatinový gel má jiskřivý a jasný vzhled s čistou strukturou taveniny v ústech [53, 54].

### 3.2 Povrchové vlastnosti

Želatinové povrchové vlastnosti jsou založeny na přítomnosti nabitých skupin v postranních řetězcích proteinu a na určitých částech kolagenové sekvence obsahující buď hydrofilní, nebo hydrofobní aminokyseliny. Jak hydrofobní, tak hydrofilní části mají tendenci migrovat k povrchům, čímž snižují povrchové napětí vodných systémů a vytvářejí požadovaný identicky nabitý film kolem složek dispergované fáze, který lze dodatečně posílit tvorbou gelu. Želatinu typu A s relativně vysokým izoelektrickým bodem ( $pI \geq 7,0$ ) jsou vhodné pro vytváření emulzí typu olej ve vodě s pozitivním nábojem v širším rozsahu hodnot pH, než je možné u běžných proteinových emulgátorů, jako je sója, kasein nebo syrovátkové proteiny [55].

Želatina vykazuje vhodné pěnicí vlastnosti, protože je schopna snížit povrchové napětí na rozhraní kapalina-vzduch zvýšením viskozity vodné fáze. Pěnové vlastnosti do značné míry závisí na vlastnostech suroviny. Pro adsorpci na rozhraní vzduch-voda by molekuly měly obsahovat hydrofobní oblasti, které jsou více exponovány po rozvinutí proteinu, což usnadňuje tvorbu a stabilizaci pěny [56].

Želatina má schopnost tvořit film, který by mohl být použit jako vnější film k ochraně potravin před vysušením a vystavením světlu a kyslíku. V dnešní době jsou velmi vyhledávané biologicky odbouratelné fólie vyrobené z jedlých biopolymerů z obnovitelných zdrojů k boji proti dopadu plastového odpadu na životní prostředí. Hlavní nevýhodou želatiny je její vysoce hygroskopická povaha. Protože pokud by se uvažovala o použití želatinových fólií jako ochranných bariér potravin, nastal by problém při kontaktu s povrchem potraviny, která má vysoký obsah vlhkosti. Želatina by měla tendenci bobtnat a rozpouštět se. Současný trend v navrhování želatinových biologicky odbouratelných materiálů pro balení potravin nebo biomedicínské aplikace je proto zaměřen na vývoj fólií se zlepšenými mechanickými a vodotěsnými vlastnostmi kombinací želatiny s biopolymery s různými vlastnostmi, jako jsou lipidy, izoláty sójových proteinů, polysacharidy jako gellan, chitosan, pektiny, hydrofobní nebo hydrofilní změkčovadla atd. Předpokládá se, že distribuce molekulové hmotnosti kolagenových řetězců a složení aminokyselin, které jsou hlavními faktory ovlivňujícími fyzikální a strukturní vlastnosti želatiny, hrají klíčovou roli v mechanických a bariérových vlastnostech výsledných filmů. Slabší a deformovatelnější filmy se obvykle získají, když v daném želatinovém přípravku převládají fragmenty s nízkou molekulovou hmotností, což může být způsobeno degradací proteinu teplem během extrakce nebo odpařování [53, 54, 57].

### 3.3 Aplikace želatin

Kvalita želatiny je průmyslově určena pevností gelu, viskozitou, teplotou tání nebo gelovatění (tuhnutí), obsahem vody a mikrobiologickou bezpečností. Želatina je multifunkční přísada používaná v potravinách, léčivech, kosmetice a fotografických filmech jako želatinační činidlo, stabilizátor, zahušťovadlo, emulgátor a filmotvorná látka [58].

#### 3.3.1 Aplikace želatin v potravinářství

Jako termoreverzibilní hydrokoloid s užší mezerou mezi teplotou tání a teplotou tuhnutí, které jsou obě pod teplotou lidského těla, želatina poskytuje jedinečné výhody oproti gelujícím látkám na bázi sacharidů [58].

**V mlékárenském průmyslu** se želatina používá v mléčných výrobcích jako stabilizátor a jako přísada k úpravě struktury. Používá se v jogurtech, zmrzlinách a jiných mléčných výrobcích. Želatina se přidává do jogurtu ke snížení synereze a zvýšení pevnosti (zahušťování). Želatina je přísada kompatibilní s mléčnými bílkovinami a zlepšuje smyslové vnímání tím, že nemaskuje chuť výrobku stejně jako některé jiné gelotvorné látky. Želatina je široce používána v **cukrovinkách**. Cukrářský průmysl používá želatinu nejen pro své termoreverzibilní gelové vlastnosti, ale také pro tvorbu a stabilizaci pěny, vázání tuku, emulgaci a řízení krystalizace cukru. Příkladem produktů obsahujících želatinu jsou ovocné gumové bonbony, marshmallows, pusinky, karamelky a bonbóny potažené cukrem. Želatina je hlavním želírujícím činidlem v bonbónech gumového typu. Marshmallows obvykle obsahují asi 3 % želatinu, ve kterých želatina slouží jako stabilizátor a pěnotvorná látka. Díky své vynikající schopnosti vytvářet film a nutriční hodnotě lze želatinu použít jako jedlý film a potahový materiál na dorty či zákusky. V lahůdkářství se želatina používá pro šunky, ryby či vejce v aspiku. V **masném průmyslu** je možné želatinu přidávat do klobásek, párků nebo šunek, kde želatina zadržuje šťávu a zlepšuje strukturu výrobku. V **nápojích** ať už alkoholických či nealkoholických se želatina využívá k číření. Želatina se dá využít při přípravě emulzí typu olej ve vodě. Emulze jsou v potravinách využívány opravdu hojně. Nejedná se pouze o dresinky, ale i likéry, margaríny, umělá mléka či pomazánky. Při použití lakázy k zesíťování rybích želatinových emulzí bylo prokázáno, že je emulze více stabilní při měnících se teplotách a nemění se ani při vyšší koncentraci soli [54, 55, 58, 59].

### 3.3.2 Další aplikace želatin

Želatina se také používá v nepotravinářských výrobcích, včetně léků, kosmetiky, fotografických filmů a výrobků z papíru a barev.

**Farmaceutická želatina** tvoří podstatnou část celkové produkce a používá se při výrobě tobolek, tablet a pastilek. Želatina se používá pro měkké i tvrdé tobolky. Želatina chrání léky během distribuce a uvolňují se až poté, co jsou v žaludku. Želatina působí jako pojivo v tabletách. Používá se také k potahování tablet ke snížení prašnosti, k maskování nepříjemných chutí a k umožnění potisku a barevných potahů pro identifikaci produktu. **V medicíně** je využití želatiny taktéž široké. Najdeme ji v povlacích, které chrání vitaminy před poškození světlem nebo kyslíkem. Používá se v náhražkách plazmy v urgentní medicíně a chirurgii a také při výrobě obvazů. V lékařství se používá k výrobě hydrogelů, nanovláken, jako matrice pro intravenózní infúze, injekční mikrokryogely a implantáty [52, 58, 59].

Želatina se používá pro **fotografické emulze** již více než 100 let. Moderní fotografické materiály obsahující bromid stříbrný se skládají hlavně z emulzí obsahujících želatinu na podkladovém materiálu (papír nebo film). Želatina zde působí jako pojivo pro fotocitlivý bromid stříbrný. Pro výrobu emulze je nezbytné, aby želatina nabobtnala a při zahřátí vytvořila roztok, který se po ochlazení změní na gel a po extrakci vody se změní na trvanlivý stav. Bobtnavost želatiny zaručuje, že fotografické lázně nezbytné pro chemické reakce během zpracování exponovaných fotografických materiálů proniknou do emulze a lze je snadno odstranit opláchnutím. Průmysl zpracovává fotografickou želatinu na různé typy reprofilmů pro polygrafický obchod. Prvním typem jsou vědecké a technické fotografické emulze, jako jsou nukleární stopové emulze pro lokalizaci radioizotopů v nukleární medicíně, dalším typem je zpracování na infračervené citlivé emulze pro fotografování v „temnotě“, v astronomii a v geologii a fotogrammetrii pro snímky pořízené z velkých výšek. V současné době jsou nejvyšší požadavky kladeny na fotografickou želatinu pro výrobu rentgenových filmů [54, 58, 59].

Nesmí být opomenuty ani kosmetické aplikace. Želatinové hydrolyzáty se přidávají do pleťových krémů ke zlepšení schopnosti vázat vodu, ke snížení trans-epidermální ztráty vody a zlepšení pocitu na pokožce. Želatina může být také použita jako gelující prostředek například v koupelových solích, šamponech, krémech na opalování, tělových mlékách, lacích na vlasy aj. [54, 58, 59].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 ZHODNOCENÍ LITERÁRNÍ STUDIE A CÍLE PRÁCE

Savčí želatina je vzhledem k sociokulturním a zdravotním rizikům po mnoho let vystavována tlakům. Právě proto má rybí želatina velký potenciál a je považována za dobrou alternativu. Nicméně, rybí želatina má ve srovnání s komerční želatínou horší vlastnosti, které omezují její rozsáhlé použití. Dále literatura uvádí, že rybí želatina vytváří ekonomickou hodnotu pro vedlejší produkty z ryb, čímž by se mohl omezit odpad, který končí na skládkách a ve vodním prostředí. Je tedy nutné zvýšit výtěžnost želatin a zlepšit jejich vlastnosti z vedlejších produktů ryb a proto cíle mé práce byly následující

- 1) Ověřit procesní podmínky přípravy želatin ze skeletů kapra obecného a sledovat vliv vybraných procesních parametrů na výtěžnost želatinových frakcí,
  - Koncentrace kyseliny chlorovodíkové (faktor A),
  - Přídavek enzymu (faktor B),
- 2) Připravit modelové vzorky želatin a charakterizovat jejich vlastnosti, případně navrhnout jejich aplikaci v potravinářství,
- 3) Navrhnout optimální podmínky zpracování kapřích vedlejších produktů na želatinu využitelné v potravinářství.

Vědecké hypotézy:

- 1) Předpokládá se, že za zvolených procesních podmínek vícestupňové extrakce želatin se podaří připravit želatinovou frakci z vedlejších rybích produktů,
- 2) Předpokládá se, že želatiny budou mít pevnost gelu odpovídající pro využití v potravinářství,
- 3) Předpokládá se, že v experimentu, kde nebyly použity demineralizace kyselinou ani enzymatické opracování suroviny v procesu kondicionování, bude dosaženo nejmenšího stupně konverze na želatinu.

## 5 MATERIÁL, METODY A POSTUP PRÁCE

### 5.1 Surovina

Skelety z kapra obecného byly získány z rybářství Tovačov. Jedná se o tuhý odpad z přípravy kapřích filetů, který kromě kostí obsahuje i zbytky svaloviny a kůže, šupiny a ploutve. Takto získané kostry byly rozřezány na menší kousky a dále pomlety na velikost asi 3 mm. Pomletá surovina byla zbavena vzduchu na vakuové svářečce a tím i uzavřena do vakuového sáčku. Takto připravené cca 1 kg balíčky byly zamrazeny při -18 °C. Před zpracováním suroviny bylo nutné balíčky rozmrazit den předem vytažením do chladničky. Byly provedeny analýzy suroviny a její složení je 42,95 % sušiny, 59,78 % tuku, 9,37 % popelovin, 73,38 % kolagenu (po odstranění rozpustných bílkovin a tuku) a 3,29 % dusíku.



Obrázek 9: Skelet kapra obecného



Obrázek 10: Rozřezané a následně pomleté kapří skelety

## 5.2 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Elektronické analytické váhy KERN 770, elektronické laboratorní váhy 440-47, sušárna WTB Binder, třepačka LT2 firmy Kavalier, pH metr WTW 526, varná deska s termostatem a magnetickým míchadlem Schott Garate GMBH, mixér ETA, stopky, exsikátor, plynový kahan, Muflova pec Nabertherm, lednice Samsung, Sevens - LFRA analyzátor, Termostat Thermo Hauke, Übbelohdeho viskozimetr, destilační aparatura, extrakční aparatura, inkubátor Daisy, řezačka masa BRAHER P-22/82, topné hnízdo LTHS 250 a 500, odstředivka EBA 20.

Erlenmeyerova baňka, destilační baňka se zábrusem, odměrný válec, koželužská miska, pipety a balónky, Petriho misky, kleště, LDPE uzavíratelné sáčky, tyčinky, lžičky, tkaniny, kuchyňské sítko, žíhací kelímky, kádinky, magnetické míchadlo, varné kuličky, sáčky F57, inkubační láhev, váženky, pipety, filtrační papír, kovová síta s velikostí ok 1 mm, nůžky, stříčky s destilovanou vodou, balónek, plech, smaltový hrnec, nálevky, sirky.

Chlorid sodný, hydroxid sodný, kyselina chlorovodíková, směs etanolu s petroletherem v poměru 1:1, enzym Protamex [Příloha P I], aceton, enzymy pepsin a pankreatin, fosfátový pufr.

## 5.3 Metodika práce

Plánování experimentů umožňuje nalézt faktory, které nejvýznamněji ovlivňují výrobní proces i jeho výstupy a stanovit optimální hodnoty těchto faktorů. Je to vlastně matematický prostředek, který umožňuje kvantifikovat významnost vstupů, které jsou na počátku experimentu vytipovány jako pravděpodobně vlivné. Plánování experimentů dále stanoví jak nastavit vstupy, aby proces dosahoval požadovaných výstupů při minimální variabilitě a odolnosti před nepředvídatelnými negativními vlivy na výrobní proces. V této metodě se využívá jednak matematická statistika a jednak teorie pravděpodobnosti. V experimentální části diplomové práce byl použit Taguchi design, ve kterém byly sledovány 2 faktory na 3 úrovních [60]. Faktorový plán sestává z:

- 1) Koncentrace kyseliny chlorovodíkové při demineralizaci suroviny (faktor A),
- 2) Množství přidaného enzymu Protamex v procesu kondicionování (faktor B).

Všechny experimenty byly demineralizovány stejnou dobu, tedy 48 hodin, ale koncentrace kyseliny chlorovodíkové se měnila. Koncentrace HCl (faktor A) byla 0,5 %, 1,0 % a



2,0 %. Také doba opracování enzymem byla u všech experimentů konstantní a to 4 hodiny. Množství přidaného enzymu (faktor B) bylo 0,0 %, 0,1 % a 0,2 %.

#### 5.4 Postup práce zpracování suroviny

Rámcový postup práce přípravy želatin se skládá ze 3 hlavních úseků a vyhodnocování procesu:

1) Příprava čistého kolagenu

- Promytí ve studené vodě – odstranění albuminů
- Opracování roztokem NaCl o koncentraci  $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$  – odstranění globulinů
- Opracování roztokem NaOH o koncentraci  $0,03 \text{ mol.l}^{-1}$  – odstranění glutelinů
- Odtučňování směsí rozpouštědel

2) Příprava demineralizovaného kolagenu

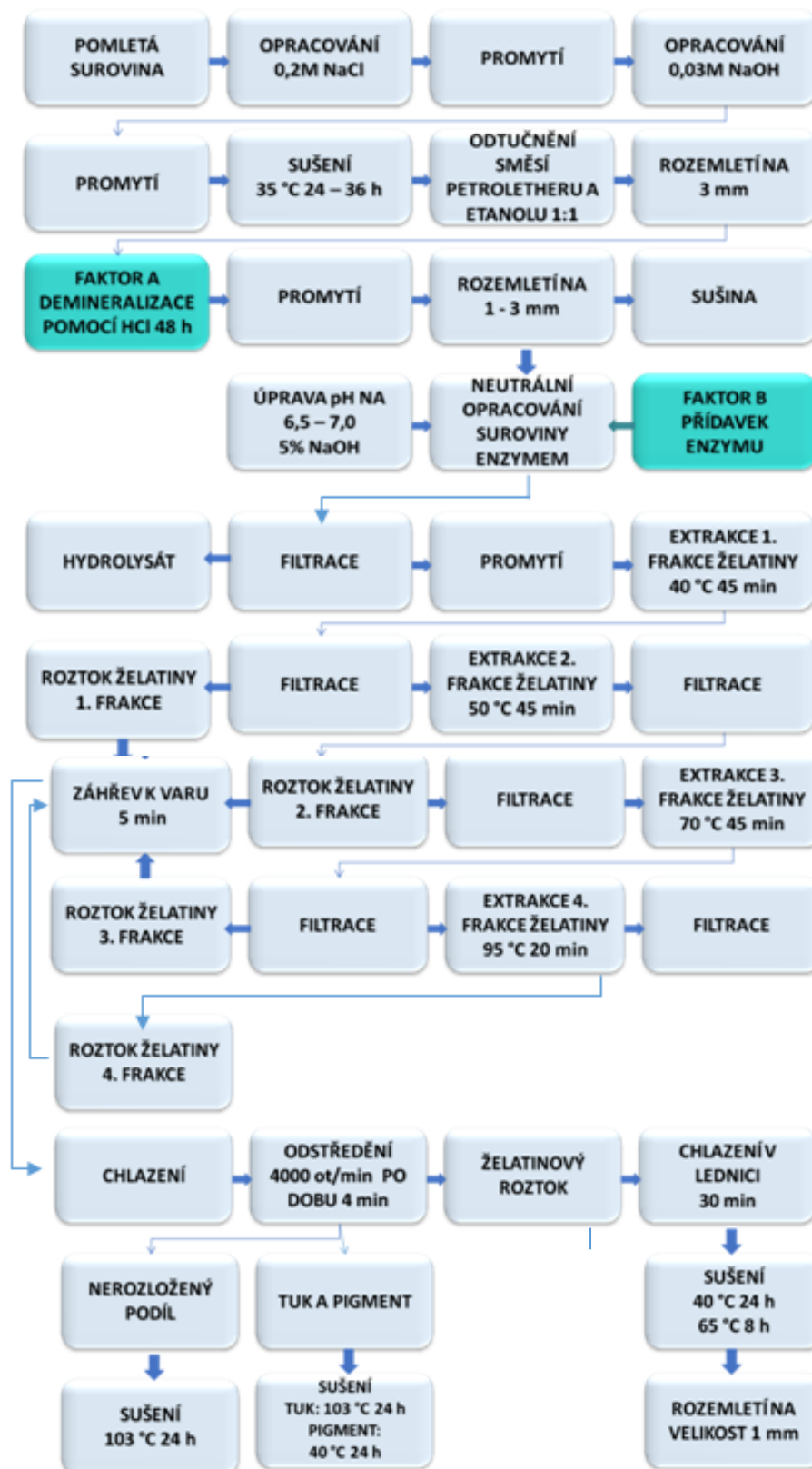
- Koncentrace HCl podle faktoru A (0,5 %, 1,0%, 0,2 %)

3) Příprava želatin

- Neutrální opracování suroviny enzymem podle faktoru B (0,0 %, 0,1 %, 0,2 %)
- Extrakce želatin

4) Vyhodnocení procesu a charakterizace želatin

Podrobnější postup přípravy želatin ze skeletů kapra obecného lze vidět na obrázku 11.



