

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Vliv složení na organoleptické vlastnosti masa**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Eva Budková**

**Vedoucí práce: Ing. Ludmila Prokúpková, Ph.D**

© 2015 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv složení na organoleptické vlastnosti masa" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10.4.2015

---

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí práce Ing. Ludmile Prokúpkové, Ph.D. a také konzultantu Ing. Petru Kolbábkovi za odborné vedení, konzultace a cenné rady. Děkuji Ing. Radimu Kotrbovi, Ph.D za pomoc při zpracování statistického vyhodnocení. Poděkování patří i mým nejbližším za podporu po celou dobu studia.

# Vliv složení na organoleptické vlastnosti masa

## Souhrn

Maso je velice cenná potravinu nejen z nutričního hlediska, ale také pro jeho organoleptické vlastnosti. Stále významnější roli při jeho výběru hraje očekávaný kulinární zážitek spojený s konzumací. Kvůli příznivým organoleptickým vlastnostem a nízkému obsahu intramuskulárního tuku stoupá spotřeba masa zvěřiny.

Cílem předkládané diplomové práce bylo na základě literární rešerše vysvětlit vliv kolagenu na organoleptické vlastnosti masa antilopy losí (*Taurotragus oryx*).

V teoretické části této práce bylo popsáno složení a vlastnosti kolagenu, který je hlavní složkou intramuskulární pojivové tkáně. Bylo popsáno složení intramuskulární tkáně a její vliv na senzorické vlastnosti kulinárně upraveného masa. Byly popsány vybrané metody stanovení kolagenu v mase a masných výrobcích. Další část literární rešerše se zabývá chovem antilop losích, chemickým složením a organoleptickými vlastnostmi jejich masa.

V praktické části této práce byly k měření použity čtyři různé partie těla 25 samců antilopy losí chované Školním zemědělským podnikem Lány. Stanovení se týkalo spektrofotometrického měření obsahu celkového a rozpustného kolagenu, stanovení množství dusíkatých látek a porovnání s hodnotami stanovení síly ve stříhu naměřené metodou dle Warnera-Bratzlera.

Na základě hodnocení byla zjištěna statisticky významná závislost mezi obsahem celkového kolagenu a silou ve stříhu. Výsledky byly diskutovány.

**Klíčová slova:** kolagen, antilopa losí, intravitální vlivy, textura

# Effect of composition on the organoleptic characteristics of meat

## Summary

Meat is very a valuable food not only nutritionally but also for its organoleptic characteristics. The awaited culinary experience linked with its consumption plays an increasing important role in its selection. The consumption of game is on the rise mainly due to its wealthy organoleptic characteristics and low intramuscular fat content.

The aim of this thesis is to explain the influence of collagen on the organoleptic characteristics of common eland meat (*Taurotragus oryx*), the thesis has been mainly based on literature research.

The theoretical part of this thesis talks about the composition and characteristics of collagen which is the main part of the intramuscular connective tissue. The intramuscular tissue composition and its influence on the sensory characteristics of culinary processed meat are elaborated on within the section. The selected methods of collagen testing in meat and meat products have also been covered. The second part of the thesis focuses on the breeding of common eland and the chemical composition and organoleptic characteristics of their meat.

In the practical section of the thesis we have used four different body parts taken from 25 male common elands bred in the School Farm Lány. The assessment involved spectrophotometric measurements of the total collagen and soluble collagen content, the assessment of nitrogen compounds and their comparison with the amounts of the shear strength obtained when using the Warner-Bratzler method.

A statistically significant correlation between the content of the total collagen and the shear strength has been identified on the basis of the results evaluation. The results were then discussed.

**Key words:** collagen, common eland, intravital effects, texture

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Kolagen.....</b>	<b>10</b>
3.1.1 Struktura kolagenu .....	10
3.1.2 Biosyntéza kolagenu .....	15
3.1.3 Rozpustnost kolagenu .....	16
3.1.4 Přeměna kolagenu na želatínu .....	16
3.1.5 Degradace kolagenu.....	17
<b>3.2 Intramuskulární pojivová tkáň.....</b>	<b>18</b>
3.2.1 Složení a struktura intramuskulární pojivové tkáně .....	18
3.2.2 Mechanické a tepelné vlastnosti pojivové tkáně.....	19
3.2.3 Vliv pojivové tkáně na sensorické vlastnosti masa .....	21
3.2.4 Pojivová tkáň v masných produktech .....	23
<b>3.3 Metody stanovení kolagenu v mase .....</b>	<b>23</b>
3.3.1 Spektrofotometrie .....	23
3.3.2 Kapalinová chromatografie s hmotnostním detektorem (HPLC/MS) .....	24
3.3.3 Elektroforéza.....	24
3.3.4 Spektroskopie (NIR) .....	24
<b>3.4 Antilopa losí .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Chov antilopy losí na ŠZP Lány .....	25
3.4.2 Složení masa .....	26
3.4.3 Sensorické vlastnosti masa antilop .....	28
<b>4 Materiál a metody .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Přehled vzorků .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 Použité chemikálie.....</b>	<b>32</b>
<b>4.3 Použité roztoky .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4 Použité přístroje .....</b>	<b>33</b>
<b>4.5 Metody měření.....</b>	<b>34</b>
4.5.1 Stanovení kolagenu .....	34
4.5.2 Stanovení rozpustného kolagenu .....	35
4.5.3 Stanovení obsahu bílkovin.....	36
4.5.4 Stanovení síly ve stříhu dle Warnera-Bratzlera .....	37

4.5.5	Statistické vyhodnocení .....	37
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>37</b>
5.1	Celkový kolagen .....	38
5.2	Rozpusťný kolagen .....	40
5.3	Bílkoviny .....	42
5.4	Síla ve stříhu .....	44
5.5	Závislost mezi obsahem celkového kolagenu a silou ve stříhu jednotlivých partií .....	46
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>52</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>I</b>

# 1 Úvod

Maso je velice cenná potravina z hlediska příznivé nutriční hodnoty. Je velice důležitým zdrojem plnohodnotných bílkovin, vitamínů, nenasycených mastných kyselin a minerálních látek, proto je v lidské výživě nenahraditelné. Stále častěji se ale maso konzumuje z důvodu sensorických vlastností. V poslední době se rozmáhá trend zdravé výživy, a proto spotřebitelé často hledají zdravější varianty potravin. Jednou z těchto potravin může být i maso volně žijících přežvýkavců.

Kvůli příznivým organoleptickým vlastnostem a nízkému obsahu intramuskulárního tuku spotřeba zvěřiny z farmových chovů i volně žijících zvířat roste, dokonce se doporučuje jako náhrada za maso hovězí. Kromě zvěřiny běžně se vyskytující na našem území do této skupiny lze také zařadit antilopy, jejich maso by mohlo uspokojit poptávku po alternativních druzích masa.

V souvislosti se stále vyššími požadavky na kvalitu masa se mezi nejdůležitější texturní parametry řadí křehkost. Křehkost masa je z velké části ovlivněna obsahem a strukturou intramuskulární pojivové tkáně, zvláště pak přítomností kolagenu. Křehkost masa nezávisí pouze na množství kolagenu, ale také na stabilitě jeho příčných vazeb, s tím spojenou rozpustností kolagenu a na schopnosti kolagenu tvořit želatinu. Velký vliv na křehkost může mít i způsob tepelné úpravy masa před konzumací.



## **2 Cíl práce**

Cílem diplomové práce je zhodnotit závislost koncentrace a vlastností kolagenu ve vybraných svalových partiích antilopy losí na vlivech, které působí za života zvířete.

### **Hypotéza:**

Množství a typ kolagenu přítomného v mase antilopy losí je závislé na intravitálních vlivech.

### 3 Literární rešerše

V kapitole literární rešerše je popsán kolagen a jeho složení. Dále se kapitola zabývá intramuskulární pojivovou tkání. Pojednává o antilopách losích jakožto o zkoumaném materiálu při analýzách.

#### 3.1 Kolagen

Kolagen se řadí do skupiny stromatických bílkovin, které se vyskytují především v pojivových tkáních, tj. v kůži, kostech, vazivech, šlachách apod., lze je nalézt také ve svalové tkáni, kde tvoří různé membrány (Pipek, 2009). Kolagen tvoří 20 – 25 % z celkových proteinů a proto je nejvíce zastoupeným proteinem v těle zvířat (Steinhauser a kol., 2000). Jeho obsah ve šlachách bývá 25 – 30 %, v kostech 10 – 20 % v chrupkách 10 – 15 %, v kůži 15 – 25 %, a ve svalovině 1 – 2 % (Pipek, 2009).

Kolagen je glykoprotein, který obsahuje malé množství galaktózy a glukózy. Nejvíce zastoupenou aminokyselinou je glycin, který tvoří přibližně 1/3 všech aminokyselin. Další třetinu aminokyselin tvoří hydroxyprolin a prolin. Obsah hydroxyprolinu je relativně konstantní složkou kolagenu (tvoří 13 – 14 %) a v jiných bílkovinách se nevyskytuje (Steinhauser a kol., 2000). Kolagen obsahuje také 1 % vzácné aminokyseliny hydroxylysinu (Rodger a Wilding, 1990). Neobsahuje tryptofan a cystein a má rovněž málo tyrosinu a metioninu (Pipek, 2009).

##### 3.1.1 Struktura kolagenu

Struktura kolagenu vychází z atypického aminokyselinového složení. V primární struktuře je typická sekvence glycin-X-Y, kde jsou X a Y další aminokyseliny (Pipek, 2009). Distribuce aminokyselin v polohách X a Y není náhodná. Prolin dává přednost poloze X a hydroxyprolin poloze Y. Glutamin, leucin a fenylalanin se nejčastěji vyskytují v poloze X. Treonin, lysin a arginin zase v poloze Y (Bailey a Light, 1989).

Glycin, nejmenší aminokyselina v přírodě, je zásadní pro stabilitu kolagenu. Je dostatečně malý, aby se vešel do prostoru mezi prolin a hydroxyprolin, který jí umožňuje tvořit vodíkovou vazbu (přes jeho NH- skupiny) s CO- skupinou prolinu (nebo jakoukoliv aminokyselinou v pozici X-) v sousedním  $\alpha$ -řetězci (Saedi, 2009).

Strukturální jednotka kolagenních vláken se nazývá tropokolagen. Tropokolagenová molekula se skládá ze tří alfa-řetězců a vytváří trojitou šroubovici (Steinhauser a kol., 2000). Jednotlivé peptidové řetězce jsou stočeny levotočivě kolem své osy a vždy tři tyto řetězce jsou svinuty

pravotočivě do trojnásobné helix. Tento komplex má relativní molekulovou hmotnost 360 000 a celá molekula tropokolagenu má délku 290 nm (Pipek, 2009). Tři levotočivé základní řetězce se nazývají šroubovice polyprolinového typu nebo také  $\alpha$ -řetězce. Název této šroubovice je odvozen z poly-L-prolinu, který se se všemi peptidy váže v trans konformaci. Může však být i peptidy neobsahující prolin nebo hydroxyprolin. Vznikají tak tři šroubovice předsazené o jednu pozici ke vzájemné reakci jejich reziduí, tyto jsou stočeny pravotočivě podél společné osy a vytváří tak již zmiňovanou trojitou šroubovici (Brinckmann et al., 2005). Tento model může vést k předpokladu, že jsou tři  $\alpha$ -řetězce shodné, ale u většiny typů kolagenu nejsou. Pro příklad typ kolagenu I je složen ze dvou stejných a jednoho jiného  $\alpha$  řetězce (Rodger a Wilding, 1990). Šroubovice polyprolinového typu má tři zbytky na jednu otočku a glycinové zbytky jsou uvnitř šroubovice naproti sobě. Při vytvoření větších postranních řetězců -C než -H by se zabránilo tvoření vodíkových vazeb mezi páteří -NH skupinou glycinu a CO rezidua v X-pozici sousedního řetězce. Tyto vodíkové vazby jsou hlavním zdrojem stability (Brinckmann et al., 2005). Baily a Light, 1989 vysvětlují, že atom vodíku glycinového zbytku je umístěn uvnitř šroubovice a dává kompaktní strukturu s vodíkovými vazbami. Stabilitě molekuly dále napomáhají hydroxyprolinové zbytky s vazbou vody. Toto těsné zabalení helix jí poskytuje silnou ochranu proti proteolytickým enzymům.

Izolované polyprolinové šroubovice nejsou stabilní v případě, že polypeptidové řetězce také obsahují jiné zbytky než prolin a hydroxyprolin. Na rozdíl od pravotočivé trojité šroubovice je levotočivá polyprolinová šroubovice poměrně vzácný prvek stavebních bílkovin, obzvláště kolagenu (Brinckmann et al., 2005).

Kolageny jsou stále rostoucí skupinou proteinů s mimořádnou heterogenitou. V současné době je známo 27 typů kolagenů, které jsou kódovány více než 40 různými geny. Rozmanitost se týká nejen molekulární sestavy a supramolekulární struktury, ale také se odráží na tkáňové distribuci, funkci a patologii kolagenových typů (Brinckmann et al., 2005).

Podle uspořádání molekul kolagen dělíme na **vláknitý neboli fibrilární typ**, který má pravidelnou strukturu a tvoří dlouhá, nevětvená, příčně pruhovaná vlákna. **Sít'ový typ** kolagenu vzniká lineárním a bočním spojováním vláken. Kolagen typu VII **ukotvující fibrily** má speciální vláknité struktury, které tvoří základ epitelu pro pojivové tkáně. **Kolageny FACIT** (Fibril associated collagens with interrupted triplehelix) se spojují s již existujícími fibrilami, obsahují více než dvě krátké trojšroubovice, které mají v některých místech krátké nekolagenní části. **Transmembránové kolageny** jsou molekuly uložené v plazmatické

membráně, kterou odděluje od povrchu buněk a tak tvoří rozpustné formy. **Multiplexní kolageny** jsou tvořeny přerušovanými trojšroubovicemi a nacházejí se v epiteliálních a endoteliálních částech bazálních membrán pojivových tkání (Saeidi, 2009).

