



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

PROFIL TĚKAVÝCH LÁTEK SÝRŮ EIDAMSKÉHO TYPU

VOLATILE PROFILE OF EDAM TYPE CHEESE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Marek Balej

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1445/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Marek Balej**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Profil těkavých látek sýrů eidamského typu

Zadání bakalářské práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - stručná charakteristika sýrů eidamského typu – složení, vlastnosti, technologie výroby
 - aromaticky aktivní látky – charakteristika, těkavé (aromatické) látky sýrů
 - mikroextrakce pevnou fází, plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC–MS) – princip, popis, instrumentace
- Pomocí metody HS–SPME–GC–MS identifikujte a kvantifikujte těkavé látky ve vzorcích sýrů
- Porovnejte těkavý profil jednotlivých vzorků

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Marek Balej
student(ka)

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Táto bakalárska práca je zameraná na určenie profilu prchavých látok v syroch eidamského typu, predstavujúcich prírodné polotvrde syry s nízko dohrievanou syrovinou.

Predmetom teoretickej časti je základné rozdelenie syrov, popis ich chemického zloženia a stručná charakteristika eidamského typu syrov. Ďalej je spracovaná problematika technológie výroby tohto druhu syrov a popisu senzoričky aktívnych prchavých látok. Ako posledná je v tejto časti pozornosť venovaná špecifikácií metódy mikroextrakcie pevnou fázou a spojeniu plynovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou.

Experimentálna časť sa zaoberá aplikáciou metódy HS-SPME-GC-MS na identifikáciu prchavých látok v syroch eidamského typu. Konkrétne sa jednalo o modelové vzorky vyrobené na Univerzite Tomáša Baťu v Zlíne s použitím rôznych mikrobiálnych kultúr a komerčne dostupné vzorky s rôznym obsahom tuku zakúpené v bežnej maloobchodnej sieti.

Celkovo bolo vo všetkých vzorkách syrov identifikovaných 64 prchavých zlúčenín, z toho 18 alkoholov, 11 esterov, 9 ketónov, 7 aldehydov, 5 kyselín, 3 laktónv, 2 terpénové uhl'ovodíky, 2 terpénové alkoholy, 1 terpénový ketón, 1 terpénový aldehyd, 4 sírne zlúčeniny a 1 fenol. Rozdiely boli zaznamenané medzi vzorkami modelovými i komerčnými, a to z pohľadu počtu aj druhu prchavých zlúčenín.

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on specification volatile profile of eidam cheese types, which are natural semi hard cheeses with low heat curd.

Subject of theoretical part is basic differentiation of cheeses, description of chemical composition and characteristic of eidam cheese types. After that, issue of their manufacturing process is processed and aroma active substances are described. In the last part of this section, the attention is focussed on specification method of solid phase microextraction connected with gas chromatography with mass spectrometry detection.

Experimental part deals with HS-SPME-GC-MS method application on identification of volatile compounds in eidam cheese types. Samples of model cheese were manufactured at Tomas Bata University in Zlín with the use of various added microbial starter cultures and eidam type cheeses with various fat content bought on the market.

A total of 64 compounds were identified in samples; of those 18 alcohols, 11 esters, 9 ketones, 7 aldehydes, 5 acids, 3 lactones, 2 terpene hydrocarbons, 2 terpene alcohols, 1 terpene ketone, 1 terpene aldehyde, 4 sulphurous compounds and 1 phenol. The differences were found among model cheese samples and market bought samples in the case of number and type of volatiles.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Syry, prchavé látky, SPME, GC, MS

KEY WORDS

Cheese, volatiles, SPME, GC

BALEJ, M. *Profil těkavých látek sýrů eidamského typu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. 59 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D..

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracoval samostatne a že som všetky použité literárne zdroje správne citoval. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť použitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....
Podpis študenta

Podakovanie:

Na tomto mieste by som rád poďakoval doc. Ing. Eve Vítovej, Ph.D. za odborné vedenie, ochotu a venovaný čas pri konzultáciách v priebehu spracovania bakalárskej práce. Ďalej vyslovujem vďaku Univerzite Tomáša Batu v Zlíne za poskytnuté vzorky, a v neposlednej rade aj Bc. Andrei Dostálkovej za pomoc a cenné rady pri práci v laboratóriu.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	8
2.1 Rozdelenie syrov	8
2.2 Zloženie syrov z chemického hľadiska	9
2.2.1 Bielkoviny mlieka	9
2.2.1.1 Charakteristika kazeínového komplexu	10
2.2.1.2 Charakteristika sérových bielkovín	10
2.2.2 Lipidy mlieka	11
2.2.3 Sacharidy mlieka	11
2.2.4 Minerálne látky mlieka.....	11
2.2.5 Vitamíny mlieka	12
2.3 Syry s nízko dohrievanou syrovinou	12
2.3.1 Syry eidamského typu	12
2.4 Technológia výroby syrov	12
2.4.1 Príprava mlieka pred syrením.....	13
2.4.2 Syrenie.....	13
2.4.3 Spracovanie syroviny	14
2.4.4 Formovanie a lisovanie	14
2.4.5 Solenie	15
2.4.6 Ochrana povrchu syru pri zrení	15
2.4.7 Zrenie.....	16
2.5 Senzoricky aktívne látky	16
2.5.1 Uhľovodíky	16
2.5.2 Alkoholy	17
2.5.3 Étery	18
2.5.4 Karbonylové zlúčeniny.....	18
2.5.4.1 Aldehydy	18
2.5.4.2 Ketóny	19
2.5.5 Kyseliny.....	19
2.5.6 Estery	20
2.5.7 Aromaticky aktívne látky v syroch	20
2.5.7.1 Metabolizmus zostatkovej laktózy, laktátu a citrátu	20
2.5.7.2 Proteolýza.....	21
2.5.7.3 Katabolizmus aminokyselín	21

2.5.7.4	Lipolýza.....	22
2.5.7.5	Katabolizmus mastných kyselín.....	22
2.6	Použité inštrumentálne techniky.....	23
2.6.1	Mikroextrakcia pevnou fázou.....	23
2.6.2	Plynová chromatografia	23
2.6.2.1	Inštrumentácia plynovej chromatografie.....	24
2.6.3	Hmotnostná spektrometria	25
2.6.3.1	Inštrumentácia hmotnostnej spektrometrie	25
2.6.4	Spojenie plynovej chromatografie s hmotnostnou detekciou.....	27
3	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	28
3.1	Laboratórne vybavenie	28
3.1.1	Prístroje	28
3.1.2	Plyny.....	28
3.1.3	Pracovné pomôcky	28
3.2	Čisté mliekarské kultúry	28
3.3	Analyzované vzorky	28
3.4	Použitá metóda HS-SPME-GC-MS	31
3.4.1	Príprava vzoriek syra k analýze.....	31
3.4.2	Podmienky HS-SPME-GC-MS analýzy	32
3.4.2.1	Podmienky SPME extrakcie.....	32
3.4.2.2	Podmienky GC-MS analýzy.....	32
3.4.3	Vyhodnocovanie a štatistické spracovanie výsledkov analýzy	32
4	VÝSLEDKY A DISKUSIA.....	33
4.1	Identifikácia prchavých látok vo vzorkách.....	33
4.1.1	Porovnanie prchavých zlúčenín v modelových vzorkách syrov	37
4.1.1.1	Porovnanie modelových vzoriek s/bez aplikácie termofilných kultúr	37
4.1.1.2	Porovnanie modelových vzoriek s aplikovanou termofilnou kultúrou (Lbc casei vs. Lbc plantarum).....	38
4.1.2	Porovnanie prchavých zlúčenín v komerčných vzorkách syrov	39
4.1.3	Porovnanie prchavých zlúčenín vo vzorkách modelových a komerčných syrov..	39
4.2	Semikvantifikácia aromaticky aktívnych látok vo vzorkách.....	41
5	ZÁVER.....	45
6	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	47
7	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK.....	50
8	PRÍLOHY	51

1 ÚVOD

Je všeobecne známe, že syry ako jedna z významných zložiek ľudskej potravy, a zároveň obľubovaná pochutina, majú bohatú históriu, ktorá siaha až do stredoveku.

Legislatívne je syr definovaný ako mliečny výrobok vyrobený vyzrážaním mliečnej bielkoviny z mlieka pôsobením syridla alebo iných vhodných koagulačných činidiel, zakýsaním a následným oddelením podielu srvátky.

Syry sú vo všeobecnosti dobrým zdrojom mnohých živín, a to konkrétne bielkovín, z ktorých najvýznamnejšiu technologickú úlohu zohráva kazeín, ten je pri procese výroby zrážaný. Ďalej sa v nich nachádzajú vitamíny rozpustné v tukoch a minerálne látky. V našich podmienkach je najčastejšie používaným mliekom na výrobu syrov mlieko kravské, je však možné použiť aj mlieko ovčie, kozie alebo mlieko iných cicavcov.

V tejto práci bude predmetom môjho záujmu predovšetkým problematika výroby syrov eidamského typu. Tento typ syru patrí medzi takzvané „sladké“ tvrdé syry. Vyznačuje sa žltavým sfarbením, tuhšou konzistenciou a výskytom drobných nepravidelných ôk bez povrchových trhlín. Chuť by mala byť jemná, mierne kyselková s orieškovými tónmi a primeranou slanosťou. Rovnako vôňa by mala byť jemná. Ide o pomerne populárne syry medzi spotrebiteľmi, obyčajne sa vyskytujúce v tvare gule, bochníku, bloku alebo vo forme plátkov.

Cieľom tejto bakalárskej práce je identifikácia a kvantifikácia prchavých aromaticky aktívnych látok. Sú to prchavé látky, ktoré dodávajú syru jeho charakteristickú chuť a vôňu. Modelové vzorky syrov boli vyrobené na Univerzite Tomáša Baťu v Zlíne, konkrétne sa jedná o päť vzoriek eidamských syrov v počiatkovej fáze zrenia (14 dní po výrobe), vyrobených za použitia rôznych mikrobiálnych štartovacích kultúr. Výsledky boli porovnané s obdobným typom syrov zakúpených v bežnej maloobchodnej sieti. Analýza bola uskutočnená pomocou metódy HS-SPME-GC-MS.

2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Legislatíva Českej republiky v súčasnej dobe definuje syr podľa vyhlášky č. 397/2016 Sb. ako „*mliečny výrobok vyrobený vyzrážaním mliečnej bielkoviny z mlieka pôsobením syridla alebo iných vhodných koagulačných činidiel, zakýsaním a oddelením podielu srvátky*“ [1].

V dnešnej dobe je známe veľké množstvo rôznych druhov syrov dodávaných v odlišných typoch, štýloch a textúrach, z čoho každý disponuje svojimi charakteristickými vlastnosťami a chuťou. Obsahujú esenciálne aminokyseliny, bielkoviny a tuk, ktoré slúžia ako zdroj energie, vápnik a vitamíny. Vďaka ich bohatému zloženiu sú nutrične plnohodnotnými potravinami [2, 3].

Základnou surovinou pre výrobu všetkých druhov syra je mlieko, ktoré musí spĺňať mikrobiologické a technologické požiadavky. Vlastnosti a kvalita mlieka priamo korelujú s kvalitou výsledného produktu. Jednotlivé zložky mlieka počas výroby syru podliehajú fyzikálno-chemickým a biochemickým zmenám [2, 3].

Z technologického hľadiska patrí výroba syrov k najnáročnejším mliekarenským technológiám. Je založená na zrážaní mlieka, následnom oddelení syroviny od srvátky a jej úprava podľa požadovaného produktu. Konečným štádiom výroby je zrenie, počas ktorého sa v syre vytvárajú aromaticky aktívne látky [3, 4].

2.1 Rozdelenie syrov

Syry, na rozdiel od iných potravín, je možné vďaka jasne definovaným presným parametrom ľahko správne zaradiť a ohodnotiť. Na trhu sa nachádza široké spektrum rôznych druhov syrov, ktoré je možné rozdeliť do kategórií podľa rôznych kritérií [5, 6].

Podľa technológie výroby sa syry delia na [3]:

- prírodné syry
- tavené syry
- imitácie syrov pripravené rekonštitúciou zložiek mlieka a mliečnych surovín
- analógy syrov (s náhradou mliečneho tuku rastlinnými tukmi)

Podľa obsahu vody v beztukovej syrovej hmote (viď Tabuľka 1) [3, 5]:

Tabuľka 1: Obsah vody v beztukovej syrovej hmote [3]

Syr	Voda v beztukovej hmote [%]
extra tvrdý	menej ako 47,0 vrátane
tvrdý	47,0-54,9
polotvrдый	55,0-61,9
polomäkký	62,0-68,0 vrátane
mäkký	viac ako 68,0

Podľa obsahu tuku v sušine (tvs) (viď Tabuľka 2) [3, 6]:

Tabuľka 2: Obsah tuku v sušine [3, 6]

Syr	Tvs [%]
vysoko tučný	viac ako 60 vrátane
plnotučný	viac ako 45 vrátane
polotučný	viac ako 25 vrátane
nízkotučný	viac ako 10 vrátane
odtučený	menej ako 10

Podľa spôsobu zrenia (viď Tabuľka 3) [3, 6]:

Tabuľka 3: Rozdelenie syrov podľa spôsobu zrenia [3, 6]

Mäkké nezrejúce syry	Tvarohové syry	
	Smotanové syry	
	Termizované syry	
	Parené syry	
	Biele syry	
Plesňové syry	Syry s plesňou na povrchu	
	Syry s plesňou v ceste	
Syry zrejúce pod mazom		
Syry s anaeróbnym zrením v celej hmote	Syry zrejúce v chlade	
	Syry s nízko dohrievanou syrovinou	Syry eidamského typu
		Syry s tvorbou ôk
		Syry čedarového typu
		Syry s pareného cesta
	Syry s vysoko dohrievanou syrovinou	Syry ementálskeho typu
		Syry typu moravský bochník
Syry na strúhanie		

2.2 Zloženie syrov z chemického hľadiska

Základnou surovinou pre výrobu všetkých druhov syrov je mlieko. Ide o biologickú tekutinu vylučovanú mliečnymi žľazami rôznych druhov cicavcov. Spracovávanie mlieka na syr je z ekonomického hľadiska významné len pokiaľ ide o mlieko kravské, ovčie, kozie a byvolie. Použitelnosť týchto druhov je ohraničená biologicky podmieneným laktačným cyklom, ktorý sa pri jednotlivých druhoch zvierat líši dĺžkou trvania. Pri výrobe syrov sa ako ekonomicky najvýhodnejšia možnosť najčastejšie používa mlieko kravské [5].

Chemické zloženie kravského mlieka nie je stále a závisí na rade faktorov, ktorými sú napríklad plemeno, výživa, aktuálny zdravotný stav a mnohé ďalšie. Napríklad obsah karoténov v rastlinnej výžive zvierat je v rozdielnych ročných obdobiach rôzny, čo má vplyv na svetlejšiu či tmavšiu farbu mlieka. Vo všeobecnosti je možné definovať „priemerné“ zloženie kravského mlieka. To pozostáva najmä z vody, ktorá tvorí 86-88 % a sušiny tvoriacej zvyškových 12-14 %. Sušina sa skladá z 3,1-3,8 % dusíkatých látok; 3,5-5,5 % mliečného tuku a 4,5-5 % mliečného cukru laktózy. Nachádzajú sa v nej ďalej vitamíny, minerálne látky a enzýmy [5, 7].

Pri procese výroby syru dochádza k zmenám obsahu jednotlivých zlúčenín oproti mlieku. Proces zahŕňa zvýšenie obsahu niektorých zložiek pôvodne kvapalnej fáze v priebehu jej zrážania. Dochádza k zvýšeniu obsahu bielkovín na 12,5-20,2 % v prípade mäkkých syrov a na 23,8-40,6 % pri tvrdých syroch, k zvýšeniu množstva tuku na 12,0-28,0 % v celkovej hmotnosti syru, alebo na 20-68 % v sušine. Zvýšeniu obsahu podliehajú aj vitamíny a minerálne látky. Naopak v prípade laktózy dochádza v priebehu výroby k zníženiu jej obsahu, zmena je spôsobená tým, že veľká časť sa vylúči spolu so srvátkou [8, 9].