Obrázek 11: Schéma přípravy želatin

### 5.4.1 Příprava čistého kolagenu

Nejprve byla surovina den předem vytažena z mrazáku a dána na 24 h do lednice, aby byla rozmražena. Surovina byla nejdříve promyta kohoutkovou vodou na sítu s velikostí ok 1 mm vyloženém tkaninou po dobu asi 2 minut a následně vložena do nádoby se studenou vodou na 5 minut. Poté byla opět promývána. Následujícím krokem bylo opracování v  $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$  roztoku soli a to tak, že se surovina s připraveným roztokem NaCl smíchala ve velké nádobě v poměru 1:6 a nechala se opracovávat 90 minut při teplotě místnosti za občasného míchání. Potom byla surovina odfiltrována přes síto s tkaninou a promývána studenou vodou. V dalším kroku byla surovina opracována roztokem hydroxidu sodného o koncentraci  $0,03 \text{ mol.l}^{-1}$  v poměru 1:6 po dobu 45 minut za občasného míchání. Poté byla odfiltrována přes síto s tkaninou a promývána studenou kohoutkovou vodou. Tento postup opracování pomocí NaOH byl zopakován ještě 3x. Po posledním opracování suroviny hydroxidem sodným bylo promývání studenou vodou důkladné. Ze suroviny byla vymačkána přebytečná voda a následně byla rozprostřena na plechy, které byly opatřeny potravinářskou fólií. Plechy byly umístěny do sušárny s cirkulací vzduchu a surovina byla vysušena při  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  za 24-36 hodin. Takto vysušená surovina byla rozlámána na menší kousky a smíchána se směsí rozpouštědel v poměru 1:6. Jednalo se o směs petroletheru a etanolu v poměru 1:1. Surovina byla odtučňována na třepače 1,5-2 dny a vždy se po 12 h rozpouštědlo vyměnilo za čisté. Po ukončení odtučňování se odfiltrovaná surovina rozprostřela na plech a nechal se v digestoři volně do-odpařit zbytek rozpouštědla. Takto připravený čistý kolagen byl rozemlet na vertikálním mlýnku na původní jemnost 3 mm a skladován v temnu v uzavřené nádobě.

### 5.4.2 Příprava demineralizovaného kolagenu

Čistý kolagen byl smíchán s kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci podle faktoru A v poměru 1:10. Čistý kolagen byl demineralizován 48 h při pokojové teplotě za mírného třepání, při čemž po 24 h byla HCl vyměněna za čistou. Demineralizovaný čistý kolagen byl na sítu s velikostí otvorů 1 mm promýván kohoutkovou vodou cca 3 minuty. Demineralizovaný kolagen byl rozprostřen v tenké vrstvě na plech a sušen v sušárně s cirkulací vzduchu při  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  24-36 hodin. Vysušený demineralizovaný kolagen byl pomlet na velikost 1-3 mm. Od každého postupu mineralizace byl odebrán demineralizovaný kolagen ke stanovení sušiny. Podle stanovené sušiny bylo vypočítáno množství enzymu Protamex. Ze sušiny byl následně udělán popel pro ověření účinnosti demineralizace.

### 5.4.3 Extrakce želatin

70,0±0,1 g demineralizované suroviny bylo smícháno s destilovanou vodou v poměru 1:15, mírně třepáno 20 minut a poté bylo upraveno pH na hodnotu 6,5-7,0 pomocí 5% roztoku NaOH. Byl přidán proteolytický enzym Protamex v množství podle faktoru B. Pokračovalo mírné třepání při laboratorní teplotě po dobu 4 hodin. Po 30 minutách bylo zkontrolováno a případně doupraveno pH. U demineralizace suroviny 0,5% HCl bylo pH upraveno 15 ml, u 1% HCl 30 ml a u 2% HCl 50 ml 5% roztoku NaOH. Po ukončení enzymatického opracování byla surovina přefiltrována přes síto s velikostí ok 1 mm opatřené 3 vrstvami PA tkaniny. Hydrolyzáta (kapalina) byl přelit na plech vyložený fólií a sušen při 70 °C 24 hodin. Po vysušení byl hydrolyzáta zvážen, seškrábán a dán do uzavíratelného sáčku. Pro odstranění co největšího množství enzymu byla surovina zachycená na sítu důkladně promyta kohoutkovou vodou cca 5 minut a poté převedena do kádinky s destilovanou vodou v poměru 1:15. Materiál s vodou byl zahříván na 40 °C a po dosažení teploty trvala extrakce 45 minut. Během extrakce byl obsah kádinky intenzivně míchán pomocí magnetického míchadla. Po uplynutí času byl materiál přefiltrován přes síto s tkaninami a kapalina, tedy želatina 1. frakce, byla jímána do druhé kádinky a rychle přivedena k varu a povařena 5 minut. Poté byla zchlazena ve studené vodě. Zchlazená želatina 1. frakce byla rozlita do zkumavek a odstředována při 4000 ot/min po dobu 4 minut. Po odstředění se roztok rozdělil na 3 vrstvy, kdy spodní vrstva obsahovala pigment, střední vrstva obsahovala čistý želatinový roztok a vrchní vrstva obsahovala tuk. Roztok byl odfiltrován od vrstvičky tuku přes síto s tkaninou na plech a vložen na 30 minut do lednice. Po půl hodině byl přenesen do sušárny a vysušen při 40 °C přes noc a druhý den při 65 °C dalších 8 hodin. Vysušená želatina 1. frakce byla zvážena, uschována do uzavíratelného sáčku a skladována v temnu. Nerozložený materiál, který zůstal po extrakci 1. frakce želatiny, byl dán opět do kádinky a smíchán s destilovanou vodou 1:15. Systém byl intenzivně míchán a zahříván na teplotu 50 °C a po dosažení této teploty byla želatina extrahována 45 minut. Poté byl materiál přefiltrován a kapalina (želatina 2. frakce) jímána do kádinky a přivedena k varu a povařena 5 minut. Opět byla zchlazena, odstředěna, dána do lednice na půl hodiny, následně vysušena a zvážena stejně jako želatina 1. frakce. Zbýlý nerozložený materiál byl opět smíchán s destilovanou vodou v poměru 1:15 a zahřán na 70 °C za intenzivního míchání. Po dosažení teploty 70 °C byla želatina 3. frakce extrahována 45 minut. Poté byly další kroky shodné s předchozím získáním frakce želatiny. Následně byl přefiltrován nerozložený materiál naposled smíchán s destilovanou

vodou v poměru 1:15 a zahřán na 95 °C. Obsah byl míchán tak, aby se materiál neusazoval a po dosažení teploty se 4. frakce želatiny extrahovala 20 minut. Následovalo chlazení, odstředování a sušení za stejných podmínek jako ostatní frakce želatin. Zbýlý nerozložený podíl byl vysušen při 103 °C přes noc, následně zvážen a uchován při laboratorní teplotě v sáčku. Za stejných podmínek byla vysušena a skladována tkanina se zachyceným tukem po odstředění želatinových roztoků. Ze zkumavek po odstředění byl pomocí lžičky vyškrábnut pigment a na Petriho misce vysušen při 40 °C přes noc. Pigment byl zvážen a přendán do uzavíratelného sáčku. Skladován byl za laboratorní teploty v temnu stejně jako ostatní získané složky.

## 5.5 Analýzy surovin a produktů

Analýzy hydrolyzátů a želatin byly prováděny podle Standardní testovací metody pro jedlé želatiny – Standard Testing Methods for Edible Gelatin (v USA) [61].

Pro stravitelnost a zkoušky WHC, FBC, FC/FS a EC/ES byly želatiny rozemlety na jemný prášek. Sítovou analýzou byla zjištěna velikost částic rozemletých želatin. Velikost částic se pohybovala v rozmezí 250 µm – 1 mm.

### 5.5.1 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu sušiny bylo důležité pro výpočet množství přidávaného enzymu. Sušina se prováděla v předsušených koželužských miskách, do kterých se na analytických vahách navážilo cca 4 g demineralizovaného kolagenu, příp. hydrolyzátu či želatiny. Koželužské misky s navázkou se vložily do sušárny, kde byly sušeny při 103 °C do konstantní hmotnosti. Následně byly misky vytaženy a přendány do exsikátoru. Po vychladnutí byly koželužské misky s vysušenou navázkou zváženy. Ze dvou stanovení se následně vypočítala průměrná hodnota sušiny podle vzorce (1):

$$S = \frac{m}{m_0} \cdot 100 \quad (1)$$

kde: S – obsah sušiny vzorku [%]; m – hmotnost vzorku po vysušení [g];  $m_0$  – hmotnost vzorku před vysušením [g]

### 5.5.2 Stanovení obsahu popelovin

Obsah popelovin byl prováděn u demineralizovaného kolagenu, hydrolyzátů a všech frakcí želatin. Stanovením obsahu popelovin získáme množství anorganických látek ve vzorku.

Do dvou předem vyžíhaných kelímků byl navážen 1 g vzorku. Kelímek se umístil nad kahan, pomocí něhož byl obsah kelímku spálen na popel. Kelímek s popelem byl vložen do muflové pece předehřáté na 650 °C a žíhán do konstantní hmotnosti. Vyžíhaný kelímek byl po krátkém zchladnutí umístěn do exsikátoru a po vychladnutí zvážen na analytických vahách. Ze dvou stanovení se následně vypočítala průměrná hodnota. Obsah popela byl vypočítán dle vzorce (2):

$$P = \frac{m_p}{m_0} \cdot 100 \quad (2)$$

kde: P – obsah popela ve vzorku [%];  $m_p$  – hmotnost zpopelněného vzorku [g];  $m_0$  – hmotnost navážky vzorku [g]

### 5.5.3 Stanovení pevnosti gelu

Tvorba gelu je jedna z nejdůležitějších vlastností želatiny. Tuhost gelu závisí na mnoha faktorech (pH, teplota aj.) a jeho hodnota je důležitá pro následné použití. Pevnost gelu se stanovuje na analyzátoru Sevens – LFRA. Princip této metody spočívá ve vtláčování válcové sondy o průměru 12,7 mm do připraveného gelu. Gel musí mít koncentraci 6,67 % a připraví se dle množství vyextrahované želatiny podle tabulky 4. Do přesně definovaných nádob byla navážena želatina a voda. Po dobu 20 minut vzorek bobtnal a následně byl rozpuštěn ve vodní lázni při teplotě 45 °C. Takto připravené roztoky byly po vychladnutí dány do lednice a za 16-18 h bylo provedeno měření vzniklých gelů. Výsledkem měření je hodnota Bloom, která určuje potřebnou sílu k penetraci povrchu gelu sondou do hloubky 4 mm rychlostí 1 mm.s<sup>-1</sup>. Při použití nestandardní nádoby byly hodnoty poděleny přepočítávacím faktorem.

Tabulka 4: Hodnoty k přípravě gelu o koncentraci 6,67 %

Metoda	Navážka želatiny [g]	Navážka vody [g]	Nádoba	Přepočítávací faktor
A	7,5	104,5	standardní nádoba	-
B	3,0	42,0	nádoba o ½ objemu	1,2627
C	1,5	21,0	nádoba o ¼ objemu	1,6372

#### 5.5.4 Stanovení teploty tání gelu

Do kapiláry s vnitřním průměrem 2-4 mm byl nabrán gel do výšky 1-1,5 cm kapiláry. Takto přichystané kapiláry byly skladovány v lednici. Kapilára byla vložena do zkumavky s vodou tak, aby byla ve stejné hloubce jako teploměr. Celá zkumavka byla vložena do vodní lázně s míchadlem pro rovnoměrný ohřev vody. Aparatura byla zahřívána na 50 °C. V okamžiku kdy tlak vody vytlačí gel z kapiláry, byla zaznamenána teplota, tedy teplota tání gelu.

#### 5.5.5 Stanovení dynamické viskozity

Vzorek po měření pevnosti gelu se nechal rozpustit. Viskozita roztoku o koncentraci 6,67 % byla měřena pomocí Übbelohdeho viskozimetru. Měření viskozity spočívá v měření doby průtoku kapaliny kapilárou. Übbelohdeho viskozimetr se vzorkem byl temperován při 60 °C a následně byl roztok nasát do měřící kapiláry pomocí balónku. Naměřená doba průtoku kapaliny viskozimetrem byla zaznamenána a poté přepočítána na dynamickou viskozitu podle vzorce (3):

$$\eta = \left( K \cdot t - \frac{B}{t} \right) \cdot \rho \quad (3)$$

kde:  $\eta$  – dynamická viskozita [mPa.s];  $K$  – konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou [0,5];  $t$  – aritmetický průměr změřených průtokových dob [s];  $B$  – konstanta ke korekci na kinetickou energii určena z rozměrů viskozimetru [2,8];  $\rho$  – hustota [1,005 g.cm<sup>-3</sup>]

#### 5.5.6 Stanovení teploty tuhnutí

Teplota tuhnutí želatinového roztoku o koncentraci 6,67 % je určena jako teplota, kdy ztuhlý roztok udrží kuličku definované hmotnosti na svém povrchu nebo ve vrstvě, aniž by se propadla na dno. Do zkumavky o vnitřním průměru 1,5-2 cm byl nalit roztok želatiny zhruba do  $\frac{3}{4}$  zkumavky. Doprostřed zkumavky byl vložen teploměr. Zkumavka byla vložena do prázdné kádinky o objemu 150 ml. V okamžiku kdy teplota roztoku dosáhla 30 °C, byla do kádinky nalita vychlazená voda z lednice (v případě nízkých hodnot Bloom byl použit led) tak, aby hladina vody sahala nad vzorek ve zkumavce. Do zkumavky byly vhazovány ocelové kuličky při poklesu teploty o 1 °C do doby, kdy kulička uvízla ve vrstvě či na povrchu. V tento okamžik byla odečtena teplota tuhnutí gelu.

### 5.5.7 Stanovení celkové účinnosti extrakce

Účinnost extrakce charakterizuje celkovou efektivitu konverze výchozí suroviny na konečné produkty. Účinnost extrakce byla vypočtena u všech experimentů dle vzorce (4):

$$\eta_c = \frac{K}{S} \cdot 100 \quad (4)$$

kde:  $\eta_c$  – účinnost extrakce [%]; K – hmotnost konečných produktů (hydrolysát a želatiny) [g]; S – hmotnost sušiny [g]

Pro výpočet účinnosti extrakce želatin ( $\eta_z$ ) byl použit stejný vzorec, ale do hmotnosti konečných produktů nebyl započítán hydrolysát.

