

## VYUŽITÍ VEDLEJŠÍCH KOLAGENNÍCH PRODUKTŮ Z PORÁŽKY DRŮBEŽE K PŘÍPRAVĚ ŽELATIN A HYDROLYZÁTŮ

PAVEL MOKREJŠ<sup>a</sup>, ROBERT GÁL<sup>b</sup>, JANA  
PAVLAČKOVÁ<sup>c</sup>, DAGMAR JANÁČOVÁ<sup>d</sup>  
a PETR MRÁZEK<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav inženýrství polymerů, <sup>b</sup> Ústav technologie potravin,  
<sup>c</sup> Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky, <sup>d</sup> Ústav auto-  
matizace a řídicí techniky, Fakulta technologická, Univer-  
zita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 275, 760 01 Zlín  
mokrejs@ft.utb.cz

Došlo 10.5.17, přepracováno 10.10.18, přijato 16.10.18.

Klíčová slova: kuřecí běháky, kolagen, kolagenní hydroly-  
zát, enzymové opracování, extrakce, želatina, bílkovinný  
substrát

### Úvod

Se zvyšující se spotřebou drůbežního masa, v ČR cca 25 kg/osobu/rok, roste i produkce vedlejších jatečných produktů (peří, krev, kosti, kůže, střeva, droby, žlázy, končetiny a různé tukové tkáně) představující potenciální rizika pro zdraví lidí a životní prostředí, která je nutné eliminovat buď bezpečnou likvidací těchto produktů ve veterinárních asanačních ústavech (kafilériích), nebo jejich využitím<sup>1</sup>. Krev se používá jako přísada v potravinářských výrobcích a na výrobu krmné moučky, kůže a kosti na výrobu želatin, hnojiv a krmiv, tuky k výrobě mýdel, biopaliv, maziv či jako přísada pro kosmetické aplikace. Peří lze hydrolyzou zpracovat na keratinové hydrolyzáty, které se používají jako růstové stimulanty, přísada do krmiv, nebo pro kosmetické aplikace<sup>2–7</sup>. Na výrobu kolagenních hydrolyzátů lze použít jakékoliv tkáň bohaté na kolagen. Hydrolyzáty nacházejí uplatnění např. jako potravinové doplňky, funkční přísady v kosmetických formulacích či v lékařských aplikacích<sup>8</sup>. Kuřecí běháky (přibližně 5 % hmotnosti drůbeže) obsahují vysoký podíl bílkovin (zejména kolagenu) a lze je proto zpracovat na produkty s vyšší přidanou hodnotou, např. na želatiny či hydrolyzáty<sup>9</sup>. Soudobá literatura zmiňuje přípravu želatin (typu A) kyselým způsobem z kůže a šlach kuřecích běháků, ale s nízkými výtěžky želatin<sup>10</sup>. Alkalický způsob zpracování kuřecích běháků na želatiny (typu B) není v literatuře zmíněn, nicméně je známo zpracování kuřecích a krůtích hlav tímto způsobem<sup>11</sup>.

Cílem příspěvku je návrh technologických podmínek zpracování bílkovin kuřecích běháků na vysoce kvalitní kolagenní produkty (želatiny a hydrolyzáty).

### Experimentální část

#### Materiály a přístroje

Kuřecí běháky byly dodány firmou RACIOLA Uher-  
ský Brod, s.r.o. Složení: obsah sušiny  $35,0 \pm 3,0$  %; v sušině: obsah bílkovin  $48,3 \pm 0,4$  % (z toho  $82,8 \pm 0,7$  % kolage-  
nu), obsah tuku  $34,8 \pm 0,8$  %, obsah popelovin  $16,1 \pm 0,2$  %. Popel byl stanoven gravimetricky po spálení a vyžihání vzorku<sup>12</sup>, tuk byl stanoven extrakcí podle Soxhleta<sup>13</sup>, dusík byl stanoven metodou podle Kjeldahla<sup>14</sup> a ze zjištěného obsahu dusíku byl vynásobením faktorem 6,25 vypočten obsah bílkovin. Obsah kolagenu byl vypočten z obsahu hydroxyprolinu (stanoven kolorimetricky po hydrolyze vzorku v  $6 \text{ mol l}^{-1}$  HCl) vynásobením fakto-  
rem 8 (cit.<sup>15,16</sup>). Protamex (prášková proteasa, Novozymes – Dánsko),  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ , NaOH, 36% HCl (IPL, Uher-  
ský Brod).