2.2.1 Bielkoviny mlieka

Z celkového obsahu dusíkatých látok, ktoré sa nachádzajú sa v kravskom mlieku, činia 90-95 % hm. čisté bielkoviny, zvyšok pripadá ostatným dusíkatým látkam (močovina, amoniak, kreatín, enzýmy a iné) [7].

Podľa rozpustnosti pri pH prostredia približne 4,6 sa bielkoviny v mlieku delia na kazeínové a srvátkové. V prípade kravského mlieka je pomer kazeínových a srvátkových proteínov približne 4:1. Medzi základné frakcie kazeínového komplexu (približne 80 % hm.) sa zaraďujú štyri proteíny. Sú to α_{S1} -kazeín (približne 38-42 % hm.), α_{S2} -kazeín (približne 9-11 % hm.), β -kazeín (približne 32-35 % hm.), κ -kazeín (približne 10-15 % hm.). Kazeínové frakcie sa nachádzajú v mlieku, ako je uvedené v predchádzajúcom poradí, v približnom pomere 40:10:35:12. Medzi srvátkové bielkoviny (približne 20 % hm.) sa radí: α -laktalbumín (približne 25 % hm.), β -laktoglobulín (približne 50 % hm.), sérový albumín (približne 10 % hm.), imunoglobulíny (približne 10 % hm.), laktoferín, transferín a proteózo-peptóny [7, 10, 11].

2.2.1.1 Charakteristika kazeínového komplexu

Frakcie kazeínového komplexu sa v mlieku väčšinou nachádzajú vo forme kazeínových micel, tvorených sférickými jednotkami priemeru približne 10 nm. Vo forme voľných reťazcov sa vyskytujú len zriedkavo. Jednotlivé frakcie sú schopné medzi sebou asociovať v zmysle rovnakých, ale aj rozdielných frakcií. Môžu sa spolu spájať prostredníctvom vodíkových mostíkov a vápenatých iónov [7, 12].

α_{S1} -kazeín vykazuje hydrofilné vlastnosti a v prítomnosti vápenatých iónov tvorí nerozpustnú soľ. Voči vápenatým iónom ide o najviac citlivú frakciu kazeínu v porovnaní z ostatnými [7].

α_{S2} -kazeín podobne ako α_{S1} -kazeín sú považované za hydrofilné frakcie kazeínového komplexu. V prípade α_{S2} -kazeínu ide o najviac hydrofilnú frakciu, vďaka prítomnosti 11 fosfoserínových zbytkov kyseliny glutámovej. Rovnako ako α_{S1} -kazeín aj α_{S2} -kazeín vytvára v prítomnosti vápenatých iónov nerozpustnú soľ. Jeho citlivosť k vápenatým iónom je však o niečo nižšia ako v prípade α_{S1} -kazeínu [7].

Väčšinová časť β -kazeínu, na rozdiel od α_{S1} a α_{S2} -kazeínu, vykazuje hydrofóbne vlastnosti. β -kazeín je považovaný za najviac hydrofóbny kazeín zo 4 základných frakcií. Tvorba nerozpustných solí v prítomnosti vápenatých iónov je podmienená teplotou. Pri teplote nad 20 °C dochádza k tvorbe nerozpustných solí a pri teplote okolo 1 °C k ich tvorbe nedochádza [7].

κ -kazeín spolu s β -kazeínom tvoria hydrofóbnu zložku kazeínu. κ -kazeín sa nezráža v prostredí vápenatých iónov, čo je zapríčinené prítomnosťou iba jedného fosfoserínového zbytku. V kazeínových micelách vďaka tomu chráni ostatné kazeínové frakcie pred vyvrážením v prítomnosti vápenatých iónov. κ -kazeín vo svojej štruktúre obsahuje dôležité miesto, na ktorom sa v polohách 105 a 106 nachádzajú aminokyseliny fenylalanín a metionín. Rozštiepenie väzby medzi nimi je využívané pri sladkom zrážaní mlieka enzýmom chymozínom [7].

2.2.1.2 Charakteristika sérových bielkovín

β -laktoglobulín je typický globulárny proteín, ktorý ľahko denaturuje už pri teplotách nad 70 °C, čo má kľúčový dopad na vlastnosti mlieka a jeho vhodnosť pre výrobu jednotlivých produktov. Vykazuje vysokú schopnosť asociácie s ostatnými molekulami β -laktoglobulínu, ktorá je závislá na pH prostredia. Pri bežných hodnotách pH mlieka sa vyskytuje vo forme dimérov [7].

α -laktalbumín má vďaka väzbe vápenatého iónu vo svojej molekule vyššiu tepelnú stabilitu v porovnaní s β -laktoglobulínom. Je obsiahnutý vo všetkých mliekach, ktoré obsahujú laktózu. K jeho denaturácii pri bežných hodnotách pH mlieka dochádza až pri teplotách okolo 100 °C.

Pokiaľ je však hodnota pH prostredia nižšia ako 5,0, denaturuje veľmi ľahko aj pri nižších teplotách [7, 12].

Sérový albumín a imunoglobulíny sa v mlieku nachádzajú v zvýšených množstvách pri zápalových ochoreniach. Laktoferín je súčasťou antioxidantného systému mlieka a má aj bakteriostatické funkcie [7].

2.2.2 Lipidy mlieka

Mliečny tuk sa v čerstvom mlieku vyskytuje v podobe guľôčok pozostávajúcich z tukového jadra, okolo ktorého sa nachádza ochranný obal. Tuk nachádzajúci sa v mlieku prežúvavcov obsahuje vysoký podiel mastných kyselín s krátkym a stredne dlhým reťazcom. Počet atómov v reťazci je menší ako 20. Novovznikajúce mastné kyseliny sa tvoria pomocou acetyl-koenzýmu A, z toho dôvodu majú vždy párný počet atómov uhlíku a sú nasýtené [7, 5, 13].

Kravské mlieko obsahuje 3,5-4,5 % hm. lipidov, z nich približne 97-98 % hm. tvoria triacylglyceroly. Okrem triacylglycerolov sa v mlieku nachádzajú aj tzv. „minoritné lipidy“. Medzi tie patria diacylglyceroly (približne 0,28-0,59 % hm.), monoacylglyceroly (približne 0,16-0,38 % hm.), voľné mastné kyseliny (približne 0,10-0,44 % hm.), fosfolipidy (približne 0,20-1,00 % hm.), cholesterol (približne 0,20-0,50 % hm.) a estery cholesterolu [7, 5, 13].

Dôležitými sprievodnými produktmi mliečneho tuku sú zložky mlieka rozpustné v tuku, vyskytujúce sa v malom množstve. Sú to vitamíny rozpustné v tukoch A, D, E, K, alebo ich prekursori a karotén. Mliečny tuk slúži tiež ako zdroj esenciálnych mastných kyselín [7, 5, 13].

2.2.3 Sacharidy mlieka

Obsah sacharidov v kravskom mlieku je približne 4,5-5 % hm., z čoho jediným sacharidom vyskytujúcim sa vo vyššom množstve je laktóza, ktorá mlieku dodáva sladkú chuť. Laktóza je redukujúci disacharid zložený z D-galaktózy a D-glukózy spojených $\beta(1-4)$ glykozidickou väzbou. Vyskytuje sa v dvoch anoméroch, a to konkrétne α -laktóze a β -laktóze, z ktorých stabilnejšou formou je monohydrát α -anoméru. Jednotlivé anoméry medzi sebou môžu prechádzať v závislosti na podmienkach okolia, tento jav sa nazýva mutarotácia a je závislý predovšetkým na pH a teplote [5, 7, 8].

Vplyv laktózy na výťažnosť syrov je obmedzený, pretože veľká jej časť sa v priebehu výroby vylúči spolu so srvátkou. Prevažná časť zostatkovej laktózy je počas procesu výroby syrov premenená na kyselinu mliečnu prostredníctvom mikroorganizmov [5, 11].

Okrem laktózy sa v mlieku vyskytujú minoritné sacharidy, medzi ktoré sa radia D-glukóza, D-fruktóza, D-galaktóza, L-fruktóza, N-acetyl-D-galaktózamín, N-acetyl-D-glukózamín a iné. Ich koncentrácia je rádovo v jednotkách alebo desiatkach miligramov na liter mlieka [7].

2.2.4 Minerálne látky mlieka

Prirodzenou vedľajšou zložkou mlieka je komplexná zmes solí. Vyskytujú sa v mlieku predovšetkým ako sodné, draselné, vápenaté alebo horečnaté soli fosforečnanov, citrónanov, chloridov, uhličitanov alebo hydrogenuhličitanov. Primárnym významom minerálnych látok v mlieku je výživa mláďaťa. Táto zmes je dôležitá pre zásobovanie organizmu vápnikom, fosforom a horčíkom, ale aj stopovými prvkami ako zinok, železo alebo meď [5, 7].

Minerálne látky sa v mlieku môžu vyskytovať v disociovej forme, alebo ako koloidný systém. Výskyt jednotlivých foriem je podmienený predovšetkým hodnotou pH. Kľúčovú úlohu pri zrážaní mlieka zohráva vápnik. Pri poklese pH dochádza k disociácii koloidného fosforečnanu vápenatého, ktorý má význam pri kyslom zrážaní kazeínu [5, 7].

2.2.5 Vitamíny mlieka

Vitamíny v mlieku, podobne ako aj minerálne látky, nachádzajú svoje primárne uplatnenie vo výžive mláďat. Ich obsah závisí predovšetkým na zložení kŕmnej dávky, štádiu laktácie a jej poradí [7].

Zastúpené sú vitamíny lipofilného charakteru, konkrétne A, D, E, K a karotenoidy, ktoré sú provitamínmi A (organizmus z nich vitamíny dokáže syntetizovať). Obsah karoténov v mlieku priamo koreluje s charakteristickým žltým sfarbením mlieka a syra, ktorého sýtosť je spravidla vyššia v letných mesiacoch [5, 7, 9].

Z vitamínov hydrofilného charakteru sú zastúpené najmä B₁, B₂, B₆, B₁₂, ale aj vitamín C, H, kyselina listová a pantoténová. Vitamín C sa v mlieku nachádza len v zanedbateľnom množstve z hľadiska výživy, poskytuje však mlieku antioxidačnú ochranu. Vitamíny, predovšetkým skupiny B, môžu podporovať okrem iného aj činnosť baktérií mliečneho kvasenia. V syroch sa vyskytujú najmä lipofilné vitamíny, hydrofilné vo veľkej miere odchádzajú zo syroviny spolu so srvátkou [7, 14].

2.3 Syry s nízko dohrievanou syrovinou

Zo širokého spektra rôznych typov syrov boli pre experimentálnu časť tejto práce vybrané syry eidamského typu, preto im bude v nasledujúcich kapitolách venovaná hlavná pozornosť. Syry s nízko dohrievanou syrovinou spadajú pod väčšiu skupinu syrov s anaeróbnym zrením v celej hmote. Charakteristickým znakom je dohrievanie teplou vodou na teploty 34-40 °C. Pri tomto type výroby syru dochádza súčasne so zvyšujúcou sa teplotou aj k praniu syrového zrna, to znižuje obsah laktózy a reguluje priebeh prekysávania. Syry s nízkym pracím pomerom sú kyslejšie a majú sklon k trhlinám, naopak veľké množstvo pracej vody spôsobuje prázdnu chuť a nežiaducu gumovitú konzistenciu. Podiel odpustenej srvátky by mal byť pri syroch eidamského typu 20-40 % z objemu mlieka, a prídavok vody 50-80 % z odpustenej srvátky. Veľkosť syrového zrna sa pohybuje medzi 3-4 mm, zrno je lisované tlakom do 0,04 MPa [3, 6].

2.3.1 Syry eidamského typu

Syry eidamského typu patria u nás medzi jedny z najpopulárnejších a aj najviac konzumovaných. Zaraďujú sa do skupiny polotvrdých syrov holandského typu s dvomi hlavnými zástupcami, syrom gouda a eidamským syrom, ktoré boli pomenované podľa holandských miest. Obyčajne sa vyrábajú v tvare gule, bochníku, tehly alebo bloku. Vyznačujú sa jemnou syrovo čistou mierne kyslou chuťou a môžu vo svojej štruktúre obsahovať ojedinelé menšie oká. Konzistencia by mala byť jemne plastická, nie pružná ani gumovitá, v prípade starších syrov až mierne krehká. Dĺžka zrenia pri tomto druhu syra sa udáva minimálne 5 týždňov, avšak typická chuť a vôňa sa prejaví až po 2 mesiacoch. Priebeh zrenia závisí od viacerých parametrov, ako veľkosť syru, alebo to, či syr zraje vo fólii alebo pod náterom. Počas zrenia sa v syre vytvárajú aromaticky aktívne látky, ktoré ovplyvňujú jeho senzorické vlastnosti, chuť dobre vyzretého syru je mierne korenistá [3, 5, 6, 13].

2.4 Technológia výroby syrov

Všeobecne je základná výrobná technológia všetkých druhov syrov podobná, ale aj malé zmeny pri výrobe sa prejavujú veľkými rozdielmi výsledných produktov. Mlieko používané pri výrobe musí spĺňať vysoké akostné požiadavky, ako je dobrá zrážanlivosť a pôvod od dobre živých zdravých dojníc, nemalo by mať zvýšenú kyslosť a vysoký obsah mikroorganizmov [3, 15].

2.4.1 Príprava mlieka pred syrením

Prvým krokom po prijatí mlieka je odstránenie prípadných mechanických nečistôt filtráciou alebo centrifugáciou [6].

Ďalším krokom je tepelné ošetrenie mlieka pozostávajúce z pasterizácie, prípadne termizácie. Úlohou termizácie je redukcia nežiadúcich zmien mlieka pri skladovaní v chlade. Pre výrobu syrov s nízko dohrievanou syrovinou sa používa šetrná pasterizácia pozostávajúca zo zohrevu mlieka na teplotu min. 72 °C s výdržou 15 sekúnd. Dôvodom použitia daného druhu pasterizácie je ochrana sérových bielkovín pred denaturáciou, ktorá vyvoláva tvorbu ich komplexu s kazeínmi, čo zhoršuje syriteľnosť mlieka zabránením prístupu syridla ku κ -kazeínu. Výroba syrov zo surového mlieka bez použitia pasterizácie vyžaduje dôslednú veterinárnu kontrolu a je povolená len v niektorých krajinách [3, 6, 13, 15].

V priebehu tepelného ošetrenia dochádza tiež k štandardizácii mlieka. Úlohou tohto technologického kroku je dosiahnutie požadovaného obsahu tuku v sušine, taktiež je potrebné dosiahnutie aj požadovaného obsahu bielkovín. Obsah tuku a bielkovín v mlieku sa totiž v priebehu roka mení [3, 6].

Na ochranu syrov proti neskorému dureniu sa pridáva do dlhšie zrejúcich syrov KNO_3 v priemernom množstve 100 g/1000 l mlieka. Jeho úlohou je redukcia spór *Clostridium tyrobutyricum*, ktoré durenie spôsobujú. Prídavok KNO_3 môže nahradiť proces baktofugácie pri 8 000 až 10 000 g redukujúci 95-97 % spór, alebo mikrofiltrácie redukujúcej až 99,5 % spór. Osvedčeným spôsobom ochrany je aj zaočkovanie pasterizovaného mlieka dávkou smotanovej kultúry (0,01-0,05 %) a ponechanie do nasledujúceho dňa. Vysoký prídavok KNO_3 môže spôsobiť farebné vady alebo brzdenie činnosti kyselinotvorných kultúr [3, 6, 15].