**Tab. 1: Přehled typů kolagenu a jejich výskyt** (Brinckmann et al., 2005; Peterková a Lapčík, 1999; Fratzl, 2008).

<b>Typ</b>	<b>Složení řetězce</b>	<b>Charakteristika</b>	<b>Výskyt</b>
<b>I</b>	$\alpha_1(\text{I}), \alpha_2(\text{I})$	vláknitý typ	kosti, šlachy, kůže, zubovina, vazivo, děloha, cévy
<b>II</b>	$\alpha_1(\text{II})$ trimer	vláknitý typ	nádorové útvary a zanícená ložiska
<b>III</b>	$\alpha_1(\text{III})$	vláknitý typ	chrupavky, sklivec oka, cévy
<b>IV</b>	$\alpha_1(\text{IV})$	sít'ovaný typ	bazální membrány
<b>V</b>	$\alpha_1(\text{IV}), \alpha_2(\text{IV}),$ $\alpha_3(\text{IV}), \alpha_4(\text{IV}),$ $\alpha_5(\text{IV}), \alpha_6(\text{IV})$	vláknitý typ	rohovka, kůže, placenta
<b>VI</b>	$\alpha_1(\text{V}), \alpha_2(\text{V}),$ $\alpha_3(\text{V}), \alpha_4(\text{V})$	sít'ovaný typ	kosti, chrupavky, rohovka, kůže, cévy
<b>VII</b>	$\alpha_1(\text{VI}),$ $\alpha_2(\text{VI}), \alpha_3(\text{VI})$	ukotvující fibrily	spojovací tkáně, močový měchýř, kůže
<b>VIII</b>	$\alpha_1(\text{VIII}), \alpha_2(\text{VIII})$	sít'ovaný typ	kůže, mozek, srdce, kosti, ledviny, chrupavky, cévy
<b>IX</b>	$\alpha_1(\text{IX}),$ $\alpha_2(\text{IX}), \alpha_3(\text{IX})$	FACIT	chrupavky, rohovka
<b>X</b>	$\alpha_1(\text{X})$	sít'ovaný typ	hypertrofické chrupavky
<b>XI</b>	$\alpha_1(\text{XI}), \alpha_2(\text{XI}),$ $\alpha_3(\text{XI})$	vláknitý typ	chrupavky, meziobratlové ploténky
<b>XII</b>	$\alpha_1(\text{XII})$	FACIT	kůže, šlachy, chrupavky

<b>Typ</b>	<b>Složení řetězce</b>	<b>Charakteristika</b>	<b>Výskyt</b>
<b>XIII</b>	$\alpha_1$ (XIII)	transmembránový typ	endoteliální buňky, kůže, oči, srdce, kosterní svaly
<b>XIV</b>	$\alpha_1$ (XIV)	FACIT	kosti, kůže, chrupavky, oči, nervy, šlachy, děloha
<b>XV</b>	$\alpha_1$ (XV)	MULTIPLEX	kapiláry, kůže, placenta, ledviny, srdce, vaječníky, varlata
<b>XVI</b>	$\alpha_1$ (XVI)	FACIT	srdce, ledviny, kůže, hladká svalovina
<b>XVII</b>	$\alpha_1$ (XVII)	transmembránový typ	hemidesmosomes v epitelu
<b>XVIII</b>	$\alpha_1$ (XVIII)	MULTIPLEX	perivaskulární bazální membrány, ledviny, játra, plíce
<b>XIX</b>	$\alpha_1$ (XIX)	FACIT	bazální membrány, kosterní svalovina, slezina, prostata, játra, ledviny
<b>XX</b>	$\alpha_1$ (XX)	FACIT	epitel rohovky,
<b>XXI</b>	$\alpha_1$ (XXI)	FACIT	cévy, srdce, žaludek, játra, kosterní svalovina, placenta
<b>XXII</b>	$\alpha_1$ (XXII)	FACIT	spojení tkání, spojení svalů a svalů srdce, kloubní synoviální tekutina, hranice mezi vlasovým folikulem a dermis v kůži
<b>XXIII</b>	$\alpha_1$ (XXIII)	transmembránový typ	srdce, sítnice, metastazující rakovinné buňky,
<b>XXIV</b>	$\alpha_1$ (XXIV)	vláknitý typ	kosti, rohovka
<b>XXV</b>	$\alpha_1$ (XXV)	transmembránový typ	mozek, srdce, varlata, oči
<b>XXVI</b>	$\alpha_1$ (XXVI)		varlata, vaječníky
<b>XXVII</b>	$\alpha_1$ (XXVII)	vláknitý typ	chrupavky

Funkčně důležitým strukturálním rysem trojitě helix je orientace postranních řetězců. Postranní řetězce zbytků v X- a Y- pozici šroubovice jsou volně přístupné pro vazebné interakce. Jsou důležité k tvorbě fibril, k mezimolekulárním interakcím mezi opačně nabitými

zbytky a také pro hydrofobní interakce mezi zbytky různých molekul. Interakce mezi molekulami kolagenu ve vláknech způsobují charakteristické čtvrt-opakování po 67 nm a tvoří komplexní křížové příčné pruhování, které je vidět v elektronovém mikroskopu (Brinckemann et al., 2005). Saeidi, 2009 uvádí, že toto pruhování tvoří vláknotvorné typy kolagenu, a je výsledkem přesného uspořádání postranních molekul v rámci fibril.

Kolagenová vlákna tvoří mikrofibrily, které jsou složeny z malého počtu molekul, které, seřazené v konkrétních polích tvoří základní penta-fibrilární jednotku. Je pravděpodobné, že je vlákno sestaveno z těchto pěti molekulárních jednotek. Míra tvorby mikrofibril může být stanovena mírou rozštěpení N-terminálních nebo C-terminálních globulárních zakončení na jejich povrchu.

Hlavní post-translační modifikace kolagenu je tvorba intramolekulárních (mezi řetězci v téže molekule) a mezimolekulárních vazeb. To je nezbytné pro vysokou mechanickou pevnost kolagenu, včetně nevláknitých typů (Lawrie a Ledward, 2006). Po celou dobu života zvířete se počet příčných vazeb zvyšuje, což zvyšuje tepelnou stabilitu kolagenu. Nárůst v počtu příčných vazeb na 1 mol kolagenu s věkem vysvětluje nárůst houževnatosti masa pozorované u starých zvířat (Lepetit, 2006). Tyto příčné vazby jsou kovalentní a trojího druhu: disulfidové vazby, divalentní vazby vytvořené mezi  $\alpha$  řetězci z lysinových nebo hydroxylysinových aldehydů a složitější vazby spojující více než dva řetězce, které vznikají v průběhu stárnutí kolagenu (zralé příčné vazby) (Lawrie a Ledward, 2006).

Fibrily a vlákna jsou stabilizovány mezimolekulárními lysinovými křížovými vazbami. Tyto vazby vznikají mezi lysinovými nebo hydroxylysinovými aldehydy (tvořeny působením oxidační deaminázy, lysil oxidázy) a hydroxylysinu a tvoří aldiminové nebo oxoiminové vazby. Distribuce těchto dvou příčných vazeb závisí na úrovni hydroxylace kolagenu. Obě jsou v průběhu stárnutí ve většině kolagenu nahrazeny vícemocnými křížovými vazbami, jako jsou například histidino-hydroxylysinoleucinové vazby a vazby tvořeny pyridinolinem (Bailey a Light, 1989).

Během zrání tkání zvířete se kolagen stává mnohem odolnější proti rozpadu. To není z důvodu zvýšení počtu mezimolekulárních křížových vazeb, ale kvůli tvorbě neredukovatelných vazeb spojující tři nebo více řetězců, přičemž je získána trojrozměrná síť a je vyvinuta vysoká pevnost v tahu. Je zřejmé, že jsou za to zodpovědné hydroxyaldohistidinové a pyridinolinové struktury vazeb (Lawrie a Ledward, 2006).

Lepetit (2008) ve své práci uvádí, že v mase existuje několik typů křížových vazeb. Některé vazby spojují dvě kolagenní molekuly (tzv. divalentní), zatímco jiné spojují tři kolagenové molekuly (tzv. bivalentní) a funkčnost těchto trivalentních křížových vazeb je

teoreticky 1,5krát vyšší než dvojmocné křížové vazby. Také uvádí, že houževnatost masa pochází především z trivalentních termostabilních můstků, které jsou ve svalech ve velkém množství a mají vyšší funkčnost.

### 3.1.2 Biosyntéza kolagenu

Syntéza kolagenu je produkována zejména pojivovými tkáněmi. Jednotlivé polypeptidové řetězce jsou syntetizovány na membráně ribozomů (jednotlivé AMK se spojují do řetězců kondenzací za odštěpení vody) a následně jsou transportovány do endoplasmatického retikula jako  $\alpha$ -řetězce. Tyto prekursory obsahují krátké aminoluminální signální peptidy, které jsou nutné pro transport přes membránu endoplasmatického retikula, a také další AMK nazývané propeptidy, vyskytující se na aminovém a karboxylovém konci. V buněčné dutině endoplasmatického retikula jsou prolin a lysin hydroxylovány na hydroxyprolin a hydroxylysin. Jednotlivý  $\alpha$ -řetězec se spojuje se dvěma dalšími vodíkovými vazbami, čímž vzniká struktura zvaná prokolagen. Tato H-vazba vzniká mezi kyslíkem karboxylové skupiny jedné peptidové vazby a vodíkem aminoskupiny druhé peptidové vazby. Vylučované vláknité kolageny jsou odstraněním peptidů v mimobuněčném prostoru převedeny na kolagenové molekuly. Kolageny jsou vylučovány s nehelikálními proslouženými na obou koncích. Tyto odštěpitelné části polypeptidů se nazývají telopeptidy. 4-hydroxyprolinové a 5-hydroxylysinové zbytky jsou zřídka přítomny v jiných proteinech. Hydroxylové skupiny hydroxyprolinu tvoří meziřetězcové H-vazby pomáhající stabilizovat triple-helix. Hydroxylované lysinové zbytky jsou nezastupitelné při neobvyklé glykosilaci lysinu a jsou rozhodující pro rozsáhlé síťování kolagenových molekul, které se tvoří během shromažďování kolagenu v mimobuněčném prostoru. Zbytky hydroxylysinu s navázanými sacharidy se podílí na tvorbě intra- a intermolekulárního kovalentního příčného síťování.

Kolageny jsou neustále, i když pomalu degradovány specifickými mimobuněčnými enzymy, tzv. kolagenázami. Po vyloučení jsou propeptidy prokolagenových molekul odstraněny specifickými proteolytickými enzymy mimo buňku. Tyto přeměňují prokolagenové molekuly na molekuly kolagenu, také nazývaného tropokolagen (1,5 nm v průměru), které se spojují v mimobuněčném prostoru za tvorby rozměrnějších kolagenových fibril (10 – 300 nm v průměru).

Syntéza kolagenových fibril a jejich shromažďování se dají stručně popsat v následujících krocích:

- 1) procesy probíhající uvnitř buňky: syntéza pro  $\alpha$ -řetězce, hydroxylace a výběr prolinů a lysinů, glykosylace vybraných hydroxylysinů, tvorba trojhelikální formace ze tří  $\alpha$  řetězců;

- 2) sekrece přes plasmatickou membránu: prokolagenová molekula;
- 3) procesy vně buňky: rozštěpení propeptidů, vznik kolagenových molekul, jejich shromažďování do fibril, agregace kolagenových fibril do kolagenových vláken (Peterková a Lapčík, 2000).

### **3.1.3 Rozpustnost kolagenu**

Ve starších studiích bylo navrženo, že celkové množství kolagenu není vždy dostatečné k vysvětlení různých stupňů tuhosti masa. Výsledky studií ukazují, že při stárnutí zvířat prochází intramuskulární kolagen ve svalech jemnými chemickými změnami. Během stárnutí zvířat nedochází k nárůstu celkového kolagenu, ale jeho rozpustnost klesá. Jako příklad lze uvést 6 let staré prasnice, které měly rozpustnost kolagenu asi 4 % a 5 měsíců staré prasata, která měla rozpustnost kolagenu 23 %. Stejně tak studie skotu, kde se potvrdilo, že obsah jak celkového tak i rozpustného kolagenu klesá se zvyšujícím se věkem.

Při stárnutí zvířat se zvyšuje počet nebo síla křížových vazeb intramuskulárního kolagenu. Jak kolagenové fibrily zrají, jsou vrstvy mukopolysacharidů a glykoproteinů stále méně nerozpustné (Hill, 1966).

Tyto studie naznačují, že celkové množství a stupeň rozpustnosti kolagenu je třeba brát v úvahu při biochemickém vysvětlení houževnatosti masa. Během vaření se projevuje méně rozpustného kolagenu v mase ze starších zvířat, což vede ke zvýšenému pocitu houževnatosti při konzumaci (Hill, 1966). Bailey a Light (1989) ve své práci uvádějí, že relativní rozpustnost kolagenu není spolehlivým ukazatelem kvality svalu, protože některé svaly vykazují různou rozpustnost vzorků z různých míst, a že rozpustnost kolagenu se může lišit i v délce a teplotě zahřívání.

### **3.1.4 Přeměna kolagenu na želatinu**

Zahříváním kolagenu ve vodném prostředí vzniká želatina. Z hlediska teoretických představ přeměny kolagenu na želatinu rozlišujeme tři pochody:

- 1) štěpení příčných kovalentních intermolekulárních vazeb na úrovni kvarterní struktury;
- 2) denaturace na úrovni terciální struktury;
- 3) hydrolytické štěpení peptidických vazeb polypeptidových řetězců na molekulární



úrovni. Zásah do struktury polypeptidového řetězce má charakter degradace, depolymerace a je jevem nežádoucím. Čím méně těchto vazeb je rozštěpeno, tím lepší fyzikálně chemické vlastnosti želatina má.

Typickou vlastností želatiny je přechod sol-gel. Gel želatiny jeví tixotropii, zahřátím na určitou teplotu (34 °C) „taje“ a přechází na sol. Sol na gel přechází při 28 °C. Je to přeměna inverzní, nikoli však vratná.

Z hlediska složení AMK je možné želatinu považovat za chemicky velmi čistou formu kolagenu (Peterková a Lapčík, 2000).

### 3.1.5 Degradace kolagenu

Degradace kolagenu může probíhat jako hydrolytické, enzymatické nebo jako oxidační štěpení.

Kolagen v roztoku podléhá progresivní hydrolytické degradaci doprovázené ztrátou mnoha fyzikálních vlastností. Rychlost tohoto procesu je závislá na teplotě, pH systému a v menší míře na vnitřním tlaku roztoku a povaze dalších rozpouštědel, které mohou být přítomny. S teplotou rychlost hydrolýzy roste. Při neutrálním pH postupuje degradace pomaleji, s pohybem na obě strany rychlost roste. Kromě hydrolýzy příčných kovalentních převážně esterových vazeb, probíhá současně štěpení peptidických vazeb v polypeptidovém řetězci. Při alkalické hydrolýze je toto štěpení mírnější; štěpí se sedmákrát méně polypeptidů než esterových vazeb. Při kyselé hydrolýze je štěpení obou typů vazeb přibližně stejné (Peterková a Lapčík, 2000).

Některé studie ukázaly, že nativní kolagen je vůči působení proteolytických enzymů odolný, s výjimkou určitých enzymů bakteriálního nebo hmyzího původu, tzv. kolagenáz, které specificky štěpí peptidové řetězce nativního kolagenu. Patří mezi ně např. enzymy izolované z bakterií *Clostridium perfringens* a *Cl. histolyticum*. Jiná situace však nastává při vyšší teplotě, kdy se v roztoku rozpadá sekundární struktura kolagenu. Každý peptidový řetězec je pak schopen zaujmout větší počet konformací s přibližně stejnou energií a nemá stálou orientaci. Tehdy mohou peptidové segmenty přizpůsobit svou orientaci aktivnímu centru enzymu a stát se tak přístupné téměř všem proteolytickým enzymům. Ty přednostně hydrolyzují vazby s aromatickými zbytky, některé, jako trypsin, štěpí peptidové vazby, estery a amidy (Peterková a Lapčík, 2000).

Oxidační štěpení je složitější než hydrolytická degradace. Studium vlivu oxidačních činidel, jako je např. peroxid vodíku, jodistan sodný, broman sodný a železokyanatan sodný, ukázalo, že se jejich reakce s kolagenem navzájem značně liší. Degradace je založena na

ataku příslušného činidla na sacharidy obsažené v kolagenu. Štěpení kyselinou jodistou je doprovázeno mírným úbytkem volných aminoskupin a prudkým poklesem obsahu hexosy. Ztráta aminoskupin odpovídá sníženému obsahu hydroxylysinu v kyselé rozpustném kolagenu (Peterková a Lapčík, 2000).

## **3.2 Intramuskulární pojivová tkáň**

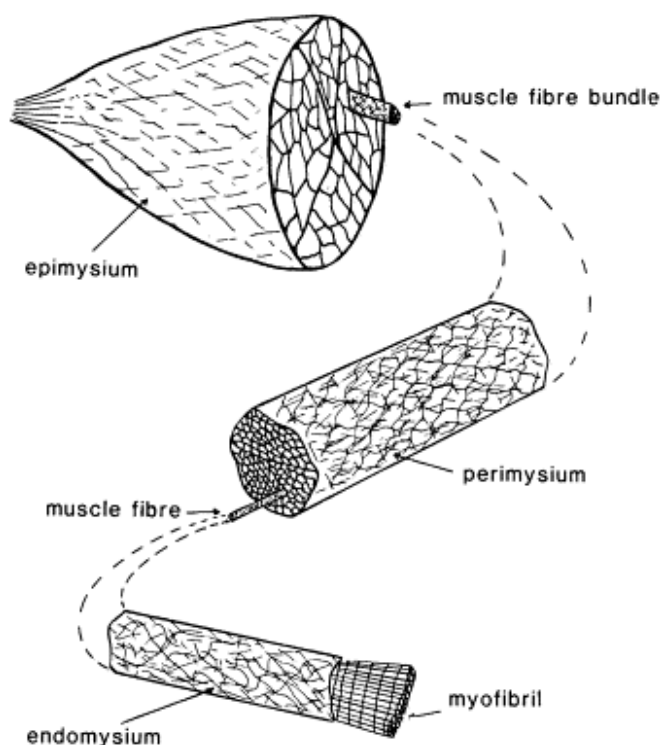
### **3.2.1 Složení a struktura intramuskulární pojivové tkáně**

Složení, struktura a množství intramuskulární pojivové tkáně se liší mezi svaly, druhy a plemeny zvířat, a přispívá k textuře masa (Nishimura, 2009). Mezi role intramuskulární pojivové tkáně patří mechanická podpora pro velké nervy, krevní cévy, podpora pro neurony, krevní kapiláry pro jednotlivá svalová vlákna (Purslow, 2002). Dále je to mechanická pevnost orgánů a budování správného prostředí pro růst buněk a proliferaci. K tomu je třeba poskytnout fyzickou sílu, a tak pojivové tkáně mohou být viděny jako biomechanické struktury. Síly, které mají různé pojivové tkáně vydržet, se mění v závislosti na jejich umístění v těle a funkcí dané tkáně (Bailey a Light, 1989).