### 5.5.8 Stanovení bilanční chyby

U všech experimentů byla též zjišťována bilanční chyba měření k celkové účinnosti extrakce dle schématu:

$$VSTUP = VÝSTUP$$

kde: VSTUP – sušina demineralizovaného kolagenu; VÝSTUP – součet stanovených hodnot dané extrakce (hydrolysát, želatina 1. – 4. frakce, nerozložený podíl, tuk a pigment)

Celková bilance se vypočte dle vzorce (5):

$$Balance = \frac{VÝSTUP}{VSTUP} \cdot 100 [\%] \quad (5)$$

Bilanční chyba se vypočte dle vzorce (6):

$$Bilanční\ chyba = 100 - Balance [\%] \quad (6)$$

### 5.5.9 Vodu zadržující kapacita (WHC)

WHC (water holding capacity) je měřítkem celkového množství vody, které lze absorbovat na gram proteinového prášku. Tato vlastnost je založena na přímé interakci proteinových molekul s vodou a jinými rozpuštěnými látkami. Do zkumavky byl navážen 1 g želatiny a rozptýlen ve 25 ml destilované vody. Obsah zkumavky byl míchán 5 minut při laboratorní teplotě. Zkumavky byly vloženy do odstředivky a obsah byl odstřeďován při 5000 ot/min po dobu 30 minut. Poté byl odstraněn supernatant pomocí pipety a dopočtem byla



zaznamenána hodnota absorbované vody. WHC byla určena jako hmotnost absorbované vody na 1 g vzorku.

#### 5.5.10 Tuk vázací kapacita (FBC)

FBC (fat binding capacity) je měřítkem celkového množství oleje absorbovaného na hmotnost bílkoviny. Tato vlastnost je užitečná zejména v potravinářství, kde tuk je nositelem chuti a ovlivňuje strukturu potraviny. Tato metoda se stanovuje tak, že se do zkumavky naváže 0,1 g želatiny a přidá se 10 ml sójového oleje. Obsah zkumavky se důkladně zamíchá. Zkumavka se nechá stát při laboratorní teplotě 30 minut. Poté byla želatina s olejem odstředována při 2500 ot/min po dobu 30 minut. Pomocí pipety byl odstraněn supernatant a dopočtem byla zaznamenána hodnota navázaného oleje. FBC byla určena jako hmotnost absorbovaného oleje na 1 g vzorku.

#### 5.5.11 Pěnotvorná kapacita (FC) a stabilita pěny (FS)

Pěnová kapacita a stabilita pěny jsou důležitými parametry při charakterizaci funkčních vlastností proteinů. Proteiny musí být vysoce rozpustné ve vodě, pružné a musí být součástí soudržného filmu na rozhraní voda-vzduch, aby byla zajištěna dobrá tvorba pěny. Film by měl mít dostatečnou viskozitu k udržení stability a zabránění prasknutí a následné koalescenci. Do kalibrovaného válce byl navážen 1 g želatiny a přidáno 50 ml vody. Obsah válce byl zahříván na 60 °C. Po dosažení teploty byl obsah našlehán mixérem při 10000 ot/min po dobu 5 minut. Pěnotvorná kapacita a stabilita pěny byly vypočítány dle vzorců (7) a (8):

$$FC = \frac{V_C - V_P}{V_P} \cdot 100 \quad (7)$$

kde: FC – pěnotvorná kapacita [%];  $V_C$  – objem celkový po 5 minutách šlehání [ml];  
 $V_P$  – původní objem [50 ml]

$$FS = \frac{V_{C30} - V_P}{V_P} \cdot 100 \quad (8)$$

kde: FS – stabilita pěny [%];  $V_{C30}$  – objem celkový po 30 minutách stání [ml];  
 $V_P$  – původní objem [50 ml]

### 5.5.12 Emulzifikační kapacita (EC) a stabilita emulze (ES)

Emulzifikační kapacita a stabilita emulze jsou kritické parametry, které ovlivňují výběr proteinu pro použití v průmyslovém procesu. Proteiny mohou snížit napětí na rozhraní voda-olej a zabránit koalescenci. Stabilizační účinek proteinu v emulzi pochází z membránové matrice, která obklopuje kapku oleje, a zabraňuje její koalescenci. Pro stanovení EC a ES bylo připraveno 5 ml roztoku o koncentraci 10 mg/ml. Takto připravený roztok byl homogenizován s 5 ml sójového oleje po dobu 1 minuty. Připravená emulze byla odstředována při 1000 ot/min 5 min. Emulzifikační kapacita byla vypočtena dle vzorce (9):

$$EC = \frac{h_E}{h_C} \cdot 100 \quad (9)$$

kde: EC – emulzifikační kapacita [%];  $h_E$  – výška vrstvy emulze [cm];  $h_C$  – celková výška [cm]

Pro stanovení stability emulze byl odstředěný roztok zahřát na 55 °C po dobu 5 minut a následně odstředěn při 2000 ot/min 5 minut. Byla stanovena podle vzorce (10):

$$ES = \frac{h_O}{h_E} \cdot 100 \quad (10)$$

kde: ES – stabilita emulze [%];  $h_O$  – výška vrstvy emulze po ohřevu [cm];  $h_E$  – výška vrstvy emulze [cm];

### 5.5.13 Stravitelnost

U vybraných vzorků želatin a hydrolysátů byla provedena stravitelnost. Pro její výpočet bylo nutné stanovit obsah sušiny a popela vzorku. Sušina byla stanovena v hliníkových miskách, které byly předsušeny při 105 °C po dobu 1 hodiny. Do předsušených misek byl navážen 1 g vzorku, který byl vysušen při teplotě předsušení do konstantní hmotnosti, a dále s ním bylo nakládáno dle kapitoly 5.5.1. Obsah popela byl stanoven v předžíhaných kelímcích při teplotě 550 °C po dobu 1 hodiny. Poté do něj byl navážen 1 g vzorku, který byl sušen při 550 °C 5 hodin a další postup byl shodný s kapitolou 5.5.2. Sáčky F57 na stravitelnost byly poprány v acetonu a pak odvětrány v digestoři. Do sáčků bylo naváženo 0,25 g želatinu či hydrolysátu a ty byly následně zataveny stolní svářečkou. Připravené sáčky byly vloženy do inkubační láhve a zality 1,7 litry 0,1 mol.l<sup>-1</sup> HCl s 2,4 g pepsinu. Láhev byla umístěna do inkubátoru Daisy na 4 hodiny. Po uplynutí doby byly sáčky

důkladně promyty destilovanou vodou a opět vloženy do inkubační láhve, kde byly zality fosfátovým pufrem o pH 7,45. Bylo přidáno 2,4 g pankreatinu a láhev se nechala inkubovat 24 h při 37 °C. Po inkubaci byla láhev vložena na 30 min do sušárny vyhřáté na 80 °C. Poté byly sáčky vytaženy a důkladně propláchnuty destilovanou vodou a opět vloženy do sušárny na 24 h při teplotě 105 °C. Vysušené sáčky byly vloženy do předem vyžíhaných kelímků na stanovení popela a dány do muflové pece na 5 h při teplotě 550 °C. Následně byly sáčky ponechány v exsikátoru do vychladnutí a poté zváženy. Stravitelnost byla vypočtena dle následujících vzorců (11) až (13):

Pro hodnotu stravitelnosti sušiny vzorku DMD [%] platí:

$$DMD = 100 - \frac{100 \cdot DMR}{m_2 \cdot DM} \quad (11)$$

$$DMR = m_3 - m_1 \cdot k_1 \quad (12)$$

$$DM = \frac{S \cdot m_S}{100} \quad (13)$$

kde: DMR - hmotnost vzorku bez sáčku po inkubaci a vysušení [g]; DM – obsah sušiny ve vzorku [g];  $k_1$  – korekce hmotnosti sáčku po hydrolyze [g];  $m_1$  – hmotnost sáčku [g];  $m_2$  – hmotnost vzorku [g];  $m_3$  – hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po inkubaci [g]; S – obsah sušiny ve vzorku [%];  $m_S$  – hmotnost vzorku na stanovení sušiny [g]

Pro hodnotu stravitelnosti organické hmoty vzorku OMD [%] platí vzorce (14) až (16):

$$OMD = 100 - \frac{100 \cdot (DMR - AR)}{m_2 \cdot DM \cdot OM} \quad (14)$$

$$AR = m_4 - m_1 \cdot k_2 \quad (15)$$

$$OM = \frac{S - P}{100} \quad (16)$$

kde: AR – hmotnost popela vzorku bez sáčku [g]; OM – obsah organické hmoty v sušině vzorku [g];  $k_2$  – korekce sáčku po spálení [g];  $m_1$  – hmotnost sáčku [g];  $m_2$  – hmotnost vzorku [g];  $m_4$  – hmotnost popela vysušeného sáčku se vzorkem po inkubaci [g]; S – obsah sušiny ve vzorku [%]; P – obsah popela ve vzorku [%]

## 6 VÝSLEDKY A DISKUSE

Byly studovány 2 faktory na 3 úrovních, tedy bylo provedeno 9 experimentů. Pro zjištění účinnosti enzymatického opracování byl proveden kontrolní pokus bez demineralizace kyselinou a bez přídavku enzymu (slepý pokus). Sledovanými faktory byly koncentrace kyseliny chlorovodíkové (faktor A) při demineralizaci suroviny a množství přidaného enzymu (faktor B) v procesu kondicionování. Celý rozpis experimentu s charakterizací procesu a výtěžky hydrolyzátů a želatin jsou uvedeny v tabulce 5. U získaných hydrolyzátů byl stanoven obsah popela. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6. Všechny želatiny vzniklé extrakcí kapřích skeletů byly podrobeny analýzám, jejichž výsledky jsou uvedeny v tabulce 7 až 10. Ke zpracování výsledků experimentu byl použit software MiniTab 19, díky němuž byla získaná data statisticky zpracována.

V tabulce 5 je uveden rozpis experimentů podle faktorového schéma  $3^2$ . Uveden je i slepý pokus (bez použití obou faktorů). Výtěžek hydrolyzátu byl různý, pohyboval se v rozmezí od 2,86 % do 15,27 %. Výtěžek hydrolyzátu roste s použitím vyšší koncentrace kyseliny chlorovodíkové při demineralizaci i s přídavkem vyššího množství enzymu. U slepého pokusu byl výtěžek hydrolyzátu pouze 0,65 %. Výtěžky frakcí želatin slepého pokusu byly odlišné. Slepý pokus měl vyšší výtěžnost 1. frakce želatiny v porovnání s želatinami, které taktéž neobsahovaly enzym. U 2. frakce želatiny měl slepý pokus vyšší výtěžnost pouze oproti experimentu č. 7. Slepý pokus měl nejnižší výtěžky 3. a 4. frakce želatin.

Co se týče obsahu popela v hydrolyzátu, který je zaznamenán v tabulce 6, je jeho obsah poměrně vysoký. To si vysvětlujeme vysokým přídavkem 5% NaOH používaného k neutralizaci suroviny. Nejmenší obsah popela má tedy slepý pokus, kde nebyla použita zásada k neutralizaci suroviny. Naopak nejvyšší hodnoty popela mají experimenty demineralizované 2% HCl, ke kterým bylo k neutralizaci přidáno 50 ml 5% NaOH.

Tabulka 5: Rozpis experimentů a vyhodnocení hmotové bilance procesu

Číslo exp.	Faktor A HCl [%]	Faktor B enzym [%; w/w]	Výtěžek [%]					NP [%]	Lipidy + pigment [%]	$\eta_z$ [%]	$\eta_c$ [%]	Bilanční chyba [%]
			Hydrolyzát	1. frakce želatiny	2. frakce želatiny	3. frakce želatiny	4. frakce želatiny					
1	0,5	0	2,86	3,97	5,56	5,87	4,13	71,59	0,63	19,53	22,39	5,39
2	0,5	0,1	5,08	17,30	15,24	3,81	2,06	53,97	1,75	38,41	43,49	0,79
3	0,5	0,2	7,30	24,92	10,00	3,33	2,22	48,89	2,86	40,47	47,77	0,48
4	1,0	0	8,75	9,81	7,24	4,83	6,04	58,41	0,45	27,92	40,75	4,47
5	1,0	0,1	12,83	20,53	13,13	3,47	1,96	39,99	3,02	39,09	51,92	5,07
6	1,0	0,2	17,84	34,02	5,76	2,06	1,92	36,36	1,51	43,76	61,60	0,53
7	2,0	0	11,09	4,20	3,90	3,75	6,30	69,42	0,75	18,15	29,24	0,60
8	2,0	0,1	15,27	6,54	4,77	6,68	7,22	58,47	0,55	25,21	40,48	0,50
9	2,0	0,2	12,29	11,39	6,30	4,50	4,35	57,42	1,95	26,54	38,83	2,10
10	0	0	0,65	15,91	4,55	1,62	1,46	73,86	1,79	21,29	21,94	0,16

kde: NP – nerozložený podíl,  $\eta_z$  – celková účinnost extrakce želatin,  $\eta_c$  – celková účinnost extrakce

Tabulka 6: Rozpis experimentů a vyhodnocení vlastností hydrolysátů

<b>Exp. číslo</b>	<b>Faktor A HCl [%]</b>	<b>Faktor B enzym [%, w/w]</b>	<b>Obsah popela [%]</b>	<b>Stravitelnost [%]</b>
1	0,5	0	62,58	99,8
2	0,5	0,1	45,77	-
3	0,5	0,2	35,33	-
4	1,0	0	37,61	99,2
5	1,0	0,1	33,39	-
6	1,0	0,2	20,77	-
7	2,0	0	43,53	-
8	2,0	0,1	42,41	-
9	2,0	0,2	37,31	-
10	0	0	30,98	-









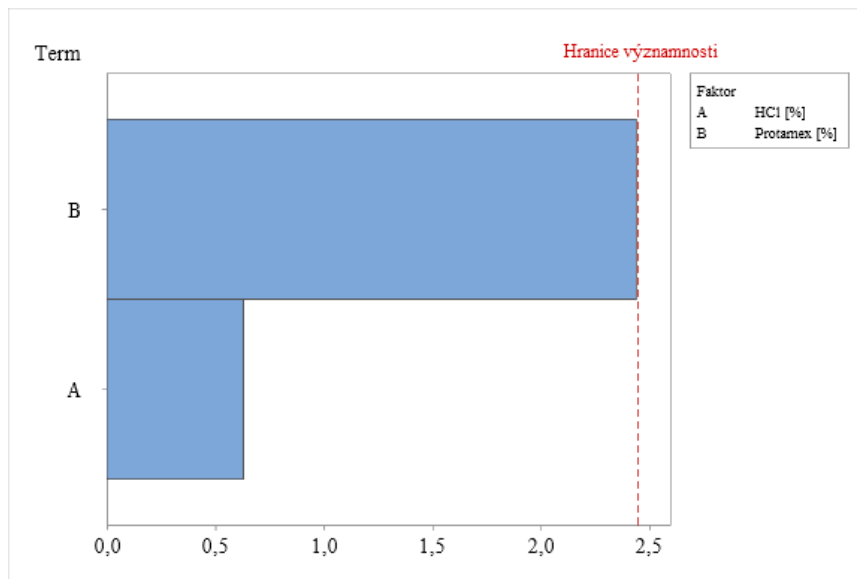


## 6.1 Celková účinnost extrakce

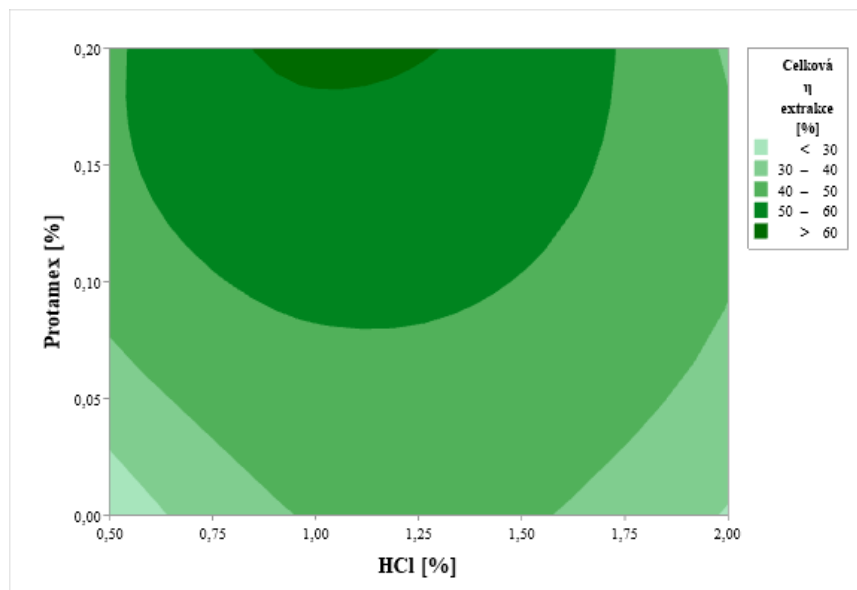
Celková účinnost extrakce, tedy konverze suroviny na hydrolyzáty/želatiny, je dána regresní rovnicí:

$$y = 36,20 - 3,15 \text{ HCl} [\%] + 93,00 \text{ Protamex} [\%]$$

Hladina významnosti (p-value) byla u HCl 0,552 a u enzymu Protamex 0,051. S 95% pravděpodobností můžeme říct, že enzym Protamex měl vliv na celkovou účinnost extrakce (viz obrázek 4).