Počas pasterizácie dochádza v mlieku ku zhoršeniu jeho syriteľnosti, preto sa k nemu pridáva chlorid vápenatý v množstve maximálne 200g/1000 l mlieka, ktorý jeho syriteľnosť zlepšuje a zvyšuje pevnosť vzniknutého gélu. Na zlepšenie farby syrov sa používajú farbivá ako *anato* alebo karotén [3, 6].

Pripravené mlieko je napustené do syrárskych vaní (obsah do 5000 l) alebo výrobníkov kruhového tvaru (obsah do 12 000 l). Syrársky výrobnik je nerezová dvojplášťová nádoba s krytom obsahujúca nosník s aparátúrou pozostávajúcou z krájacieho zariadenia – hárf. Mlieko je tu upravené na teplotu 32 °C zohrevom alebo chladením v tepelnom výmenníku. Po zahriatí nasleduje prídavok čistých mliekarských kultúr, konkrétne mezofilných, v prípade tvrdých syrov tiež termofilných. Pri výrobe eidamských syrov sa najčastejšie používa termofilná kultúra *Lbc casei*. Zaočkovanie prebieha za stáleho miešania 30-45 minút pred syrením [3, 6, 13, 16].

Mezofilná (smotanová) kultúra je tvorená kokmi rodu *Lactococcus* a *Leuconostoc*, konkrétne *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, ktorých úloha spočíva v homofermentatívnom rozklade laktózy na L(+) izomér kyseliny mliečnej. Ďalej sú to koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, ktoré sa okrem produkcie kyseliny mliečnej z laktózy vyznačujú rozkladom citrátu v mlieku na oxid uhličitý a zmes štvoruhlíkatých zlúčenín [6].

2.4.2 Syrenie

Základným ťažiskovým krokom výroby syrov je zrážanie mlieka (syrenie). Syrenie môže prebiehať niekoľkými spôsobmi, môže dochádzať k zrážaniu kazeínu vplyvom zníženia pH prostredníctvom kyseliny mliečnej produkovanej baktériami mliečného kvasenia, vtedy hovoríme o kyslom zrážaní. Zrážanie je založené na znížení pH na hodnotu blízku izoelektrickému bodu kazeínu, týmto spôsobom sú vyrábané najmä tvarohy a len niekoľko málo druhov syrov. Ďalej môže ku zrážaniu bielkoviny dochádzať prídavkom syridla založeného na

enzýmovom štiepení kazeínu. V tom prípade hovoríme o sladkom zrážaní, pomocou ktorého sa vyrába väčšina ostatných syrov. Posledným spôsobom je kombinácia oboch spomenutých faktorov v rôznych vzájomných pomeroch [3, 6, 8, 15].

Analyzované eidamské syry patria medzi syry vyrobené sladkým zrážaním. Koagulácia za pomoci syridla je založená na špecifickom enzymatickom štiepení peptidovej väzby κ -kazeínu, konkrétne dochádza k hydrolyze peptidovej väzby medzi 105. a 106. aminokyselinou κ -kazeínovej frakcie. Produktom hydrolytickej reakcie je para- κ -kazeín a κ -kazeínmakropeptid. Para- κ -kazeín v kazeínovej micelle na rozdiel od κ -kazeínu neposkytuje ostatným frakciám ochranu a dochádza k ich zrážaniu vápenatými iónmi. κ -kazeínmakropeptid, obsahujúci hydrofilnú časť molekuly κ -kazeínu s viazanými oligosacharidmi, prechádza do srvátky [6, 8, 17].

Syrenie v prípade nízkodohrievaných syrov prebieha pri teplote 18-20 °C a celková doba zrážania je 35-40 minút. Ako syridlo sa môže používať klasicky chimozín, vyrábaný extrakciou z telacích žalúdkov, alebo ďalšie živočíšne pepsínové syridlá. Alternatívou k živočíšnym preparátom môžu byť syridlá mikrobiálneho alebo rastlinného pôvodu. Nedostatok chymozínu je v súčasnosti riešený rekombinantnou syntézou tohto enzýmu pomocou produkčných mikroorganizmov [6, 13, 15].

2.4.3 Spracovanie syroviny

Hlavným účelom spracovania syroviny je tvorba syrových zrn a oddelenie potrebného množstva srvátky zo štruktúry gélu. Vo významnej miere sa tu uplatňuje synerezia, tá je ovplyvňovaná vonkajšími faktormi ako teplota, pokles pH, alebo tlak. Táto fáza výroby sa začína krájaním a drobením syroviny pomocou tzv. syrárskych hárf, ktoré sú tvorené plochými alebo strunovými nožmi uloženými v pevnom ráme. Krájanie prebieha v syrárskom výrobníku. Veľkosť zrna sa v prípade syrov s nízko dohrievanou syrovinou pohybuje medzi 5-10 mm a doba krájania je 10-15 minút [3, 6, 13, 15].

Ďalším krokom po nakrájaní syroviny je jej šetrné miešanie v uvoľnenej srvátke. Intenzita miešania musí byť primeraná krehkosti syrového zrna, ale zároveň dostatočná, aby nedochádzalo k sedimentácii a vzájomnému lepeniu zrn [3, 6].

Počas výroby polotvrdých a tvrdých syrov sú v procese zaradené operácie dohrievania a dosušania, prebiehajúce za stáleho miešania. Dohrievanie je proces, počas ktorého je zvyšovaná teplota syroviny z teploty syrenia na teplotu dosušania, čím je z nej uvoľnené väčšie množstvo srvátky. Dosušanie predstavuje výdrž pri tejto teplote. Teplota, na ktorú sa syrovina dohrieva je v prípade syrov eidamského typu 38-40 °C a proces dosušania trvá 20 minút [3, 6, 13, 15].

Pri eidamskom type syrov (gouda, eidam) sa do výrobného postupu zaraďuje aj vyššie zmienené pranie syrového zrna, pri ktorom sa znižuje obsah laktózy. Prebieha prostredníctvom odpustenia 20-30 % srvátky, ktorá je nahradená 10-20 % jej objemu vlažnou vodou. Dochádza teda súčasne aj k dohrievaniu syroviny. Odobratie vody musí byť dostatočne rýchle, aby nedošlo k zlepeniu syrového zrna [3, 6, 13].

2.4.4 Formovanie a lisovanie

Formovanie sa začína potom, ako je oddelená srvátka od syrového zrna. V spojení s lisovaním dávajú syru jeho výsledný tvar a veľkosť [3, 6].

Úlohou formovania nie je len nadobudnutie požadovaného tvaru, ale aj dostatočné hĺbkové prepojenie zrn. Oddelenie srvátky sa v súčasnosti najčastejšie uskutočňuje v predlisovacej vani, ktorej dno je tvorené pásom tkaniny z umelého vlákna a steny sú perforované. Pomocou veka

vane je predlisovaný plát syroviny, ktorý ďalej postupuje ku krájaciemu zariadeniu. Po krájaní je syrovina vložená do perforovaných lisovacích foriem. Proces predlisovania v prípade syrov s nízko dohrievanou syrovinou trvá 10-15 minút [6, 13, 15].

Syry tvrdé a polotvrdé sa lisujú vo formách postupným narastaním tlaku pneumatických alebo hydraulických lisov. Pozvoľné lisovanie je dôležité preto, aby nedochádzalo k uzavretiu povrchu syra, čo by znemožnilo ďalší odtok srvátky. Odtok srvátky je najintenzívnejší na začiatku lisovania. Syry s nízko dohrievanou syrovinou sa lisujú narastajúcim tlakom v rozmedzí 0,005-0,04 MPa, pri teplote 18-20 °C, po dobu 2-4 hodín. Počas lisovania sú minimálne 2-krát otáčané. Proces lisovania syrom okrem finálneho tvaru a oddelenia srvátky zaisťuje aj požadovanú textúru [3, 6, 13, 15].

2.4.5 Solenie

Solenie syrov má vplyv na ich výslednú chuť, údržnosť a spevňuje ich povrch. Ďalej pri solení dochádza k ovplyvneniu mikrobiálnych kultúr a enzýmov pri zrení. Okrem ostatných procedúr, aj pri solení dochádza k uvoľňovaniu srvátky, hnacou silou je zvýšený osmotický tlak medzi zrnami pôsobiaci na bielkovinovú zložku. Výmena vápenatých iónov za sodíkové prebieha vďaka difúzii a prispieva k zjemneniu konzistencie syra. Obsah soli v hotových nízкодohrievaných syroch po vysolení je $2,0 \pm 0,5$ % [3, 6, 13, 15].

Solenie môže byť uskutočnené niekoľkými spôsobmi: do zrna, na sucho a v soľnom kúpeli. Solenie do zrna je realizované pridávaním suchej soli do pomletej alebo rozkrájanej syroviny pred procesom formovania. Výhoda tohto postupu spočíva v rovnomernom presolení celého syra v krátkom čase. Ďalším spôsobom je solenie na sucho, pri ktorom je suchá soľ alebo soľná kaša opakovane rozotieraná po povrchu syra. Poslednou a najpoužívanejšou metódou je solenie v soľnom kúpeli. Koncentrácia NaCl v kúpeli sa pohybuje najčastejšie medzi 18-22 %. Doba pobytu syru v kúpeli je závislá na veľkosti, tvare a požadovanom obsahu soli. Soľný kúpeľ je nutné počas procesu priebežne regenerovať prostredníctvom pridávania NaCl, ktorý postupne prechádza do syrov. Taktiež je nutná úprava kyslosti kúpeľa a periodická filtrácia z dôvodu odstránenia bielkovinovej zrazeniny. Precedený roztok je ďalej sterilizovaný povarením, aby sa predišlo rozmnožovaniu nežiadúcej halofilnej mikroflóry. Uvedené postupy solenia je možné kombinovať [3, 6, 15].

Nízкодohrievané syry sú solené buď na sucho 1-krát denne, pri teplote 12-15 °C po dobu 3 dní, alebo v soľnom kúpeli 2 dni. Teplota soľného kúpeľa je rovnako 12-15 °C a jeho kyslosť je charakterizovaná hodnotou pH 5,1 [13].

2.4.6 Ochrana povrchu syru pri zrení

Syry, ktoré zrejú v celej hmote, sú po solení opatrené ochranným plastovým náterom, fóliou alebo sú povrchovo ošetrované soľným roztokom či ľanovým olejom. Úlohou týchto ochranných prvkov, predovšetkým fólií a náterov, je zamedzenie povrchovej kontaminácie plesňami a zníženie strát vysychaním počas procesu zrenia [3, 6].

Syry s nízko dohrievanou syrovinou sa obyčajne pokrývajú teplom zmršťiteľnou fóliou zloženou z polyvinylchlorid-polyvinylidenchlorid (Cryovac, Saran). Táto fólia predstavuje bariéru priepustnú pre CO₂ a nepriepustnú pre kyslík a vodu, výsledkom tohoto kroku je minimalizácia činnosti povrchovej mikroflóry a väd spôsobených hromadením vznikajúceho plynu v syrovej hmote [3, 6].

2.4.7 Zrenie

Zrenie syrov predstavuje zložitý komplexný proces zmien zahrňujúci mikrobiologické a biochemické deje, ktoré sú zodpovedné za vznik charakteristických sensoricky aktívnych látok a výslednej textúry syra. Zmeny sú sprostredkované enzymatickou činnosťou mliekarenských kultúr a syridlových enzýmov. Vznik aromatických zložiek v priebehu zrenia primárne podmieňujú proteolýza, glykolýza a lipolýza [3, 6, 18].

Všeobecne je možné zrenie rozdeliť na dve základné časti, predbežné a hlavné. Podľa spôsobu zrenia sa syry delia na syry zrejúce anaeróbne v celej hmote syra alebo aeróbne zrejúce od povrchu smerom dovnútra. Predbežné zrenie prebieha ešte počas spracovania mlieka, syroviny, formovaní a solení. Je charakteristické fermentáciou zvyšnej laktózy prostredníctvom kyskových baktérií a prebieha rýchlo [3, 6, 18].

Počas hlavného zrenia dochádza k zmenám takmer každej zložky mlieka, predovšetkým proteolýza predstavuje jeden z najdôležitejších dejov tejto fázy. Na proteolýze sa podieľa najmä syridlo, mikrobiálne proteolytické enzýmy a prirodzene sa v mlieku vyskytujúca proteáza plazmín. Najskôr dochádza k štepeniu parakazeínu syridlom, to urýchľuje pôsobenie mikrobiálnych enzýmov. Produktom proteolýzy sú voľné aminokyseliny, ktorých koncentrácia závisí na druhu syra, použitej technológii a podmienkach zrenia. Ďalším dejom prebiehajúcim pri hlavnom zrení je lipolýza. Lipolýza je najvýraznejšia u plesňových syrov, v prípade nízkodohrievaných syrov prebieha len veľmi mierne a jej zvýšená intenzita vedie k nežiaducim defektným prejavom, ako napríklad zatuchnutosť. Prebieha prostredníctvom prítomnosti lipolytických enzýmov, štepiacich esterovú väzbu medzi masnými kyselinami a glycerolom. Konečným primárnym produktom sú voľné masné kyseliny [3, 6, 18].

Samotné zrenie prebieha v zrecích pivniciach s riadenou teplotou klimatizovaného a filtrovaného vzduchu. Zrenie syrov s nízkodohrievanou syrovinou je realizované v pivniciach pri relatívnej vlhkosti 80-90 % a teplote medzi 12-16 °C. Počas prvých dvoch týždňov zrenia sú syry ošetrované a otáčané každý druhý deň, počas nasledujúceho obdobia sa otáčajú dvakrát týždenne, a od druhého mesiaca zrenia už len raz za týždeň. Otáčanie má predísť deformovaniu, nerovnomernostiam a vysychaniu počas zrenia [3, 13].

2.5 Sensoricky aktívne látky

Všeobecne je sensorická akosť potravín určovaná prítomnosťou sensoricky aktívnych látok, ktoré sú už podľa názvu primárne zaznamenávané prostredníctvom zmyslov. Ide teda o látky vonné, vnímané čuchovými receptormi, chuťové látky vyhodnocované pomocou chuti, a látky dodávajúce potravinám farbu a textúru. Vonné látky sú vo vode málo rozpustné až nerozpustné, prevažne nepolárne, naproti tomu chuťové látky sú zvyčajne vo vode rozpustné a polárne. Sensoricky aktívne látky sa podľa pôvodu rozdeľujú na primárne, ktoré sú už v potravinách prítomné ako druhotné metabolity vnútrobunkových procesov, a sekundárne, ktoré v potravinách vznikajú v priebehu spracovania alebo skladovania [9, 19].

Predmetom tejto práce bude stanovenie vonných, takzvaných aromaticky aktívnych, látok nachádzajúcich sa v syroch eidamského typu. Medzi tieto látky sa radia niektoré uhl'ovodíky, ale väčšina aromaticky aktívnych látok patrí k derivátom kyslíkatým (alkoholy, étery, aldehydy, ketóny, karboxylové kyseliny a ich estery), dusíkatým (amíny, dusíkaté heterocykly) alebo sírnym. Týmto sú venované nasledujúce kapitoly [9, 19].

2.5.1 Uhl'ovodíky

Uhl'ovodíky sa najčastejšie vyskytujú v potravinách ako zložky silíc a lipidov. Môžu sa vyskytovať ako primárne látky tvoriace prirodzenú zložku surovín, alebo častejšie ako

sekundárne látky, ktoré v potravinách vznikajú prostredníctvom enzýmových a chemických reakcií pri skladovaní a spracovaní. Len zriedka sú využívané k priamej aromatizácii potravín, častejšie slúžia ako hlavné suroviny pre syntézu iných vonných látok. Alifatické uhľovodíky a ich zmesi napríklad nachádzajú uplatnenie v priemysle vonných a chuťových látok aj ako rozpúšťadlá. Podľa štruktúry uhľovodíkov vyskytujúcich sa v potravinách je ich možné rozdeliť na alifatické, alicyklické a aromatické, pričom najväčší význam z hľadiska vonných a chuťových látok majú terpénové uhľovodíky. Alifatické a alicyklické uhľovodíky, nasýtené aj nenasýtené, sú bežnými sprievodnými látkami všetkých rastlinných olejov a živočíšnych tukov. Aromatické uhľovodíky sa až na pár výnimiek vyskytujú v potravinách ako prírodné látky len vzácné. Bežné aromatické uhľovodíky (benzén, toluén, xylén...) sú v potravinách považované spravidla za kontaminanty [9].