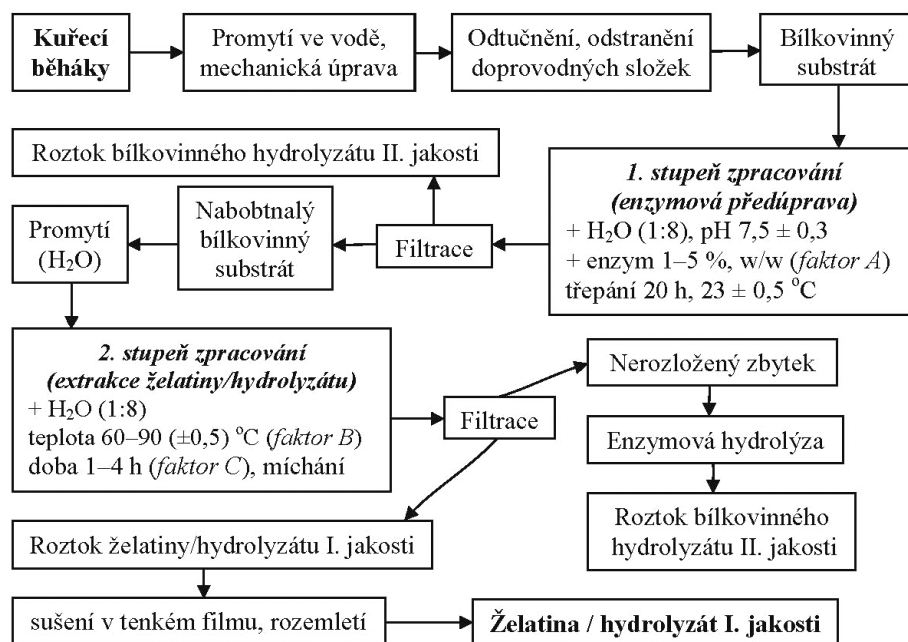
Řezačka masa SPAR Mixer SP-100AD-B, muflová pec Nabertherm, pH metr WTW pH 526, třepací přístroj Kavalier LT2, analytické váhy Kern 770, laboratorní váhy Kern 440-47, sušárna MEMMERT ULP 400, magnetické míchadlo IKA LABORTECHNIK RCT BASIC s topnou deskou, nerezové síto s velikostí ok 1,0 mm, Stevens-LFRA analyzátor pro stanovení pevnosti gelu.

#### Metody

Kuřecí běháky byly zpracovány dvoustupňovým bio-  
technologickým postupem na želatiny/hydrolyzáty s optimálním výtěžkem a s minimálním obsahem vedle-  
jších produktů. Ke studiu vlivu procesních parametrů byla použita faktorová schémata  $2^3$  s jedním centrálním experi-  
mentem a jedním opakováním<sup>17,18</sup>. Studovanými para-  
metry byly: faktor A – přidavek enzymu: 1, 3 a 5 % (vztaženo na sušinu zpracovávané bílkoviny), faktor B –  
teplota extrakce: 60, 75 a 90 ( $\pm 0,5$ ) °C, faktor C – doba  
extrakce: 1, 2,5 a 4 h. Hodnocenými veličinami byly stu-  
peň konverze (% přeměny výchozí bílkoviny na želatiny/  
hydrolyzát), stupeň čistoty připravené želatiny/hydrolyzátu (vyjádřený obsahem popela) a v případě želatin jejich kva-  
lita (vyjádřená pevností gelu).