Obrázek 12: Významnost sledovaných faktorů A a B na celkovou účinnost extrakce



Obrázek 13: Vrstevnicový graf celkové účinnosti extrakce

Z obrázku 13 vyplývá, že se účinnost extrakce pohybovala cca od 30 do 60 %. Největší výtěžnost byl zaznamenán u experimentu č. 6 (demineralizace 2% HCl a přídavek 0,2 % enzymu Protamex), naopak nejnižší u exp. č. 1 (0,5% HCl; 0 % enzymu). Vrstevnicový graf ukazuje, že s vyšším přídavkem enzymu v procesu kondicionování se zvyšuje celková výtěžnost extrakce. Chceme-li dosáhnout největší celkové výtěžnosti, použijeme demineralizaci suroviny v rozmezí koncentrace HCl 0,90-1,25 %.

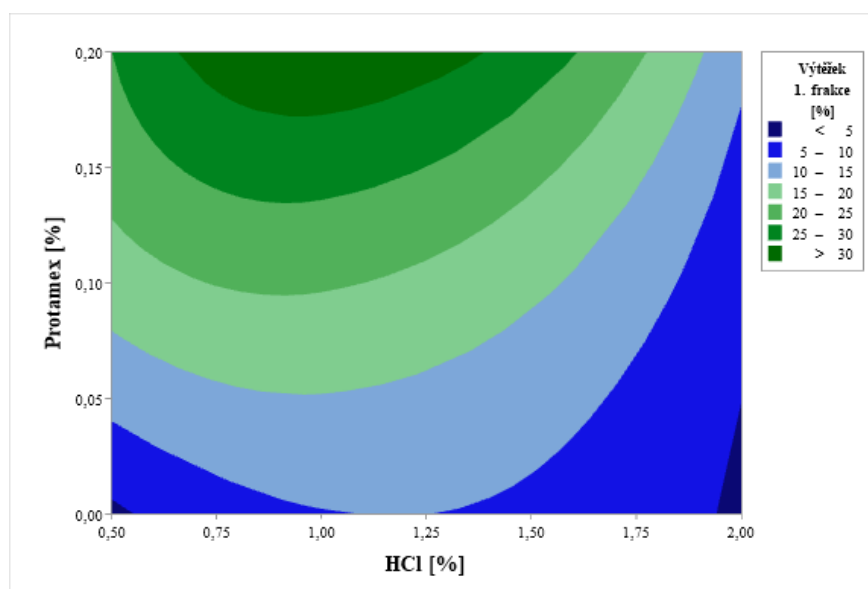
## 6.2 Výtěžnost

Výtěžky 1. a 2. frakce želatin byly odlišné. Lze říci, že nejlepší výtěžky mají želatiny, u kterých byla použita demineralizace 1% HCl. Výtěžky 1. a 2. frakce želatin, které byly demineralizovány 2% HCl, byly vždy nižší než u stejných želatin demineralizovaných 0,5% HCl. Výtěžky želatin vždy rostou se zvyšujícím se množstvím přidávaného enzymu. U 3. frakce želatin byl největší výtěžek zjištěn u želatin demineralizovaných 0,5% HCl bez přídavku enzymu. Při přídavku 0,1 % a 0,2 % enzymu měla želatina 3. frakce nejvyšší výtěžnost při použití 2% HCl. U použití 0,5% a 1% HCl klesala výtěžnost s vyšším přídavkem enzymu. U 4. frakce želatin byla nejlepší výtěžnost zaznamenána při demineralizaci 2% HCl.

**Pro výtěžek 1. frakce platí regresní rovnice:**

$$y = 13,71 - 6,59 \text{ HCl} [\%] + 87,2 \text{ Protamex} [\%]$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,097 a pro enzym Protamex 0,014.



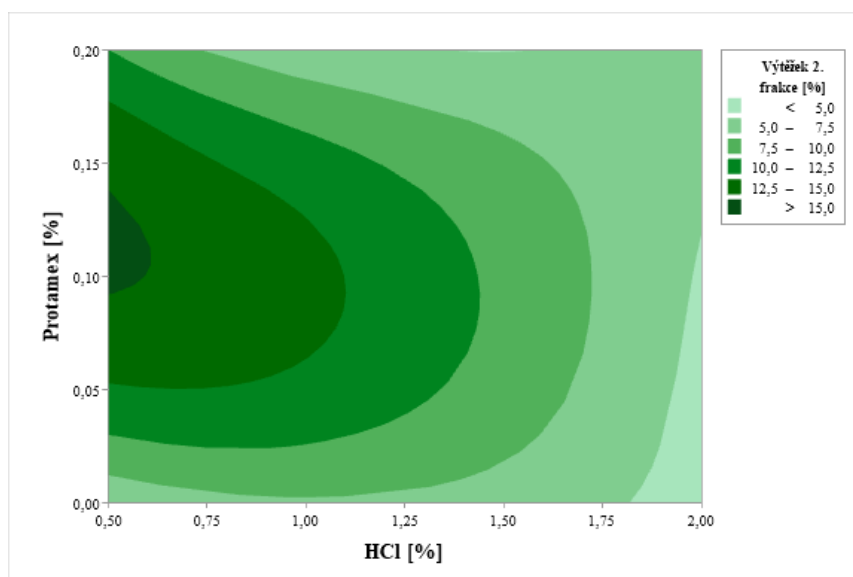
Obrázek 14: Vrstevnicový graf výtěžku 1. frakcí želatin

Enzym měl vliv na výtěžnost želatin 1. frakce. Z obrázku 14 je patrné, že výtěžnost je nejmenší v dolních limitech faktoru B (enzym) a dolních a horních limitech faktoru A (HCl). V literárních zdrojích je uváděna jednostupňová nebo dvoustupňová extrakce, proto mohla být výtěžnost jednotlivých extrakcí porovnána pouze u 1. frakce želatin. Goméz-Guillén et al [62] uvádí, že výtěžek 1. frakce želatiny získané z kůži jazyka byla 8,3 %, megrima 7,4 %, tresky 7,2 % a štikozubce 6,5 %. Želatina 1. frakce měla výtěžek 9,26 % a to nebyl použit enzym. Pomocí enzymu Protamex byl výtěžek želatiny z kapra obecného dvou- až trojnásobný oproti literárním zdrojům.

**Pro výtěžek 2. frakce platí regresní rovnice:**

$$y = 11,23 - 3,55 \text{ HCl [\%]} + 8,90 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,111 a pro enzym Protamex 0,560. Ani u jednoho z faktorů nebyl prokázán vliv na výtěžnost 2. frakcí želatin.



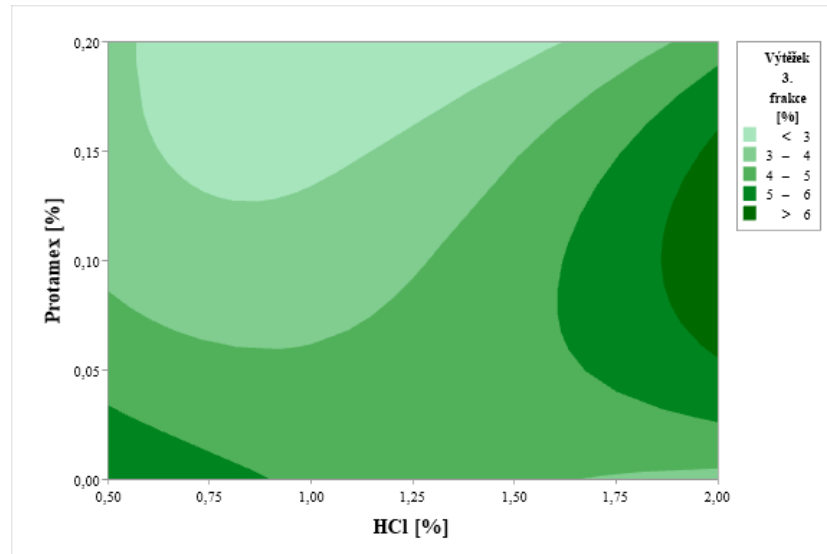
Obrázek 15: Vrstevnicový graf výtěžnosti 2. frakcí želatin

Horní limity faktoru A snižují výtěžnost želatin 2. frakce, stejně jako horní a dolní limity faktoru B (viz obrázek 15).

**Pro výtěžek 3. frakce platí regresní rovnice:**

$$y = 4,330 + 0,583 \text{ HCl [\%]} - 7,600 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,450 a pro enzym Protamex 0,218. Žádný z faktorů nebyl významný.



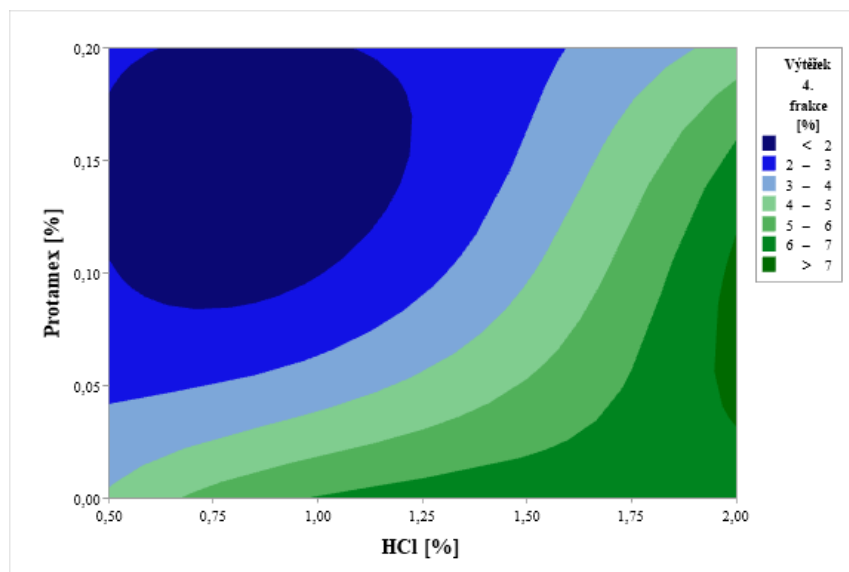
Obrázek 16: Vrstevnicový graf výtěžnosti 3. frakcí želatin

Z obrázku 16 je patrné, že výtěžky 3. frakcí jsou nejvyšší za použití enzymu v rozmezí 0,05 – 0,15 % a horních limitů koncentrace kyseliny chlorovodíkové. Vyšší výtěžnost poskytuje i surovina, která má oba faktory v dolních limitech.

**Pro výtěžek 4. frakcí platí regresní rovnice:**

$$y = 2,808 + 2,180 \text{ HCl} [\%] - 13,300 \text{ Protamex} [\%]$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,013 a pro enzym Protamex 0,031. Oba z faktorů měli vliv na výtěžnost 4. frakcí želatin.



Obrázek 17: Vrstevnicový graf výtěžnosti 4. frakcí želatin

Na obrázku 17 lze vidět, že výtěžnost 4. frakcí želatin roste v horních limitech faktoru A a středních limitech faktoru B.

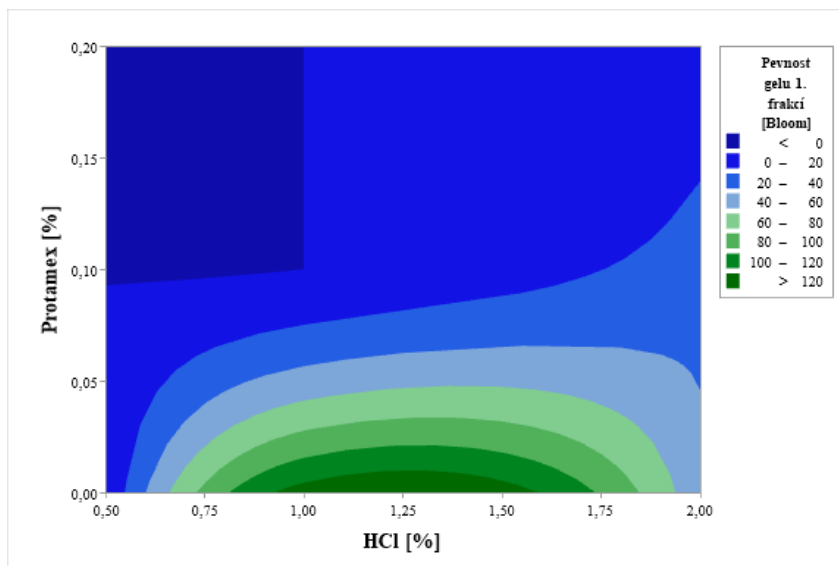
### 6.3 Pevnost gelu

Tvorba gelu je jedna z nejdůležitějších vlastností želatiny a ze získaných 36 frakcí želatin bylo 30 frakcí použito k tvorbě gelu a dalším analýzám. Z těchto 30 frakcí vytvořilo gel 18 vzorků. Gely nebyly vytvořeny u 6 vzorků 4. frakcí želatin kvůli velmi nízké výtěžnosti. Proto byly dle předchozích analýz vytipovány 3 vzorky s nejlepšími hodnotami Bloom. Právě u těchto vzorků byly vytvořeny gely i ze 4. frakce želatin. Do těchto hodnot není započítán slepý pokus, u kterého byly získány také 4 frakce, ale žádná z těchto frakcí nevytvořila gel. U vzorků (hydrolyzátů), které nevytvořily gel, nebyly provedeny další analýzy.

**Pro pevnost gelu 1. frakcí platí regresní rovnice:**

$$y = 37,7 + 11,8 \text{ HCl} [\%] - 288,0 \text{ Protamex} [\%]$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,596 a pro enzym Protamex 0,122. Oba faktory byly tedy nevýznamné. Želatina s nejvyšší hodnotou pevnosti gelu byla z experimentu č. 4. Experimenty č. 7 a 8 také vytvořily gel, ale s velmi nízkou hodnotou Bloom. Ostatní želatiny 1. frakce gel nevytvořily, jedná se tedy o hydrolyzáty.



Obrázek 18: Vrstevnicový graf pevností gelů 1. frakcí želatin

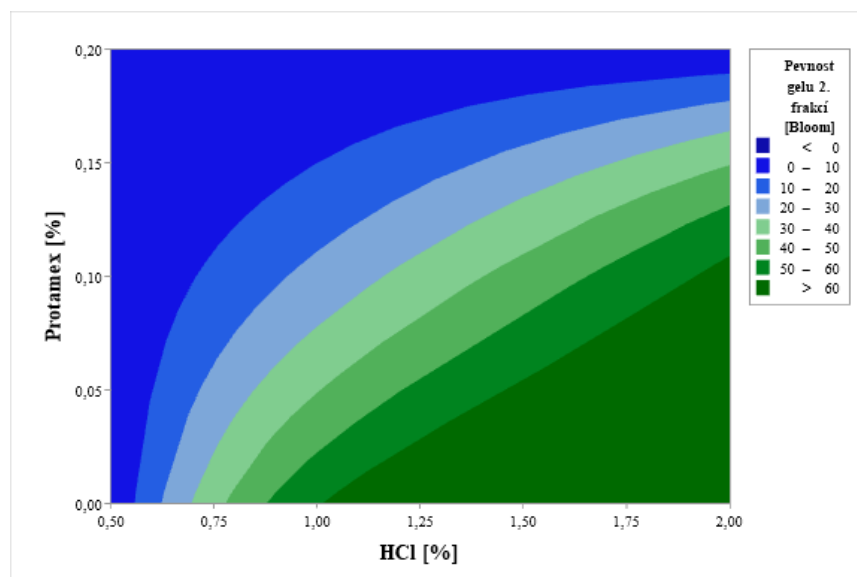
Z obrázku 18 je patrné, že v dolních limitech faktoru B a středních limitech (0,75-1,75 %) faktoru A je vytvořen gel o pevnosti gelu nad 80 Bloom. V literárních zdrojích není obvyklá vícestupňová extrakce, proto se pevnost gelu uvádí jen u 1. extrakce. Podle Jongjareonrak et al [63] želatinový gel ze sumce vykazoval hodnotu pevnosti gelu 153 Bloom. Z tresky byla získána želatina s pevností 71 g [64]. Hodnota pevnosti gelu

získaného ze sumce je vyšší než námi získaná želatina s pevností 128 Bloom. Ale oproti želatině z tresky je mnohem vyšší. Pevnosti gelu z různých druhů ryb jsou opravdu různorodé, což je způsobeno nejen druhem ryb, ale i jejich stářím a prostředím, ve kterém žijí. Byly stanoveny i želatiny s vysokou pevností gelu (240 Bloom) získané z okounů nilských [65]. Komerční želatiny mají dvojnásobnou až trojnásobnou pevnost gelu než želatina z kapra obecného.