2.5.2 Alkoholy

Alkoholy sa vyskytujú v potravinách rastlinného aj živočíšneho pôvodu, kde figurujú ako primárne a sekundárne chuťové i vonné látky. Vznikajú ako prirodzené zložky potravín enzýmovými reakciami prevažne zo sacharidov a aminokyselín. Uplatnenie ako aromatické látky nachádzajú hlavne voľné primárne alkoholy a ich estery, najmä v ovocí a alkoholických nápojoch. Medzi prírodné vonné látky sa radia predovšetkým nižšie alifatické nasýtené a nenasýtené alkoholy, obzvlášť monoterpénové a seskviterpénové. V prípade vyšších terpénov sa ako vonné látky uplatňujú ich rozkladné produkty. Zriedkavo sa ako vonné látky môžu označovať aj málo prchavé vyššie alifatické alkoholy. Na aromatizovanie potravín sú využívané alkoholy s 15-18 atómami uhlíku v molekulách. Vyššie alkoholy sa používajú len zriedkavo, a nižšie slúžia na výrobu príslušných esterov, acetálov a iných zložiek k ochucovaniu potravín alebo ako aditíva. Významnými reakciami alkoholov v potravinách sú oxidácia a tvorba esterov s organickými kyselinami, ktoré sú väčšinou enzymaticky katalyzované [9, 19, 20].

Medzi primárne nižšie alifatické alkoholy patrí metanol a etanol. Metanol je základný alifatický nasýtený alkohol, ktorý sa vyskytuje v rastlinných materiáloch najčastejšie vo forme pektínov a esterov aromatických kyselín. Voľný metanol vzniká predovšetkým hydrolyzou pektínov katalyzovanou pektínesterázami. Esterovo viazaný etanol v malom množstve, je bežnou súčasťou arómy širokej skupiny potravín. Voľný etanol spolu s oxidom uhľíčitým a sprievodnými látkami vzniká ako hlavný produkt alkoholového kvasenia prostredníctvom odbúravania sacharidov kvasinkami. Vyskytuje sa ako súčasť silíc ovocia, v prchavom podiele aromatických zložiek vo forme esterov mastných kyselín alebo v prítomnosti iných alkoholov v mliečne fermentovaných výrobkoch. Etanol nie je považovaný za významnú aromatickú látku, avšak jeho vplyv na vôňu a chuť je značný [9, 19, 20].

Pri etanolovom kvasení môže vzniknúť v malom množstve aj rada vyšších alifatických alkoholov z rôznych prekursorov. Skupina vyšších alkoholov sa označuje ako pribudlina a jej najčastejšie prítomnou zložkou sú izoamylalkohol a izobutylalkohol [9, 20].

Súčasťou arómy rastlinných produktov môžu byť aj niektoré nenasýtené alkoholy, ktorých prekuzormi sú esenciálne mastné kyseliny. Monoterpénové a seskviterpénové alkoholy sa vyskytujú ako charakteristické zložky rôznych silíc [9, 20].

Aromatické alkoholy sa nachádzajú v potravinách buď ako prirodzená zložka rastlinného pôvodu vo forme silíc, alebo vznikajú sekundárne prostredníctvom niektorých technologických procesov, najmä fermentačných a termických. Najznámejšími zástupcami tejto skupiny sú benzylalkohol, 2-fenyletanol a škoricový alkohol [9, 20].

2.5.3 Étery

Étery, ktoré sa nachádzajú v potravinách, môžu byť symetrické, asymetrické alifatické, alicyklické a aromatické. Ako vonné a chuťové látky sa však étery vo veľkej miere neuplatňujú. Medzi vonné a chuťové látky patria aromatické étery a étery odvodené od mono- a seskviterpénov. Niektoré alkyarylétery sa vyskytujú v potravinách ako zložky silíc rôznych druhov korenia, ale aj ako sekundárne aromatické látky. Za primárne zložky arómy mnohých potravín je možné považovať epoxidy terpénov, ako napríklad 1,2-epoxidy (oxirány) a 1,4-epoxidy (tetrahydrofurány). Tieto epoxidy môžu vznikajú ako sekundárne produkty oxidácie karotenoidových pigmentov, steroidov, mastných kyselín, polycyklických aromatických kyselín a ďalších zlúčenín. Étery sú v kyslom aj alkalickom prostredí pomerne stále, dochádza u nich však ľahko k oxidácii za vzniku príslušných hydroperoxidov často prechádzajúcich na termolabilné polymérne peroxidy [9].

2.5.4 Karbonylové zlúčeniny

Karbonylové zlúčeniny sú základne delené na aldehydy a ketóny podľa toho, či obsahujú aldehydovú alebo ketoskupinu vo svojich molekulách. Ako prchavé látky patria k najvýznamnejším vonným a chuťovým zložkám potravín, kde sa môžu vyskytovať v podobe primárnych alebo sekundárnych aromaticky aktívnych látok. Ich vplyv na arómu potravín býva často žiadúci, avšak v niektorých prípadoch to môže byť aj naopak, vtedy ich považujeme za indikátory negatívnych sensorických a výživových zmien. Príčinou týchto nežiadúcich zmien bývajú väčšinou produkty oxidácie nenasýtených mastných kyselín [9, 19, 20].

Ku skupine karbonylových zlúčenín sa taktiež zaraďuje skupina neprchavých polárnych látok, ktorých zástupcami sú napríklad redukujúce cukry alebo niektoré produkty ich rozkladu. Tieto sensoricky aktívne látky sú často prekurzormi sladkej chuti potravín [9].

2.5.4.1 Aldehydy

Aldehydy v potravinách sa vyskytujú ako alifatické, aromatické, terpénové a heterocyklické. Najčastejšie vznikajú v potravinách pri enzýmovom odbúravaní aminokyselín ako sekundárne produkty alkoholového alebo mliečneho kvasenia. Ďalej Streckerovou degradáciou pri termických procesoch alebo oxidáciou nenasýtených mastných kyselín [9, 20].

Alifatické aldehydy ovplyvňujú sensorické vlastnosti potravín v závislosti na počte uhlíkov v reťazci. Aldehydy s C_1 - C_7 sa vyznačujú nepríjemnou vôňou, naproti tomu C_8 - C_{14} disponujú príjemnou arómou, nad C_{14} sa už nejdená o prchavé aldehydy. Najčastejšie prítomné alifatické aldehydy v potravinách sú metanal (mlieko, syr, alkoholické nápoje), etanal (liehoviny) a všetky ostatné aldehydy v rade až po dodekanal [9, 19, 20].

Z terpénových aldehydov majú praktický význam monoterpénové aldehydy a výnimočne aj niektoré seskviterpénové aldehydy. V prípade monoterpénových sú to najmä citral a, citral b, vyskytujúce sa ako súčasť silíc citrusových plodov a korenín [9, 20].

Medzi aromatické aldehydy tvoriace vonné a chuťové zložky potravín sa zaraďujú napríklad benzaldehyd, voľný alebo viazaný v kyanogénnych glykozidoch. Ďalej škoricový aldehyd, anízaldehyd, vanilín, etylvanilín a iné [9, 20].

Najvýznamnejšími heterocyklickými aldehydmi sú 2-furankarbaldehyd a 5-hydroxymetyl-2-furankarbaldehyd, vznikajúce termickým rozkladom pentóz alebo zo sacharidov ako produkty ich dehydratácie [9, 20].

2.5.4.2 Ketóny

Alifatické ketóny sa nachádzajú v potravinách ako nasýtené a nenasýtené, obsahujú 3-17 atómov uhlíku vo svojich molekulách a môžu vznikať niekoľkými rôznymi spôsobmi. Ketóny s vyššou molekulovou hmotnosťou, najmä metylketóny, sú žiadúce napríklad ako súčasť arómy niektorých plesnivých syrov, môžu byť však aj nežiadúce pri ketónovom tuchnutí tukov. Metylketóny vznikajú v tukoch a v potravinách obsahujúcich tuky odbúraním lipidov pomocou niektorých mikroorganizmov. Najčastejšie sa vyskytujúcimi ketónmi sú propanón (acetón) až pentadekanón. Acetón sa v malom množstve nachádza ako zložka všetkých biologických substrátov. Je to metabolit mnohých mikroorganizmov, ktorý vzniká dekarboxyláciou 3-oxobutánovej kyseliny tvoriacej sa ako medziprodukt degradácie mastných kyselín [9, 19, 20].

Zo skupiny terpénových ketónov majú význam ako aromatické látky iba monoterpénové ketóny. Konkrétne je to karvón tvoriaci zložku rasce a mentón vyskytujúci sa v mäte a v majoránke [9, 20].

Základnou látkou aromatických ketónov je acetofenón (fenylmetylketón), ktorý sa v malom množstve vyskytuje ako zložka niektorých rastlinných silíc [9, 20].

2.5.5 Kyseliny

Karboxylové kyseliny tvoria významnú zložku niektorých druhov potravín, hlavne produktov rastlinného pôvodu. Ovplyvňujú viaceré vlastnosti potravín, ako napríklad priebeh enzýmových a chemických reakcií, mikrobiologickú stabilitu v priebehu skladovania aj spracovania, a v neposlednej rade aj ich senzorickú kvalitu. Potraviny obsahujú najmä karboxylové kyseliny alifatické, alicyklické a aromatické alebo heterocyklické. Ďalej sa rozlišujú monokarboxylové kyseliny s jednou karboxylovou skupinou v molekule a polykarboxylové kyseliny obsahujúce niekoľko karboxylových skupín. Vonný charakter majú najmä nižšie mastné kyseliny a niektoré aromatické kyseliny. Viacsýtne karboxylové kyseliny a alifatické kyseliny, kyselina mliečna a octová sa uplatňujú ako chuťové látky. Za vonné a chuťové látky sa do istej miery dajú považovať aj mastné kyseliny so stredne dlhým uhlíkovým reťazcom [9, 19, 20].

Ako nižšie mastné kyseliny sú brané nasýtené monokarboxylové kyseliny s maximálne 10 atómami uhlíku v molekule. Medzi najvýznamnejšie z tejto rady patria kyseliny mravčia, octová, propionová, maslová, izomaslová a ďalšie. Najbežnejšou monokarboxylovou kyselinou v potravinách je kyselina octová, ktorá tvorí zložku ovocia a potravín produkovaných kvasnými procesmi. Kyselina maslová sa spolu s ďalšími kyselinami vyskytuje v mliečnom tuku ako vedľajší produkt fermentácie [9, 20].

Jednými z najvýznamnejších nositeľov kyslej chuti potravín sú alifatické hydroxykyseliny. Do tejto skupiny sa zaraďujú kyseliny glykolová, mliečna, glycerová, jablčná a iné. Najdôležitejšou je kyselina mliečna, vyskytujúca sa v D- a L-konformácií. L-mliečna kyselina vzniká najmä anaeróbnou glykolózou z glykogénu. Obe konformácie sa tvoria fermentáciou sacharidov a vyskytujú sa v mliečne zakysaných výrobkoch [9, 20].

Z aromatických karboxylových kyselín je najjednoduchšou kyselina benzoová, ktorá sa vyskytuje najmä v rastlinných siliciach vo forme esterov. Ďalej je ako nenasýtená aromatická kyselina pomerne rozšírená kyselina škoricová, tvoriaca súčasť škoricovej silice. Kyselina hydroxybenzoová a protocatechová sú tiež významnými aromatickými kyselinami [9, 20].

2.5.6 Estery

Estery sa vyskytujú v potravinách často v prítomnosti organických kyselín. Sú to produkty reakcie kyselín s alkoholmi patriace k najrozšírenejším zlúčeninám. Najčastejšie prítomnými sú estery jednosýtnych kyselín, estery viacsýtnych kyselín nie sú už tak časté. Dôležitými vonnými látkami sú estery nižších mastných a aromatických kyselín s nižšími alifatickými a aromatickými alkoholmi. Tieto estery tvoria súčasť primárnej arómy niektorých rastlinných surovín. Sekundárne môžu vznikajúť v malom množstve pri dlhodobom skladovaní a zahreве potravín. Najčastejšie sa vyskytujúci nižšími mastnými kyselinami v týchto esteroch sú kyselina octová, mravčia, propionová, maslová a ďalšie, z alkoholov najmä etanol, ale aj metanol, butanol a iné. Estery vyšších mastných kyselín sú radené k lipidom a sprievodným látkam lipidov, niektoré z nich majú vonný charakter, ale väčšinou sa jedná o látky chuťové alebo chuťovo indiferentné. Vznik esterov je podmienený najčastejšie enzymatickou reakciou. V prípade nadbytku vody v potravinárskom materiáli môže dochádzať k ich hydrolýze, pri ktorej vznikajú voľné kyseliny, táto reakcia je z pohľadu arómy potravín nežiaduca [9, 19, 20].

2.5.7 Aromaticky aktívne látky v syroch

Syry obsahujú veľké množstvo aromaticky aktívnych látok, ktoré sa pri rôznych druhoch syra v ich obsahu navzájom odlišujú ako kvalitatívne, tak aj kvantitatívne. Výsledná syrová aróma pozostáva z jemnej rovnováhy zložitej zmesi početne zastúpených zložiek. Typické aromatické vlastnosti sú spôsobené prchavými látkami vznikajúcimi lipolýzou, proteolýzou a metabolizmom laktózy, laktátu a citrátu. Tieto primárne biochemické procesy v syroch prebiehajú počas doby zrenia a okrem aromatických vlastností ovplyvňujú tiež vývoj textúry [9, 21, 22, 23].

Prostredníctvom lipolýzy dochádza k degradácii prítomných lipidov na mastné kyseliny, ktoré sú hlavnými prekursorami sekundárnych produktov, konkrétne ide o metylketóny, voľné mastné kyseliny, aldehydy, laktóny a estery. Produktmi rozkladu kazeínov počas proteolýzy sú peptidy a aminokyseliny. V priebehu zrenia dochádza k enzymatickej degradácii aminokyselín, pri ktorej vznikajú prchavé látky ovplyvňujúce aromatické vlastnosti syrov. Laktóza, laktát a citrát prispievajú k tvorbe diacetylu, acetónu, etanolu a acetátu [21, 22].

2.5.7.1 Metabolizmus zostatkovej laktózy, laktátu a citrátu

Charakteristickým znakom výroby syra je konverzia laktózy na laktát za pomoci štartovacích mikrobiálnych kultúr. Väčšina laktózy prítomnej v syrovine odchádza v priebehu výroby spolu so srvátkou. Len malé množstvo laktózy, ktoré ostane prítomné v syrovine, je ďalej metabolizované, v prípade holandského typu syra je to približne 1,4 %. Táto zvyšková laktóza je metabolizovaná v počiatočných štádiách zrenia pomocou štartovacích alebo neštartovacích baktérií mliečneho kvasenia. Pomocou štartovacích mikrobiálnych kultúr a v prítomnosti nízkej koncentrácie soli je laktóza konvertovaná hlavne na L-laktát. D-laktát vzniká premenou laktózy v prítomnosti neštartovacích mikrobiálnych kultúr alebo izomeráciou z L-laktátu. Racemizácia laktátu prebieha prostredníctvom enzymatickej premeny pyruvátu pomocou laktát dehydrogenázy [14, 24].