Kromě kolagenu patří mezi další běžné složky pojivové tkáně elastin, rodina smíšených makromolekul nazývaných proteoglykany (matrix) a malý počet polysacharidů. Pojivové tkáně obsahují různá množství těchto dalších prvků. Například chrupavky obsahují extrémně velké množství proteoglykanů jen s malým množstvím kolagenu (Bailey a Light, 1989). Takzvaná matrix se skládá z několika proteoglykanů, které jsou složeny z jádra proteinů s kovalentně připojenými glykosaminoglykanovými řetězci. Množství některých proteoglykanů se mezi jednotlivými svaly mění (Lepetit, 2008).

Pojivová tkáň obklopující celý sval se nazývá epimysium. Tkáň obklopující jednotlivý svazek svalových vláken je perimysium a tkáň obklopující jednotlivá svalová vlákna se nazývá endomysium (Lawrie a Ledward, 2006). Tyto tkáně tvoří síť kolagenových a elastinových vláken uvnitř proteoglykanové matrix. Endomysium je síť jemných a mírně zvlňených fibril zatím co perimysium je síť silných (5-10 $\mu$ m) velmi vlnitých kolagenních vláken. Perimysium představuje asi 90 % celkových pojivových tkání ve svalech a jeho množství má mezi svaly větší variabilitu, než množství endomysia (Lepetit, 2008).

Všechny tři IMCT struktury se liší ve složení a struktuře. Typy kolagenu I a III jsou stále považovány za hlavní vláknité kolagenní druhy v epimysiu, perimysiu a v retikulárních vrstvách endomysia (Purslow, 2002).



**Obr. 1: Schématické uspořádání intramuskulární pojivové tkáně (Purslow, 2002)**

### 3.2.2 Mechanické a tepelné vlastnosti pojivové tkáně

Nejdůležitější fyzikální vlastností kolagenu je jeho vysoká pevnost v tahu a jeho tepelné vlastnosti. Teplota denaturace kolagenových vláken se pohybuje v intervalu 5 – 50 °C, v závislosti na druhu vláken a obsahu hydroxyprolinu. Molekuly denaturovaného kolagenu tvoří směs volných řetězců ( $\alpha$ ,  $\beta$  nebo  $\gamma$ ), které se nazývají želatina. Tepelný přechod kolagenních vláken je měřen jako smršťovací teplota, protože se vlákna obvykle nerozpouští, ale smršťují se. Denaturace savčích kolagenních vláken nastává asi při teplotě 65 °C a celkový rozsah rozpouštění závisí na množství tepelně stabilních křížových vazeb. Vlákna se mohou smrštit až na čtvrtinu své délky (Bailey a Light, 1989). Lepetit (2008) tuto změnu pojivové tkáně v průběhu ohřevu, jako následek zničení vodíkových vazeb teplem nazývá jako přeměnu kvazikrystalické (šroubovicové) struktury kolagenu na náhodnou strukturu. Vysvětluje, že tato molekulární změna vyvolává zkrácení těchto tkání a dává jim

takzvané gumové chování. V tomto stavu jsou mechanické vlastnosti závislé na celkovém počtu příčných vazeb přítomných na jednotku objemu.

Při zahřívání kdy se kolagen smrští za vzniku želatiny stanoví povaha příčných vazeb stupeň rozpustnosti, rozsah smrštění a napětí vznikající při smršťování. Se zvyšujícím se věkem zvířat způsobuje tvorba zralých křížových vazeb velmi výrazné zvýšení napětí kolagenu při zahřívání, které, když se teplota zvýší nad 65 °C, má tendenci zůstat vysoké. U mladých zvířat se napětí kolagenu značně snižuje se zvyšující se teplotou. V některých studiích se podařilo prokázat, že smršťovací teplota intramuskulárního kolagenu se zvyšuje s rostoucím věkem zvířat (Lawrie a Ledward, 2006).

Při ohřevu zkrácení kolagenních vláken a fibril omezuje svalová vlákna a svazky svalových bílkovin. Toto omezení závisí na několika vlastnostech svalových vláken a má silný vliv na konečnou pružnost pojivové tkáně, způsobenou změnou množství krystalických a gumových frakcí v kolagenových vlákních a fibrilách po ohřevu (Lepetit, 2008).

Pro odhadnutí kinetiky mechanických vlastností kolagenu během vaření je velmi důležitý typ křížových vazeb, ale přesná chemická povaha vazeb zbývajících v zahřátém vzorku není pro mechanické vlastnosti důležitá. Je to způsobeno tím, že roztahování gumového materiálu nevytváří roztahování příčných vazeb. Ovšem k přerušení struktury při vysokém namáhání může dojít kdekoliv v řetězcích nebo křížových vazbách (Lepetit, 2008).

Syrová kolagenní vlákna jsou velmi tuhá. Jejich elastický modul je kolem 0,5-1 GPa. Modul pružnosti elastinu je asi 0,1 – 0,4 MPa u hovězího masa. Síla ve střihu syrového masa je vysoce korelována s obsahem kolagenu, což vede k přesvědčení, že množství kolagenu je důležité pro určení křehkosti masa (Lepetit, 2008).

Proteoglykanový matrix také hraje důležitou roli v mechanických vlastnostech syrové pojivové tkáně. Během skladování dochází k poklesu množství proteoglykanů a následně pokles v síle perimysia (Lepetit, 2008).

Z fyzikálně chemického hlediska patří kolagen k přechodným koloidním soustavám gelům. Jejich nejdůležitější vlastností je schopnost bobtnat. Po ponoření do vody vlákno kolagenu omezeně bobtná (exotermní proces); přitom dochází ke změně jeho objemu, délky a pružnosti. Část vody obsažené v nabobtnalém kolagenu tvoří tzv. bobtnací voda, kterou lze mechanickým účinkem odstranit, druhou část tvoří voda hydratační, koloidně vázaná, odstranitelná jen sušením.

Z hlediska mechanismu lze rozlišit bobtnání osmotické (nábojové) a lyotropní. Při osmotickém bobtnání proniká voda styčnou plochou mezi pevnou látkou a rozpouštědlem

následkem gradientu osmotického tlaku. Ten je dán rozdílem koncentrací všech pohyblivých iontů ve vnitřní fázi (gelu) a ve vnější fázi (roztoku). Po určité době se ustaví rovnováha tzv. Dohanova membránová rovnováha, kdy bobtnací tlak je právě vykompenzován pevností makromolekulární sítě. Rozrušení stabilizujících vazeb (působením extrémní hodnoty pH nebo lyotropních činidel) sníží protitlak pevné fáze proti průniku vody a rovnováhy se dosáhne při vyšším stupni nabobtnání (lyotropní bobtnání). Sloučeniny způsobující tento druh bobtnání mají schopnost štěpit vodíkové vazby a v extrémním případě až rozpouštět kolagen (Peterková a Lapčík, 2000).

### 3.2.3 Vliv pojivové tkáně na sensorické vlastnosti masa

Spotřebitelské vnímání masa je zásadní problém masného průmyslu, protože má dopad přímo na ziskovost tohoto sektoru. Především u hovězího masa zůstávají pro spotřebitele nejvyhledávanější sensorické vlastnosti křehkost a šťavnatost, které ovlivňují rozhodnutí koupi. V současné době je chuť vlastnost, která nabývá na významu (Dubost, 2013).

Po několika desítkách let výzkumu křehkosti masa a jeho kvalitativních vlastnostech je k dispozici mnoho informací, které však mohou vést k různým závěrům vzhledem k režimu kulinární úpravy, který upravuje vlastnosti pojivových tkání (Lepetit, 2008).

Na kvalitu hovězího masa má vliv mimo jiné i jatečné zpracování, ale i faktory jako jsou charakteristiky svalových vláken a pojivových tkání, které vytváří různé variace kvality masa. Průměr svalových vláken může ovlivňovat křehkost masa ihned po porážce, ale ne po 6 dnech zrání (Dubost, 2013). Po 14 dnech zrání je křehkost optimální, ale tuhost ve vztahu k pojivovým tkáním zůstává (složení, struktura a množství), což přispívá ke kolísání kvality masa (Purslow, 2005).

Intramuskulární obsah lipidů přímo ovlivňuje šťavnatost a nepřímo chuť a křehkost. Tuky jsou pozitivně korelovány se šťavnatostí, aroma a křehkostí.

Vliv proteoglykanů na měkkost a šťavnatost není známa. Jedna hypotéza tvrdí, že by na šťavnatost mohla mít vliv schopnost jejich interakce s molekulami vody, což by přispělo k množství vody v mase. Navíc, degradace proteoglykanů spojených s kolagenovými vlákny v období *post mortem* by měla za následek oslabení pojivové tkáně, čímž by se zvýšila křehkost masa (Dubost, 2013).

Podle výsledků studie sehrál celkový obsah kolagenu pozitivní roli v křehkosti svalů vařených ve vodní lázni při 70 °C. Naopak negativně se projevilo množství vazeb při hodnocení

křehkosti ve svalech grilovaných při teplotě 55 °C. Houževnatost masa se zvyšuje ve dvou oddělených fázích (40 – 50 °C a 60 – 80 °C), s poklesem mezi 50 a 60 °C, kdy nastane denaturace kolagenu, což vede k destabilizaci vodíkových vazeb a ke ztrátě fibrilární struktury, to vede ke snížení houževnatosti. Texturní charakteristiky masa se často měří jako síla ve stříhu dle Warnera a Bratzlera (WB) (Christensen et al., 1999).

Cílem studie Christensena et al. (2013) bylo snížit rozdíly mezi tuhostí masa krav a mladých býků, k tomu bylo využito různých teplot a času ohřevu. Byl zkoumán kombinovaný účinek teploty a doby ohřevu ve vztahu k houževnatosti svalu *semitendinosus* a vlastnostem pojivové tkáně. Teploty ohřevu byly 53 a 63 °C a doba ohřevu až 19,5 hodiny. Výsledky této studie ukázaly, že vyšší teploty a prodloužená doba ohřevu byly zapotřebí ke snížení houževnatosti svalu *semitendinosus* u krav na stejnou úroveň jako u mladých býků. Předpokládá se, že je to v důsledku oslabení pevnosti pojivové tkáně, způsobené částečnou denaturací nebo konformačními změnami proteinů, anebo rozpouštěním kolagenu.

Jak už bylo vysvětleno výše, mezi 60 – 70 °C se kolagenní vlákna smršťují až na jednu čtvrtinu své klidové délky. V případě nepřítomnosti nebo málo tepelně stabilních vazeb se vlákna rozpouští a kolagen želatínuje, což vysvětluje pozitivní úlohu pojivové tkáně při zlepšení křehkosti masa při 70 °C. Zvýšení křehkosti během zrání masa je v důsledku změn myofibrilárních a cytoskeletálních proteinů. Pojivová tkáň je stabilní do 14 dnů zrání, ale po dlouhém skladování hovězího (35 dní) intramuskulární pojivová tkáň vykazovala známky strukturálních změn (Dubost, 2013).

Bailey a Light (1989) ve své práci uvádějí, že neexistuje žádný přímý důkaz o úloze zralých tepelně stabilních příčných vazeb při určování textury, ale nepřímé důkazy naznačují, že vyšší podíl těchto vazeb v kolagenních tkáních výrazně snižují kvalitu masa. Nativní rozpustný kolagen při zahřátí podléhá denaturaci, ale proto, že jsou řetězce každé trojité šroubovice drženy ve své poloze tepelně stabilními vazbami, se při chlazení molekuly rychle vrátí do původní polohy. To znamená, že vařené masné výrobky obsahují směs pravé želatiny, která se při ochlazení mění na gel, a spolu s nerozpustným kolagenem tvoří matrix. Tito autoři uvedli, že kolagen je významným rozhodujícím faktorem textury masa, a jemné variace jeho textury jsou závislé na kvalitě, spíše než na množství kolagenu.

Zmrazení a následné rozmrazení způsobí mechanické a chemické změny ve svalové tkáni v důsledku vzniku ledových krystalů uvnitř a vně tkáně. Tato mechanická poškození mohou způsobit oslabení nosné konstrukce masa. Nicméně, je nepravděpodobné, že mechanické poškození způsobené zmrazováním a rozmrazováním má vliv na změny pojivové tkáně během vaření (Christensen et al., 1999).

### **3.2.4 Pojivová tkáň v masných produktech**

Masná díla se používají k výrobě mnoha masných výrobků, včetně klobás, párků a hamburgerů. V těchto dílech je hlavní bílkovinný emulgátor myosin, ale významnou roli hraje i kolagen a jeho schopnost želatinovat. Vzhledem ke své hydrofobní povaze je schopen vázat vysoké množství tuku. To může být výhodou, protože kolagen působí jako lepidlo mezi tučnými a libovými částicemi a může absorbovat přebytečný tuk. Tato schopnost může mít ale i negativní účinky. Nadměrné přídavky kolagenu do masných výrobků, které jsou plněné do střev, mohou vést ke vzniku želatinových a tukových kapes při vaření, tzv. vyvstávání na povrchu výrobku, které se považuje za vadu výrobku. Nicméně je kolagen užitečná přísada do masných výrobků při zpracování díla, jeho stabilizaci, a při vytváření texturních vlastností těchto výrobků. Pro tyto účely může být získán z kůže a kostí. Na schopnost kolagenu zadržovat vodu (vaznost) mají vliv soli, pH a teplota (Bailey a Light, 1989).

Jako zdroj kolagenu pro masné výrobky se používá kolagen z kůží, kostí, popř. kolagen získaný z drobů a z kosterního svalstva. Škára nabízí kvalitní kolagen, který může být použit jako přísada do hrubých masných uzenin až do výše 30 % hmotnosti, bez negativního účinku. Izolovaný kostní kolagen má vynikající vlastnosti absorpce vody a tuku. Zlepšuje texturní vlastnosti mechanicky separovaného masa zvýšením tuhosti a může být přidán do jakéhokoli rozmělněného masa. Kolagen z vnitřností je dobrým zdrojem pojivové tkáně a představuje více než jednu osminu celkové bílkoviny libového masa v průměrné kostře (Bailey a Light, 1989).

## **3.3 Metody stanovení kolagenu v mase**

Ke stanovení obsahu kolagenu v živočišných tkáních a produktech lze použít několik odlišných metod založených na stanovení specifických aminokyselin kolagenu prolinu a hydroxyprolinu.

### **3.3.1 Spektrofotometrie**

Spektrofotometrické stanovení 4-hydroxyprolinu je v praxi nejvíce využívaná metoda. Po hydrolýze vzorku se 4-hydroxyprolin oxiduje chloraminem-T. Oxidovaný produkt kyselina 3-hydroxy-4-amino-1,3-dienvalerová se po reakci s *p*-dimethylaminobenzaldehydem stanoví při absorbanci 558 nm. Obsah kolagenu se získá po vynásobení zjištěného množství faktorem 8.

### **3.3.2 Kapalinová chromatografie s hmotnostním detektorem (HPLC/MS)**

Již dříve byl zaznamenán velký pokrok v oblasti přímého spojení separačních a spektrálních technik. V prvním kroku se směs látek rozdělí separační technikou vhodnou pro danou směs a ve druhém kroku po rozdělení látek se vhodnou spektrální metodou získají strukturní informace o jednotlivých sloučeninách. V optimálním případě je možné identifikovat jednotlivé složky neznámé směsi nebo alespoň částečně odvodit jejich struktury.

V současné době je nejvíce rozšířena technika spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS), která spojuje vysokou separační účinnost plynové chromatografie a cenné strukturní informace získané hmotnostní spektrometrií, avšak kterou nelze použít pro méně těkavé sloučeniny bez jejich předešlé chemické derivatizace (Holčapek a Jandera, 1998).

### **3.3.3 Elektroforéza**

Kapilární elektroforéza má velký potenciál při stanovení aminokyselin ve velmi složitých matricích. Předností kapilární elektroforézy je především vysoká separační účinnost, malý objem vzorku potřebný k analýze, nízká spotřeba mobilní fáze a vysoká rychlost analýzy (Tůma a Samcová, 2007).