#### Postup práce

Blokové schéma zpracování kuřecích běháků na žela-  
tiny a hydrolyzáty I. jakosti a hydrolyzáty II. jakosti je  
znázorněno na obr. 1. Postup práce zahrnuje 6 techno-  
logických úseků. 1) Promytí kuřecích běháků ve studené  
vodě: odstranění zbytků krve, peří a nečistot. Rozemletí na  
řezače masa (velikost částic 6 mm). 2) Odstranění nekola-  
genních bílkovin, pigmentů a tuku: smísení suroviny  
s 0,10% roztokem NaOH v poměru 1:8 (w/v), třepání  
45 min při pokojové teplotě, filtrace, promytí vodou  
(opakování celého postupu 4×). Odtučnění suroviny: smí-  
sení suroviny se směsí rozpouštědel ethanol + petrolether  
(1:1, v/v) v poměru 1:6 (w/v), třepání 34 h při pokojové



Obr. 1. Blokové schéma přípravy želatin/hydrolyzátů z kuřecích běháků

teplotě (po 6, 12 a 24 h bylo rozpouštědlo vyměněno za nové). Výsledkem opracování je příprava bílkovinného substrátu. 3) První stupeň zpracování: smísení bílkovinného substrátu s vodou v poměru 1:8 (v/w), úprava pH na hodnotu  $7,5 \pm 0,3$ , enzymová předúprava 20 h třepáním při pokojové teplotě, přídavek enzymu podle faktoru A. 4) Filtrace: získá se roztok bílkovinného hydrolyzátu II. jakosti (vysušení při  $103,0 \pm 1,0$  °C), nabobtnalý bílkovinný substrát promyt vodou. 5) Druhý stupeň zpracování: smísení nabobtnalého bílkovinného substrátu s vodou v poměru 1:8 (v/w), ohřev na teplotu podle faktoru B a po dosažení sledované teploty extrakce po dobu podle faktoru C, mírné míchání směsi na magnetickém míchadle. 6) Filtrace: příprava roztoku želatiny, resp. bílkovinného hydrolyzátu I. jakosti (obsah popelovin < 1,5 %), jeho vysušení v tenkém filmu při  $50,0 \pm 0,5$  °C. Nerozložený zbytek vysušen při  $103,0 \pm 1,0$  °C.

## Výsledky a diskuse

Souhrnné výsledky zpracování bílkovin kuřecích běháků na želatiny a hydrolyzáty dvouúrovňovými faktorovými schémata se třemi sledovanými faktory jsou uvedeny v tab. I. Po 1. stupni zpracování byly po filtraci získány roztoky bílkovinných hydrolyzátů, které obsahovaly v sušině 21–30 % popelovin, stupeň konverze bílkovinného substrátu byl 11–18 %. Výsledky stupňů kon-

verze po 2. stupni zpracování ( $\eta_2$ ) a pevností želatinových gelů ( $F$ ) byly zpracovány statistickým softwarem Minitab® 17.2.1 (Fujitsu Lmt., Japonsko)<sup>19</sup>. Regresní rovnice mají tvar:

$$\eta_2 = -26,74 + 18,31 A + 0,6444 B + 13,22 C - 0,1911 AB - 2,283 AC - 0,1303 BC + 0,02694 ABC,$$

$$F = -453,0 + 45,00 A + 7,550 B + 88,00 C - 0,7500 AB - 14,00 AC - 1,467 BC + 0,2333 ABC,$$

kde A je přídavek enzymu, B teplota extrakce a C doba extrakce.

Stupeň konverze byl vypočten z hmotnosti hydrolyzátu připraveného po 1. stupni zpracování, resp. z hmotnosti želatiny/hydrolyzátu připravených po 2. stupni zpracování, hmotnosti vztažené na navážku bílkovinného substrátu. Dále byl vypočten celkový stupeň konverze (součet stupňů konverze po 1. a 2. stupni zpracování). Bilanční chyba hmoty byla vyjádřena procentním rozdílem hmotové bilance mezi vstupem (bílkovinný substrát) a výstupy (hydrolyzát po 1. stupni zpracování + želatina/hydrolyzát po 2. stupni zpracování + tuhý zbytek).