Vzniknutý laktát je v priebehu zrenia ďalej metabolizovaný. Môže byť metabolizovaný oxidáciou za pomoci baktérií mliečneho kvasenia v závislosti od kmeňa na acetát, etanol, formiát a CO₂. Oxidácia a miera jej uplatnenia závisí od množstva neštartujúcich mikrobiálnych kultúr a prístupu O₂. Ďalším spôsobom metabolizmu laktátu je jeho anaeróbne odbúranie prostredníctvom *Clostridium tyrobutyricum*, ktorého výsledným produktom je butyrát a H₂, ktorý spôsobuje defekt nazývaný neskoré durenie syrov a vznik nežiaducej chuti.

Metabolizmus laktózy je tiež dôležitý pre vznik charakteristických ôk najmä v tvrdých syroch pomocou *Propionbacterium freudenreichii* za vzniku propionátu, acetátu, CO₂ a vody [14, 17, 25].

Citrát je dôležitým prekursorom aromatických zlúčenín najmä v holandskom type syrov vyrobených s použitím mezofilných štartovacích kultúr. Konkrétne je metabolizovaný na diacetyl, acetát, acetoín a CO₂ za pomoci citrát-pozitívnych kultúr *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* alebo *Streptococcus diacetylactis*, tiež pomocou *Leuconostoc mesenteriodes* subsp. *cremoris* a *Ln. lactis*. Vznikajúce CO₂ nesie zodpovednosť za vznik drobných ôk vyskytujúcich sa v holandskom type syrov. Ku charakteristickej chuti týchto syrov prispieva najmä v malých množstvách sa vyskytujúci diacetyl, ale aj približne 10-50 krát viac zastúpený acetát [14, 24, 25].

2.5.7.2 *Proteolýza*

Proteolýza je najkomplexnejšia, najrozmanitejšia a najviac dôležitá spomedzi troch základných biochemických dráh, ktorú syr počas dozrievania podstupuje. Rozsah proteolýzy sa medzi rôznymi typmi syrov značne líši v dôsledku rôznych výrobných postupov a podmienok dozrievania, ktoré zásadne ovplyvňujú vlastnosti výsledných produktov. Počas proteolýzy dochádza k štiepeniu hlavne kazeínov (α -, β - a κ -), avšak v nie veľmi významnom množstve sú tu prítomné aj srvátkové bielkoviny. Proteolýza môže byť katalyzovaná enzýmami pochádzajúcimi zo šiestich zdrojov, konkrétne z mliečneho koagulantu (syridla), priamo z mlieka, štartovacích baktérií mliečneho kvasenia, neštartovacích baktérií mliečneho kvasenia, sekundárnej mikroflóry a exogénnych proteínáz a peptidáz. Aj cez drobné rozdiely vo výsledných produktoch degradácie pri rôznych druhoch syrov sú sekvencie aminokyselín vo vzniknutých peptidoch vo väčšine syrov rovnaké. Peptidy, ktoré vzniknú pôsobením chymozínu majú buď horkú chuť, alebo sú bez chuti a priamo neprispievajú k sensorickým vlastnostiam syra, ich produkcia je však základom pre budovanie správnej textúry produktu. Taktiež ide o prekuzory, ktorých ďalšou degradáciou vznikajú krátke kyslé sensoricky aktívne peptidy a voľné aminokyseliny. Voľné aminokyseliny sú neskôr prekuzormi mnohých prchavých zlúčenín ovplyvňujúcich charakteristický aromatický profil syra [14, 17, 25].

2.5.7.3 *Katabolizmus aminokyselín*

Katabolizmus voľných aminokyselín hrá hlavnú úlohu v sensorickom vývoji syru počas doby jeho zrenia. Schopnosť baktérií mliečneho kvasenia a iných mikroorganizmov degradovať aminokyseliny na aromaticky aktívne zlúčeniny závisí hlavne od ich kmeňov. Konkrétne ide najmä o katabolizmus aminokyselín obsahujúcich síru, aromatických aminokyselín a aminokyselín s rozvetveným reťazcom, z ktorých ďalej vznikajú aromaticky aktívne látky [14, 25, 26].

Všeobecne sa konverzia aminokyselín na aromaticky aktívne zlúčeniny uskutočňuje dvomi rôznymi hlavnými cestami. Prvou z nich je séria reakcií, ktorá je iniciovaná hlavne transaminázovou reakciou katalyzovanou aminotransferázami premieňajúcimi aminokyseliny na α -keto kyselinové medziprodukty. α -keto kyseliny, ktoré vznikli transamináciou z aromatických aminokyselín, z aminokyselín s rozvetveným reťazcom a metionínu, sú ďalej degradované pomocou enzymaticky katalyzovaných alebo chemických reakcií. Produktami tejto degradácie sú potom aldehydy, alkoholy, karboxylové kyseliny, hydroxykyseliny alebo metántiol pre metionín v jednom alebo dvoch ďalších krokoch. Druhou hlavnou cestou je séria eliminačných reakcií iniciovaná katalytickým pôsobením aminokyselinových lyáz, ktoré štiepia bočné reťazce aminokyselín. Táto dráha je dôležitá predovšetkým pre katabolizmus

aromatických aminokyselín a metionín, vedie prostredníctvom jedného kroku k fenolu, indolu a metántiolu. Ďalšie cesty, ktorými môžu byť aminokyseliny katabolizované, zahŕňajú produkciu amínov pomocou dekarboxyláz a vznik amoniaku deaminázami. Pre metabolizmus treonínu, kyseliny asparágovej, kyseliny glutámovej a arginínu sú prítomné tiež špecifické katabolické cesty [14, 17, 26].

2.5.7.4 Lipolýza

Lipolýza predstavuje dôležitú biochemickú reakciu počas doby zrenia syru, dochádza pri nej k oxidačnej alebo hydrolytickej degradácii lipidov. Oxidácia sa však oproti hydrolyze uplatňuje len v malom význame z dôvodu nízkeho redoxného potenciálu a prítomnosti prírodných antioxidantov. Produkty oxidácie, ako napríklad nenasýtené aldehydy, sú považované za nežiadúce zložky spôsobujúce defektnú zatuchnutú chuť syrov. Enzymatická hydrolyza triacylglycerolov na mastné kyseliny a glycerol, mono- a di-acylglyceroly je nevyhnutná pre rozvoj aromatických vlastností v syre. Vo veľkej miere nachádza lipolýza uplatnenie najmä v prípade modrých plesňových a tvrdých talianskych syrov, u syrov ako napríklad gouda alebo čedar sa už v takej vysokej miere neuplatňuje, a jej produktom sa pri konečnej senzorickej charakteristike neprpisuje veľká dôležitosť. Voľné mastné kyseliny ako produkty lipolýzy sú prekurzormi mnohých prchavých aromaticky aktívnych látok vznikajúcich prostredníctvom katabolických reakcií [14, 27].

Lipolýza v syroch prebieha vďaka prítomnosti lipolytických enzýmov, ktoré hydrolyticky štiepia esterovú väzbu medzi glycerolovým jadrom triacylglycerolu a mastnou kyselinou. Tieto enzýmy sú klasifikované ako esterázy a lipázy, ktoré sa delia podľa ďalších kritérií. Vplyvom esteráz dochádza k hydrolyze acylesterových reťazcov s dĺžkou 2-8 atómov uhlíka, zatiaľ čo lipázy hydrolyzujú tieto acylesterové reťazce s 10 a viac uhlíkovými atómami, líšia sa tiež enzymatickou kinetikou [14, 27].

2.5.7.5 Katabolizmus mastných kyselín

Voľné mastné kyseliny s krátkym a stredne dlhým reťazcom ($C_{4:0}$ - $C_{12:0}$) uvoľnené počas lipolýzy sa priamo podieľajú na aróme syra. Mastné kyseliny s dlhým reťazcom (viac ako 12 uhlíkových atómov) prispievajú k jeho chuti v minimálnej miere. Ako bolo už v predošlom odstavci spomenuté, tieto voľné mastné kyseliny pôsobia ako prekurzory celej série katabolických reakcií, ktorých produktami sú metylketóny, laktóny, estery, alkány a sekundárne alkoholy [14, 27].

Metylketóny sú prítomné najmä v modrých plesňových syroch, kde vo vysokých koncentráciách tvoria ich charakteristickú chuť, v nižších koncentráciách sa však vyskytujú ako súčasť väčšiny syrov, a to aj v eidamskom type. Vznikajú ako produkty β -oxidácie a dekarboxylácie mastných kyselín. Laktóny, dôležité obzvlášť pre arómu eidamských syrov, sú cyklické zlúčeniny vznikajúce intramolekulárnou esterifikáciou hydroxymastných kyselín, stratou vody a tvorbou kruhovej štruktúry. Estery ako ďalší produkt katabolizmu mastných kyselín sú tvorené reakciou mastných kyselín obsahujúcich krátky až stredne dlhý reťazec s alkoholmi pochádzajúcimi z fermentácie laktózy alebo katabolizmu aminokyselín. K tvorbe sekundárnych alkoholov môže dochádzať prostredníctvom enzymatickej redukcie metylketónov. Aldehydy sú zväčša tvorené katabolizmom aminokyselín, avšak nasýtené aldehydy môžu pochádzať z čerstvého mlieka alebo môžu byť spolu s nenasýtenými aldehydmi tvorené β -oxidáciou nenasýtených mastných kyselín [14, 27, 28].

U eidamských syrov sa vyskytuje len nízka hladina voľných mastných kyselín, ktorá prispieva k ich jemnej chuti s malou intenzitou. Významnú úlohu zohráva najmä butánová

kyselina. Všeobecne by rozsah lipolýzy v tomto type syrov nemal presiahnuť 2 % triacylglycerolov, aby nedochádzalo k výskytu chuťových defektov [27].

2.6 Použitie inštrumentálne techniky

Za účelom identifikácie prchavých aromaticky aktívnych látok a ich následnej kvantifikácie vo vzorkách syrov eidamského typu bola zvolená metóda mikroextrakcie pevnou fázou spojená s plynovou chromatografiou a následnou detekciou pomocou hmotnostného spektrometru. Princípy tejto metódy budú ďalej priblížené v nasledujúcich kapitolách.

2.6.1 Mikroextrakcia pevnou fázou

Mikroextrakcia pevnou fázou alebo Solid Phase Microextraction (SPME) je metóda vyvinutá Pawliszynom začiatkom 90. rokov. Ide teda o relatívne novú techniku, ktorá kombinuje extrakciu vzorky zo zmesi, jej skoncentrovanie *in situ* a relatívne jednoduchú desorbciu do analytického zariadenia [29, 30].

Princíp SPME spočíva v difúzií analytov z matrice vzorky na povrch extrakčnej fázy hneď ako je vlákno v kontakte so vzorkou. Táto extrakcia je považovaná za úplnú ak je koncentrácia analytu v termodynamickej rovnováhe medzi matricou vzorky a povrchom extrakčného vlákna. Znamená to teda, že po dosiahnutí rovnováhy je extrahované množstvo analytu konštantné a nie je závislé na predlžovaní extrakčného času. Povrch SPME vlákna a jeho špecifickosť v rámci polarita a selektivity k určitým analytom je jedným z kľúčových faktorov ovplyvňujúcich účinnosť tejto metódy. Jadro vlákna je tvorené z oxidu kremičitého, ako extrakčný povrch je používaný polydimetylsiloxan, polyakrylát, divinylbenzén, karboxén, karbowax a ich kombinácie. Výhodou metódy je to, že nie je potrebné použitie rozpúšťadla, taktiež aj jednoduchá miniaturizácia, automatizácia zariadení a ich pohodlné spájanie s chromatografickými prístrojmi. SPME analýza sa môže uskutočňovať v troch rôznych režimoch, konkrétne priamou, headspace a membránovou extrakciou [29, 30, 31, 32].

Priama extrakcia (DI-SPME) spočíva v ponorení SPME vlákna do vzorky, kde sú analyty priamo transportované z matrice na extrakčnú fázou. Headspace metóda (HS-SPME) využíva prenos analytov cez vzduchovú bariéru nad vzorkou pred dosiahnutím extrakčného povrchu vlákna. SPME vlákno je v tomto prípade umiestnené nad matricou vzorky. Takéto usporiadanie je výhodné z hľadiska ochrany vlákna pred poškodením vysokomolekulárnymi a neprchavými interferujúcimi látkami. Membránová extrakcia, podobne ako headspace, má za úlohu ochrániť SPME vlákno pred poškodením látkami vyskytujúcimi sa vo vzorke. Využíva sa pri stanovení analytov, ktorých prchavosť je príliš nízka pre použitie metódy headspace extrakcie. Oproti priamej extrakcii je tento proces pomalší vzhľadom na to, že membrána predstavuje prekážku pri difúzií analytov k extrakčnému povrchu [29, 31].

2.6.2 Plynová chromatografia

Plynová chromatografia je analytická separačná metóda využívajúca plynnú mobilnú fázou nazývanú nosný plyn. Zložky vzorky, ktoré majú byť touto technikou stanovené, musia byť prevedené do plynného skupenstva. Uplatnenie nachádza najmä pri stanovení a identifikácii zmesí plynov, prchavých látok a organických zlúčenín s bodom varu pod 400 °C, taktiež väčšiny nedisociovaných kvapalín a mnohých organokovových látok. Naopak nie je vhodná pre separáciu makromolekúl alebo organických a anorganických solí. Delenie zložiek zmesi, a teda aj princíp tejto metódy, spočíva na ich rozdielnych interakciách so stacionárnou fázou prítomnou v kolóne, kde sú vzorky unášané na základe tlakového spádu pomocou nosného plynu. Nosný plyn musí byť voči analytu, a taktiež aj stacionárnej fáze, inertný, nesmie s nimi

žiadne interagovať. Zložky sú následne z kolóny eluované a postupne indikované pomocou detektoru prostredníctvom určitého signálu, z ktorého časového priebehu a intenzity sa určí ich druh a kvantitatívne zastúpenie [33, 34, 35].

2.6.2.1 Inštrumentácia plynovej chromatografie

Zariadenie pre plynovú chromatografiu sa len v malej miere odlišuje od ostatných kolónových chromatografických zariadení. Plynový chromatograf pozostáva zo zdroja nosného plynu, čistiaceho zariadenia, systému regulácie prietoku, dávkovaču (injektoru), kolóny, termostatu, detektoru a vyhodnocovacieho zariadenia [33, 36].

Zdrojom nosného plynu bývajú najčastejšie tlakové fľaše alebo generátory, ktoré pracujú na princípe molekulových sít. Konkrétne sa ako plyny mobilnej fázy používajú vodík, dusík, hélium alebo argón. Výber nosného plynu závisí najmä od analyzovanej vzorky a jeho inertnosti voči nej, taktiež zohráva úlohu aj potreba toxickkej neškodnosti, bezpečnosti práce a podľa možnosti čo najnižšej ceny. Ďalším aspektom je druh kolóny a detektoru, ktoré pri výbere treba zohľadniť. Voľba správneho nosného plynu má vplyv na separačnú účinnosť procesu v dôsledku rôznych difúzných koeficientov zložiek v rôznych plynch [33, 34].

Úlohou čistiaceho zariadenia je zbaviť nosný plyn nežiadúcich stôp ostatných plynov, vlhkosti a nečistôt. Obzvlášť dôležité je zbavenie plynu stopových množstiev reaktívneho kyslíku, ktorého prítomnosť by mohla nevratne poškodiť stacionárnu fázu kolóny. Konštantný prietok nosného plynu je regulovaný pomocou mechanických alebo elektronických regulátorov zabezpečujúcich konštantný vstupný tlak alebo konštantný hmotnostný prietok. Prietok nosného plynu sa v priebehu procesu môže taktiež programovo meniť [33, 34, 35].