Elektroforéza probíhající v přítomnosti sodium dodecylsulfate = SDS PAGE je rychlá a jednoduchá metoda stanovení bílkovin. Elektroforéza separuje bílkoviny v elektrickém poli na základě rozdílné relativní molekulové hmotnosti (Pazourek, 2003).

### **3.3.4 Spektroskopie (NIR)**

Blízká infračervená spektroskopie (NIR) je analytická technika, která využívá zdroj emitujícího záření známé vlnové délky (obvykle 800 – 2500 nm) a umožňuje získat kompletní obraz organického složení analyzovaného materiálu. Principem metody je pohlcování, nebo reflexe různých vlnových délek dopadajícího záření, které závisí na chemickém složení analyzovaného vzorku. Této techniky se využívá pro stanovení chemického složení masa, včetně obsahu hydroxyprolinu (Mlček a kol., 2009).



### 3.4 Antilopa losí

Zvěřina má své specifické vlastnosti dané mimo jiné i obsahem kolagenu. Mezi méně tradiční druhy zvěřiny v našich podmínkách lze zařadit i Antilopu losí (*Taurotragus oryx*).

Antilopa losí je druhou největší antilopou světa. Svou konstitucí a fyziologií je blízká turům, a proto je systematicky řazena do společné čeledi turovití (*Bovidae*). Samci dosahují kohoutkové výšky až 183 cm a váhy až 950 kg subtilnější samice váží zpravidla pouze do 470 kg. Ve své domovině v jižní a východní Africe je vyhledávána sportovními lovci pro majestátní trofej. Rohy jsou u obou pohlaví šroubovitě stočené a dosahují délky až 70 cm. Celková barva těla je kaštanová, někdy ve stáří samců s šedavým nádechem (Kotrba a kol., 2004). Antilopa losí se přirozeně vyskytuje v travnatých i křovinatých savanách od Etiopie po Jihoafrickou republiku ve třech poddruzích. Hlavním determinačním poddruhovým znakem je pruhování, které se u zvířat od severu směrem k jihu postupně snižuje. Antilopa losí je polyestrická s meziporodním intervalem deseti měsíců. Samice je pohlavně dospělá při dosažení tělesné hmotnosti okolo 200 kg, což je ve věku od 15 do 24 měsíců. Po 275 dnech březosti rodí zpravidla jedno mládě o hmotnosti v rozmezí od 25 do 35 kg. Matky mláďata odstavují nejdříve po čtyřech měsících věku, v některých případech ale kojí i desetiměsíční telata (Kotrba, 2013).

Díky dlouhodobým úspěšným chovům v zajetí i četným pokusům o domestikaci je antilopa losí Organizací OSN pro výživu a zemědělství (FAO) doporučena k plné domestikaci. V současné době je na území ČR chována kromě několika zoologických zahrad také na Školním zemědělském podniku (ŠZP) České zemědělské univerzity (ČZU) v Lánech. Tento chov slouží nejenom k výuce a výzkumu na ČZU v Praze, ale také k ověření možnosti chovu antilopy losí pro produkci masa a údržbu krajiny v našich podmínkách (Bureš a kol., 2010).

#### 3.4.1 Chov antilopy losí na ŠZP Lány

Intenzivnímu farmovému chovu antilopy losí se věnuje Česká zemědělská univerzita v Praze, respektive Fakulta tropického zemědělství -od roku 2002. Po čtyřech letech se antilopy převezly do nově vybudovaného areálu Školního zemědělského podniku ČZU v Lánech (Kotrba, 2013). Poddruh chovaný na ŠZP v Lánech upoutá pozornost dvěma až 14 vertikálními bílými pruhy na trupu, čelo pak chomáčem hnědočerných chlupů výrazných zejména u samců. Na týlu a v kohoutku vyrůstá hřívá, která pokračuje přes celý hřbet ve

formě tmavého pruhu. Od brady k hrudníku visí zejména u samců mohutná kožní řasa (Kotrba a kol., 2004).

Antilopy mají od dubna do listopadu neomezený přístup na travnatý výběh o výměře 2,5 ha který je oplocený 2,5 m vysokou dřevěnou ohradou. Napájení je zajištěno hladinovými napáječkami ve stáji, kam se zvířatům celoročně také předkládá míchaná krmná směs, jejímž základem je kukuřičná siláž. Její další komponenty tvoří vojtešková siláž, vojteškové seno a sláma. Tuto směs s obsahem živin, jež je obdobou krmné dávky pro jalovice mléčného skotu, zajišťuje zemědělský podnik z vlastní produkce. Krmný mix se míchá krmným vozem a do stáje se zaváží ručně jednou denně v množství 10 až 15 kg na kus a den. Kromě toho mají zvířata k dispozici také adlibitní množství lučního sena. Porážení býků antilop probíhá na farmě zastřelením, a to z důvodu snížení stresové zátěže zvířat, dále proto, že neexistují specializované jatky a nakonec i pro nemožnost zvíře omráčit jateční pistolí jako u skotu. To je způsobeno výrazným ochlupením a zesílením podkoží v čelní oblasti a díky mohutnému týlnímu kožnímu valu. Porážky probíhají podle ustanovení stávajícího veterinárního zákona kulovou zbraní do oblasti krční páteře nebo lebky oprávněnou osobou, která je zároveň v pracovněprávním vztahu k zařízení (Kotrba, 2013).

### **3.4.2 Složení masa**

Ze studie srovnání antilopy losí a českého strakatého skotu chovaných za stejných podmínek vyplývá, že býci antilopy pro dosažení srovnatelné porážkové hmotnosti potřebovali díky nižší intenzitě růstu přibližně trojnásobnou dobu než býci českého strakatého plemene. Naopak poměrně příznivé hodnoty ve srovnání s býky plemene české strakaté byly zjištěny u jatečné výtěžnosti a množství loje. Chemické analýzy masa z roštěnce naznačují, že antilopa měla srovnatelný obsah sušiny jako hovězí, ale z hlediska nutriční hodnoty příznivější obsah bílkovin a intramuskulárního tuku (Bureš a kol., 2010). S tímto nízkým obsahem intramuskulárního tuku a s vysokým podílem esenciálních mastných kyselin v mase mohou být antilopy považovány za vhodnou alternativu hovězího masa (Bartoň et al., 2014).

**Tab. 2: Rozdíly v chemickém složení masa zvěře (nyala nížinná), ovcí a hovězího masa**  
(Du Buisson, 2006)

Charakteristika	Zvěřina	Ovce	Hovězí
<b>Bílkoviny (%)</b>	22,1 – 24,2	14,5 – 18,5	19,4 ± 0,4
<b>Voda (%)</b>	58,4 – 65,0	52,0 – 58,0	77,5 ± 0,4
<b>Popel (%)</b>	6,1 – 7,5	4,0 – 4,9	1,1 ± 0,05
<b>Tuk (%)</b>	1,3 – 9,0	17,0 – 25,0	0,4 ± 0,06

V podobné studii bylo prokázáno vyšší pH antilop v porovnání se skotem plemene fleckvieh. Barva masa antilop byla tmavší než u skotu, což je pravděpodobně důsledek rozdílného obsahu myoglobinu. V této studii se množství sušiny a proteinů mezi druhy podstatně nelišila, ovšem množství tuku extrahovaného v petroletheru byl 7krát vyšší u skotu, což je v souladu s výsledky Bureš a kol., 2010. Obsah cholesterolu, který se pohyboval v rozmezí 0,49 – 0,81 g/kg svalu byl vyšší u skotu, ale rozdíl postrádal statistické významnosti (Bartoň et al., 2014). Stejně tak cholesterol u antilopy kudu byl v průměru 0,71 g/kg masa a u impaly 0,52 g/kg masa (Hoffman et al., 2009). Celkový kolagen byl zjištěn o 27 % vyšší u skotu. V obsahu aminokyselin nebyl mezi druhy nalezen podstatný rozdíl, výjimkou byl histidin, který byl vyšší u antilop (Bartoň et al., 2014).

Mostert a Hoffman (2007) provedli hodnocení na antilopách kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) střelených v Jižní Africe a došli k závěru, že složení masa tohoto druhu není významně ovlivněno pohlavím. Pouze aminokyseliny histidin a valin měly významně vyšší obsah u masa samic kudu. Fyzikální vlastnosti mezi masem samce a samice také neprokázaly žádné významné rozdíly. Průměrná hodnota pH byla 5,37. Síla ve stříhu svalu *longissimus dorsi et lumborum* byla u samců průměrně 136,63 N a u samic 140,01 N.

Ve velice rozsáhlé studii nedomestikovaných antilop kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) a impal (*Aepyceros melampus*) bylo zjištěno, že zvěřina má příznivé profily mastných kyselin, které se liší mezi druhy. Nasycené mastné kyseliny byly vyšší u masa impal (52,12 %) než u masa kudu (34,87 %), zatímco vícenenasycené mastné kyseliny byly vyšší u kudu (38,88 %) než u impal (34,06 %). V mase kudu byl zaznamenán vysoký obsah kyseliny olejové (24,35 %) následovaný kyselinou linolovou (22,95 %). Kombinace těchto dvou mastných kyselin tvoří téměř 50 % mastných kyselin přítomných v mase kudu. Naopak dvě nenasycené mastné kyseliny, kyselina stearová (22,67 %) a kyselina palmitová (16,66 %) byly nejvíce zastoupeny

v mase impal, to představovalo 40 % z celkového množství mastných kyselin. Obsah tuku v mase impal byl 2,22 %, v mase kudu 1,62 %. Obsah tuku v mase impal pozitivně koreloval s chutí (Hoffman et al., 2009). Jak je uvedeno v tabulce č. 2, obsah tuku farmově chovaných antilop losích byl průměrně 6,1 g/kg masa (Kotrba a kol., 2009)

**Tab. 3: Porovnání ukazatelů výkrmnosti a jatečné hodnoty býků antilopy losí a býků plemene české strakaté (Kotrba a kol., 2009)**

Hodnocené ukazatele	Antilopa losí	Český strakatý skot
věk při porážce (dny)	1087	445
porážková hmotnost (kg)	450,2	509,7
průměrný denní přírůstek (kg/den)	0,38	1,07
jatečná výtěžnost (%)	59,2	56,9
jatečné loje celkem (% z porážkové hmotnosti)	1,47	2,85
maso celkem (% z hmotnosti jatečné půlky)	72,9	77,5
kosti a šlachy (% z hmotnosti jatečné půlky)	17,3	18,4
sušina (g/kg v <i>musculus longissimus lumborum</i> , MLL)	248,6	252,4
bílkoviny (g/kg v MLL)	222,1	212,9
vnitrosvalový tuk (g/kg v MLL)	6,1	15,1

### 3.4.3 Senzorické vlastnosti masa antilop

Bureš a kol. (2010) provedl studii na býcích antilopy losí, kteří byli chováni na ŠZP v Lánech. Tato studie spočívala na rozdílné konečné vnitřní teplotě masa při grilování (70, 80 nebo 90 °C) a následném sensorickém hodnocení při němž se hodnotilo osm vlastností, a to intenzita a příjemnost vůně, křehkost, vláknitost, šťavnatost, žvýkatelnost, intenzita chuti a celkové hodnocení. Do tohoto experimentu byla zahrnuta i doba zrání masa. Pro možnost porovnání byly použity vzorky od býků plemene český strakatý skot.

Z výsledků pro maso s délkou zrání 4 dny je zřejmé, že kromě intenzity vůně a šťavnatosti bylo při konečné teplotě 80 °C maso antilopy hodnoceno méně příznivě, než hovězí maso. Pokud se však snížila konečná vnitřní teplota masa na 70 °C, došlo k poměrně výraznému zlepšení všech hodnocených vlastností tak, že převyšovaly hovězí maso. Výsledky ukázaly, že doba zrání 4 dny je příliš krátká na to, aby se dostatečně vyvinuly specifické vlastnosti masa jako je chuť a křehkost (Bureš a kol., 2010).

To vedlo autory k druhému experimentu, ve kterém byly hodnotitelům předkládány tři vzorky antilopího masa pocházejícího vždy od stejného zvířete (v tomto případě s délkou zrání masa 7 dnů), ale s rozdílnou konečnou teplotou v jádře masného kusu. Z tohoto experimentu bylo zřejmé, že se stoupající teplotou ze 70 °C až na 90 °C se zvyšovala intenzita i příjemnost vůně, zatímco křehkost, vláknitost a žvýkatelnost předložených vzorků se snižovala. Šťavnatost a intenzita chuti byla hodnocena nejpříznivěji u vzorků, jejichž grilování bylo ukončeno při dosažení vnitřní teploty 80 °C. Celkové hodnocení vyjadřující osobní preference hodnotitelů byla rovněž nejpříznivěji hodnocena u vzorků s konečnou teplotou 70 °C. To je dokladem skutečnosti, že je vnímání celkové přijatelnosti masa antilop velmi úzce spjata s jeho křehkostí Bureš a kol. (2010).

Ve třetím experimentu byly členům sensorické komise předloženy najednou celkem čtyři vzorky roštěnce stejného jedince. U dvou vzorků byla doba zrání 7 dnů, u zbývajících dvou vzorků 21 dní, po uvedené době zrání byly vzorky zamrazeny. Jeden vzorek v každé době zrání byl grilován do konečné vnitřní teploty 70 °C, druhý do 80 °C. Z výsledků vyplývá, že příznivější hodnocení obdržely vzorky s délkou zrání 21 dní Bureš a kol. (2010) uvedl, že nejlepší kulinární charakteristiky v tomto experimentu mělo maso s délkou zrání 21 dní grilované do konečné vnitřní teploty 80 °C.

V jiném experimentu s masem antilop losích byly sensorickým hodnotitelům předloženy vzorky grilované do konečné vnitřní teploty 70 °C, a s dobou zrání masa 3 a 14 dní. Hodnotilo se 7 charakteristik: intenzita pachu a chuti, křehkost, vláknitost, šťavnatost, žvýkatelnost a celková přijatelnost. Pro porovnání byly použity vzorky masa býků z plemene fleckvieh.

Výsledky tohoto hodnocení ukázaly, že bez ohledu na druh bylo maso zrající 3 dny hodnoceno hůře, než maso zrající 14 dnů, které vykazovalo výrazné zlepšení hodnocení všech charakteristik. Ve srovnání se skotem bylo maso antilop hodnoceno hůře z hlediska textury (křehkosti, žvýkatelnosti, vláknitosti, šťavnatosti), intenzity aroma a celkové přijatelnosti, bez ohledu na dobu zrání. Nižší hodnoty sensorického hodnocení antilopího masa (zejména šťavnatosti) lze přisoudit podstatně nižší intenzitě mramorování intramuskulárním tukem než

bylo nalezeno skotu. Navzdory četným diskuzím, nebyl v této studii nalezen vztah mezi obsahem kolagenu a houževnatostí masa. V této studii byla provedena analýza textury pomocí síly ve stříhu dle Warnera-Bratzlera, a tyto hodnoty ukázaly lepší výsledky, které znamenaly křehčí maso skotu v porovnání s masem antilop a pro maso zrající 14 dní oproti 3 dnům (Bartoň et al., 2014).

Senzorické hodnocení antilop kudu a impal ukázalo, že impala měla intenzivnější zvěřinové aroma a chuť, což se přisoudilo významně vyššímu obsahu tuku než měli antilopy kudu. Bylo zjištěno, že pohlaví nemá žádný vliv na aroma.

Byl stanoven obsah hydroxyprolinu a celkový obsah kolagenu. Nicméně nebyla zaznamenána žádná korelace mezi celkovým obsahem kolagenu a křehkostí. Nebyly stanoveny ani žádné významné rozdíly mezi druhy, pohlavím, věkem antilop a stanovení křehkosti měřené technikou dle Warnera-Bratzlera (Hoffman et al., 2009).

Výzkum Hoffmana et al. (2007) provedený na antilopách skákavých (*Antidorcas marsupialis*) zjišťoval vliv účinku věku, pohlaví a oblasti výskytu na senzorické vlastnosti svalu *longissimus dorsi*. Oblast výskytu antilop skákavých vykazovala významný vliv na senzorické vlastnosti, vliv věku a pohlaví byl menší. S nárůstem pH klesala přijatelnost a šťavnatost masa. Bylo zjištěno, že obsah vody a obsah tuku neměl významný vliv na vnímání šťavnatosti. Intenzita zvěřinové chuti nebyla výrazně ovlivněna věkem, pohlavím ani oblastí výskytu. Podobně jako u kudu a impal (Hoffman et al., 2009), mohly i v tomto případě mastné kyseliny pozitivně ovlivňovat chuť, v případě antilop skákavých se jednalo o kyselinu linoleovou.