### Pro pevnost gelu 2. frakcí platí regresní rovnice:

$$y = 13,0 + 26,6 \text{ HCl [\%]} - 206,7 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,043 a pro enzym Protamex 0,041. Zde byly významné oba faktory. Gel vytvořily 4 želatiny 2. frakce. Jejich hodnoty byly nízké, jedná se o želatiny méně kvalitní. S přidávkem enzymu klesaly pevnosti gelů. Se zvyšující se koncentrací HCl použité při demineralizaci roste pevnost gelů. Experimenty 1 až 3 nevytvořily gel, stejně tak experimenty 6 a 9.



Obrázek 19: Vrstevnicový graf pevností gelů 2. frakce želatin

Z grafu na obrázku 19 je vidět, že ve středních a horních limitech faktoru A a středních a dolních limitech faktoru B, stoupá pevnost gelu. U všech 2. frakcí byly vyextrahovány pouze nekvalitní želatiny nebo želatiny o nízké kvalitě.

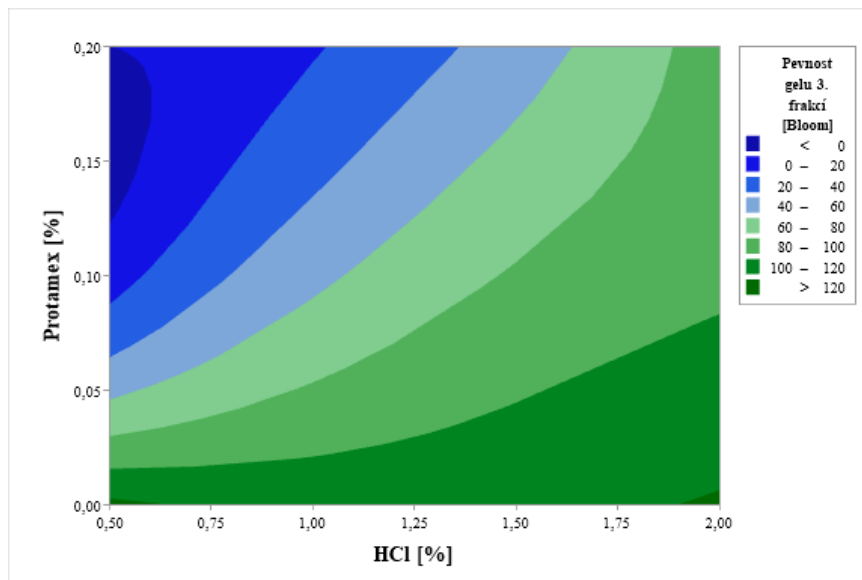
### Pro pevnost gelu 3. frakcí platí regresní rovnice:

$$y = 66,7 + 39,0 \text{ HCl [\%]} - 420,0 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,032 a pro enzym Protamex 0,008. Vliv na pevnost gelu 3. frakcí želatin měly oba faktory. Gel nebyl vytvořen pouze při technologických



podmínkách experimentu č. 3. Z obrázku 20 je patrné, že čím byl vyšší přídavek enzymu, tím se vyextrahovala želatina s nižší pevností gelu. Hodnoty pevností gelů se pohybovaly od 11 do 124 Bloom. Nejpevnější gel vytvořila želatina bez přídavku enzymu s demineralizací suroviny pomocí 1% HCl. Podmínky experimentu 3 nevedly k vytvoření gelu.

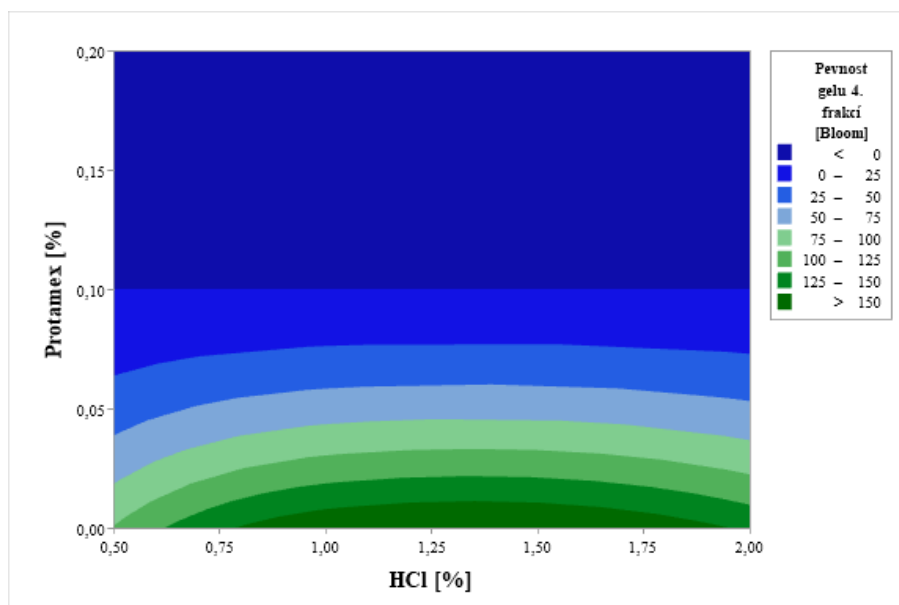


Obrázek 20: Vrstevnicový graf pevnosti gelu 3. frakcí želatin

**Pro pevnost gelu 4. frakcí platí regresní rovnice:**

$$y = 106,8 + 7,2 HCl [\%] - 692,0 Protamex [\%]$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,770 a pro enzym Protamex 0,009.



Obrázek 21: Vrstevnicový graf pevnosti gelu 4. frakcí želatin

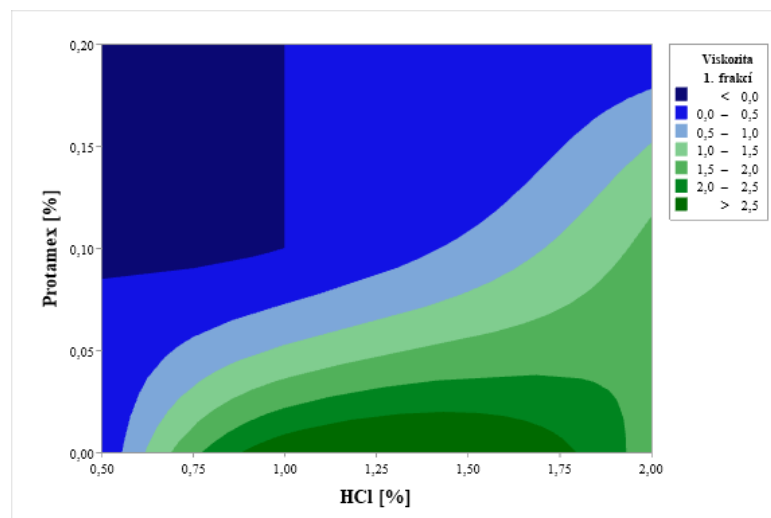
Významný vliv na pevnost gelu 4. frakcí měl tedy pouze přídavek enzymu. Kvůli nízkým výtěžkům byly vytvořeny gely pouze u vybraných želatin podle předchozích výsledků. Jednalo se o želatiny, u kterých se v procesu kondicionování nepřidával enzym. Hodnoty pevnosti gelů dosáhly hodnoty vyšší než 150 Bloom. Takové želatiny jsou považovány za středně kvalitní. Vrstevnicový graf na obrázku 21 ukazuje, že velmi nízké hodnoty faktoru B a hodnoty faktoru A v rozmezí 0,75-2,00 spolu vytváří vhodné podmínky pro želatinové gely s vysokou pevností.

## 6.4 Viskozita

Pro viskozitu 1. frakcí platí regresní rovnice:

$$y = 0,678 + 0,661 \text{ HCl [\%]} - 7,600 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,203 a pro enzym Protamex 0,075. Ani jeden z faktorů nebyl významný, přesto lze z výsledků říct, že viskozita závisí na pevnosti gelu. Pokud želatina měla vyšší pevnost gelu, měla její roztok i vyšší viskozitu.



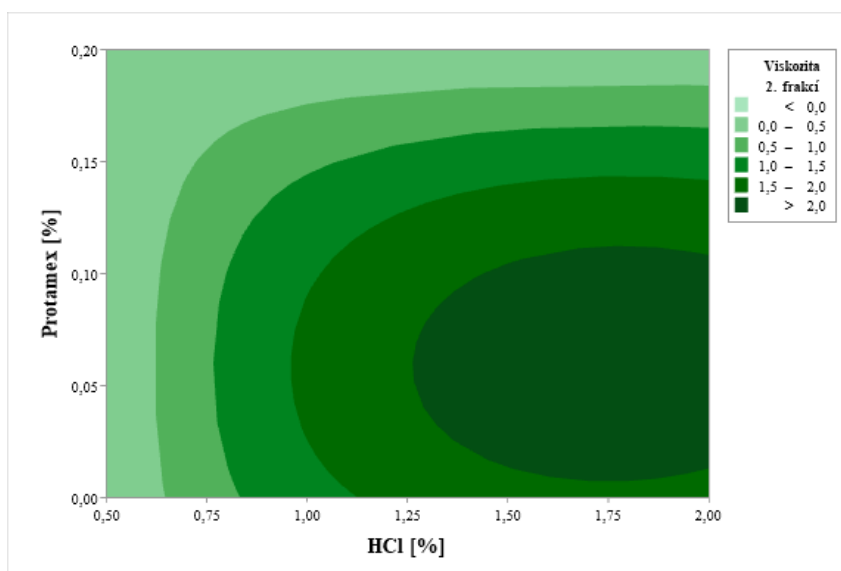
Obrázek 22: Vrstevnicový graf viskozity 1. frakce želatin

Viskozita byla měřena i u želatin z tilápií. Jamilah et al [66] uvádí, že želatina z tilápie černé měla viskozitu 7,12 mPa.s a z tilápie červené 3,20 mPa.s. U těchto výsledků se nepotvrdilo, že by pevnost gelu měla vliv na viskozitu stejně jako u výsledků želatin z kapra obecného. Tilápie černá měla nižší pevnost gelu než tilápie červená. Rozdíly mohou být způsobeny rozlišnými metodami, kdy Jamilah et al používali k měření viskozity reometr. Ninan et al [67] naměřili u želatiny z kapřích kůží viskozitu 5,96 mPa.s. Vyšší viskozita je pravděpodobně způsobena vyšší pevností gelu.

**Pro viskozitu 2. frakcí platí regresní rovnice:**

$$y = 0,333 + 0,802 \text{ HCl [\%]} - 5,270 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,065 a pro enzym Protamex 0,101. Jak koncentrace HCl, tak i přidavek enzymu Protamex byly nevýznamné. Z výsledků je patrné, že čím vyšší hodnoty Bloom želatina měla, tím vyšší měl její roztok viskozitu.



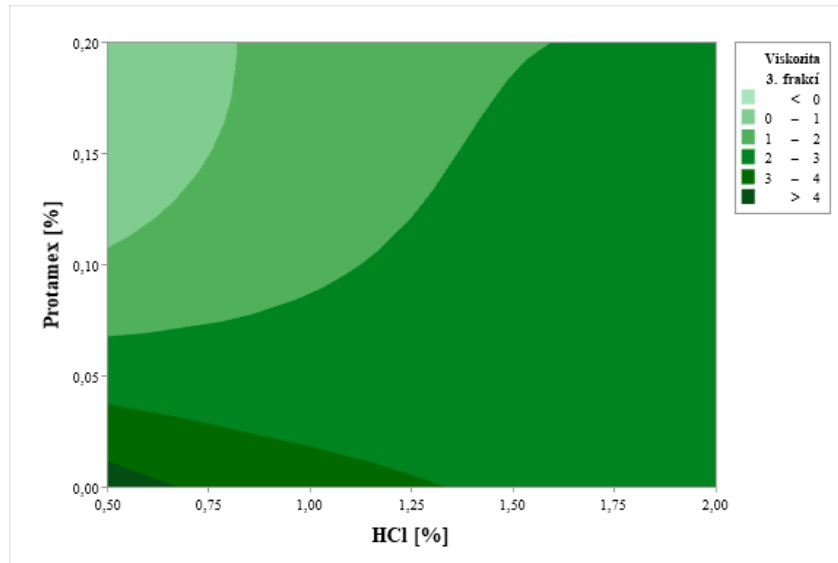
Obrázek 23: Vrstevnicový graf viskozity 2. frakcí želatin

Z obrázku 23 je patrné, že viskozita se zvyšuje v horních limitech faktoru A a dolních a středních limitech faktoru B.

**Pro viskozitu 3. frakcí platí regresní rovnice:**

$$y = 2,937 + 0,442 \text{ HCl [\%]} - 12,400 \text{ Protamex [\%]}$$

Hladina významnosti (p-value) byla pro HCl 0,368 a pro enzym Protamex 0,012. Významný vliv na viskozitu měl pouze faktor B. Viskozita roztoků želatin klesala s větším přidavkem enzymu. Na obrázku 24 si lze všimnout, že nejvyšší viskozity želatinových roztoků se dosáhne kombinací dolních limitů obou faktorů.

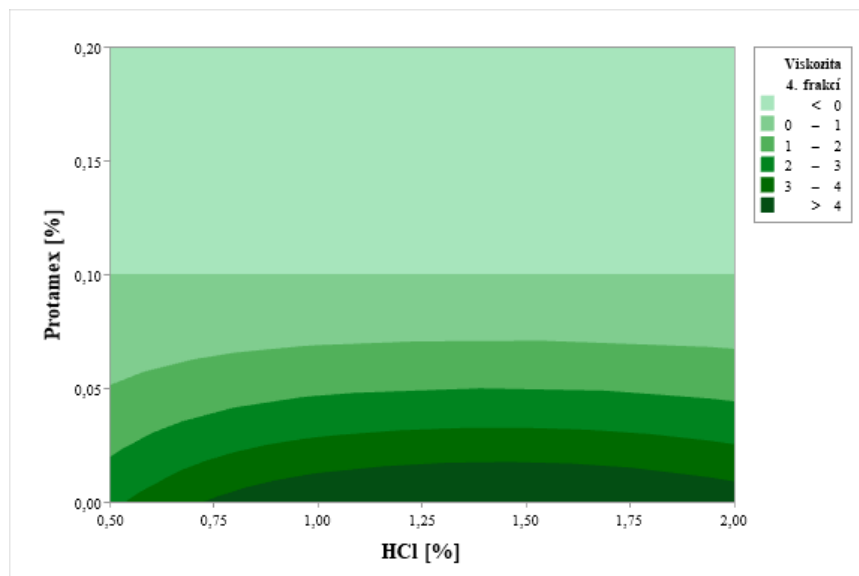


Obrázek 24: Vrstevnicový graf viskozity 3. frakcí želatin

Pro viskozitu 4. frakcí platí regresní rovnice:

$$y = 3,000 + 0,337 \text{ HCl} [\%] - 20,370 \text{ Protamex} [\%]$$

Hladina významnosti byla pro HCl 0,652 a pro enzym Protamex 0,009. Jelikož byly zkouškám podrobeny pouze vzorky bez přídavku enzymu, je zřejmé, že pouze enzym měl vliv na viskozitu 4. frakcí želatin. Nejvyšší viskozitu gelu měla želatina demineralizovaná 1% HCl.



Obrázek 25: Vrstevnicový graf viskozity 4. frakcí želatin

Na obrázku 25 vrstevnicový graf ukazuje, že nízké hodnoty obou faktorů poskytují nejvyšší viskozitu želatinových gelů.

## 6.5 Výsledky ostatních analýz

Ostatní analýzy byly teplota tání, teplota tuhnutí, stanovení popela, WHC, FBC, EC, ES, FC, FS a stravitelnost (DMD).

Teplota tání a tuhnutí je závislá na pevnosti gelu. Čím vyšší pevnost gelu želatina má, tím je vyšší teplota tání i tuhnutí tohoto gelu. Nejvyšší naměřená teplota tání gelu byla naměřena u želatiny s pevností gelu 169 Bloom a činila 29,9 °C. Nejvyšší teplota tuhnutí gelu byla 15,7 °C a byla naměřena u želatiny s hodnotou Bloom 124. U obsahu popela je z výsledků v tabulce 5 patrný rostoucí trend obsahu popela s rostoucím přídatkem enzymu. Obsah popela lze snížit deionizací nebo s použitím iontoměničů.

U vody zadržující kapacity klesá tato schopnost želatiny s přídatkem faktoru B (Protamex). Nejvyšší hodnota WHC 5g/g byla naměřena u želatiny 1. frakce s 1% HCl a bez přídatku enzymu. Nejvyšší tuk vázací kapacitu má želatina 3. frakce demineralizovaná 0,5% HCl bez přídatku enzymu. Tato želatina dokáže navázat 11,1 g/g tuku. Největší emulzifikační i pěnotvornou kapacitu měla želatina 4. frakce (1% HCl, bez enzymu). Tato želatina měla též největší stabilitu pěny. Nejvyšší stabilitu emulze měly želatiny s nejnižší emulzifikační kapacitou.