Zavedenie vzorky do prúdu nosného plynu je uskutočnené pomocou dávkovacieho zariadenia, nazývaného tiež injektor. Vzorka by mala byť injektorom prevedená do plynného skupenstva v čo najkratšom čase. Teplota injektoru zabezpečujúca rýchle odparenie vzorky a predídenie jej nežiadúcej kondenzácie v injektore, sa pre strednú časť injektoru volí spravidla o 50 °C vyššia ako je teplota kolóny. Spôsob, akým je vzorka dávkovaná, je vždy podmienený jej typom a analytickým zadaním. Principiálne sa používa dávkovanie buď nad ústie kolóny umiestnené na konci injektoru (predovšetkým náplňové kolóny), alebo priamo na kolónu (kapilárne kolóny). Dávkovanie na kolónu je uskutočňované rôznymi spôsobmi [33, 34, 35]:

- dávkovanie s deličom toku (split injector)
- dávkovanie bez deliča toku (splitless injector)
- dávkovanie priamo do kapilárnej kolóny (on column injector)
- dávkovanie s programovo zvyšovanou teplotou vyparovania vzorky

Separácia zložiek nastáva v chromatografickej kolóne, v ktorej je uložená stacionárna fáza. Kolóny pre plynovú chromatografiu sa rozdeľujú na dva základné druhy, kolóny náplňové a kapilárne. Náplňové kolóny sú tvorené kovovou prípadne sklenenou trubicou naplnenou sorbentmi, alebo nosičmi pokrytými kvapalnou fázou. Vnútorň priemer týchto kolón sa pohybuje v rozmedzí 2-6 mm a môžu dosahovať dĺžku 1-5 m. Oproti kapilárnym kolónam disponujú vyššou kapacitou, avšak ich rozlíšenie je horšie. Kapilárne kolóny môžu byť vyrobené zo skla, taveného oxidu kremičitého, kovu či plastu. Ako nosiče stacionárnej fázy využívajú buď vnútorné steny, alebo sú tieto kapiláry stacionárnou fázou naplnené v celom svojom objeme. Vnútorň priemer kolón sa pohybuje v intervale 100-700 μm z čoho vrstva stacionárnej fázy tvorí 0,1-10 μm . Dĺžka kapiláry môže nadobúdať rozmery v rozmedzí 15-100 m. Podľa charakteru stacionárnej fázy rozlišujeme tri typy kapilárnych kolón [33, 34, 37]:

- WCOT (wall-coated open tubular column) – kvapalná stacionárna fáza tvorí tenký film na vnútornej stene kapiláry,
- PLOT (porous-layer open tubular column) – disponujú tenkou vrstvou pórovitého materiálu (adsorbentu) na vnútornej stene kapiláry,
- SCOT (support-coated open column) – vrstva nosiča so zakotvenou kvapalinou sa nachádza na vnútornej stene kapiláry.

Termostat ako súčasť chromatografu riadi udržiavanie stálej teploty dávkovacieho zariadenia, kolóny a detektoru, tak aby bola vzorka udržiavaná v plynnom skupenstve. Jeho úlohou je v prípade potreby taktiež vytvorenie požadovaného teplotného programu pre gradientovú elúciu. Optimálna teplota kolóny závisí od bodu varu jednotlivých zložiek vzorky a požadovanom stupni separácie [33, 34, 37].

Zaznamenanie prítomnosti určitého analytu, alebo zmeny zloženia pretekajúcej mobilnej fázy, je úlohou detektoru. Detektor na takúto zmenu reaguje určitým elektricky merateľným signálom, ktorý je zaznamenávaný v závislosti na čase. Okrem registrácie separovaných zložiek umožňuje detektor aj ich kvantifikáciu. Podľa druhu závislosti signálu sa rozdeľujú detektory na koncentračne závislé, kedy je signál funkciou koncentrácie zložky, a hmotnostne závislé, kde je signál funkciou množstva zložky. Základné hodnotené vlastnosti detektorov sú citlivosť, odozva, šum produkovaného signálu, najmenšia detekovateľná koncentrácia alebo hmotnostný prietok, lineárny dynamický rozsah odozvy a efektívna doba odozvy. Dôležitou požiadavkou je taktiež univerzálnosť a vysoká selektivita pre stanovované analyty. Plynová chromatografia využíva hneď niekoľko rôznych detektorov pracujúcich na rozdielnych princípoch [33, 34]:

- tepelne-vodivostný detektor (TCD),
- plameňový ionizačný detektor (FID),
- plameňový ionizačný detektor s alkalickým kovom (AFID),
- bezplameňový detektor s alkalickým kovom (TID),
- detektor elektrónového záchytu (ECD),
- fotoionizačný detektor (PID).

2.6.3 Hmotnostná spektrometria

Hmotnostná spektrometria je fyzikálno-chemická separačná metóda, pomocou ktorej sú určované hmotnosti atómov, molekúl a ich častí. Molekuly vzorky sú rôznymi excitačnými postupmi vo vákuu alebo v plynnom prostredí prevedené na ióny, ktoré sú potom delené a charakterizované na základe ich pomeru hmotnosti a neseného náboja. Delenie iónov prebieha na základe ich rozdielnej pohyblivosti v magnetickom, elektromagnetickom alebo v oboch týchto poliach, taktiež môžu byť rozdelené podľa rozdielnej rýchlosti v priestore bez poľa. Výsledky tejto separácie sú potom zobrazené v podobe hmotnostného spektra [34, 36, 38, 39].

Analytickým využitím hmotnostnej spektrometrie je najmä stopová analýza organických látok. Často sa používa spojenie tejto metódy s plynovou alebo kvapalinovou chromatografiou na stopovú kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu látok komplexných matric [38, 39].

2.6.3.1 Inštrumentácia hmotnostnej spektrometrie

Hmotnostný spektrometer pozostáva z nasledujúcich častí: vstup vzorky do hmotnostného spektrometru, iónový zdroj, hmotnostný analyzátor, detektor a vákuový systém [33, 38].

Vhodný vstup je nenahraditeľnou súčasťou hmotnostného spektrometru, v ktorom umožňuje prevedenie vzorky analyzovanej látky z vonkajšieho prostredia do priestoru

iónového zdroja. Musí byť schopný pracovať s nízkym tlakom a vysokou teplotou, aby mohlo dôjsť k vypareniu aj málo prchavých zložiek, ako napríklad vysoko-molekulárne organické alebo organokovové látky [36, 38].

Úlohou iónového zdroja je prevedenie analyzovanej vzorky do ionizovaného stavu. Ionizácia analyzovanej látky je nevyhnutným predpokladom stanovenia hmotnostným spektrometrom vzhľadom k tomu, že výstupné informácie sa týkajú len častíc s istým nábojom. Ionizačné techniky je možné deliť podľa množstva dodanej energie potrebnej na ionizáciu a skupenstva analytu. Techniky, v ktorých je prebytok energie dodanej ionizovanej molekule malý, označujeme ako mäkké ionizačné techniky, pravdepodobnosť fragmentácie je tu nízka. Naopak, ak dodaná energia postačuje na rozsiahlejšiu fragmentáciu iónu, označujú sa tieto techniky ako tvrdé. Podľa skupenstva analytu sa rozdeľujú na techniky ionizácie z plynnej, kvapalnej alebo pevnej fázy. Najbežnejšími sú práve techniky ionizácie z plynnej fázy vyžadujúce dostatočnú prchavosť vzorky, ktorá je pred analýzou odparená do vákua. Výber spôsobu ionizácie významne ovplyvňuje aplikačné zameranie metódy. Aplikovateľnosť hmotnostnej spektrometrie bola výrazne rozšírená vývojom nových typov iónových zdrojov pre neprchavé látky a látky s vysokou molekulovou hmotnosťou [34, 38]:

- ionizácia nárazom elektrónov (EI – electron impact ionization),
- chemická ionizácia (CI – chemical ionization),
- ionizácia elektrickým poľom (FI – field ionization),
- desorbcia poľom (FD – field desorption),
- ionizácia ostreľovaním vzorky rýchlymi atómami (FAB – fast atom bombardment),
- ionizácia rýchlymi iónmi (SIMS – secondary ion mass spectrometry),
- plazmová desorbcia (PD – plasma desorption),
- desorbčná fotoionizácia (MALDI – matrix assisted laser desorption),
- termosprej (TS – thermospray),
- elektrosprej (ES – electrospray).

Ióny vstupujúce do analyzátoru sú ešte pred vstupom urýchlené a fokusované s čo najmenším rozptylom. V hmotnostnom analyzátore prebieha disperzia alebo filtrácia iónov produkovaných iónovým zdrojom na základe pomeru hmotnosti a náboja (m/z), poprípade ich kinetickej energie. Analyzátory môžu pracovať v móde SIM (single ion monitoring), kedy sledujú intenzity jedného, alebo niekoľko vhodne zvolených druhov iónov v čase, alebo MID (multiple ion detection), snímaním hmotnostných spektier periodicky v čase. Pre sledovanie zmeny relatívneho zastúpenia zložiek s vyššou selektivitou a nižšou hranicou detekcie je používaný SIM, a pre získanie spektier na identifikáciu analytu MID. Je známych niekoľko druhov hmotnostných analyzátorov, medzi najznámejšie patria [34, 38]:

- magnetický hmotnostný analyzátor,
- elektrostatický analyzátor,
- kvadrupólový analyzátor,
- iónová pasca,
- preletový analyzátor.

Iónové detektory sú určené na prevod dopadajúceho prúdu iónov na elektróny. Typy detektorov, ktoré sa používajú, súvisia s celkovou konštrukciou zariadenia a požadovanou aplikáciou. Všeobecne je možné detektory pre hmotnostnú spektrometru rozdeliť do dvoch kategórií, konkrétne na detektory pre priame merania a násobičové detektory. Detektory pre priame merania zaznamenávajú elektrický prúd vznikajúci priamym dopadom iónu, bývajú väčšinou súčasťou špecializovaných systémov. Násobičové detektory využívajú efekt

násobenia elektrónov po dopade iónov a sú používané štandardne pre všetky komerčné inštrumentácie [33, 34, 38].

Vzhľadom na to, že je nežiadúce, aby vzniknuté ióny menili svoju energiu predovšetkým zrážkami s inými časticami, je nutné v systéme udržiavať nízky tlak. Stredná voľná dráha iónu by mala výrazne presahovať za daných podmienok fyzickú dráhu od miesta vzniku po miesto detekcie. Za udržiavanie nízkeho tlaku je zodpovedná výveva, používajú sa buď turbomolekulárne vývevy pre tlaky $10^{-3} - 10^{-4}$ Pa, alebo difúzne vývevy pre tlaky nižšie [34].

2.6.4 Spojenie plynovej chromatografie s hmotnostnou detekciou

Kombinácia hmotnostnej spektrometrie s inými separačnými postupmi je bežná. Najobvyklejšou kombináciou je práve spojenie s plynovou chromatografiou (GC-MS). Toto spojenie je v súčasnosti technicky zvládnuté a komerčne dostupné, jeho aplikovateľnosť je v zásade obmedzená len dostatočnou prchavosťou analytov. Použitie spojenia GC-MS je využívané najmä na analýzu komplikovaných zmesí látok, komplexných vzoriek, pri sledovaní technologických procesov alebo akostných parametrov surovín a výrobkov. Aplikovateľnosť metódy siaha až do oblasti stopovej a ultrastopovej analýzy. Ako príklad konkrétneho využitia je možné uviesť stanovenie prchavých aromaticky aktívnych látok v rôznych vzorkách potravín alebo plodín [34, 35, 39].

Úskalím spojenia GC-MS je ich vzájomná tlaková nekompatibilita vzhľadom na to, že tlak vystupujúci z kolóny plynového chromatografu je približne atmosférický, avšak iónové zdroje v hmotnostnom spektrometri pracujú pri vysokom vákuu. Nárast tlaku v iónovom zdroji alebo hmotnostnom analyzátore spektrometru by výrazne zhoršil citlivosť analýzy a pri použití niektorých iónových zdrojov aj značne skrátil ich životnosť. V prípade kapilárnych kolón je toto spojenie prakticky bezproblémové za použitia dostatočne výkonných vývev, ktoré s rezervou odčerpajú nadbytok nosného plynu z priestoru ionizácie. Prietok plynu by mal spĺňať rozmedzie do maximálne 3-4 ml/min. Tlakový rozdiel je možné riešiť taktiež pomocou zaradenia deliču toku medzi kolónu a iónovým zdrojom, alebo separátoru, ktorý pracuje na princípe vysokej difuzivity nosného plynu [34, 35, 40].

Odporúčanými kolónami pre použitie v GC-MS sú kolóny s chemicky viazanou stacionárnou fázou a nízkym pokrytím, vzhľadom na pôsobenie vysokej teploty a vákua, čo má negatívny vplyv na stabilitu stacionárnej fáze. Z hľadiska rozmerových parametrov sa používajú v praxi kapilárne kolóny s vnútorným priemerom menším ako 0,32 mm a dĺžkou minimálne 15 m. Čo sa týka detektorov, je výhodné zaradenie rýchlo skenovateľných hmotnostných detektorov typu kvadrupólu alebo iónovej pasce, ktoré plne vyhovujú spojeniu s plynovým chromatografom disponujúcim kapilárnou kolónou [35].

3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1 Laboratórne vybavenie

3.1.1 Prístroje

- Plynový chromatograf Trace™ 1310 so split/splitless injektorom (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostný detektor ISQ™ LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knižnica spektier NIST/EPA/NIH, verzia 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Analytická digitálna váha HELAGO, GR-202-EC, Taliansko
- Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- Chladnička s mrazničkou

3.1.2 Plyny

- Hélium, čistota 4.8., v tlakovej fľaši s redukčným ventilom (SIAD, Česká republika)

3.1.3 Pracovné pomôcky

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA;
- Vialky o objeme 10 ml so skrutkovacím magnetickým uzáverom
- Bežné laboratórne pomôcky
- Nôž a strúhadlo

3.2 Čisté mliekarské kultúry

Pre výrobu modelových syrov boli použité komerčne dostupné lyofilizované kultúry vhodné k priamemu zaočkovaniu do mlieka (Laktoflora®, Milcom, Česká republika); CCDM (Česká sbírka mlékárenských mikroorganizmů).

- Mezofilná zmiešaná kultúra *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (kmeň CCDM 946)
- *Lactobacillus casei* (kmeň CCDM 198)
- *Lactobacillus casei* (kmeň CCDM 422)
- *Lactobacillus plantarum* (kmeň CCDM 187)
- *Lactobacillus plantarum* (kmeň CCDM 189)

3.3 Analyzované vzorky

V experimentálnej časti práce boli analyzované modelové vzorky prírodných syrov eidamského typu (45 % tvs, 50 % sušiny), ktoré boli vyrobené štandardným technologickým postupom [3, 15 - 18] na Univerzite Tomáša Baťu v Zlíne.

Celkom bolo vyrobených 5 sérií vzoriek, ktoré sa líšili kombináciou použitých mikrobiálnych kultúr; u všetkých bola ako základ použitá mezofilná kultúra s prídavkom vybraného kmeňa *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, a ďalej vybrané kmene *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum*.

V rámci tejto práce boli analyzované syry v počiatočnej fáze zrenia (14 dní po výrobe), prehľad všetkých analyzovaných vzoriek a ich označenia na základe použitej mikrobiálnej kultúry je uvedený v Tabuľke 4.

Vzorky boli ihneď po odbere zmrazené ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) a uchované pri týchto podmienkach až do doby analýzy.

Tabuľka 4: Prehľad a značenie modelových vzoriek

Vzorka	Mezofilná kultúra + kmeň 946	<i>Lbc casei</i> kmeň 422	<i>Lbc casei</i> kmeň 198	<i>Lbc plantarum</i> kmeň 187	<i>Lbc plantarum</i> kmeň 189
D	✓				
G	✓	✓			
J	✓		✓		
H	✓			✓	
I	✓				✓

Ďalej boli analyzované 3 druhy syrov eidamského typu s rôznym obsahom tvs zakúpené v bežnej maloobchodnej sieti. Konkrétne išlo o syry s obsahom tuku v sušine 20, 30 a 45 %. Bližšie informácie o týchto syroch sú zhrnuté v Tabuľkách 5-7, vrátane fotografií prednej strany balenia na Obrázkoch 1-3.