**Tab. 4: Hodnoty síly ve stříhu za použití nástavce Warnera-Bratzlera na sedmi druzích zvěřiny (Du Buisson, 2006)**

<b>Druh</b>	<b>Síla ve stříhu (g/cm<sup>2</sup>)</b>
<b>Buvolec běločelý (Blesbock)</b>	2323
<b>Antilopa losí (Eland)</b>	3366
<b>Přímorožec jihoafrický (Gemsbok)</b>	4088
<b>Buvolec stepní (Hartebeest)</b>	2907
<b>Impala</b>	2751
<b>Antilopa skákavá (Springbok)</b>	1181
<b>Pakůň (Wildebeest)</b>	1805

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Přehled vzorků

Tab. 5: Přehled zvířat a základní údaje

Zvíře	Datum porážky	Datum narození	Věk (dny)	Porážková hmotnost (kg)
Simir č.62	17.08.10	29.01.08	931	369,00
Drak č.45	17.08.10	08.02.08	921	311,00
Velvet č.64	15.09.10	08.02.08	950	407,00
Lubos č.54	15.09.10	31.01.08	958	323,00
Pipin č.43	25.10.10	09.04.07	1295	454,00
Cudlik č.49	25.10.10	13.03.07	1322	407,00
Singi č.60	01.12.10	21.10.08	771	321,00
Gingo č.59	01.12.10	29.08.08	824	395,00
Lome č.37	24.01.11	11.05.07	1354	438,00
Lutu č.47	24.01.11	05.03.08	1055	448,00
Lojza č. 15	20.11.12	10.12.04	2902	574,00
Dajan č. 70	17.08.11	26.04.09	843	220,00
Lumo č. 75	26.09.11	04.05.09	875	312,00
Latif č. 78	17.08.11	10.05.09	829	308,00
Lenny č. 85	26.09.11	30.03.10	545	243,00
Simba č. 87	24.11.11	05.04.10	598	254,00
Nuru č. 91	24.11.11	11.04.10	592	224,00
Vorik č. 96	24.11.11	11.05.10	562	253,00
107	06.02.13	11.04.11	667	198,00
109	06.02.13	17.04.11	661	340,00
127	28.04.14	08.02.12	810	255,50
129	10.09.14	12.03.12	912	188,00
138	10.09.14	11.09.09	1825	274,00
Lex č. 145	25.09.13	20.12.12	279	266,00
Vigo č. 147	25.09.13	20.12.12	279	290,00

K analýze byly použity svaly z 25 samců antilopy losí chované na ŠZP v Lánech. Zvířata byla střílena na farmě, bezprostředně poté byla vykrvena, vykolena a převezena na experimentální jatky VÚŽV, v.v.i. v Praze Uhřetěvsi, kde proběhla úprava jatečného těla. 24 hodin po porážce byly z pravé půlky každého jatečně opracovaného těla odebrány vzorky čtyř partií a to: velká plec (*musculus triceps brachii*), vrchní šál (*m. semimembranosus*), hrudí (*m. pectoralis profundus*) a roštěnec (*m. tongissumus thoracis et lumborum*). Odebrané vzorky byly homogenizovány, následně zmrazeny a uchovány při teplotě -22 °C až do provedení analýz.

## 4.2 Použité chemikálie

- Ehrlichovo činidlo *p*-dimethylaminobenzaldehyd, Merck, spol. s r.o., Praha, ČR
- Hydrogenuhličitan sodný, p.a., Lach – Ner, spol. s r.o., Neratovice, ČR
- Hydroxid sodný, p.a., Lach – Ner, spol. s r.o., Neratovice, ČR
- Chloramin T, Biochemie, a.s., Bohumín, ČR
- Chlorid draselný, Penta – Ing. Petr Švec, Praha, ČR
- Chlorid sodný, Penta – Ing. Petr Švec, Praha, ČR
- Chlorid vápenatý, Lachema n.p.
- Isopropylalkohol, p.a., Penta – Ing. Petr Švec, Praha, ČR
- Kjeltabs ST - Katalyzátor - tablety 3,5 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 3,5 mg Se, SKA – TEC spol. s r.o.
- Kyselina boritá, p.a., Lach – Ner, spol. s r.o., Neratovice, ČR
- Kyselina chloristá, p.a. 70 %, Lach – Ner, spol. s r.o., Neratovice, ČR
- Kyselina octová, p.a., 99,8%, Lach – Ner, spol. s r.o., Neratovice, ČR
- Kyselina sírová, p.a., 96 %, Penta – Ing. Petr Švec
- Monohdrát kyseliny citronové, Lach – Ner, spol. s r.o., Neratovice, ČR
- Octan sodný trihydrát, p.a., Spolana n.p.
- Propylalkohol p.a., Penta – Ing. Petr Švec, Praha, ČR
- *trans*-4-hydroxy-prolin, Merck, spol. s r.o., Praha, ČR



### 4.3 Použité roztoky

- citrát acetátový pufr (50 g monohydrátu kyseliny citronové, 12 ml koncentrované kyseliny octové, 120 g trihydrátu octanu sodného, 34 g hydroxidu sodného se smísí, rozpustí ve vodě a doplní do objemu 1000 ml). Výsledné pH pufru je 6. Pufr je vhodné konzervovat několika kapkami toluenu či chloroformu.
- oxidační činidlo (1 g chloraminu B + 50 ml citrát – acetátového pufru + 30 ml propylalkoholu p.a. + 20 ml vody)
- vybarvovací činidlo (5 g *p*-dimethylaminobenzaldehydu se rozpustí ve 100 ml izopropylalkoholu)
- zásobní roztok 4-hydroxyprolinu o koncentraci 1000 mg/l
- Ringerův roztok (6,5 g hydroxidu sodného, 0,42g chloridu draselného, 0,25g chloridu vápenatého a 0,20g hydrogenuhličitanu sodného se smísí, rozpustí ve vodě a doplní do objemu 1000 ml)

### 4.4 Použité přístroje

- analytické váhy (ER – 180A, d = 0,1 mg, e= 2 mg, max 180 g, min 200 g, A & D Company, Japonsko)
- sušárna (typ KBC G 100/250, Premeo, Polsko)
- spektrofotometr (UV-2900 PC Spectrophotometer, Labio a.s. a Spekol 11, Karl Zeiss, Německo)
- mineralizační blok (MB 442, Uni elektro, J. Novák)
- destilační jednotka ( KJELTEC FOSS 2200, Dánsko)
- centrifuga (Centrifuge 5416, Eppendorf)
- texturometr (Instron model 5544, software Series IX, Instron Corporation, Anglie. nástavec Warner-Bratzel, rychlost posunu příručníku 80 mm.min<sup>-1</sup>)
- infračervené sušící váhy (Precisa HA 300, M 310, Precisa Ltd.)
- vodní lázeň (typ EL 20 R, objem 23 l, teplotní rozsah do 100 °C)
- a další běžně používané laboratorní zařízení

## 4.5 Metody měření

### 4.5.1 Stanovení kolagenu

Pro kolagen je charakteristickou aminokyselinou 4–hydroxyprolin, jenž se kromě elastinu v jiných živočišných bílkovinách prakticky nevyskytuje. Proto je podle jeho obsahu možno usuzovat na množství přítomného kolagenu. V praxi se často používá spektrofotometrická metoda stanovení 4–hydroxyprolinu. Vzorek masa se mineralizuje a uvolněný 4–hydroxyprolin se oxiduje chloraminem–T a stanovuje se spektrofotometricky při 558 nm absorbance barevného produktu po reakci s *p*–dimethylaminobenzaldehydem a po vynásobení zjištěného obsahu faktorem 8,0 je stanoven obsah kolagenu.

Pro **hydrolyzu** se rozmělní asi 100 g vzorku. Do 50 ml zábrusové baňky se odváží 3 g homogenizovaného vzorku s přesností 0,01 g. Přidá se 30 % kyselina sírová (30 ml), baňka se uzavře skleněnou zábrusovou zátkou a vloží se do sušárny vyhřáté na 105 °C. Hydrolyza probíhá po dobu 14 hodin. Po vyjmutí ze sušárny a ochlazení se obsah baňky převede do 50 ml odměrné baňky. Objem se doplní destilovanou vodou po značku, promíchá a zfiltruje. Alikvotní podíl 5 ml se převede do 50ml odměrné baňky, přidá se asi 20 ml destilované vody a pomocí 10M NaOH (cca 3 až 4,5 ml) se upraví pH na hodnotu 5 – 8 (kontrola indikátorovým papírkem). Objem se doplní destilovanou vodou po značku. Připravený vzorek se použije pro spektrofotometrické stanovení 4–hydroxyprolinu.

Pro **kalibraci** se připraví zásobní roztok 4–hydroxyprolinu o koncentraci 1000 mg/l. Pro kalibraci se připraví pracovní roztok 4–hydroxyprolinu o koncentraci 50 mg/l a z něho se připraví kalibrační řada roztoků koncentrace 1, 2, 3, 5 a 10 mg/l.

Do zkumavky se odměří 1 ml kalibračního roztoku a přidá se 1 ml oxidačního činidla. Nechá se stát 20 minut při laboratorní teplotě. Poté se přidá 1 ml 3M HClO<sub>4</sub>. a po promíchání 1 ml vybarvovacího činidla. Směs se promíchá a na 20 minut vloží do vodní lázně předem vyhřáté na 60 °C (zkumavka se neuzavírá).

Při přípravě slepého pokusu se postupuje stejně, avšak místo kalibračního roztoku se použije destilovaná voda.

Po ochlazení se změří absorbance při 558 nm proti vodě. Zbarvení je stálé po dobu 60 minut.

Kalibrace se provádí vždy při měření vzorku. Roztok 4–hydroxyprolinu se připravuje vždy čerstvý.

Pro vlastní stanovení se do zkumavky odměří 1 ml vzorku (filtrovaného, zneutralizovaného hydrolyzátu) a přidá se 1 ml oxidačního činidla. Směs se promíchá a nech se stát 20 minut při laboratorní teplotě. Poté se přidá 1 ml 3M HClO<sub>4</sub> a po promíchání 1 ml vybarvovacího. Směs se promíchá a na 20 minut se vloží do vodní lázně předem vyhřáté na 60 °C (zkumavka se neuzavírá). Při měření vzorku pracujeme vždy v duplikátu.

Po ochlazení se změří absorbance při 558 nm proti vodě. Zbarvení je stálé po dobu 60 minut. Je-li zjištěná absorbance mimo kalibrační rozmezí, je nutné vzorek zředit a celý postup přípravy a měření zopakovat.

Z hodnot měření kalibračních roztoků se **vypočítají** regresní koeficienty (a, b) kalibrační přímky (závislost absorbance při 558 nm A<sub>558</sub> na koncentraci 4–hydroxyprolinu v mg/l) a korelační koeficient. Hodnota korelačního koeficientu musí být rovna nebo vyšší než 0,99, v opačném případě je nutné kalibraci opakovat.

Koncentrace 4–hydroxyprolinu v mg/l se vypočítá dosazením zjištěné absorbance do kalibrační rovnice a s ohledem na navážky se přepočte na % ve vzorku

$$\text{Obsah kolagenu [\%]} = \text{obsah 4–hydroxyprolinu [\%]} \times 8$$

#### 4.5.2 Stanovení rozpustného kolagenu

Stanovení rozpustné frakce kolagenu se po převedení této frakce do roztoku a odstranění zbylého, nerozpustného kolagenu. K převedení rozpustného kolagenu do roztoku se používá Ringerův roztok při teplotě 77 °C. Po oddělení supernatantu se vzorky hydrolyzují a následně se stanoví obdobně jako celková koncentrace kolagenu spektrofotometricky jako 4-hydroxyprolin. Modifikovaná metodika vychází z prací Hilla (1966) a Bergemana a Loxleyho (1963).

Svalovina je **sušena** přes noc za použití silikagelu při 2 °C. Vysušená svalovina je homogenizována. Vzorek o velikosti, který je ekvivalentem 5 g čerstvé tkáně se vloží do centrifugační zkumavky a přidá se 12 ml Ringerova roztoku zředěného 1:3. Tento roztok je efektivnější pro oslabení mezimolekulárních vazeb kolagenu než destilovaná voda. Zkumavka se vloží do vodní lázně po dobu 63 minut při teplotě 77 °C a je pravidelně protřepávána. Tři minuty je průměrná doba potřebná k dosažení 77 °C v obsahu zkumavky. Tato teplota je považována za optimální pro vnitřní teplotu dobře propečeného hovězího masa při vyjmutí z trouby nebo grilu.

Po zchlazení obsahu zkumavek na laboratorní teplotu se obsah **centrifuguje** po dobu 10 minut při 6 000 otáček za minutu. Po odstranění supernatantu je zbytková část na dně doplněna 8 ml Ringerova roztoku a opět se centrifuguje. Oba supernatanty jsou spojeny a hydrolyzovány za přídavku 20 ml 30 % kyseliny sírové po dobu 7 hodin.

Stanovení, kalibrace a výpočet 4-hydroxyprolinu je realizován stejným způsobem jako v případě stanovení celkového obsahu kolagenu. Pouze s rozdílem v době působení oxidačního činidla, pouze 4 minuty.

#### 4.5.3 Stanovení obsahu bílkovin

Dusíkaté látky se stanoví dle ČSN ISO 937 z roku 2002, titračně acidometricky po mineralizaci vzorku kyselinou sírovou za přítomnosti katalyzátoru na síran amonný, vytěsněním amoniaku hydroxidem sodným, jeho předestilováním a zachycením do kyseliny borité a následnou titrací kyselinou sírovou.

S přesností na 0,001 g se do mineralizační tuby naváží 1 g vzorku, přidají se 2 katalyzátorové tablety, 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, důkladně se promíchá a umístí se do mineralizačního bloku, kde je zajištěn ohřev na 450 °C a po dobu 105 minut probíhá mineralizace.

Po vychladnutí a automatickém přidání 60 ml (50 ml) destilované vody probíhá automatická destilace vodní parou za přídavku 70 ml (80 ml) 40 % hydroxidu sodného, vzniklý amoniak se jímá do předlohy s 30 ml 1 % kyseliny borité a Taschiro indikátorem.

Množství amoniaku se stanoví titrací 0,2 N kyselinou sírovou. Při měření vzorku pracujeme vždy v duplikátu.

**Výpočet obsahu celkového dusíku.**

$$y = \frac{0,28 \times V}{n} \times 6,25$$

kde: y = obsah celkového dusíku ve zkoumaném vzorku

V = spotřeba kyseliny sírové (ml) při titraci vzorku minus slepý pokus, vynásobená faktorem

n = navážka vzorku

#### 4.5.4 Stanovení síly ve stříhu dle Warnera-Bratzlera

Textura masa se měří jako síla ve stříhu dle Warnera-Bratzlera. K tomu slouží přístroj Instron Model 5544, software Series IX s použitím Warner-Bratzlerova nástavce. K této analýze je potřeba vzorek s rozměry 15 mm výška x 20 mm šířka x 60 mm délka, vyříznutý ze svalu po směru svalového vlákna. Následně je vzorek vložen do přístroje a je proveden stříh tímto nástavcem při rychlosti posunu 80 mm.min<sup>-1</sup>. Výsledné hodnoty jsou vyhodnoceny jako síla ve stříhu masa uvedena v jednotkách N (Kolbábek a kol., 2012; Kolbábek a kol., 2013).