## 7 ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A VÝZNAM PRO PRAXI

### 7.1 Porovnání výsledků s literárními zdroji

Tabulka 11: Využití vedlejších produktů z ryb – porovnání s literárními zdroji

Autor	Surovina	Postup opracování a extrakce
Miklášová	a) skelety kapra obecného	0,5-2,0% HCl, 48 hodin 40-70 °C 45 min a 95 °C 20 min
Chandra et al [68]	b) kůže katly obecné c) kůže labeo avanské d) kůže příčnoústky čtyřvousé	0,05 mol.l <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COOH, 3 hodiny 45 °C přes noc
Goméz- Gullién et al [62]	e) kůže jazyka f) kůže megrima g) kůže tresky h) kůže štikozubce	0,05 mol.l <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COOH, 3 hodiny 45 °C přes noc
Muyonga et al [65]	i) kůže okouna nilského j) kosti okouna nilského	0,01 mol.l <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 16 hodin 3% HCl, 9-12 dní 50-95 °C 5 hodin
Rawdkuen et al [69]	k) kůže očaře skvrnoploutvého l) kůže chňapala hnědopruhého	0,05 mol.l <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COOH, 3 hodiny 45 °C 12 hodin
Jamilah et al [66]	m) kůže tilápie černé n) kůže tilápie červené	0,2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1,0% kyselina citronová 45 °C 12 hodin
Cheow et al [70]	o) kůže smuhy bradavičnaté p) kůže šupinatky krátké	1,0% kyselina citronová, 8 hodin 40-50 °C 12 hodin
Arnesen et al [71]	q) hlavy tresky obecné	0,6 mol.l <sup>-1</sup> HCl, 20 hodin teplota místnosti, 15 minut
Kołodziejska et al [72]	r) hlavy a páteře tresky obecné s) kůže lososa	0,45 mol.l <sup>-1</sup> NaCl, 120 minut 45-60 °C 45 minut
Ninan et al [67]	t) kůže z kapra obecného	0,2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 45 min (opakování) 1,0% kyselina citronová, 45 min 45 °C 10 hodin
Arnesen et al [64]	u) kůže lososa atlantského v) kůže tresky obecné	0,12 mol.l <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 30 min 0,005 mol.l <sup>-1</sup> kyselina citronová, 30 min 56 °C a 65 °C, 2 hodiny

Tabulka 12: Porovnání výsledků 1. frakce (1 % HCl, 0 % enzym) s literárními zdroji

Autor	Obsah popela [%]	Výtěžek [%]	Pevnost gelu [Bloom]	Viskozita [mPa.s]	T <sub>tání gelu</sub> [°C]	T <sub>tuhnutí gelu</sub> [°C]	WHC [g/g]	FBC [g/g]	FC [%]	FS [%]	EC [%]	ES [%]
Miklášová a)	2,01	9,81*	128	2,86	29,4	15,3	5,0	10,2	20	4	50,0	100
Chandra et al [68] b)	1,49	-	368	-	-	-	-	-	137	50	87,0	-
Chandra et al [68] c)	1,37	-	258	-	-	-	-	-	125	75	55,0	-
Chandra et al [68] d)	1,87	-	343	-	-	-	-	-	100	70	67,0	-
Goméz et al [62] e)	-	8,3	350	-	18,0	19,0	-	-	-	-	-	-
Goméz et al [62] f)	-	7,4	340	-	21,0	17,0	-	-	-	-	-	-
Goméz et al [62] g)	-	7,2	50	-	13,0	11,0	-	-	-	-	-	-
Goméz et al [62] h)	-	6,5	100	-	15,0	13,0	-	-	-	-	-	-
Muyonga et al [65] i)	-	16,0	229	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muyonga et al [65] j)	-	2,4	134	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rawdkuen et al [69] k)	3,2	6,5	106	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*výtěžek za 1. frakci, ale celkový výtěžek extrakce želatin 27,92 % (součet výtěžků 4 frakcí)

Tabulka 13: Porovnání výsledků 1. frakce (1 % HCl, 0 % enzym) s literárními zdroji – pokračování

<b>Autor</b>	<b>Obsah popela [%]</b>	<b>Výtěžek [%]</b>	<b>Pevnost gelu [Bloom]</b>	<b>Viskozita [mPa.s]</b>	<b>T<sub>tání gelu</sub> [°C]</b>	<b>T<sub>tuhnutí gelu</sub> [°C]</b>	<b>WHC [g/g]</b>	<b>FBC [g/g]</b>	<b>FC [%]</b>	<b>FS [%]</b>	<b>EC [%]</b>	<b>ES [%]</b>
Rawdkuen et al [69] l)	1,9	9,4	219	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jamilah et al [66] m)	-	7,81	181	7,12	28,9	-	-	-	-	-	-	-
Jamilah et al [66] n)	-	5,39	128	3,20	22,5	-	-	-	-	-	-	-
Cheow et al [70] o)	1,49	14,3	125	-	24,6	-	-	-	-	-	-	-
Cheow et al [70] p)	1,15	7,3	177	-	18,5	-	-	-	-	-	-	-
Arnesen et al [71] q)	-	12,0	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kołodziejska et al [72] r)	-	-	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kołodziejska et al [72] s)	-	-	-	-	-	5,5	-	-	-	-	-	-
Ninan et al [67] t)	1,11	12,0	181	5,96	28,13	17,96	4,9	5,1	-	-	-	-
Arnesen et al [64] u)	-	16,6	108	-	-	12,0	-	-	-	-	-	-
Arnesen et al [64] v)	-	12,0	71	-	-	10,0	-	-	-	-	-	-



Z tabulky 11 a 12 vyplývá, že rybí želatiny se připravují z různých druhů ryb a za různých procesních podmínek. Není známá příprava želatiny ze skeletů kapra obecného, pouze z jeho kůže. Obecně lze říci, že pevnost gelu je vyšší u želatiny připravených z kůže než z jiných vedlejších rybích produktů. Řada vlastností, které byly analyzovány, v literatuře testovány nejsou. Při studování pevnosti gelu v čase bylo zjištěno, že rybí želatina se stává pevnější na rozdíl od komerčních želatiny, které v čase ztrácí pevnost gelu. Většina extrakcí, které uvádí literatura, je jednostupňová nebo dvoustupňová, proto byla porovnána želatina 1. frakce o nejlepší pevnosti gelu (exp. č. 4). Některé testované vlastnosti nelze dohledat v literárních zdrojích nebo uvádí odlišný postup stanovení.

Analýza stravitelnosti připravených želatiny není v odborné literatuře uvedena vůbec. Jelikož se jedná o bílkovinné produkty, jsou želatiny téměř 100% stravitelné. Stravitelnost hydrolyzátů je taktéž vysoká, od želatiny se liší v řádech desetiny. Při této analýze je simulováno prostředí trávicího traktu za použití enzymů pepsinu a pankreatinu. Nejprve bílkoviny denaturuje žaludeční šťáva. Následně se aktivuje v žaludku pepsin a štěpí bílkoviny na polypeptidy. Další štěpení pokračuje v tenkém střevě pomocí pankreatických enzymů. Polypeptidy jsou rozštěpeny až na oligopeptidy a dipeptidy. Tyto krátké bílkovinné řetězce se dalšími enzymy rozkládají až na samotné aminokyseliny [73].

V diplomové práci je inovativní přídavek enzymu Protamex v procesu kondicionování, který má vliv na výtěžnost jednotlivých frakcí. Použití skeletů kapra obecného je taktéž jedinečné, protože většina želatiny se vyrábí z rybích kůží. Obsah popela je vždy vyšší v želatině připravené z kostí než v želatině připravené z kůží. Obsah popela roste i se stářím ryb, což je pravděpodobně dáno kalcifikací šupin ulpívajících na vedlejších produktech z ryb.

## 7.2 Návrh procesních podmínek pro další výzkum

Nejlepší výtěžek s optimální pevností gelu měla želatina, na jejíž přípravu byla surovina demineralizována 1% HCl a v procesu kondicionování nebyl přidán enzym. Obsah popela byl do 3 %, takže je tato rybí želatina vhodná pro použití v potravinářství.

V této práci byly navrženy procesní podmínky, kterými se podařilo zvýšit výtěžnost želatiny, avšak faktor B měl negativní vliv na vlastnosti želatinových gelů. V procesu kondicionování enzym působil 4 hodiny. V dalším výzkumu by se mohla zkrátit doba kondicionování suroviny enzymem, který štěpí proteiny na různě dlouhé řetězce. Ve výsledcích je patrné, že exp. č. 4-6 mají vyšší výtěžky želatiny. Právě na tyto experimenty

byla demineralizovaná surovina skladována nejdéle. Otázkou zůstává, zda má skladování pozitivní vliv na výtěžnost želatin a jejich vlastností, a bylo by vhodné tuto hypotézu ověřit.

Podářilo se vyextrahovat želatinu s pevností gelu nad 150 Bloom. Nejlepší hodnoty byly zaznamenány u 3. a 4. frakcí želatin, které měly nejlepší hodnoty Bloom, ale naopak nejnižší výtěžky. Proto by bylo vhodné zaměřit se na extrahování právě těchto dvou frakcí. V budoucnu želatinu například extrahovat v rozmezí teplot 65-75 °C u 3. frakce a 80-90 °C u 4. frakce a sledovat změny vlastností želatin. V porovnání s literárními zdroji, které se zabývají přípravou želatin z vedlejších rybích produktů, byla extrakční doba krátká, proto je možné v dalším výzkumu prodloužit tuto dobu a zjistit, zda má vliv na výtěžnost a vlastnosti želatin. Žádoucí by bylo zjistit molekulovou hmotnost vyextrahovaných želatin, protože délka řetězců želatinu má vliv na vlastnosti gelů. Pokud je v želatině více krátkých řetězců o menší molekulové hmotnosti, jedná se o hydrolyzát, který nevytvoří gel. Pořád má však přijatelné vlastnosti pro použití například v kosmetice. Velkým překvapením byla tvorba emulzí nezávisle na hodnotě pevnosti gelu. Emulze se široce využívají napříč různými průmysly, proto by ověření emulzifikační kapacity i u hydrolyzátů mělo smysl a případně další možnosti jejich využití.

Velkým problémem je zůstatek tuku v želatině. Lipidy by při skladování časem mohly začít oxidovat, což by způsobovalo nepříjemný zápach a s tím spojené znehodnocení potravin. Orientačně byl stanoven zbytkový tuk v želatinách. Bylo stanoveno, že v želatině 1. frakce je 11,22 % zbytkového tuku a v želatině 2. frakce 9,74 %. Je tedy patrný klesající trend zbytkového tuku ve frakcích při vícestupňové extrakci. Zpětně byl stanoven v demineralizované surovině, kdy zbytkový tuk pro demineralizaci 0,5% HCl byl 17,90 %, pro 1% HCl byl 20,20 % a pro 2% HCl byl 18,96 %. Zbytkový tuk roste se stářím ryb. To je pravděpodobně dáno ukládáním podkožního tuku. Literatura uvádí velmi nízké hodnoty zbytkového tuku, ale z postupu není jasné, pomocí jakých rozpouštědel surovinu odtučňují. Podle Adeoti et al [74] by se k oddělení lipidů dala využít extrakce superkritickou tekutinou. Superkritický oxid uhličitý je netoxický, nehořlavý a levný a navíc se jedná o čisté rozpouštědlo. Extrakce probíhá při tlacích 10-30 MPa a teplotách 40-50 °C a za těchto podmínek má CO<sub>2</sub> vlastnosti kapaliny, čímž poskytuje ideální podmínky pro rychlou extrakci s maximální výtěžností. I když je tuk v tomto případě problémem, není odpadem. Jak již bylo zmíněno, tuk by se dal využít například pro výrobu mýdel, barev a laků atd.

Z vedlejších rybích produktů, které většinou končí jako odpad, se podařilo získat nejen bílkovinné produkty, ale také tuk a pigment. Každý produkt lze náležitě využít. Hydrolyzáty se dají využít jako nosiče aktivních látek či v kosmetických emulzích, želatiny mají široké využití a vždy záleží na jejich vlastnostech, pigment by mohl sloužit k výrobě barev a tuk s obsahem omega-3 mastných kyselin jako výživový doplněk. Nerozložený podíl, který zůstal po extrakci 4. frakce, taktéž není odpadem. Jeho vhodným využitím je použití jako hnojivo. Celý proces splňuje parametry cirkulární ekonomiky, jejíž úlohou je zvyšování kvality životního prostředí a lidského života. Původně nevyužitá surovina byla bezezbytkově recyklována.

### 7.3 Návrh aplikací želatin pro potravinářský průmysl

Želatiny používané v potravinářství můžeme rozdělit do 3 skupin na želatiny nízké, střední a vysoké kvality. Především želatinové frakce druhé extrakce měly nízké hodnoty pevnosti gelu, ale i takové želatiny lze použít například v masném průmyslu, kde se využívají želatiny s Bloom hodnotou od 50 do 100, ale musí se přidat ve větším množství než při použití kvalitních želatin. V cukrovinkách také můžeme použít želatinu s nízkou hodnotou Bloom například do pusinek, karamelů nebo marshmallow. Želatiny střední kvality (hodnota Bloom od 100 do 250) se dají využít při výrobě želé, jogurtů, sýrů, desertů či aspiků. Takové želatiny byly připraveny především ve 4. frakci želatin. Hodnota pevnosti gelu se pohybovala od 100 do 169 Bloom. Další želatina střední kvality byla připravena v 1. frakci u exp. č. 4 a ve 3. frakci u exp. č. 1, 4 a 7. Vyextrahovány byly i želatiny s pevností gelu nižší než 50 Bloom. Takové želatiny by bohužel v potravinářství uplatnění nenašly. Želatiny vysoké kvality se za stanovených procesních podmínek nepodařilo vyextrahovat. Potravinářská želatina musí mít obsah popela max. do 3 %. Některé vyextrahované želatiny tuto hranici překročily, ale jednoduše lze obsah popela snížit deionizací nebo pomocí iontoměničů. Želatina používaná v potravinářství musí být jedlá (zdravotně nezávadná), proto by bylo vhodné ji před uvedením na trh podrobit mikrobiologického rozboru [75, 76].

## ZÁVĚR

Teoretická část je orientována na tři hlavní kapitoly, které pojednávají o vedlejších produktech z potravinářských výrob, zpracování vedlejších produktů z ryb a funkčních vlastnostech a aplikacích želatin. V první kapitole jsou charakterizovány odpady a vedlejší produkty a jejich kategorizace podle platné legislativy, dále zpracování vedlejších produktů v potravinářství a nakládání, produkce, využití i odstranění odpadů. V druhé kapitole je hlavní především rozdělení rybích vedlejších produktů a jejich potenciál pro využití. Ve třetí kapitole jsou shrnuty vlastnosti želatin, jež ovlivňují jejich případné použití v různých odvětvích průmyslu, které je opravdu široké.

Praktická část se zaměřuje na přípravu želatin extrakcí ze skeletů kapra obecného po kondicionování této suroviny proteolytickým enzymem Protamex. Hlavním cílem bylo ověření procesních podmínek přípravy želatin ze skeletů kapra obecného a sledovat vliv vybraných procesních podmínek na výtěžnost želatinových frakcí. Zvolené vědecké hypotézy, že se podaří připravit želatinu z kapřích vedlejších produktů za zvolených procesních podmínek a bude vhodná pro použití v potravinářství, se potvrdily. Naopak byla zamítnuta hypotéza, ve které je předpokládáno, že nízké limity obou faktorů způsobí nejmenší stupeň konverze na želatinu.

Jedním z cílů bylo navrhnout procesní podmínky pro zpracování vedlejších rybích produktů na potravinářské želatiny. Byl sledován vliv dvou faktorů A a B na výtěžnost želatin a jejich vlastnosti. Faktor A představuje koncentraci kyseliny chlorovodíkové v procesu demineralizace suroviny (0,5 %; 1,0 % a 2,0 %) a faktor B množství přidaného enzymu Protamex (0,0 %; 0,1 % a 0,2 %). Postup práce byl založen na 3 hlavních úsecích ošetření suroviny, kterými byly příprava čistého kolagenu, demineralizovaného kolagenu a přípravě želatin. Připravené želatiny byly podrobeny analýzám, které ukázaly jejich vlastnosti, podle kterých mohly být navrženy k využití pro potravinářství.