Obsah popelovin v hydrolyzátech a želatinách byl stanoven gravimetricky po spálení a vyžihání vzorku<sup>12</sup>. Pevnost želatinových gelů byla měřena dle metodiky AOAC 948.21 (cit.<sup>20</sup>), vyjadřuje se v jednotkách Bloom, 1 Bloom = 1 g.

Pro názornější ilustraci vlivu studovaných procesních faktorů při zpracování bílkovinného substrátu na želatiny/hydrolyzáty jsou výsledky stupně konverze po 2. stupni

Tabulka I

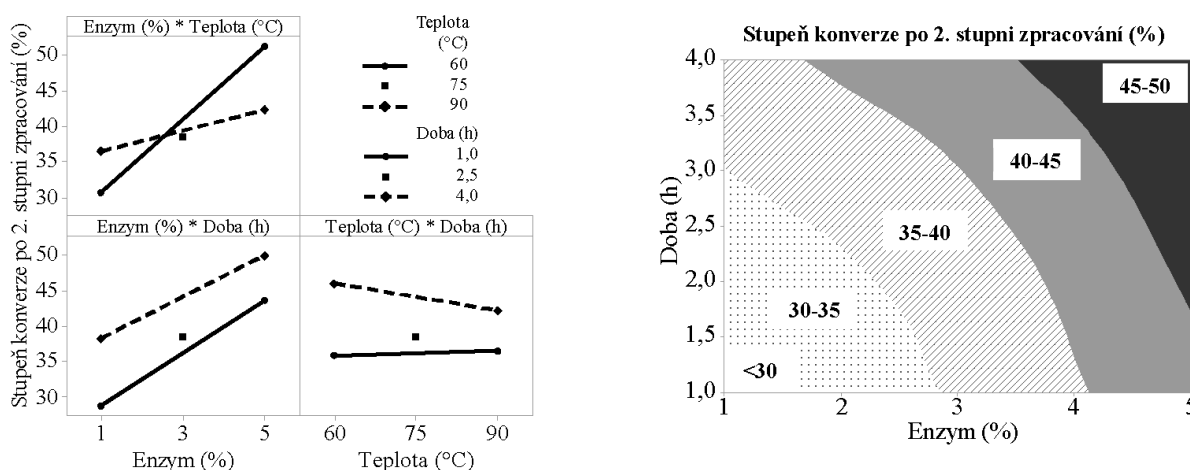
Souhrnné výsledky zpracování bílkovin kuřecích běháků na želatiny a hydrolyzáty

Exp. č.	Studované faktory			Výsledky po 1. stupni zpracování		Výsledky po 2. stupni zpracování			Hodnocení celého procesu	
	A	B	C	$\eta_1$	$P_1^*$	$\eta_2$	$P_2^*$	F	$\eta_\Sigma$	BCH
	enzym [%]	teplota [°C]	doba [h]	[%]	[%]	[%]	[%]	[Bloom]	[%]	[%]
1	1	60	1	11,3	22,0	23,5	1,06	0	34,8	4,7
2	1	60	4	11,6	20,8	37,7	0,99	0	49,3	4,5
3	1	90	1	11,5	27,9	34,0	1,23	167	45,5	0,8
4	1	90	4	11,8	22,8	38,9	0,67	56	50,7	4,8
5	5	60	1	17,7	28,3	48,2	1,41	0	65,9	0,9
6	5	60	4	17,3	27,7	54,4	0,58	0	71,7	1,3
7	5	90	1	17,5	29,2	39,0	0,99	105	56,5	4,1
8	5	90	4	17,9	30,2	45,6	0,58	78	63,5	2,1
9	3	75	2,5	13,6	25,4	38,5	1,17	148	52,1	4,4