#### 4.5.5 Statistické vyhodnocení

Ke statistickému vyhodnocení bylo využito programu SAS 9.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Vlivu pevných efektů na obsah bílkovin, celkového a rozpustného kolagenu v mase antilop losích a instrumentální hodnocení textury (Warner-Bratzler shear force, dále ‚WB‘) bylo použito zobecněných lineárních smíšených modelů (GLMM) ošetřených pro opakovaná měření. S ohledem na nenormální rozdělení dat bylo u celkového kolagenu, rozpustného kolagenu a WB využito log a sqrt transformací. Vysvětlující pevné efekty byly jednotlivé hodnocené svalové partie (*musculus longissimus thoracis*, *m. triceps brachii*, *m. pectoralis profundus*, *m. semimembranosus*), věk (do 24 měsíců, 24- 36 měsíců a více než 36 měsíců) a jejich interakce věk\*partie. V modelu, který měl více, než jeden pevný efekt nebyl aritmetický průměr vhodný k popisu chování souboru, proto byla použita metoda nejmenších čtverců (LSMEAN). LSMEAN byl vypočítán pro každý efekt a jejich rozdíly byly testovány t-testem. Pro mnohonásobné porovnání bylo použito Tukey-Kramerova testu.

Pro porovnání vztahu mezi obsahem celkového kolagenu a instrumentálně hodnocenou texturou byly použity Pearsonovy korelace.

## 5 Výsledky

Hodnocení je založeno na porovnání závislosti obsahu celkového a rozpustného kolagenu na síle ve stříhu, při rozdílném stáří antilop. Stáří antilop bylo rozděleno na tři věkové kategorie – méně než dva roky, dva až tři roky a více než tři roky.

Statistická analýza byla provedena v programu SAS System. Efekty jsou prokázány pokud  $Pr > F$  je menší než  $< 0,05$ .

## 5.1 Celkový kolagen

Průměrné hodnoty obsahu kolagenu stanoveného spektrofotometrickou metodou jsou ve vztahu k věku, partii a k věku v interakci s partií uvedeny v následující tabulce.

**Tab. 6: Výsledky celkový kolagen**

<b>Efekt</b>	<b>Věková kategorie</b>	<b>Partie</b>	<b>Průměr (%)</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>
<b>Věková kat.</b>	dva až tři		0,2934	0,02544
<b>Věková kat.</b>	tři a více		0,3617	0,04396
<b>Věková kat.</b>	méně než dva		0,2617	0,02931
<b>Partie</b>		hrudí	0,4651	0,02358
<b>Partie</b>		kýta	0,2358	0,02358
<b>Partie</b>		plec	0,3361	0,02369
<b>Partie</b>		roštěnec	0,1964	0,02358
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	hrudí	0,4249	0,03063
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	kýta	0,2051	0,03063
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	plec	0,3446	0,03136
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	roštěnec	0,1993	0,03063
<b>Věk * partie</b>	tři a více	hrudí	0,5480	0,05306
<b>Věk * partie</b>	tři a více	kýta	0,2742	0,05306
<b>Věk * partie</b>	tři a více	plec	0,4188	0,05306
<b>Věk * partie</b>	tři a více	roštěnec	0,2060	0,05306
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	hrudí	0,4226	0,03537
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	kýta	0,2280	0,03537
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	plec	0,2448	0,03537
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	roštěnec	0,1837	0,03537

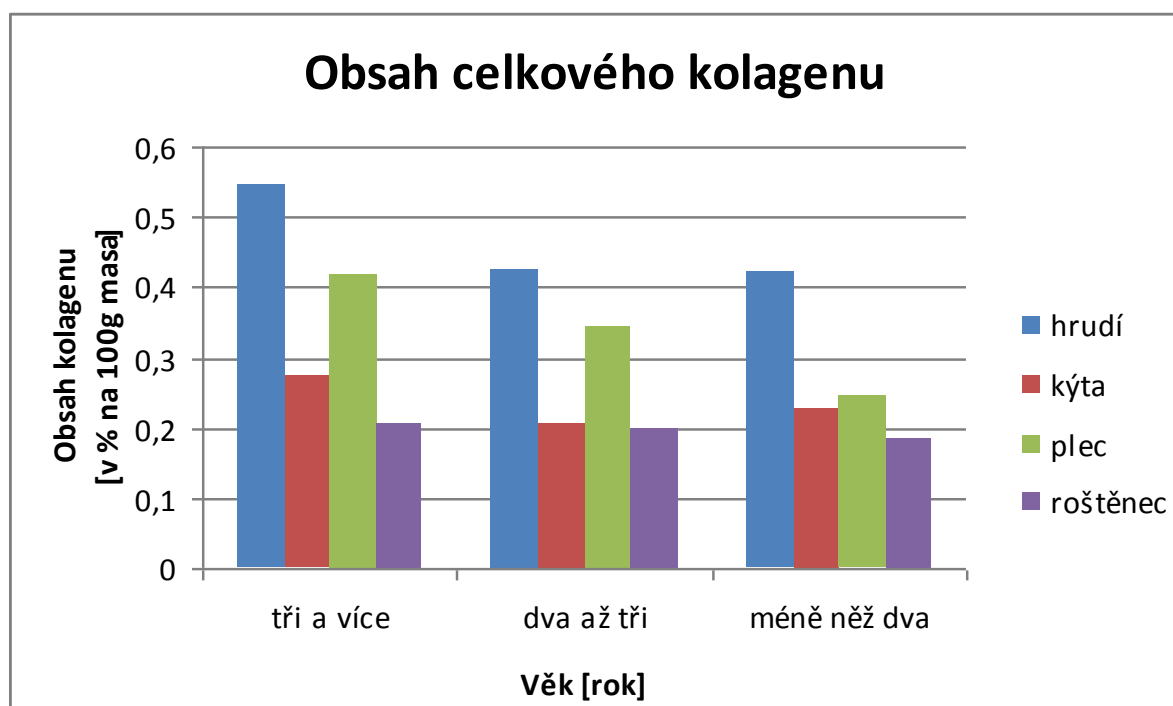
Z tabulky č. 6 je zřejmé, že se průměrný obsah kolagenu zvyšoval s rostoucím věkem. V jednotlivých partiích byl kolagen nejvyšší u hrudí, následně u plece a kýty. Nejmenší obsah se vyskytoval v roštěnci. Interakce věku a partie potvrzuje, že obsah kolagenu byl v nejvyšší u všech sledovaných partií při věkové kategorii tři a více roků.

**Tab. 7: Statistické vyhodnocení obsahu celkového kolagenu**

Efekt	Pr>F
Věková kategorie	0,3591
Partie	<,0001
Věková kategorie * partie	0,0126

Z tabulky je zřejmé, že kolagen má průkazný efekt u partie ( $F_{(3,164)}=66,11$ ;  $p<0,0001$ ) a u věku v interakci s partií ( $F_{(6,164)}=2,81$ ;  $p=0,0126$ ).

**Graf 1: Obsah celkového kolagenu**



Z grafického znázornění obsahu celkového kolagenu je zřejmé, že ve všech věkových kategoriích byl nejvyšší obsah kolagenu u hrudí a nejmenší u roštěnce, u kterého se mezi věkovými kategoriemi nevyskytují velké rozdíly. V kategorii méně než dva roky je vidět, že obsah kolagenu kýty, plece a roštěnce nevykazuje velké rozdíly. U věkové kategorie dva až tři a méně než dva roky lze sledovat stejný průměrný obsah kolagenu, který se ovšem zvýší v kategorii tři a více let.

## 5.2 Rozpustný kolagen

Rozpustný kolagen se vypočítal po stanovení koncentrace 4-hydroxyprolinu ve vzorku.

**Tab. 8: Výsledky rozpustný kolagen**

<b>Efekt</b>	<b>Věková kategorie</b>	<b>Partie</b>	<b>Průměr (%)</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>
<b>Věková kat.</b>	dva až tři		0,005813	0,001286
<b>Věková kat.</b>	tři a více		0,01286	0,002028
<b>Věková kat.</b>	méně než dva		0,008422	0,001504
<b>Partie</b>		hrudí	0,01035	0,001852
<b>Partie</b>		kýta	0,007173	0,002150
<b>Partie</b>		plec	0,009564	0,001803
<b>Partie</b>		roštětec	0,009042	0,001724
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	hrudí	0,007594	0,002484
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	kýta	0,004229	0,002656
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	plec	0,008279	0,002656
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	roštětec	0,003150	0,002484
<b>Věk * partie</b>	tři a více	hrudí	0,01262	0,004056
<b>Věk * partie</b>	tři a více	kýta	0,008750	0,004968
<b>Věk * partie</b>	tři a více	plec	0,01161	0,003513
<b>Věk * partie</b>	tři a více	roštětec	0,01845	0,003513
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	hrudí	0,01083	0,002868
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	kýta	0,008540	0,003142
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	plec	0,00800	0,003142
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	roštětec	0,005525	0,002868

Z již známých výsledků průměrného obsahu celkového kolagenu lze usoudit, že rozpustný kolagen je v nejvyšším množství u nejstarší věkové kategorie, stejně jako u efektu věku x partie, což ukazuje i tato tabulka. Ovšem při sledování jednotlivých partií je obsah rozpustného kolagenu jiný, než by se dalo předpokládat.

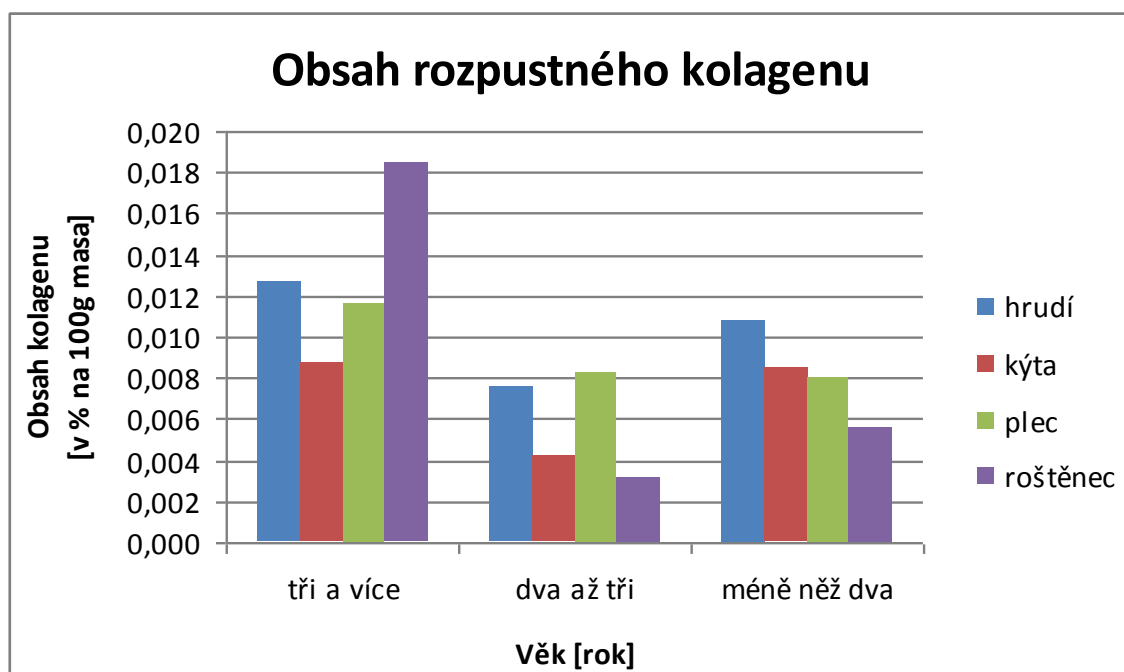


**Tab. 9: Statistické vyhodnocení obsahu rozpustného kolagenu**

Efekt	Pr>F
Věková kategorie	0,0015
Partie	0,0005
Věková kategorie * partie	0,0810

Z tabulky je zřejmé, že průkazný efekt obsahu rozpustného kolagenu je u věku ( $F_{(2,98)}=6,97$ ;  $p=0,0015$ ) a partie ( $F_{(3,98)}=6,46$ ;  $p=0,0005$ ).

**Graf 2: Obsah rozpustného kolagenu**



Z grafického znázornění obsahu rozpustného kolagenu je zřejmé, že nemá žádnou souvislost s obsahem celkového kolagenu.

### 5.3 Bílkoviny

Stanovení bílkovin bylo provedeno metodou dle Kjeldahla, kdy se obsah dusíkatých látek vypočítá ze zjištěného obsahu dusíku vynásobením uzančným přepočítávacím faktorem.

**Tab. 10: Výsledky bílkoviny**

<b>Efekt</b>	<b>Věková kategorie</b>	<b>Partie</b>	<b>Průměr (%)</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>
<b>Věková kat.</b>	dva až tři		21,0862	0,2001
<b>Věková kat.</b>	tři a více		21,0981	0,3462
<b>Věková kat.</b>	méně než dva		20,9736	0,2308
<b>Partie</b>		hrudí	20,5062	0,1716
<b>Partie</b>		kýta	21,2662	0,1716
<b>Partie</b>		plec	20,6809	0,1721
<b>Partie</b>		roštěnec	21,7571	0,1716
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	hrudí	20,5960	0,2229
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	kýta	21,2542	0,2229
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	plec	20,8483	0,2264
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	roštěnec	21,6462	0,2229
<b>Věk * partie</b>	tři a více	hrudí	20,4389	0,3861
<b>Věk * partie</b>	tři a více	kýta	21,5792	0,3861
<b>Věk * partie</b>	tři a více	plec	20,5601	0,3861
<b>Věk * partie</b>	tři a více	roštěnec	21,8142	0,3861
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	hrudí	20,4836	0,2574
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	kýta	20,9653	0,2574
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	plec	20,6344	0,2574
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	roštěnec	21,8110	0,2574

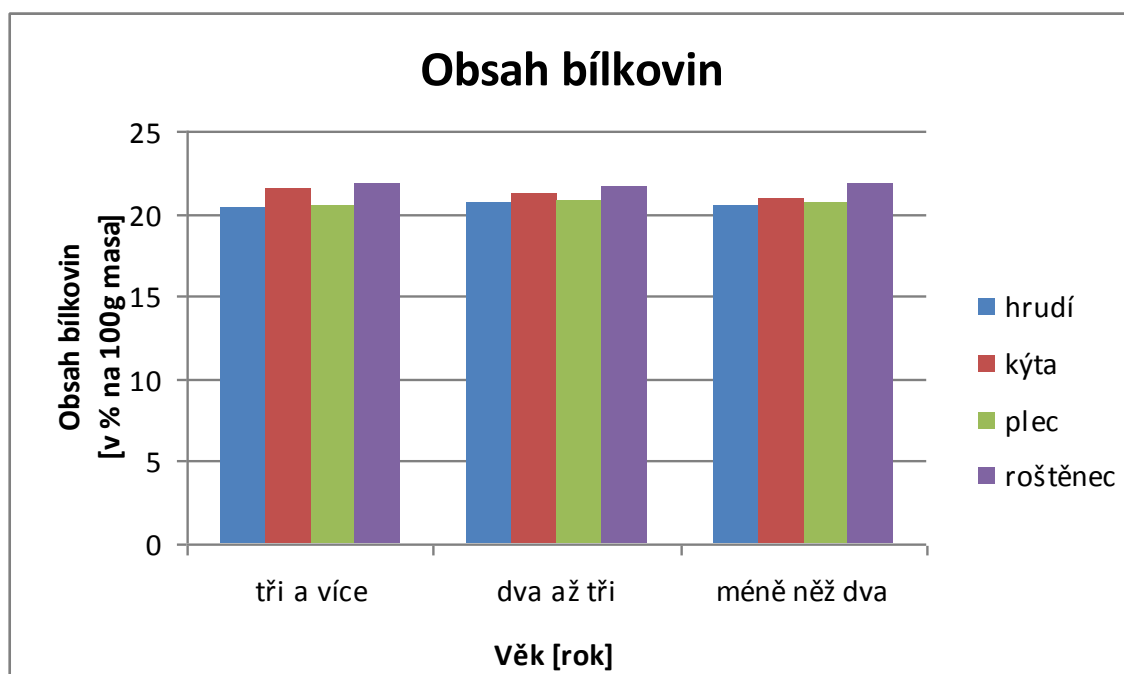
Z tabulky vyplývá, že nejvyšší obsah bílkovin měla nejvyšší věková kategorie a se snižujícím se věkem byl jejich obsah nižší. Při sledování partie je zřejmé, že nejvyšší obsah měl roštěnec následovaný sestupně kýtou, plecí a hrudí. Tuto skutečnost potvrzuje i efekt věku v interakci s partií.

**Tab. 11: Statistické vyhodnocení obsahu bílkovin**

Efekt	Pr>F
Věková kategorie	0,9226
Partie	<,0001
Věková kategorie * partie	0,1725

Z tabulky je zřejmé, že u partie vykazuje průkazný efekt ( $F_{(3,164)}=42,23$ ;  $p<0,0001$ ). Věk ani interakce věku s partií neovlivňuje obsah bílkovin.