Tabuľka 5: Údaje o vzorke Madeta Jihočeský Eidam 20 % plátky

Madeta Jihočeský Eidam 20 % plátky	
Popis	Polotvrdý zrejúci syr s nízkym obsahom laktózy (<0,05 g/100 g)
Tuk v sušine [%]	20
Sušina [%]	49
Zloženie	mlieko, jedlá soľ, mliekarské kultúry
Hmotnosť [g]	100
Výrobca	MADETA a.s.



Obrázok 1: Predná strana balenia vzorky Madeta Jihočeský Eidam 20 % plátky

Tabuľka 6: Údaje o vzorke Madeta Jihočeský Eidam 30 % plátky

Madeta Jihočeský Eidam 30 % plátky	
Popis	Polotvrdý zrejúci polotučný syr s nízkym obsahom laktózy (<0,05 g/100 g)
Tuk v sušine [%]	30
Sušina [%]	50
Zloženie	mlieko, jedlá soľ, mliekarské kultúry
Hmotnosť [g]	100
Výrobca	MADETA a.s.



Obrázok 2: Predná strana balenia vzorky Madeta Jihočeský Eidam 30 % plátky

Tabuľka 7: Údaje o vzorke Madeta Jihočeský Eidam 45 % plátky

Madeta Jihočeský Eidam 45 % plátky	
Popis	Polotvrdý zrejúci plnotučný syr s nízkym obsahom laktózy (<0,05 g/100 g)
Tuk v sušine [%]	45
Sušina [%]	56
Zloženie	mlieko, jedlá soľ, mliekarské kultúry
Hmotnosť [g]	100
Výrobca	MADETA a.s.



Obrázok 3: Predná strana balenia vzorky Madeta Jihočeský Eidam 45 % plátky

3.4 Použitá metóda HS-SPME-GC-MS

3.4.1 Príprava vzoriek syra k analýze

Zmrazené vzorky syra boli pred analýzou ponechané dostatočne dlhý čas v chladničke pri teplote do 6 °C alebo vo vodotesnom obale v kadičke so studenou vodou, aby došlo k ich rozmrazeniu. Následne došlo k ich homogenizácii pomocou jemného strúhadla, a to v prípade modelových aj komerčných vzoriek. Takto pripravené vzorky boli navážené do vialiek (viď Obrázok 4) na analytických váhach po 2 g s presnosťou na 4 desatinné miesta. Vialky boli následne uzavreté skrutkovacím magnetickým uzáverom so septom a prenesené do autosamplera plynového chromatografu.



Obrázok 4: Vialky s naváženou vzorkou

3.4.2 Podmienky HS-SPME-GC-MS analýzy

3.4.2.1 Podmienky SPME extrakcie

- Doba inkubácie (temperovanie): 10 min
- Doba extrakcie: 20 min
- Teplota agitátora (teplota extrakcie a inkubácie): 40 °C
- Agitátor zapnutý: 5 s
- Agitátor vypnutý: 60 s
- Množstvo vzorky: 2 g
- Hĺbka ponorenia vlákna do vialky: 20 mm

3.4.2.2 Podmienky GC-MS analýzy

- Kapilárna kolóna TG-WaxMS (30 m x 0,25 mm x 0,5 µm)
- Teplota injektora (desorpcia): 240 °C
- Doba desorpcie: 20 min
- Dávkovanie: splitless, ventil uzavretý 10 min
- Hĺbka ponorenia vlákna do injektora: 40 mm
- Nosný plyn: hélium, prietok 1 ml · min⁻¹
- Teplotný program: 40 °C s výdržou 2 min, vzostupný gradient 3 °C/min, do 110 °C s výdržou 10 min, vzostupný gradient 3 °C/min do 200 °C s výdržou 0 min, celková doba analýzy 65 min
- Hmotnostný detektor v móde EI
 - Energia ionizačných elektrónov: 70 eV
 - Teplota iónového zdroja: 200 °C
 - Skenovací rozsah m/z: 30-370 amu
 - Rýchlosť skenovania: 0,2 s

3.4.3 Vyhodnocovanie a štatistické spracovanie výsledkov analýzy

Prchavé látky extrahované zo vzoriek boli identifikované pomocou programu Xcalibur 2.2 (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) na základe porovnania hmotnostných spektier s knižnicou spektier. Obsah identifikovaných zlúčenín bol vyjadrený semikvantitatívne pomocou plôch príslušných píkov chromatogramu, každá vzorka bola analyzovaná trikrát ($n = 3$).

Výsledky boli spracované pomocou programu MS Office Excel 2016. V rámci štatistického vyhodnotenia bol pre všetky namerané hodnoty vypočítaný priemerný retenčný čas ako aritmetický priemer pre jednotlivé analýzy (T_R), taktiež pri semikvantitatívnej analýze bola plocha píkov braná ako aritmetický priemer z jednotlivých stanovení.

Štatistická významnosť rozdielov medzi vzorkami bola vyhodnotená pomocou dvojvýberového párového t-testu na hladine významnosti $\alpha = 0,05$.

4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Táto práca je súčasťou rozsiahlej štúdie, ktorá sa zaoberá sledovaním senzorickej kvality prírodných syrov eidamského typu, so zameraním predovšetkým na chuť (flavour) a s ňou súvisiaci obsah aromaticky aktívnych látok.

V rámci tejto práce bolo analyzovaných päť modelových vzoriek eidamských syrov vyrobených s použitím rôznych mikrobiálnych kultúr; konkrétne klasická mezofilná kultúra a vybrané kmene termofilných baktérií *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum*. Cieľom bolo posúdiť vplyv použitých kultúr (obzvlášť prídavok termofilných kultúr) na obsah prchavých látok vo vzorkách. Syry boli analyzované v počiatočnej fáze zrenia (14 dní po výrobe).

Práca prebieha v spolupráci s Univerzitou Tomáša Baťu v Zlíne, ktorá disponuje potrebným technologickým vybavením pre výrobu syrov; modelové vzorky syrov boli vyrobené štandardným technologickým postupom (viď kap. 3.3).

Zároveň boli analyzované 3 druhy syrov eidamského typu s rôznym obsahom tvs zakúpené v bežnej maloobchodnej sieti, s cieľom posúdiť vplyv obsahu tuku na prchavé látky vo vzorkách. Modelové vzorky boli na záver porovnané so vzorkami z maloobchodnej siete.

Pre stanovenie prchavých látok bola použitá metóda HS-SPME-GC-MS (viď kap. 3.4).

4.1 Identifikácia prchavých látok vo vzorkách

Identifikácia prchavých látok bola uskutočnená na základe porovnania hmotnostných spektier s dostupnou knižnicou spektier.

Identifikované zlúčeniny v jednotlivých vzorkách sú zhrnuté v prehľadnej tabuľke (viď Tabuľka 8a – c). Vzhľadom ku miernym odchýlkam retenčných časov jednotlivých zložiek v jednotlivých stanoveniach je vždy uvedená ich priemerná hodnota. Prítomnosť danej zlúčeniny vo vzorke je značená symbolom „√“.

Tabulka 8a: Prehľad prchavých látok identifikovaných vo všetkých vzorkách

Zlúčeniny	Chemická skupina	T _R [min]	D	G	J	H	I	M 20 % tvs	M 30 % tvs	M 45 % tvs
Hexanál	aldehyd	8,75	✓	✓	✓	✓	✓			
Etyl-pentanoát	ester	10,60						✓		
Bután-1-ol	alkohol	11,21			✓		✓			
Heptán-3-ón	ketón	11,43		✓		✓				
β-myrcén	terpénový uhl'ovodík	11,70	✓	✓	✓	✓	✓			
Heptán-2-ón	ketón	12,64	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Heptanál	aldehyd	12,77				✓				
Metyl-hexanoát	ester	12,77	✓	✓	✓					
D-limonen	terpénový uhl'ovodík	12,97	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Etyl-hexanoát	ester	14,72	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pentán-1-ol	alkohol	15,57	✓	✓	✓	✓	✓			
Oktán-2-ón	ketón	16,97		✓	✓	✓				
Oktanál	aldehyd	17,04			✓					
Acetoín	ketón	17,17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Heptán-2-ol	alkohol	18,52					✓			
Prenol	alkohol	18,66		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6-methylhept-5-én-2-ón	ketón	19,33	✓	✓	✓	✓	✓			
Pentán-3-ol	alkohol	19,56		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hexán-1-ol	alkohol	19,95	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Dimetyl trisulfid	sírna zlúčenina	21,05						✓	✓	✓
Metyl-oktanoát	ester	21,41		✓	✓					
Nonán-2-ón	ketón	21,44	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓
Nonanál	aldehyd	21,64	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Okt-3-én-2-ón	ketón	22,29	✓	✓	✓	✓	✓			
Oktan-3,5-dién-2-ol	alkohol	22,30	✓	✓	✓	✓	✓			
3,7-dimetyloktán-3-ol	alkohol	23,29		✓		✓				
Etyl-oktanoát	ester	23,30		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Okt-1-én-3-ol	alkohol	24,09	✓	✓	✓	✓	✓			
Heptán-1-ol	alkohol	24,25			✓		✓			

Tabuľka 8b: Prehľad prchavých látok identifikovaných vo všetkých vzorkách

Zlúčeniny	Chemická skupina	T _R [min]	D	G	J	H	I	M 20 % tvs	M 30 % tvs	M 45 % tvs
Metionál	sírna zlúčenina	24,45					✓	✓		
Kyselina octová	kyselina	24,77	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2-ethylhexán-1-ol	alkohol	25,68	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Dekanál	aldehyd	26,06	✓	✓	✓	✓	✓			
Benzaldehyd	aldehyd	27,42	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Linalool	terpénový alkohol	28,53		✓	✓	✓	✓			
Oktán-1-ol	alkohol	29,06				✓				
Dimetyl sulfoxid	sírna zlúčenina	30,13		✓						
Bután-2,3-diol	alkohol	30,35	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Undekán-2-ón	ketón	31,41	✓	✓	✓	✓	✓			
Metyl-dekanoát	ester	31,13	✓		✓					
Kyselina maslová	kyselina	35,11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Nonán-1-ol	alkohol	36,34		✓		✓	✓			
Karvon	terpénový ketón	40,85	✓	✓	✓	✓	✓			
Citral	terpénový aldehyd	41,13		✓		✓				
Citronelol	terpénový alkohol	43,25	✓	✓	✓	✓	✓			
δ-kaprolaktón	laktón	44,14	✓		✓	✓	✓		✓	✓
Metyl-dodekanoát	ester	44,92	✓	✓		✓				
Tridekán-2-ón	ketón	45,24		✓						
Kyselina hexánová	kyselina	47,89	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Benzyl alkohol	alkohol	48,60	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Dimetyl sulfón	sírna zlúčenina	49,71	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
7-hydroxy-3,7-dimethyloktanál	aldehyd	51,49		✓						
δ-oktalaktón	laktón	52,04	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Dodekán-1-ol	alkohol	52,34		✓						
Metyl-tetradekanoát	ester	53,77		✓	✓	✓	✓	✓		
Fenol	fenol	54,05		✓	✓	✓	✓	✓		
Metyl-9-oxononanoát	ester	55,56	✓	✓		✓				
Kyselina oktánová	kyselina	56,27	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Tabuľka 8c: Prehľad prchavých látok identifikovaných vo všetkých vzorkách

Zlúčeniny	Chemická skupina	T _R [min]	D	G	J	H	I	M 20 % tvs	M 30 % tvs	M 45 % tvs
Metyl-pentadekanoát	ester	57,46	✓							
2-fenoxyetanol	alkohol	58,70		✓		✓				
Kyselina nonánová	kyselina	59,84		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
δ-dekalakton	laktón	60,15	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓
Metyl-hexadekanoát	ester	60,83	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hexadekán-2-ol	alkohol	61,68					✓			

Značenie vzoriek vid' Tabuľka 4; M – komerčne zakúpené syry Madeta a.s.; T_R – retenčný čas; „✓“ látka bola vo vzorke identifikovaná

Celkom bolo vo všetkých vzorkách syrov identifikovaných 64 prchavých zlúčenín, z toho 18 alkoholov, 11 esterov, 9 ketónov, 7 aldehydov, 5 kyselín, 3 laktónv, 2 terpénové uhľovodíky, 2 terpénové alkoholy, 1 terpénový ketón, 1 terpénový aldehyd, 4 sírne zlúčeniny a 1 fenol.

Ukážky chromatogramov jednotlivých vzoriek sa nachádzajú v Prílohách 1-8.

V Tabuľke 9 a Grafe 1 je uvedené porovnanie počtu identifikovaných zlúčenín v jednotlivých vzorkách. Celkom bolo v modelových vzorkách (obzvlášť vyrobených za použitia termofilnej kultúry) identifikovaných viac zlúčenín než v komerčných. V modelových vzorkách boli najviac zastúpené alkoholy, v menšom počte potom estery, ketóny, kyseliny a terpenoidy. V komerčných vzorkách prevažovali alkoholy a kyseliny.

4.1.1 Porovnanie prchavých zlúčenín v modelových vzorkách syrov

Jedným z cieľov tejto práce je porovnanie vplyvu aplikácie rôznych mikrobiálnych kultúr na výsledný prchavý profil syra. Na výrobu eidamských syrov sa vo všeobecnosti používajú mezofilné a termofilné mikrobiálne kultúry.

Modelové vzorky boli vyrobené s použitím základnej mezofilnej kultúry v kombinácii s vybranou termofilnou (viď kap. 3.2).

4.1.1.1 Porovnanie modelových vzoriek s/bez aplikácie termofilných kultúr

Vzorka D obsahovala len mezofilnú kultúru a slúžila ako referenčná. Ostatné vzorky boli vyrobené s použitím totožnej mezofilnej kultúry s prídavkom vybraných kmeňov termofilných kultúr *Lbc casei* (vzorky G, J) a *Lbc plantarum* (vzorky H, I).

Z pohľadu chemických skupín (viď Tabuľka 9) vzorka D obsahovala najväčší podiel alkoholov, esterov a ketónov. Zlúčeniny, ktoré boli identifikované spoločne pre vzorku D a ostatné modelové vzorky (G, J, H a I) s prídavkom termofilnej kultúry boli alkoholy pentán-1-ol, hexán-1-ol, oktán-3,5-dién-2-ol, okt-1-én-3-ol, 2-etylhexán-1-ol, bután-2,3-diol a benzylalkohol, estery etyl-hexanoát a metyl-hexadekanoát, ketóny heptán-2-ón, acetoín, 6-metylhept-5-én-2-ón, okt-3-én-2-ón, undekán-2-ón, aldehydy hexanál, nonanál, dekanál a benzaldehyd, kyseliny octová, maslová, hexánová a oktánová, laktón δ -oktalaktón, terpénové uhľovodíky β -myrcén a D-limonen, terpénový alkohol citronelol, terpénový ketón karvon a sírna zlúčenina dimetyl sulfón.

Vo vzorke D boli identifikované navyše prchavé látky, ktoré sa nevyskytovali vo všetkých vzorkách s termofilnou kultúrou, konkrétne to boli z esterov metyl-hexanoát (prítomný vo vzorkách J a G), metyl-dekanoát (J), metyl-dodekanoát (G, H), metyl-9-oxononanoát (G, H) a metyl-pentadekanoát, ktorý bol prítomný len vo vzorke D. Ďalej to bol z ketónov nonán-2-ón (G, H, I), laktóny δ -kaprolaktón (J, H, I) a δ -dekalaktón (G, H, I).