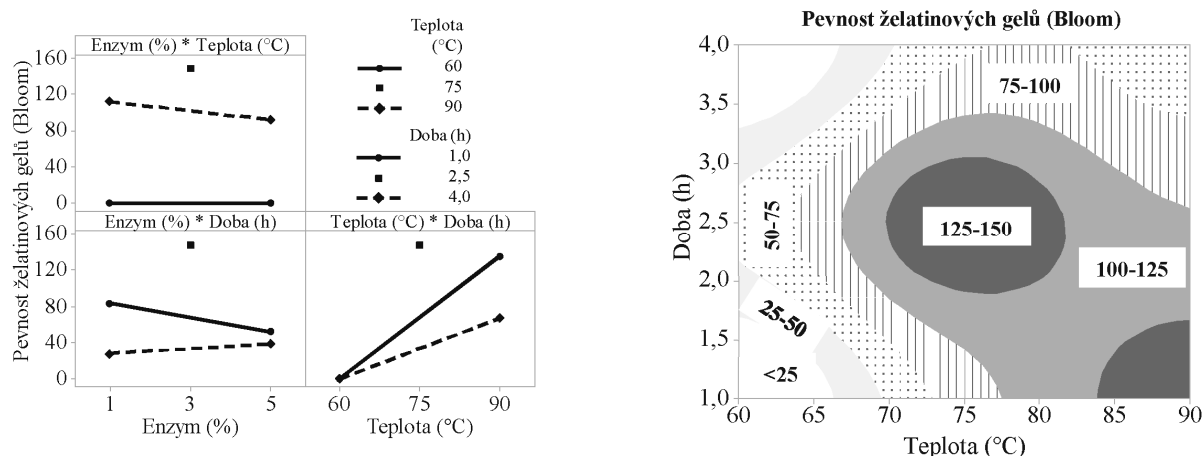
\* – vztaženo na sušinu,  $\eta_1$  – stupeň konverze po 1. stupni zpracování,  $\eta_2$  – stupeň konverze po 2. stupni zpracování,  $\eta_\Sigma$  – celkový stupeň konverze,  $P_1$  – obsah popela v hydrolyzátu po 1. stupni zpracování,  $P_2$  – obsah popela v želatině/hydrolyzátu po 2. stupni zpracování, F – pevnost želatinového gelu, BCH – bilanční chyba hmoty

zpracování a pevnosti želatinových gelů prezentovány interakčními a vrstevnicovými grafy (vrstevnicové grafy prezentují vliv 2 nejvýznamnějších faktorů na sledovanou veličinu). Na obr. 2 při interakci enzym–teplota vidíme, že se zvyšujícím se přidavkem enzymu při konstantní teplotě se stupeň konverze zvyšuje. Při dolním limitu extrakční teploty (60 °C) a při přidavku enzymu > 3 % je stupeň konverze vyšší, než u horního limitu extrakční teploty (90 °C). Při interakci enzym–doba je zřejmé, že se zvyšují-

cím se přidavkem enzymu se stupeň konverze zvyšuje, delší doba extrakce (4 h) má vyšší vliv na stupeň konverze, než krátká doba extrakce (1 h). Z interakce teplota–doba je patrné, že se zvyšující se extrakční teplotou po extrakční době 1 h je stupeň konverze stejný a po 4 h extrakce dokonce mírně klesá. Na obr. 3 při interakci enzym–teplota je zřejmé, že se zvyšujícím se přidavkem enzymu při 60 °C nebyly připraveny želatiny (nulová pevnost gelu). Při horním limitu extrakční teploty (90 °C) pevnost želatinových



Obr. 2. Graf vlivu interakcí sledovaných faktorů na stupeň konverze po 2. stupni zpracování (%) a vrstevnicový graf vlivu přidavku enzymu a doby extrakce na stupeň konverze po 2. stupni zpracování (%)