**Graf 3: Obsah bílkovin**



Grafické znázornění obsahu bílkovin v závislosti na věku a svalové partii ukazuje nejvyšší obsah bílkovin ve všech věkových kategoriích u roštěnce a kýty.

## 5.4 Síla ve stříhu

Síla ve stříhu je měřená jako síla potřebná k přetnutí syrového masa nástavcem Warnera-Bratzlera, udává se v jednotkách N (Kolbábek a kol., 2012; Kolbábek a kol., 2013).

**Tab. 12: Výsledky síla ve stříhu**

<b>Efekt</b>	<b>Věková kategorie</b>	<b>Partie</b>	<b>Průměr (N)</b>	<b>Směrodatná odchylka</b>
<b>Věková kat.</b>	dva až tři		98,3117	6,8088
<b>Věková kat.</b>	tři a více		128,15	11,6228
<b>Věková kat.</b>	méně než dva		115,66	7,7486
<b>Partie</b>		hrudí	216,45	8,5920
<b>Partie</b>		kýta	63,8248	8,5920
<b>Partie</b>		plec	124,36	8,6612
<b>Partie</b>		roštěnec	51,5215	8,6612
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	hrudí	162,99	11,1614
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	kýta	70,5525	11,1614
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	plec	119,08	11,6329
<b>Věk * partie</b>	dva až tři	roštěnec	40,6178	11,6329
<b>Věk * partie</b>	tři a více	hrudí	274,44	19,3321
<b>Věk * partie</b>	tři a více	kýta	43,1125	19,3321
<b>Věk * partie</b>	tři a více	plec	130,96	19,3321
<b>Věk * partie</b>	tři a více	roštěnec	64,1000	19,3321
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	hrudí	211,92	12,8880
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	kýta	77,8094	12,8880
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	plec	123,05	12,8880
<b>Věk * partie</b>	méně než dva	roštěnec	49,8467	12,8880

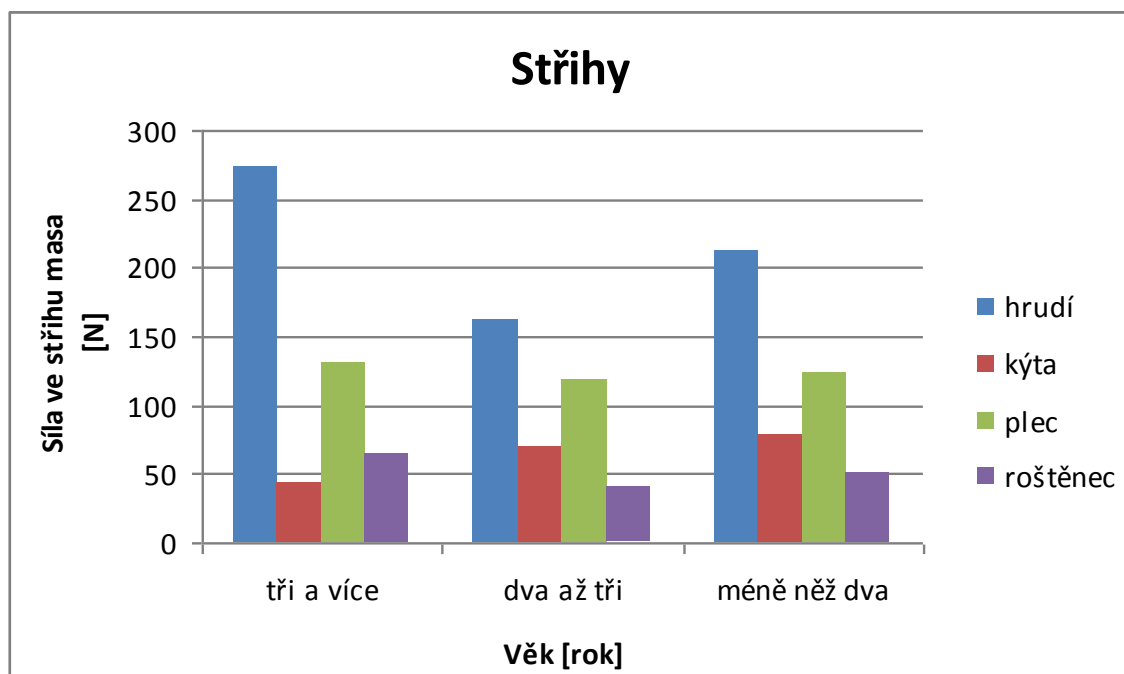
Síla ve stříhu byla nejvyšší u věkové kategorie tři a více roků, ovšem rozdíly mezi kategoriemi byly zanedbatelné. Nejmenší byla síla ve stříhu věkové kategorie nejmladších zvířat. Největší vynaložená síla potřebná ke stříhu byla u hrudí, dále pak sestupně plec, kýta a roštěnec. U efektu věk\*partie vykazovala u kategorie tři a více roků nejmenší sílu ve stříhu kýta.

**Tab. 13: Statistické vyhodnocení síly ve stříhu**

Efekt	Pr>F
Věková kategorie	0,1525
Partie	<,0001
Věková kategorie * partie	0,0011

Z tabulky je zřejmé, že průkazné efekty síly ve stříhu jsou u partie ( $F_{(3,162)}=124,59$ ;  $p<0,0001$ ) a u věku\*partie ( $F_{(6,162)}=3,91$ ;  $p=0,0011$ ). Samotný věk se neprojevil.

**Graf 4: Síla ve stříhu**



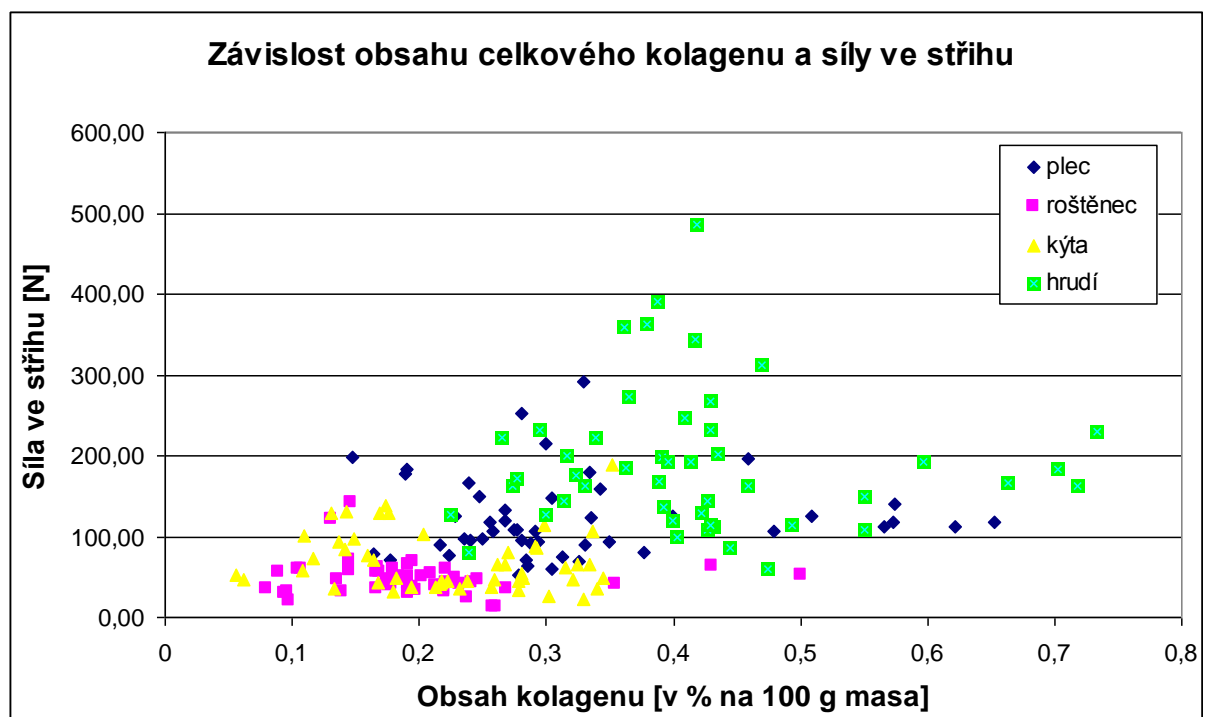
Síla ve stříhu vykazuje nejvyšší hodnoty u hrudí ve věkové kategorii tři a více let. Druhá nejvyšší hodnota WB u svalové partie hrudí je u nejmladší věkové kategorie. Plec vykazuje velice podobné hodnoty ve všech třech kategoriích. Nejkřehčí maso měl roštěnec společně s kýtou.

## 5.5 Závislost mezi obsahem celkového kolagenu a silou ve stříhu jednotlivých partií

Závislost mezi obsahem celkového kolagenu v mase a WB byla středně silně korelována ( $r=0,459$ ;  $p < 0,0001$ ).

Výsledná korelace mezi obsahem celkového kolagenu a WB, kde kvůli lepšímu uspořádání grafu nebyly zaznamenány dva nejvyšší obsahy kolagenu 1,1745 a 1,2429 %.

**Graf 5: Závislost obsahu celkového kolagenu a síly ve stříhu jednotlivých partií**



V tomto grafickém znázornění závislosti síly ve stříhu na obsahu celkového kolagenu je vidět rozdělení křehkosti jednotlivých partií. Z grafu je zřejmé, že nejvíce křehký bude roštěnec následovaný kýtou a plecí, která již v některých případech bude více houževnatá. Průměrně nejvíce houževnaté však bude hrudí.

## 6 Diskuze

Pro realizaci statistického vyhodnocení byly analyzované vzorky rozděleny do tří věkových kategorií - tři a více, dva až tři a méně než dva roky. Byl použit program SAS 9.3. Jako pevné efekty byly použity jednotlivé svalové partie, věk a interakce věku s partií.

Z výsledků statistického hodnocení je zřejmé, že mezi jednotlivými partiemi jsou velké rozdíly a tak se věk samostatně projevil pouze u rozpustného kolagenu. Faktor věku je slabší než rozdíl mezi partiemi a právě interakce mezi věkem a partiemi udává efekty přesněji do souvislosti. Korelace byla prokázána pouze mezi obsahem celkového kolagenu a silou ve stříhu.

Průměrný obsah kolagenu v jednotlivých věkových kategoriích byl nejvyšší u kategorie tři a více, kde jeho průměrný obsah byl 0,3627 % na 100 g masa. Následně sestupně u kategorie dva až tři (0,2937 %) a méně než dva (0,2617 %). Opačný trend a to snižující se obsah celkového kolagenu s rostoucím věkem popsal na hovězím mase Hill (1966), který uvedl, že neexistuje žádný celkový nárůst kolagenu s rostoucím věkem. Při porovnání obsahu celkového kolagenu skotu a antilop Bartoň et al., (2014) uvedl, že antilopy měly o 27 % nižší obsah kolagenu než skot. Při hodnocení jednotlivých partií byl nejvyšší obsah nalezen ve hrudí (0,4651 %), následně v pleci (0,3361 %), kýtě (0,2358 %) a roštěnci (0,1964 %). Bartoň et al., (2014) uvedl, že se obsah kolagenu v mase roštěnce hovězího masa pohybuje v rozmezí 2,7 – 4,1 g / kg svalu. Obsah kolagenu nalezen ve svalovině antilop impal byl 3,2 g / kg a kudu 2,1 g / kg (Hoffman et al., 2009). Podobné hodnoty naměřil v roštěnci i Bureš et al. (2014) u jelenů (2,87 g/kg), daňků (3,16 g/kg), u skotu plemene Aberdeen Angus (4,56 g/kg) a Holštýn (4,59 g/kg).

Statistické vyhodnocení obsahu celkového kolagenu ukázalo efekt partie ( $F_{(3,164)} = 66,11$ ;  $p < 0,0001$ ) a věkové kategorie v interakci s partií ( $F_{(6,164)} = 2,81$ ;  $p = 0,0126$ ).

Průměrné hodnoty obsahu rozpustného kolagenu nebyly závislé na obsahu celkového kolagenu, i přes to, že se dalo předpokládat, že ve vztahu k věkové kategorii bude mít rozpustný kolagen stejně sestupnou tendenci s nárůstem věku. Avšak výsledky ukázaly, že byl obsah kolagenu nejvyšší u věkové kategorie tři roky a více, kde měl obsah 0,01286 %, ale pak následovala kategorie méně než dva roky (0,008322 %) a nejnižší obsah byl u věku dva až tři roky (0,005813). Hill (1966) ve své práci uvedl, že rozpustnost kolagenu klesá s rostoucím

věkem, proto se zdá maso ze starších zvířat více houževnaté. V jeho výzkumu byl sledován obsah celkového a rozpustného kolagenu v mase 15 letého býka a z 8 týdenního telete. Obsah celkového kolagenu svalu *sternomandibularis* býka byl 1,78 % a z toho rozpustného 0,79 %. Ve stejném svalu byl hodnocen celkový kolagen 8 týdenního telete, který obsahoval 2,53 % a z toho rozpustného 21,34 %, což potvrzuje autorovu úvahu, že obsah rozpustného kolagenu klesá s rostoucím věkem. Tuto úvahu potvrzuje i analýza masa ovcí, kde šestiměsíční ovce měly obsah celkového kolagenu 1,01 % a z toho rozpustného 8,16 %, zatímco ovce ve věku starší než 5 let měly obsah kolagenu 1,09 % a z toho rozpustného 2,81 % (Hill, 1966). Výsledky uvedené v předkládané práci však tuto hypotézu nepotvrzují, jelikož se efekt věk\*partie neprojevil, což je dobře znázorněno v grafu č. 2.

Statistické vyhodnocení obsahu rozpustného kolagenu ukázalo průkazný efekt u věkové kategorie ( $F_{(2,98)}=6,97$ ;  $p=0,0015$ ) a partie ( $F_{(3,98)}=6,46$ ;  $p=0,0005$ ).

Průměrný obsah bílkovin byl nejmenší u nejmladší věkové kategorie a naopak nejvyšší u nejstarší kategorie. Obsah bílkovin u jednotlivých partií se pohyboval v rozmezí 20,5062 – 21, 7571 % na 100 g bílkovin. Podobné hodnoty zjistil ve své studii na mase roštěnce i Bureš et al. (2014), průměrné hodnoty bílkovin u jelenů byly 221,4 g/kg masa, u daňků 227,9 g/kg, u plemene skotu Aberdeen Angus 214, 1 g/kg a u plemene Holštýn 218,7 g/kg. Du Buisson (2006) uvedl ve své práci hodnoty bílkovin 22,1 – 24,2 % u masa zvěřiny a 14,5 – 18,5 % u masa ovcí. Při srovnání obsahu bílkovin masa skotu a antilop losích nebyl mezi druhy zjištěn žádný významný rozdíl (Bartoň et al., 2014). Kotrba et al. (2009) naměřil v mase antilopy losí průměrný obsah kolagenu 222,1 g/kg, což je nepatrně více, než je uvedeno ve výsledcích této práce.

Ze statistického hodnocení bylo zjištěno, že průkazný efekt vykazuje pouze partie. Věk ani interakce věku s partií neovlivňoval obsah bílkovin.

Výsledné hodnoty síly ve stříhu (přejaté od: Kolbábek a kol., 2012; Kolbábek a kol., 2013) vykazují nejvyšší průměrné hodnoty u nejvyšší věkové kategorie (128,15 N), následně u kategorie méně než dva roky (115,66 N). Nejkřehčí maso tedy vykazovala kategorie dva až tři roky (98,3117 N). Při hodnocení partie se ukázalo jako nejhouževnatější maso z hrudí, následně z plece. Kýta a roštěnec vykazovaly podobnou sílu ve stříhu a byly z hodnocených partií nejvíce křehké. To také potvrzuje Bureš et al. (2014), který hodnotil sílu ve stříhu na roštěnci různých přežvýkavců. Výsledné hodnoty byly u masa jelenů 45,7 N, u masa daňků 47,8 N, u skotu plemene Aberdeen Angus 55,3 N a u plemene Holštýn 57,1 N. Mostert



a Hoffman (2007) zveřejnili hodnoty síly ve stříhu měřených na mase roštěnce antilopy kudu, autoři neprokázali žádné významné rozdíly mezi hodnotami WB samců  $136,63 \pm 11,24$  N a samic  $140,01 \pm 7,33$  N.