V diplomové práci bylo prokázáno, že vhodným nastavením procesních podmínek lze vyextrahovat želatinu, kterou lze využít na potravinářské aplikace. Dále se ukázalo, že pomocí enzymu Protamex byla konverze suroviny na želatinu zvýšena, měl však negativní vliv na vlastnosti připravených želatin. Nejvyšší výtěžnost želatin byly extrahovány především ve 4. frakcích bez použití enzymu, proto bylo navrženo zkrátit dobu kondicionování, prodloužit dobu extrakce a nastavit rozmezí teplot, při kterých by byla surovina extrahována.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Zákon č. 541/2020 Sb., o odpadech. Zákony pro lidi.cz [online]. Ročník 2020 [cit. 2021-04-28]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2020-541>
- [2] JUSTIA US Law, 2019. Excise Taxes Chapter 82.04 - Business and Occupation Tax. 82.04.210 "By-product." [online]. California [cit. 2021-04-28]. Dostupné z: <https://law.justia.com/>
- [3] Animal by-products, 2010. European Commission [online]. European union: Directorate-General for Communication [cit. 2021-04-28]. Dostupné z: [https://ec.europa.eu/food/safety/animal-by-products\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/animal-by-products_en)
- [4] Evropská unie. Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009, o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu). In: Úřední věstník Evropské unie L 300, 2009.
- [5] KUDELOVÁ, K., JODLOVSKÁ, J. a ŠARAPATKA, B. Odpady. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 1999. 186 s. ISBN 80-244-0046-4.
- [6] KRENÍKOVÁ, V., 2014. Odpady a druhotné suroviny I. Ústí nad Labem. Modernizace výuky technických a přírodovědných oborů. Univerzita Jana Evangelisty Purkyně.
- [7] Vyhláška č. 8/2021 Sb., o Katalogu odpadů a posuzování vlastností odpadů (Katalog odpadů. Zákony pro lidi.cz [online]. Ročník 2020 [cit. 2021-04-28]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2021-8>
- [8] MAREK, M. a M. VOLDŘICH, 2006. Odpady z potravinářských výrob v životním prostředí. Praha. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Vysoká škola chemicko-technologická.
- [9] JAYATHILAKAN, K., K. SULTANA, K. RADHAKRISHNA a A. S. BAWA, 2012. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology* [online]. **49**(3), 278–293 [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: [doi:10.1007/s13197-011-0290-7](https://doi.org/10.1007/s13197-011-0290-7)
- [10] KOMEROSKI, M- R., R. V. HOMEM, H. O. SCHMIDT, et al., 2021. Effect of whey protein and mixed flours on the quality parameters of gluten-free breads. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 100-361 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: [doi:10.1016/j.ijgfs.2021.100361](https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100361)

- [11] ZHANG, S., J. WANG a H. JIANG, 2021. Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry. *Food Chemistry* [online]. **346(-)**, 128-860 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.128860
- [12] Český statistický úřad, 2019. Produkce, využití a odstranění odpadů. Praha. Dostupné také z: <https://www.czso.cz/documents/10180/91605329/28002019.pdf/9ee05f2d-39d8-4215-b4ee-849b7761433f?version=1.2>
- [13] Marek M., Opatová H., Voldřich M. *Odpady a druhotné suroviny v zemědělsko-potravinářském komplexu*. 1. vyd. VŠB-TU Ostrava a KU Praha, 1996. 125 s.
- [14] KAZA, S., L. YAO a F. VAN WOERDEN, 2018. *What a Waste* [online]. Washington DC: World Bank [cit. 2021-04-28]. ISBN 978-1-4648-1347-4. Dostupné z: <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/2174>
- [15] SEBASTIAN, A., 2021. 5 Countries That Produce the Most Waste. Investopedia [online]. New York: Dotdash publishing [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.investopedia.com/articles/markets-economy/090716/5-countries-produce-most-waste.asp>
- [16] Česko v roce 2019 vyprodukovalo 37 mil. tun odpadu, 2020. Český statistický úřad [online]. Praha: Český statistický úřad [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/cesko-v-roce-2019-vyprodukovalo-37-mil-tun-odpadu>
- [17] World Bank: Global waste generation could increase 70% by 2050, 2018. Wastedive [online]. Washington: Ellis [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.wastedive.com/news/world-bank-global-waste-generation-2050/533031/>
- [18] MONTEIRO, A., D. PAQUINCHA, F. MARTINS, et al., 2018. Liquid by-products from fish canning industry as sustainable sources of  $\omega$ 3 lipids. *Journal of Environmental Management* [online]. 219(1), 9-17 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479718304900>
- [19] Spotřeba potravin - 2019, 2020. Český statistický úřad [online]. Praha: Český statistický úřad [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin-2019>

- [20] Countries That Eat The Most Fish, 2018. WorldAtlas [online]. Québec: V&S [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.worldatlas.com/articles/countries-that-eat-the-most-fish.html>
- [21] What is the demand for fish and seafood on the European market?, 2020. CBI Ministry of Foreign Affairs [online]. Netherlands: CBI [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.cbi.eu/market-information/fish-seafood/what-demand>
- [22] GLOBEFISH - Information and Analysis on World Fish Trade, 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nation [online]. Rome: FAO [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <http://www.fao.org/in-action/globefish/fishery-information/resource-detail/es/c/338772/>
- [23] Health Benefits of Fish, 2019. Washington State Department of Health [online]. Washington: Washington State Department of Health [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.doh.wa.gov/communityandenvironment/food/fish/healthbenefits>
- [24] Kapří maso, 2007. Třeboňský kapr [online]. Třeboň: Rybářství Třeboň [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.trebonskykapr.cz/kapri-maso>
- [25] Ryby, 2010. Biologie [online]. Ostrava [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: [https://ostrava.educanet.cz/www/biologie/index12301230.html?option=com\\_content&view=article&id=230&Itemid=230](https://ostrava.educanet.cz/www/biologie/index12301230.html?option=com_content&view=article&id=230&Itemid=230)
- [26] LUCAS, M. C. a E. BARAS, 2001. Migration of Freshwater Fishes [online]. London: Blackwell Science [cit. 2021-4-28]. ISBN 0-632-05754-8. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=gJvV9niPKEcC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Lucas,+M.,+Baras,+E.,+2001:+Migration+of+freshwater+fishes.+Blacwell+Science,+London,+UK,+420+pp&ots=WlZAgwGxKi&sig=abv9Gp30CrqwNTDKKCptLY7QeK8&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=gJvV9niPKEcC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Lucas,+M.,+Baras,+E.,+2001:+Migration+of+freshwater+fishes.+Blacwell+Science,+London,+UK,+420+pp&ots=WlZAgwGxKi&sig=abv9Gp30CrqwNTDKKCptLY7QeK8&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- [27] BUCHTOVÁ, H., 2012. *Hygiena a technologie produktů rybolovu* [online]. Brno [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: [https://fvhe.vfu.cz/files/skripta\\_buchtova\\_2012.pdf](https://fvhe.vfu.cz/files/skripta_buchtova_2012.pdf). Multimediální příručka. Veterinární a farmaceutická univerzita.
- [28] MERTEN, M., 2002. *Zpracování ryb*. Praha: Informatorium. ISBN 9788073330941.
- [29] Způsoby uzení ryb, 2018. In: *Rybářský rozcestník* [online]. Podbržezí: Binder [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.rybarskyrozcestnik.cz/zpusoby-uzeni-ryb/>

- [30] KADLEC, P., MELZOCH, K., VOLDŘICH, M., 2013. *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. 1. vydání. Ostrava: Key Publishing. ISBN 978-80-7418-163-4.
- [31] Vyhláška č. 69/2016 Sb., *O požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich*. Zákony pro lidi.cz [online]. Ročník 2016 [cit. 2021-4-28]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-69>
- [32] MATĚJKOVÁ, M., 2014. *Svět potravin: podporováno Potravinářskou komorou ČR*. Praha: Opportunitas. ISSN 1803-5140.
- [33] Rybí konzervy, 2020. In: *Vitalia.cz* [online]. Praha: Internet Info [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://www.vitalia.cz/clanky/velky-prehled-rybich-konzerv-a-pomazanek-rozdily-v-obsahu-zdravych-tuku-jsou-ohromne/>
- [34] ZAMORANO-APODACA, J. C., C. O. GARCÍA-SIFUENTES, E. CARVAJAL-MILLÁN, B. VALLEJO-GALLAND, S. M. SCHEUREN-ACEVEDO a M. E. LUGO-SÁNCHEZ, 2020. Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish species. *Food Chemistry* [online]. **331(-)**, 127-350 [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127350
- [35] ARAÚJO, C. S., A. M. C. RODRIGUESA, M. R. S. PEIXOTO JOELE, E. A. F. ARAÚJO a L. F. H. LOURENÇO, 2018. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. **16(-)**, 23-30 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289417301163?casa\\_token=mrBwJ3h72pIAAAAA:QzOh55pfAqrKtSYTzp3Ie67ccAJZ3ohfLnBFCmvLwELEhDNWvdjezpK\\_H-PpYdSikFOLSeLLqw](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289417301163?casa_token=mrBwJ3h72pIAAAAA:QzOh55pfAqrKtSYTzp3Ie67ccAJZ3ohfLnBFCmvLwELEhDNWvdjezpK_H-PpYdSikFOLSeLLqw)
- [36] SUKOVÁ, I., 2013. Složení a výživový význam ryb. *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Praha [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/slozeni-a-vyzivovy-vyznam-ryb.aspx>
- [37] Ryby a mastné kyseliny, 2015. *Vitalia.cz* [online]. Praha: Havel [cit. 2021-04-28]. Dostupné z: <https://www.vitalia.cz/clanky/pstruh-nebo-kapr-pokud-jde-o-tuky-je-to-jasne/>



- [38] KAVKA, M., 2017. *Ryby, ostatní vodní živočichové a výrobky z nich* [online]. 2. přepracované vydání. Praha: Garamon [cit. 2021-5-4]. ISBN 978-80-88019-19-0. Dostupné z: [https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/Koubova%201/ryby\\_final\\_web.pdf](https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/Koubova%201/ryby_final_web.pdf)
- [39] AHMADKELAYEH, S. a K. HAWBOLDT, 2020. A review of lipid extraction from fish processing by-product for use as a biofuel. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **103**(-), 94-108 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: [doi:10.1016/j.tifs.2020.07.016](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.016)
- [40] Rozdíly v kvalitě rybích olejů, 2018. In: *Institut funkční medicíny a výživy* [online]. Praha: Hájková [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: <https://ifmv.cz/rozdilky-v-kvalite-rybich-oleju-a-ktery-vybrat/>
- [41] CAL DELGADO, L., P. SUAREZ-BREGUA, J. M. CERDÁ-REVERTER, I. BRAASCH a J. ROTLLANT, 2017. Fish pigmentation and the melanocortin system. *Elsevier* [online]. 2017, **211**(-), 26-33 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: [doi:10.1016/j.cbpa.2017.06.001](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.06.001)
- [42] DUSHKINA, N. M. a A. LAKHTAKIA, 2013. Structural Colors. *Engineered Biomimicry*. USA: Elsevier, s. 267-303. ISBN 978-0-12-415995-2.
- [43] ACHOUR, M., I. BOUAZIZI a M. HAMDÍ, 2000. Design of an integrated bioprocess for the treatment of tuna processing liquid effluents. *Process Biochemistry* [online]. **35**(9), 1013-1017 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: [doi:10.1016/S0032-9592\(00\)00133-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00133-3)
- [44] MONTEIRO, A., D. PAQUINCHA, F. MARTINS, et al., 2018. Liquid by-products from fish canning industry as sustainable sources of  $\omega$ 3 lipids. *Journal of Environmental Management* [online]. **219**(1), 9-17 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479718304900>
- [45] SULTANA, S, Md. E. ALI a M. N. UDDIN AHAMAD, 2018. 11 - Gelatine, collagen, and single cell proteins as a natural and newly emerging food ingredients. ALI, Md. Eaqub a Nina Naquiah AHMAD NIZAR. *Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods* [online]. Cambridge: Woodhead Publishing, s. 215-239 [cit. 2021-5-8]. ISBN 978-0-08-101892-7. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081018927000110>

- [46] SHAHIRI TABARESTANI, H., Y. MAGHSOUDLOU, A. MOTAMEDZADEGAN a A. R. SADEGHI MAHOONAK, 2010. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource Technology* [online]. **101**(15), 6207-6214 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410003822>
- [47] MARIOD, A. A. a H. F. ADAM, 2013. REVIEW: GELATIN, SOURCE, EXTRACTION AND INDUSTRIAL APPLICATIONS. *Acta Scientiarum Polonorum* [online]. **12**(2), 135-147 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: [https://www.food.actapol.net/pub/1\\_2\\_2013.pdf](https://www.food.actapol.net/pub/1_2_2013.pdf)
- [48] HUANG, T., Z. TU, X. SHANGGUAN, X. SHA, H. WANG, L. ZHANG a N. BANSAL, 2019. Fish gelatin modifications: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **86**(-), 260-269 [cit. 2021-5-5]. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2019.02.048
- [49] YI, J. B., Y. T. KIM, H. J. BAE, W. S. WHITESIDE a H. J. PARK, 2006. Influence of Transglutaminase-Induced Cross-Linking on Properties of Fish Gelatin Films. *Journal of Food Science* [online]. **71**(9), 376-383 [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00191.x
- [50] CHIOU, B., R. J. AVENA-BUSTILLOS, P. J. BECHTEL, H. JAFRI, R. NARAYAN, S. H. IMAM, G. H. GLENN a W. J. ORTS, 2008. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. *European Polymer Journal* [online]. **44**(11), 3748-3753 [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2008.08.011
- [51] SARABIA, A. I., M. C. GÓMEZ-GUILLÉN a P. MONTERO, 2000. The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. *Food Chemistry* [online]. **70**(1), 71-76 [cit. 2021-5-7]. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(00)00073-X
- [52] DA TRINDADE ALFARO, A., E. BALBINOT, C. I. WEBER, I. B. TONIAL a A. MACHADO-LUNKES, 2015. Fish Gelatin: Characteristics, Functional Properties, Applications and Future Potentials. *Food Engineering Reviews* [online]. **7**(-), 33-44 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12393-014-9096-5>
- [53] SCHRIEBER, R. a H. GAREIS, 2007. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice* [online]. Germany: John Wiley [cit. 2021-5-8]. ISBN 9783527315482. Dostupné

z:

[https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=QJHdXZLvF7cC&oi=fnd&pg=PR11&dq=Gelatine+Handbook:+Theory+and+Industrial+Practice&ots=QQa02E4wGM&sig=VXhLFiUPr-c2M4obXzSrDrZj\\_34&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Gelatine%20Handbook%3A%20Theory%20and%20Industrial%20Practice&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=QJHdXZLvF7cC&oi=fnd&pg=PR11&dq=Gelatine+Handbook:+Theory+and+Industrial+Practice&ots=QQa02E4wGM&sig=VXhLFiUPr-c2M4obXzSrDrZj_34&redir_esc=y#v=onepage&q=Gelatine%20Handbook%3A%20Theory%20and%20Industrial%20Practice&f=false)

[54] KARIM, A. A. a R. BHAT, 2008. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology* [online]. **19**(12), 644-656 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2008.08.001

[55] ALIPAL, J., N. A. S. MOHD PU'AD, T. C. LEE, N. H. M. NAYAN, N. SAHARI, H. BASRI, M. I. IDRIS a H. Z. ABDULLAH, 2021. A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings* [online]. **42**(1), 240-250 [cit. 2021-5-4]. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2020.12.922

[56] GÓMEZ-GUILLÉN, M. C., B. GIMÉNEZ, M. E. LÓPEZ-CABALLERO a M. P. MONTERO, 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids* [online]. **25**(8), 1813-1827 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.007

[57] NAZMI, N. N. M., M. I. N. M. ISA a M. N. SARBON, 2021. Characterisation of biodegradable protein based films from gelatin alternative: a review. *International Food Research Journal* [online]. **27**(6), 971-987 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/348335351\\_Characterisation\\_of\\_biodegradable\\_protein\\_based\\_films\\_from\\_gelatin\\_alternative\\_a\\_review](https://www.researchgate.net/publication/348335351_Characterisation_of_biodegradable_protein_based_films_from_gelatin_alternative_a_review)

[58] BORAN, G. a J. M. REGENSTEIN, 2010. Fish gelatin. *Advances in Food and Nutrition Research* [online]. **119**(43), 60-61 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: doi:10.1016/S1043-4526(10)60005-8

[59] HAUG, I. J. a K. I. DRAGET, 2009. 6 - Gelatin. PHILLIPS, G. O. a P. A. WILLIAMS. *Handbook of Hydrocolloids* [online]. 2nd. Cambridge: Woodhead Publishing, s. 142-163 [cit. 2021-5-8]. ISBN 978-1-84569-414-2. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845694142500060>