Obr. 3. Graf vlivu interakcí sledovaných faktorů na pevnost želatinových gelů (Bloom) a vrstevnicový graf vlivu teploty a doby extrakce na pevnost želatinových gelů (Bloom)

gelů mírně klesá s rostoucím přídatkem enzymu. Nejvyšší pevnost želatinového gelu je dosažena za podmínek centrálního experimentu (3 % enzymu a 75 °C). Při interakci enzym–doba je zřejmé, že nejvyšší pevnost želatinového gelu je u centrálního experimentu. Po 1 h extrakce pevnost gelu mírně klesá se zvyšujícím se přídatkem enzymu, ale je vyšší, než po 4 h extrakce, kdy naopak se zvyšujícím se přídatkem enzymu pevnost gelu mírně roste. Z interakce teplota–doba je patrné, že u obou limitních hodnot doby extrakce (1 a 4 h) pevnost gelu roste se zvyšující se teplotou extrakce – z nulových hodnot při 60 °C až na cca 70 Bloom po 4 h extrakce, resp. na cca 135 Bloom po 1 h extrakce. Nejvyšší pevnost želatinového gelu (cca 150 Bloom) odpovídá podmínkám centrálního experimentu (75 °C a 2,5 h). Tendence změny kvality (pevnosti) želatinových gelů v závislosti na teplotě a době extrakce odpovídají vlivům technologických podmínek na pevnost želatinových gelů při extrakci želatin z tradičních surovinových zdrojů<sup>21</sup>. Připravené želatiny/hydrolyzáty mají velmi nízký obsah popelovin, 0,58–1,41 % (na sušinu), což splňuje požadavky na potravinářské a farmaceutické produkty<sup>22</sup>.

## Závěr

Dvoustupňovým biotechnologickým postupem (s použitím mikrobiální proteasy Protamex) ve dvou stupních a vhodnou kombinací extrakční teploty a doby lze odpadní kuřecí běháky zpracovat na jakostní želatiny (pevnost gelu 170 Bloom) s účinností extrakce cca 33 % a na kvalitní hydrolyzáty (s obsahem popelovin do 1,5 %) s účinností extrakce až 55 %. Technologie je vhodná pro frakcionační způsob zpracování výchozího bílkovinného substrátu. Při nižší extrakční teplotě se připraví nejprve vysoce kvalitní želatiny při relativně malém stupni konver-

ze (≈ 30 %) a při zvyšujících se teplotách se získá želatina s nižší pevností gelu za lepšího využití výchozí suroviny. Získané produkty jsou vhodně pro použití v potravinářském, farmaceutickém či fotografickém průmyslu. Po 1. stupni zpracování se připraví kolagenní hydrolyzát (stupeň konverze až 18 %) s vyšším obsahem popelovin (21–30 %), který lze použít např. jako přísadu do krmiv pro hospodářská zvířata nebo jako růstový stimulant v zemědělství. Nerozložený zbytek po 2. stupni zpracování lze dále zpracovat (alkalickou, kyselou či enzymovou) hydrolyzou na hydrolyzát II. jakosti.

*Tato práce vznikla za finanční podpory interní grantové agentury Fakulty technologické UTB ve Zlíně IGA/FT/2018/008 a IGA/FT/2018/003.*

## LITERATURA

- Ockerman H. W., Hansen C. I.: *Animal By-Product. Processing & Utilization*. Woodhead Publishing, London 2000.
- Pitk P., Kaparaju P., Vilu R.: *Bioresour. Technol.* 116, 42 (2012).
- Schrieber R., Gareis H.: *Gelatine Handbook. Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
- Secchi G.: *Clin. Dermatol.* 26, 321 (2008).
- Flick E. W.: *Cosmetic and Toiletry Formulations*. Noyes Publications, New Jersey 1996.
- Ching C. T. K., Kaplan D., Thomas E. L. (ed): *Biodegradable Polymers and Packaging*. Technomic Publishing Company, Lancaster 1993.
- Coutand M., Cyr M., Deydier E., Guilet R., Clastres P.: *J. Hazard. Mater.* 150, 522 (2008).
- Dybka K., Walczak P.: *Food Chem. Biotechnol.* 73,