Ze statistického vyhodnocení bylo zjištěno, že průkazné efekty síly ve stříhu jsou u partie ( $F_{(3,162)}=124,59$ ;  $p<0,0001$ ) a u věku\*partie ( $F_{(6,162)}=3,91$ ;  $p=0,0011$ ). Efekt samotného věku se neprojevil.

Po provedení korelační analýzy byla zjištěna závislost mezi obsahem celkového kolagenu a silou ve stříhu jednotlivých partií. Toto zjištění znamená, že obsah kolagenu ovlivňuje sílu ve stříhu, tedy texturu masa, se kterou je úzce spojena křehkost masa. Tato závislost byla středně silně korelována ( $r=0,459$ ;  $p < 0,0001$ ).

Lepetit (2008) potvrzuje, že celkový obsah kolagenu může hrát důležitou roli v houževnatosti masa. Bartoň et al. (2014) ve svém experimentu uvedl, že nebyl nalezen vztah mezi obsahem kolagenu a houževnatostí masa. Uvedl, že v souladu se senzorickými výsledky a WB hodnotami je křehčí maso skotu než maso z antilop a maso zrající 14 dní oproti masu zrajícího pouze 3 dny. Nicméně Lepetit (2006) ve své studii uvedl, že stejně jako v uvedených výsledcích síla ve stříhu syrového masa u kuřat a hovězího masa vysoce koreluje s obsahem kolagenu. Ve vařeném mase různých svalových partií autor zjistil velké rozdíly v obsahu kolagenu a také pozoroval korelace mezi množstvím kolagenu a houževnatosti masa, avšak hodnoty korelací byly nižší než v mase syrovém (Lepetit, 2006; Dubost, 2013). Tuto skutečnost potvrzuje i Bureš et al. (2014), který zkoumal maso různých přežvýkavců. Uvádí, že síla ve stříhu byla v korelaci s celkovým množstvím kolagenu ( $r=0,44$ ), avšak také uvádí, že rozpustný kolagen je považován za lepší ukazatel houževnatosti než celkový kolagen. Naopak Bailey a Light (1989) tvrdí, že rozpustnost kolagenu v mase není spolehlivým ukazatelem kvality svalu, protože některé svaly vykazují různou rozpustnost kolagenu vzorku odebraného z různých míst jatečně upraveného těla a tato rozpustnost se může výrazně lišit i v závislosti na délce a rozsahu tepelného opracování. Nicméně korelace obsahu rozpustného kolagenu a síly ve stříhu nebyla v předkládané práci nalezena.

Hoffman et al. (2007) ve své studii antilop skákavých našel korelaci mezi hodnotami WB a senzorickými vlastnostmi jako je křehkost ( $r=0,70$ ,  $p<0,01$ ) a šťavnatost ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ), nenalezl korelaci mezi obsahem intramuskulárního tuku a šťavnatostí masa. Zjistil, že intenzita chuti zvěřiny nebyla významně ovlivněna věkem ani pohlavím stejně jako u studie masa antilop impal a kudu (Hoffman et al., 2009). Uvedl, že hodnoty WB dávají dobrou korelaci se senzoricky hodnocenou křehkostí masa (Hoffman et al., 2007)

Purslow (2005) navrhl, že množství, prostorové rozmístění a složení pojivové tkáně uvnitř svalu se liší podle pozice svalu v těle a také s věkem zvířat. Uvedl, že pojivová tkáň ovlivňuje křehkost tepelně opracovaného masa. To potvrdil Christensen et al. (1999), který doplnil, že změny hodnot WB tepelně opracovaných svalů probíhají ve třech oddělených fázích. Zvýšení pevnosti je zjištěno při 40 – 50 °C a znovu při 60 – 80 °C, s poklesem síly ve stříhu při 50 – 60 °C. Ovšem Bureš a kol. (2010) při senzoričtém hodnocení masa antilop zaznamenal nejlepší křehkost u masa grilovaného do konečné teploty 80 °C. Purslow (2005) uvádí, že se křehkost masa zvyšuje při vyšších teplotách a se zvyšující se dobou kulinární úpravy.

## 7 Závěr

Maso různých druhů zvířat se odlišuje svojí texturou. Z hlediska jakosti je textura masa a hlavně křehkost nejvýznamnější vlastností. Obsah, typ, příčné vazby kolagenu, celkové množství a struktura intramuskulární pojivové tkáně ovlivňuje křehkost tepelně opracovaného masa. Tuto vlastnost masa lze ovlivnit několika způsoby, mimo jiné intravitálními vlivy, zacházením s masem během výroby, teplotou a délkou kulinární úpravy.

Cílem této práce bylo napsat literární rešerši se zaměřením na kolagen, intramuskulární tkáň a vliv intravitálních vlivů na organoleptické vlastnosti masa. Součástí této práce je provedení analýzy na mase antilop losích (*Taurotragus oryx*). Analýza zahrnovala stanovení obsahu celkového a rozpustného kolagenu a stanovení obsahu bílkovin. Výsledné hodnoty byly porovnány s hodnotami síly ve stříhu metodou dle Warnera-Bratzlera.

Statistické vyhodnocení ukázalo středně silnou korelaci mezi obsahem celkového kolagenu a síly ve stříhu. Korelace mezi obsahem rozpustného kolagenu a síly ve stříhu nebyla zjištěna. Bylo zaznamenáno, že se obsah kolagenu zvyšoval s rostoucím věkem u všech partií. Vzhledem k rozdílným výsledkům obsahu rozpustného kolagenu při stanovení v jednotlivých partiích a v různých věkových kategoriích bylo zjištěno, že obsah rozpustného kolagenu nesouvisí s obsahem celkového kolagenu.

Hypotéza byla potvrzena, texturní parametry jsou ovlivněny obsahem celkového kolagenu.

## 8 Seznam literatury

Bailey, A. J., Light, N. D. 1989. Connective tissue in meat and meat products. Elsevier Applied Science. England. p. 355. ISBN: 1-85166-284-7.

Bartoň, L., Bureš, D., Kotrba, R., Sales, J. Comparison of meat quality between eland (*Taurotragus oryx*) and cattle (*Bos taurus*) raised under simile conditions. Meat science [online]. 2014 [cit. 2015-8-3]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174013003434>>.

Bergman, I., Loxley, R. 1963. Two Improved and Simplified Methods for the Spectrofotometric Determination of Hydroxyproline. Analytical Chemistry. 35 (12). 1961-1965.

Brinckmann, J., Notbohm, H., Müller, P. K. 2005. Topics in current chemistry – collagen. Springer-Verlag, Berlin. p. 257. ISBN: 978-3-540-23272-8.

Bureš, D., Kotrba, R., Bartoň, L., Adamec, T. 2010. Antilopa losí – perspektivní druh na talíři českých strávníků? Maso. (6) 42-45.

Bureš, D., Bartoň, L., Kotrba, R., Hakl, J. 2014. Quality attributes and composition of meat from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), and Aberdeen Angus and Holstein cattle (*Bos taurus*). Journal of the Science of Food and Agriculture. In press.

ČSN ISO 937. Maso a masné výrobky – Stanovení obsahu dusíku (Referenční metoda). 2002. Český normalizační institut. Praha

Dubost, A., Micol, D., Picard, B., Lethias, C., Andueza, D., Bauchart, D., Listart, A. Structural and biochemical characteristics of bovine intramuscular connective tissue and beef quality. Meat science [online]. 2013 [cit. 2015-7-3]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174013002441>>.

Du Buisson, P. 2006. Improving the meat duality of blesbok (*Damaliscus dalas phillipsi*) and springbok (*Antidorcas marsupialis*) through enhancement with inorganic salts. Master of science in animal sciences (Meat Science) at the University of Stellenbosch.

Fratzl, P. 2008. Collagen – structure and mechanics. Springer Science+Business Media, LLC. p. 506. ISBN: 978-0-387-73905-2.

Hill, F. 1966. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *Journal of Food Science*. 31(2). 161-166.

Hoffman, L. C., Kroucamp, M., Manley, M. Meat quality characteristics of springbok (*Antidorcas marsupialis*). 4: Sensory meat evaluation as influenced by age, gender and production region. *Meat science* [online]. 2007 [cit. 2015-13-3]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174007000769>>.

Hoffman, L. C., Mostert, A. C., Laubscher., L.L. Meat quality of kudu (*Tragelaphus strepsoceros*) and impala (*Aepyceros melampus*): The effect of tender and age on the fatty acid profile, cholesterol content and sensory characteristics of kudu and impala meat. *Meat science* [online]. 2009 [cit. 2015-18-3]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174009002435>>.

Holčapek, M., Jandera, P. Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS). *Chemické listy* [online]. 1998 [cit. 2015-21-3]. Dostupné z <[http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1998\\_04\\_278-286.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1998_04_278-286.pdf)>.

Christensen, L., Ertbjerg, P., Loje, H., Risbo, J., van den Berg, F. W. J., Christensen, M. Relationship between meat toughness and properties of connective tissue from cows and young bulls heat treated at low temperatures for prolonged times. *Meat science* [online]. 2013 [cit. 2015-27-2]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174012004093>>.

Christensen, M., Purslow, P. P., Larsen, L. M. The effect of cooking temperature on mechanical properties of whole meat, single muscle fibres and perimysial connective tissue. Meat Science [online]. 1999 [cit. 2015-26-2]. Dostupné z

<<http://www.sciencedirect.com/infodroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174099001576>>.

Kolbábek, P., Kotrba, R., Prokúpková, L., Pipek, P., Rohlík, B. 2013. Tenderness of 12 different muscles, measured as Warner-Bratzler shear force. In: Wenzel, W., Bürstmayr, H., Grossauer, F., Schafellner, Ch., Schleining, G., Schwen, A., Wytrzens, H. K., Piringer, U., Pineau, L. (eds). Sustainability Challenge – technological advancements and other solutions: Programme and abstract book. University of Natural Resources and Life Sciences. Vienna. p. 151.

Kolbábek, P., Kotrba, R., Prokúpková, L., Pipek, P., Rohlík B.-A., Lukešová, D. 2012. Chewy tartare? Anymore: Evaluation of shear values of raw samples from 12 muscles of common eland (*Taurotragus oryx*), In: Book of Abstracts, 6th Scientific Conference of Institute of Tropics and Subtropisc- Sustainable use of Natural Resources in Tropics and Subtropisc, 2012, Czech University of Life Science, Prague, Czech Republic, 29th-30th November 2012, p. 18

Kotrba, R. 2013. Antilopa losí jako regulátor plevelů. *Náš chov*. (3) 41-43.

Kotrba, R., Regnerová, N., Bureš, D. 2009. Antilopa losí jako naděje pro české travní porosty. *Náš chov*. (12) 66-68.

Kotrba, R., Regnerová, N., Bureš, D. 2009. Antilopa losí – zdravá alternativa červeného masa. In: Sborník příspěvků z konference „Den Masa“. 24.11.2009, ČZU, Praha, 28-32.

Lawrie, R. A., Ledward, D. A. 2006. Meat science. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge. p. 521. ISBN: 978-1-84569-159-2.

Lepetit, J. A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. Meat Science [online]. 2006 [cit. 2015-18-2]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/infodroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174006003639>>.

Lepetit, J. Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science* [online]. 2008 [cit. 2015-12-2]. Dostupné z

<<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174008002088>>.

Mlček, J., Rop, O., Šustová, K., Simeonovová, J., Gál, R. Možnosti využití spektroskopie NIR v masném průmyslu. *Chemické listy* [online]. 2010 [cit. 2015-20-3]. Dostupné z

<[http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010\\_09\\_855-860.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_09_855-860.pdf)>.

Mostert, R., Hoffman, L. C. Effect of gender on the meat quality characteristics and chemical composition of kudu (*Tragelaphus strepsiceros*), an African antelope species. *Food chemistry* [online]. 2007 [cit. 2015-12-3]. Dostupné z

<<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0308814606009733>>.

Nishimura, T. The role of intramuskular connective tissue in meat texture. *Animal Science Journal* [online]. 2009 [cit. 2015-12-2]. Dostupné z

<<http://onlinelibrary.wiley.com.infozdroje.czu.cz/doi/10.1111/j.1740-0929.2009.00696.x>  
[abstract?jsessionid=B1DB84DCAB41A975BF231CE19996F5B0.d03t02](http://onlinelibrary.wiley.com.infozdroje.czu.cz/doi/10.1111/j.1740-0929.2009.00696.x/abstract?jsessionid=B1DB84DCAB41A975BF231CE19996F5B0.d03t02)>.

Pazourek, J. Moderní elektroforetické analytické metody. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno [online]. 2003 [cit. 2013-12-28]. Dostupné z

<[http://faf.vfu.cz/export/sites/faf/struktura-fakulty/sekce\\_ustavy/ustav\\_chemickych\\_leciv/vyuka/analyticka-chemie/elforeza.pdf](http://faf.vfu.cz/export/sites/faf/struktura-fakulty/sekce_ustavy/ustav_chemickych_leciv/vyuka/analyticka-chemie/elforeza.pdf)>.

Petreková, P., Lapčík, L. Kolagen – vlastnosti, modifikace a aplikace. *Chemické listy* [online]. 2000 [cit. 2015-11-3]. Dostupné z

<[http://www.chemicke-listy.cz/common/content-issue\\_6-volume\\_94-year\\_2000.html](http://www.chemicke-listy.cz/common/content-issue_6-volume_94-year_2000.html)>.

Pipek, P. 2009. Technologie masa. In: Kadlec, P. (ed.). Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin. KEY Publissing s.r.o. Brno. 161 -536. ISBN: 978-80-7418-051-4.

Purslow, P. P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science* [online]. 2005 [cit. 2015-13-2]. Dostupné z

<<http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0309174005000355>>.

Purslow, P. P. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. Elsevier [online]. 2002 [cit. 2015-15-2]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/infodroje.czu.cz/science/article/pii/S1095643302001411>>.

Rodger, R. W., Wilding, P. 1990. Muscle proteins. In: Harris, P. (ed.). Food gels. Elsevier Applied Food Science Series. England. p. 361–400. ISBN: 1-85166-441-6.

Saeidi, N. 2009 On the control of collagen fibril organization and morphology. Mechanical Engineering Dissertations. Northeastern University. p. 186.

Steinhuserová, I., Steinhauser, L. 2000. Chemické a biochemické složení svalu – masa. In: Steinhauser, L. (ed.). Produkce masa, Vydavatelství potravinářské literatury, Steinhauser - Last, Tišnov, 464 s.

Tůma, P., Samcová, E. Stanovení volných aminokyselin v biologických tekutinách kapilární elektroforézou. Chemické listy [online]. 2007 [cit. 2015-20-3]. Dostupné z <[http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007\\_03\\_200-207.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007_03_200-207.pdf)>.



## 9 Přílohy

**Antilopy losí chované Školném zemědělským podnikem Lány (Foto: R. Kotrba)**



**Jatečně opracované těla antilop losích (Foto: R. Kotrba)**



## Seznam tabulek

Tab. 1: Přehled typů kolagenu a jejich výskyt (Brinckmann et al., 2005; Peterková.....	12
Tab. 2: Rozdíly v chemickém složení masa zvěře (nyala nížinná), ovcí a hovězího masa .....	27
Tab. 3: Porovnání ukazatelů výkrmnosti a jatečné hodnoty býků antilopy losí a býků .....	28
Tab. 4: Hodnoty síly ve stříhu za použití nástavce Warnera-Bratzlera na sedmi druzích .....	30
Tab. 5: Přehled zvířat a základní údaje .....	31
Tab. 6: Výsledky celkový kolagen .....	38
Tab. 7: Statistické vyhodnocení obsahu celkového kolagenu .....	39
Tab. 8: Výsledky rozpustný kolagen .....	40
Tab. 9: Statistické vyhodnocení obsahu rozpustného kolagenu .....	41
Tab. 10: Výsledky bílkoviny .....	42
Tab. 11: Statistické vyhodnocení obsahu bílkovin .....	43
Tab. 12: Výsledky síla ve stříhu .....	44
Tab. 13: Statistické vyhodnocení síly ve stříhu .....	45

## Seznam grafů

Graf 1: Obsah celkového kolagenu.....	39
Graf 2: Obsah rozpustného kolagenu.....	41
Graf 3: Obsah bílkovin .....	43
Graf 4: Síla ve stříhu .....	45
Graf 5: Závislost obsahu celkového kolagenu a síly ve stříhu jednotlivých partií .....	46