- [60] TOŠENOVSKÝ, J. *Plánování experimentů* [online]. Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, 2012. [cit. 2021-5-8]. Dostupný z: <http://www.person.vsb.cz/archivcd/FMMI/DOE/Planovani%20experimentu.pdf>
- [61] GMIA. *Gelatine Manufacturers Institute of America*. [online]. 2019 [cit. 2021-5-8]. Dostupné z: <http://www.gelatin-gmia.com/>
- [62] GOMÉZ-GUILLÉN, M. C., J. TURNAY, M. D. FERNÁNDEZ-DÍAZ, N. ULMO, M. A. LIZARBE a P. MONTERO, 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids* [online]. **16**(1), 25-34 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X01000352>
- [63] JONGJAREONRAK, A., S. RAWDKUEN, M. CHAIJAN, S. BENJAKUL, K. OSAKO a M. TANAKA, 10n. 1. Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*). *LWT - Food Science and Technology* [online]. **43**(1), 161-165 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643809001832>
- [64] GILDBERG, A., 2007. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresource Technology* [online]. **98**(1), 53-57 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085240500547X>
- [65] MUYONGA, J. H., C. G. B. COLE a K. G. DUODU, 2004. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids* [online]. **18**(4), 581-592 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X03001528?casa\\_token=mugXXm0hB5YAAAAA:K13qwXi1YjmS\\_ZJR2-fJzje0FKjjNLswSgeZJ4z1wJQVNcd8lj\\_SuBNDATThLNGjwvvlPR9sw4](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X03001528?casa_token=mugXXm0hB5YAAAAA:K13qwXi1YjmS_ZJR2-fJzje0FKjjNLswSgeZJ4z1wJQVNcd8lj_SuBNDATThLNGjwvvlPR9sw4)
- [66] JAMILAH, B. a K. G. HARVINDER, 2002. Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry* [online]. **77**(1), 81-84 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814601003284?casa\\_token=h3tThZJpmLwAAAAA:MVIDAEU1cbpp\\_bSahwpmmqdNuWmqsbWOU6kiqKiluwzIkCEXpcuWdQ-8C0KQ\\_nXAUCWS0KpPaA](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814601003284?casa_token=h3tThZJpmLwAAAAA:MVIDAEU1cbpp_bSahwpmmqdNuWmqsbWOU6kiqKiluwzIkCEXpcuWdQ-8C0KQ_nXAUCWS0KpPaA)
- [67] NINAN, G., J. JOSE a Z. ABUBACKER, 2010. Preparation and characterization of gelatin extracted from the skins of rohu (*Labeo Rohita*) and common carp (*Cyprinus*

Carpio). *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. **35**(2), 143-162 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1745-4549.2009.00467.x?casa\\_token=bPVz8lcdfqAAAAAA%3AAGUUVGUYwM1II\\_DC02j3mt3Vn2phFKQFIRPD7y-LaDsaZhNhixLKCIBrHe0y6EOgcT5pIKltEC3Kj1sQ](https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1745-4549.2009.00467.x?casa_token=bPVz8lcdfqAAAAAA%3AAGUUVGUYwM1II_DC02j3mt3Vn2phFKQFIRPD7y-LaDsaZhNhixLKCIBrHe0y6EOgcT5pIKltEC3Kj1sQ)

[68] CHANDRA, M. V. a B. A. SHAMASUNDAR, 2015. Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. *International Journal of Food Properties* [online]. **18**(3), 572-584 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2013.845787>

[69] JONGJAREONRAK, A., S. BENJAKUL, W. VISESSANGUAN a M. TANAKA, 2006. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: Chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloids* [online]. **20**(8), 1216-1222 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X06000361?casa\\_token=vf8kj7GENZsAAAAA:I0\\_P0oPgA5FNm580W8VuMoQ4PNKjwPaJ5NvfqN9EIVsJ8MYKvemql39WpxGdiVA5FK5\\_8LB\\_VY8](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X06000361?casa_token=vf8kj7GENZsAAAAA:I0_P0oPgA5FNm580W8VuMoQ4PNKjwPaJ5NvfqN9EIVsJ8MYKvemql39WpxGdiVA5FK5_8LB_VY8)

[70] CHEOW, C. S., M. S. NORIZAH, Z. Y. KYAW a N. K. HOWELL, 2007. Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (*Johnius dussumieri*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). *Food Chemistry* [online]. **101**(1), 396-391 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814606001063?casa\\_token=BadGw9Tlyf0AAAAA:VQwdYtMy-MTToTYsjYDUNcaDdaaMMem2k6ymZ6LuuOVbJpCsbPVeUtBkYcL3IEjH5EaO1ztKUMY4](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814606001063?casa_token=BadGw9Tlyf0AAAAA:VQwdYtMy-MTToTYsjYDUNcaDdaaMMem2k6ymZ6LuuOVbJpCsbPVeUtBkYcL3IEjH5EaO1ztKUMY4)

[71] ARNESEN, J. a A. GILDBERG, 2006. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. *Process Biochemistry* [online]. **41**(3), 697-670 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511305003776?casa\\_token=wd9n8GI8fQ4AAAAA:ofyx8qW8epjYtr8ihG8pHjbVYZb6pNZAnIFYVro3ksK7dvYxFnJZ-y1qCO7KpiWo-EIPmCNfjQ](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511305003776?casa_token=wd9n8GI8fQ4AAAAA:ofyx8qW8epjYtr8ihG8pHjbVYZb6pNZAnIFYVro3ksK7dvYxFnJZ-y1qCO7KpiWo-EIPmCNfjQ)

[72] KOŁODZIEJSKA, I., E. SKIERKA, M. SADOWSKA, W. KOŁODZIEJSKI a C. NIECIKOWSKA, 2008. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. *Food Chemistry* [online]. **107**(2), 700-706 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607008928?casa\\_token=Zx2\\_-](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607008928?casa_token=Zx2_-)

MxKwKsAAAAA:JrpZQ7Ljgk5QxzyzK\_cJ-

4tUJOLcmXtRzuPRqfa9msTVYwbK0xxN1JGuz639nH6JHATnasV6pkY

[73] WILHELM, Z. Stručný přehled fyziologie člověka pro bakalářské studijní programy. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2005, 115 s. ISBN 80– 210–2837–8

[74] ADEOTI, I. A. a K. HAWBOLDT, 2014. A review of lipid extraction from fish processing by-product for use as a biofuel. *Biomass and Bioenergy* [online]. **63**(-), 330-340 [cit. 2021-5-11]. Dostupné z:

[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953414000749?casa\\_token=8LEgGG16s5gAAAAA:56GD\\_zyCEg\\_tYJxvHS6Yps8uecGum-dV6yPrZ8XT-sRuoel8Lm6DrHxtQ-7PKT2U-fFbNif\\_QA#bib23](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953414000749?casa_token=8LEgGG16s5gAAAAA:56GD_zyCEg_tYJxvHS6Yps8uecGum-dV6yPrZ8XT-sRuoel8Lm6DrHxtQ-7PKT2U-fFbNif_QA#bib23)

[75] Rousselot Gelatine, [Online] 2019, [cit. 4-30-2021] <https://www.rousselot.com/products-solutions/rousselot-gelatin>

[76] Gelatin manufacturers institute of America, inc.. Gelatin. 1st edition. New York : Gelatin manufacturesrs institute of America, inc., 1973. 5 – 24 s.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ADHD Porucha pozornosti s hyperaktivitou

AMK Aminokyselina

BSE Bovinní spongiformní encefalopatie

CaCl<sub>2</sub> Chlorid vápenatý

CO<sub>2</sub> Oxid uhličitý

ČR Česká republika

ČSÚ Český statistický úřad

EC Emulzifikační kapacita

EPA Eikosapentaenová kyselina

ES Stabilita emulze

EU Evropská unie

FBC Tuk vázací kapacita

FC Pěnotvorná kapacita

FS Stabilita pěny

HCl Kyselina chlorovodíková

Hyp Hydroxyprolin

MgCl<sub>2</sub> Chlorid vápenatý

MK Mastná kyselina

NaCl Chlorid sodný

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Dihydrogenfosforečnan sodný

NaOH Hydroxid sodný

PA Polyamid

PBC Polychlorované bifenyly

pI Izoelektrický bod

Pro Prolin

TSE Transmisivní spongiformní encefalopatie

USA Spojené státy americké

VP Vedlejší produkt

WHC Vodu zadržující kapacita



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1: Nakládání s odpady v roce 2019 dle ČSÚ [12].....	20
Obrázek 2: Grafické znázornění mezinárodního srovnání odpadů v r. 2018 (v tunách) [12] .....	20
Obrázek 3: Uzení ryb na udících háčcích [29] .....	25
Obrázek 4: Různé tvary rybích konzerv [33].....	26
Obrázek 5: Využití rybího tuku – perorální kapsle [40].....	28
Obrázek 6: Schématické znázornění modifikace želatiny transglutaminázou [48].....	31
Obrázek 7: Reakční mechanismus fosforylace želatiny tripolyfosforečnanem sodným (STP) a trimetafosfátem sodným (STMP) [48] .....	32
Obrázek 8: Reakční mechanismus mezi aminoskupinami lysinu a karbonylovými skupinami glutaraldehydu za vzniku Schiffovy báze [48].....	32
Obrázek 9: Skelet kapra obecného.....	39
Obrázek 10: Rozřezané a následně pomleté kapří skelety.....	39
Obrázek 11: Schéma přípravy želatin.....	42
Obrázek 12: Významnost sledovaných faktorů A a B na celkovou účinnost extrakce .....	59
Obrázek 13: Vrstevnicový graf celkové účinnosti extrakce .....	59
Obrázek 14: Vrstevnicový graf výtěžku 1. frakcí želatin .....	60
Obrázek 15: Vrstevnicový graf výtěžnosti 2. frakcí želatin .....	61
Obrázek 16: Vrstevnicový graf výtěžnosti 3. frakcí želatin .....	62
Obrázek 17: Vrstevnicový graf výtěžnosti 4. frakcí želatin .....	62
Obrázek 18: Vrstevnicový graf pevností gelů 1. frakcí želatin .....	63
Obrázek 19: Vrstevnicový graf pevností gelů 2. frakce želatin.....	64
Obrázek 20: Vrstevnicový graf pevnosti gelu 3. frakcí želatin .....	65
Obrázek 21: Vrstevnicový graf pevnosti gelu 4. frakcí želatin .....	65
Obrázek 22: Vrstevnicový graf viskozity 1. frakce želatin .....	66
Obrázek 23: Vrstevnicový graf viskozity 2. frakcí želatin .....	67
Obrázek 24: Vrstevnicový graf viskozity 3. frakcí želatin .....	68
Obrázek 25: Vrstevnicový graf viskozity 4. frakcí želatin .....	68
Obrázek 26: Opracování suroviny NaCl o koncentraci 0,2 mol.l <sup>-1</sup> .....	92
Obrázek 27: Opracování suroviny NaOH o koncentraci 0,03 mol.l <sup>-1</sup> .....	92
Obrázek 28: Odtučňování suroviny směsí rozpouštědel.....	93
Obrázek 29: Extrakce kapřích skeletů a převaření frakce želatiny.....	93
Obrázek 30: Vysušená želatina 3. frakce.....	94
Obrázek 31: Porovnání suroviny po demineralizaci s různou koncentrací HCl.....	94
Obrázek 32: Porovnání želatin se stejnou koncentrací HCl a jiným přídatkem enzymu....	94

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Sazba pro jednotlivé dílčí základy poplatku za ukládání odpadů na skládku v Kč za 1 tunu [1] .....	18
Tabulka 2: Částky za skladování odpadu po dobu 90 dnů v Kč za 1 tunu [1] .....	19
Tabulka 3: Procentuální zastoupení MK v některých sladkovodních rybách [37].....	28
Tabulka 4: Hodnoty k přípravě gelu o koncentraci 6,67 % .....	46
Tabulka 5: Rozpis experimentů a vyhodnocení hmotové bilance procesu.....	53
Tabulka 6: Rozpis experimentů a vyhodnocení vlastností hydrolysátů .....	54
Tabulka 7: Rozpis experimentů a vyhodnocení vlastností želatin 1. frakcí .....	55
Tabulka 8: Rozpis experimentů a vyhodnocení vlastností želatin 2. frakcí .....	56
Tabulka 9: Rozpis experimentů a vyhodnocení vlastností želatin 3. frakcí .....	57
Tabulka 10: Rozpis experimentů a vyhodnocení vlastností želatin 4. frakcí .....	58
Tabulka 11: Využití vedlejších produktů z ryb – porovnání s literárními zdroji .....	70
Tabulka 12: Porovnání výsledků 1. frakce (1 % HCl, 0 % enzym) s literárními zdroji.....	71
Tabulka 12: Porovnání výsledků 1. frakce (1 % HCl, 0 % enzym) s literárními zdroji – pokračování.....	72

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Fotodokumentace přípravy želatin ze skeletů kapra obecného

Příloha P II: Materiálový list enzymu Protamex

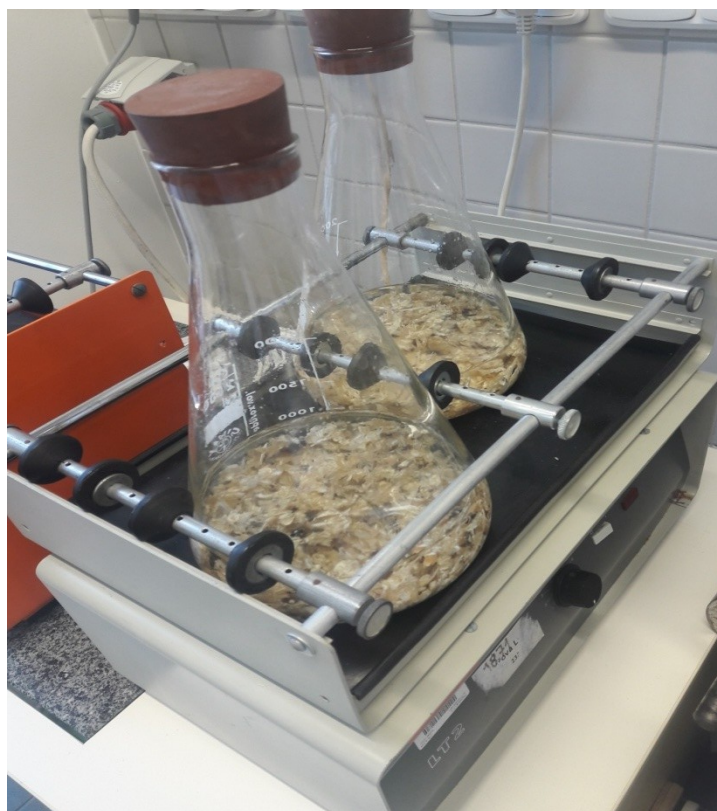
**PŘÍLOHA P I: FOTODOKUMENTACE PŘÍPRAVY ŽELATIN ZE  
SKELETŮ KAPRA OBECNÉHO**



Obrázek 26: Opracování suroviny NaCl o koncentraci  $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$



Obrázek 27: Opracování suroviny NaOH o koncentraci  $0,03 \text{ mol.l}^{-1}$

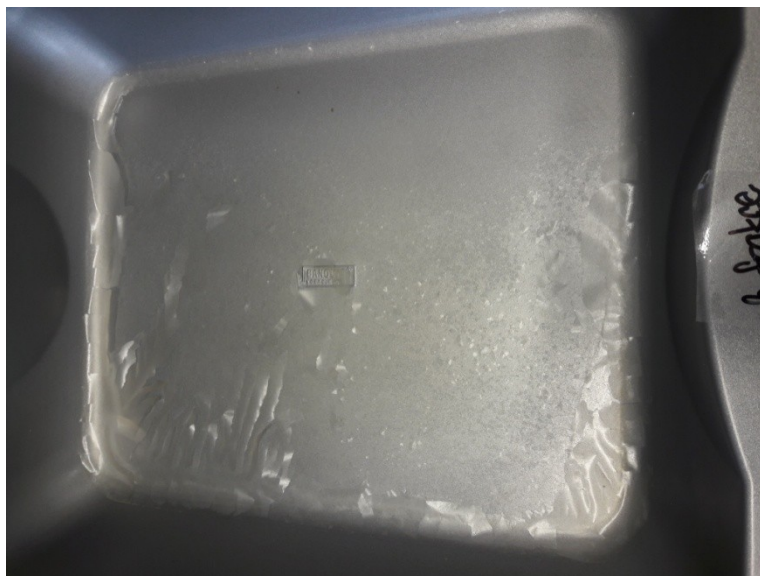


Obrázek 28: Odtučňování suroviny směsí rozpouštědel



Obrázek 29: Extrakce kapřích skeletů a převaření frakce želatiny





Obrázek 30: Vysušená želatina 3. frakce



Obrázek 31: Porovnání suroviny po demineralizaci s různou koncentrací HCl



Obrázek 32: Porovnání želatin se stejnou koncentrací HCl a jiným přidavkem enzymu

# PŘÍLOHA P II: MATERIÁLOVÝ LIST ENZYMU PROTAMEX

Special Food / 2001-08284-03.pdf

## Product Sheet

Page 1:3



# Protamex<sup>®</sup>

### Description

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

### Product Properties

#### Product Type

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

#### Activity

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

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

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

#### Purity

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

#### Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

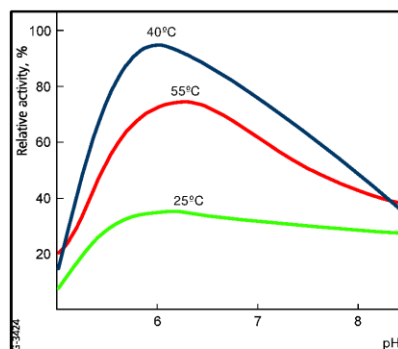
#### Application

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

#### Reaction Parameters

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

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



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

Method: AF 4  
 Substrate: Denatured hemoglobin

### Inactivation

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

### Safety

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

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

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

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

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



## Storage

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