- 83 (2009).
9. Lasekan A., Abu Bakar F., Hashim D.: *Waste Manage.* 33, 552 (2013).
  10. Almeida P. F., Da Silva Lannes S. C.: *J. Food Process Eng.* 36, 824 (2013).
  11. Xu M., Wei L., Xiao Y., Bi H., Yang H., Du Y.: *Int. J. Biol. Macromol.* 95, 1246 (2017).
  12. Davídek J., Hrdlička J., Karvánek M., Pokorný J., Seifert J., Velišek J.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*. SNTL, Praha 1985.
  13. ČSN ISO 1443 (570147): *Maso a masné výrobky. Stanovení celkového obsahu tuku*.
  14. ČSN ISO 937 (576023): *Maso a masné výrobky – Stanovení obsahu dusíku (Referenční metoda)*.
  15. ISO 3496:1994: *Meat and meat products – Determination of hydroxyproline content*.
  16. Vazques-Ortiz F., Gonzales-Mendez N. F.: *J. Food Anal.* 9, 269 (1996).
  17. Beneš M., Likeš J.: *Pokroky matematiky, fyziky a astronomie* 2, 18 (1957).
  18. Beneš M., Likeš J.: *Pokroky matematiky, fyziky a astronomie* 2, 156 (1957).
  19. Stange K.: *Angewandte Statistik. Teil 2 - Mehrdimensionale Probleme*. Springer Verlag, Heidelberg 1971.
  20. AOAC 948.21 (1998): *Jelly strength of gelatin. Official Methods of Analysis of AOAC International*.
  21. Schrieber R., Gareis H.: *Gelatine Handbook. Theory and Industrial Practice*. Wiley, Weinheim 2007.
  22. Glicksman M. (ed): *Food Hydrocolloids*. CRC Press, Boca Raton 1982.

**P. Mokrejš, R. Gál, J. Pavlačková, D. Janáčová, and P. Mrázek** (*Department of Polymer Engineering, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín*): **Utilisation of Chicken Slaughterhouse Collagen By-Products for Preparation of Gelatines and Hydrolysates**

The paper presents processing of chicken paws (a solid by-product of poultry processing) into gelatines and collagen hydrolysates. After removing of non-collagenous proteins and fats, the grounded chicken paw protein substrate is processed biotechnologically in two steps. In the first step, the protein substrate is pretreated with proteolytic enzyme Protamex at ambient temperature and neutral pH. After filtration, 2<sup>nd</sup> grade collagen hydrolysate is obtained. Second step involves the extraction of gelatine or 1<sup>st</sup> grade collagen hydrolysate from swelled protein substrate with hot water. The effect of selected processing parameters (addition of enzyme, extraction temperature and extraction time) on the degree of conversion (expressed as conversion of chicken paw collagen protein into collagen hydrolysate and gelatine) and quality of prepared gelatines/hydrolysates were studied by two-level factorial experiments. Applying biotechnological process, by proper combination of added protease, extraction time and temperature, high quality gelatines (170 Bloom gel strength value, ash content less than 1.5 %) with the degree of conversion up to 33 % or quality 1<sup>st</sup> grade collagen hydrolysates (ash content less than 1.5 %) with the degree of conversion up to 55 % were prepared. The products prepared are suitable for food, pharmaceutical, photography and cosmetics applications. 2<sup>nd</sup> grade collagen hydrolysate can be used as a feed supplement for livestock or as a growth stimulator in agriculture. The advantages of the presented technology are above all mild reaction conditions (neutral pH and process runs under atmospheric pressure).

Keywords: chicken paws, collagen, collagen hydrolysate, enzyme treatment, extraction, gelatine, protein substrate