Vzorky vyrobené za použitia termofilných kultúr naopak obsahovali prchavé zlúčeniny, ktoré neboli prítomné vo vzorke D, a to alkoholy bután-1-ol (prítomný v J a I), heptán-2-ol (I), prenol (G, J, H, I), pentán-3-ol (G, J, H, I), 3,7-dimetyloktán-3-ol (G, H), heptán-1-ol (J, I), oktán-1-ol (H), nonán-1-ol (G, H, I), dodekán-1-ol (G), 2-fenoxyetanol (G, H) a hexadekán-2-ol (I). Estery metyl-oktanoát (G, J), etyl-oktanoát (G, J, H, I) a metyl-tetradekanoát (G, J, H, I), ketóny heptán-3-ón (G, H), oktán-2-ón (G, J, H) a tridekán-2-ón (G), aldehydy heptanál (H), oktanál (J) a 7-hydroxy-3,7-dimetyloktanál (G), kyselinu nonánovú (G, J, H, I), terpénový alkohol linalool (G, J, H, I), terpénový aldehyd citral (G, H), sírne zlúčeniny metionál (I) a dimetyl sulfoxid (G) a fenol (G, J, H, I).

Priemerne z troch meraní každej vzorky je možné tvrdiť, že vo vzorke D, na ktorej výrobu bola použitá iba mezofilná kultúra, bolo podľa očakávania identifikovaných najmenej prchavých látok. Vzhľadom k tomu, že vzorky boli analyzované v počiatočnej fáze zrenia, je

možné usudzovať, že pri použití len mezofilnej kultúry zrenie syrov začína pomalšie. Prchavé látky, ktoré sa vyskytovali vo vzorke D a neboli prítomné vo všetkých ostatných vzorkách (G, J, H, I), sa v každom prípade až na metyl-pentadekanoát nachádzali aspoň v jednej zo vzoriek s použitím termofilnej kultúry (G, J, H, I). Naopak, nepomerne viac prchavých látok, ktoré úplne chýbali vo vzorke D, bolo identifikovaných v ostatných vzorkách s prídavkom termofilnej kultúry (G, J, H, I). To by mohlo indikovať, že za vznik daných prchavých látok vo vzorkách G, J, H a I sú zodpovedné práve termofilné kultúry.

4.1.1.2 Porovnanie modelových vzoriek s aplikovanou termofilnou kultúrou (*Lbc casei* vs. *Lbc plantarum*)

Ako už bolo zmienené, na výrobu modelových syrov boli testované celkom štyri kultúry termofilných baktérií, vždy dva vybrané kmene: *Lbc casei* (vzorky G, J) a *Lbc plantarum* (vzorky H, I). Dielčím cieľom bolo zistiť, či sa líšia prchavé látky u rôznych druhov a kmeňov použitých termofilných kultúr. Z grafu 1 je zrejmé, že výsledky sú pomerne nejednoznačné a vyskytujú sa tu rozdiely aj v rámci kmeňov toho istého druhu.

Vo vzorkách G, J, H a I boli v najväčšom podiele, podobne ako aj vo vzorke D, zastúpené alkoholy, estery a ketóny (vid'. Tabuľka 9). Pre tieto vzorky, vyrobené s použitím mezofilnej a vybraných termofilných kultúr, boli identifikované spoločné zlúčeniny, nachádzajúce sa v každej z nich. Išlo o alkoholy pentán-1-ol, prenol, pentán-3-ol, hexán-1-ol, oktán-3,5-dién-2-ol, okt-1-én-3-ol, 2-etylhexán-1-ol, bután-2,3-diol a bezyl alkohol. Ďalej to boli estery etyl-hexanoát, etyl-oktanoát, metyl-tetradekanoát a metyl-hexadekanoát, ketóny heptán-2-ón, acetoín, 6-metylhept-5-én-2-ón, okt-3-én-2-ón a undekán-2-ón, aldehydy hexanál, nonanál, dekanál a benzaldehyd, kyseliny octová, maslová, hexánová, oktánová a nonánová, δ -oktalaktón, terpénové uhlíkovodíky β -myrcén a D-limonen, terpénové alkoholy linalool a citronelol, terpénový ketón karvon, sírnu zlúčeninu dimetyl sulfón a fenol.

Prchavé zlúčeniny, ktoré boli zaznamenané len pre niektoré zo vzoriek G, J, H a I, predstavovali alkoholy bután-1-ol (prítomný vo vzorkách J a I), heptán-2-ol (I), 3,7-dimetyloktán-3-ol (G, H), heptán-1-ol (J, I), oktán-1-ol (H), nonán-1-ol (G, H, I), dodekán-1-ol (G), 2-fenoxyetanol (G, H) a hexán-2-ol (I), estery metyl-hexanoát (G, J), metyl-oktanoát (G, J), metyl-dekanoát (J), metyl-dodekanoát (G, H) a metyl-9-oxononanoát (G, H), ketóny heptán-3-ón (G, H), oktán-2-ón (G, J, H), nonán-2-ón (G, H, I) a tridekán-2-ón (G), aldehydy heptanál (H), oktanál (J) a 7-hydroxy-3,7-dimetyloktanál (G), laktóny δ -kapolaktón (J, H, I) a δ -dekalaktón (G, H, I), terpénový aldehyd citral (G, H) a sírne zlúčeniny metionál (I) a dimetyl sulfoxid (G).

Najviac prchavých látok bolo identifikovaných vo vzorke G, vyrobenej za použitia *Lbc. casei* kmeň 422, teda je možné tvrdiť, že z hľadiska početnosti prchavých látok je tento kmeň z nami použitých termofilných kultúr pre výrobu najvhodnejší. Z pohľadu použitej kultúry boli zaznamenané len dve zlúčeniny, pri ktorých môžeme jednoznačne určiť, že sú produkované len jednou mikrobiálnou kultúrou, konkrétne išlo o estery metyl-hexanoát a metyl-oktanoát produkované *Lbc. casei*. Pri ostatných látkach nie je možné jednoznačne vyjadriť ich priamu súvislosť s prítomnosťou daných mikrobiálnych kultúr. Dôvodom môže byť to, že vzorky sa nachádzajú ešte len v počiatočnej fáze zrenia, a doposiaľ nedošlo ku vyformovaniu ich výsledného prchavého profilu. Ďalšie zaznamenané odlišnosti súvisia s použitím konkrétneho kmeňu daného mikroorganizmu. Použitie *Lbc. casei* kmeň 422 sa vyznačovalo prítomnosťou látok dodekán-1-ol, tridekán-2-ón, 7-hydroxy-3,7-dimetyloktanál a dimetyl sulfoxid. Metyl-dodekanoát a oktanál sa zase vyskytovali vo vzorkách s *Lbc. casei* kmeň 198. Vzorky vyrobené s prídavkom *Lbc. plantarum* kmeň 187 obsahovali navyše oktán-1-ol a heptanál.

Nakoniec prítomnosť zlúčenín heptán-2-ol, hexán-2-ol a metionál bola podmienená použitím *Lbc. plantarum* kmeň 189.

4.1.2 Porovnanie prchavých zlúčenín v komerčných vzorkách syrov

Pre porovnanie prchavého profilu boli analyzované aj vybrané komerčne zakúpené syry eidamského typu. Išlo o tri vzorky syru Madeta s rôznym obsahom tvs (viď kap. 3.3).

Komerčné vzorky syrov obsahovali, podobne ako vzorky modelové, najväčšie zastúpenie alkoholov, avšak okrem tých v nich prevažovali ešte kyseliny (viď Tabuľka 9). Medzi zlúčeniny vyskytujú sa spoločne vo všetkých vzorkách komerčných syrov patrili alkoholy prenol, pentán-3-ol, 2-etylhexán-1-ol a benzyl alkohol, estery etyl-hexanoát, etyl-oktanoát a metyl-hexadekanoát, ketóny heptán-2-ón, acetoín a nonán-2-ón, aldehydy nonanál a benzaldehyd, kyseliny octová, maslová, hexánová, oktánová a nonánová, laktóny δ -oktalaktón a δ -dekalaktón, terpénový uhl'ovodík D-limonen a sírne zlúčeniny dimetyl trisulfid a dimetyl sulfón.

Ďalej boli v komerčných vzorkách identifikované prchavé látky, prítomné iba v niektorých z nich, jednalo sa o alkoholy hexán-1-ol a bután-2,3-diol (prítomné vo vzorkách M 20 a M 30 % tvs), estery etyl-pentanoát a metyl-tetradekanoát (M 20 % tvs), δ -kaprolatón (M 30 % tvs, M 45 % tvs), sírna zlúčenina metionál (M 20 % tvs), a v tej istej vzorke prítomný fenol.

Najviac zlúčenín bolo zaznamenaných prekvapivo vo vzorke syru s najnižším obsahom tuku. Tendencia ich početnosti nepriamo úmerne klesala so stúpajúcim obsahom tuku. V eidamských syroch lipolýza nie je príliš rozsiahla a obsah tuku tak pravdepodobne nemá na prchavý profil významný vplyv, prípadne sa uplatní až v neskorších fázach zrenia [27].

Ako ďalšie je možné predpokladať, že komerčné syry boli vyrobené za použitia rovnakej mliekarskej kultúry vzhľadom na to, že až na δ -kaprolatón prítomný len vo vzorkách M 30 a M 40 % tvs, sa v týchto vzorkách nenachádzali žiadne iné látky, ktoré by neboli prítomné aj v M 20 % tvs.

4.1.3 Porovnanie prchavých zlúčenín vo vzorkách modelových a komerčných syrov

Ďalším z cieľov tejto práce bolo porovnanie obsahu prchavých látok medzi modelovými a komerčne zakúpenými vzorkami rovnakého typu (eidamský typ syru). Bohužiaľ, z informácií na obale komerčných syrov nie je možné vyčítať, aké kultúry boli pre výrobu použité, ale aj napriek tomu je možné očakávať isté podobnosti prchavého profilu.

Identifikované zlúčeniny, ktoré boli spoločné pre modelové a komerčné vzorky syrov, sú alkoholy 2-etylhexán-1-ol a benzyl alkohol, estery etyl-hexanoát a metyl-hexadekanoát, ketóny heptán-2-ón a acetoín, aldehydy nonanál a benzaldehyd, kyseliny octová, maslová, hexánová a oktánová, laktón δ -oktalaktón, terpénový uhl'ovodík D-limonen a sírna zlúčenina dimetyl sulfón.

Látky, ktorých prítomnosť bola zaznamenaná len v modelových vzorkách, tvorili alkoholy bután-1-ol (prítomný vo vzorkách J a I), pentán-1-ol (D, G, J, H, I), heptán-2-ol (I), oktán-3,5-dién-2-ol (D, G, J, H, I), 3,7-dimetyloktán-3-ol (G, H), okt-1-én-3-ol (D, G, J, H, I), heptán-1-ol (J, I), oktán-1-ol (H), nonán-1-ol (G, H, I), dodekán-1-ol (G), 2-fenoxyetanol (G, H) a hexadekán-2-ol (I), estery metyl-hexanoát (D, G, J), metyl-oktanoát (G, J), metyl-dekanoát (D, J), metyl-dodekanoát (D, G, H), metyl-9-oxononanoát (D, G, H) a metyl-pentadekanoát (D), ketóny heptán-3-ón (G, H), oktán-2-ón (G, J, H), 6-metylhept-5-én-2-ón (D, G, J, H, I), okt-3-én-2-ón (D, G, J, H, I), undekán-2-ón (D, G, J, H, I) a tridekán-2-ón (G), aldehydy hexanál (D, G, J, H, I), heptanál (H), oktanál (J), dekanál (D, G, J, H, I) a 7-hydroxy-3,7-dimetyloktanál (G), terpénový uhl'ovodík β -myrcén (D, G, J, H, I), terpénové alkoholy linalool (G, J, H, I)

a citronelol (D, G, J, H, I), terpénový ketón karvon (D, G, J, H, I), terpénový aldehyd citral (G, H) a sírna zlúčenina dimetyl sulfoxid (G).

Naopak zlúčeniny, ktoré boli prítomné v komerčných vzorkách a nevyskytovali sa v modelových, boli iba ester etyl-pentanoát prítomný len vo vzorke M 20 % tvs a sírna zlúčenina dimetyl trisulfid prítomný vo všetkých komerčných syroch.

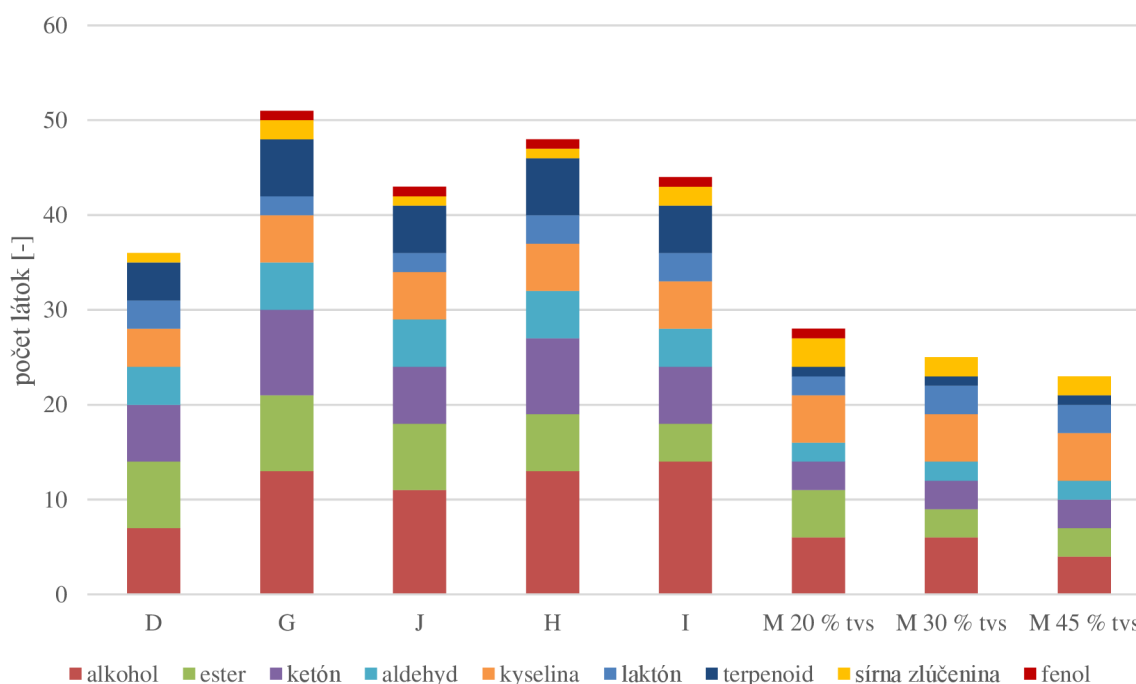
Na záver sa vo vzorkách ešte vyskytli látky, ktoré sa vyskytovali v niektorých (nie všetkých) modelových, ale aj niektorých (nie všetkých) komerčných vzorkách. Medzi tieto látky patrili alkoholy prenol (prítomný vo vzorkách G, J, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs a M 45 % tvs), pentán-3-ol (G, J, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs, M 45 % tvs), hexán-1-ol (D, G, J, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs) a bután-2,3-diol (D, G, J, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs), estery etyl-oktanoát (G, J, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs, M 45 % tvs) a metyl-tetradekanoát (G, J, H, I, M 20 % tvs), ketón nonán-2-ón (D, G, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs, M 45 % tvs), kyselina nonánová (G, J, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs, M 45 % tvs), laktóny δ -kapolaktón (D, J, H, I, M 30 % tvs, M 45 % tvs) a δ -dekalaktón (D, G, H, I, M 20 % tvs, M 30 % tvs, M 45 % tvs), sírna zlúčenina metionál (I, M 20 % tvs) a fenol (G, J, H, I, M 20 % tvs).

Celkovo bolo v komerčných vzorkách identifikovaných približne o polovicu menej prchavých látok, ako vo vzorkách modelových (viď Graf 1). Tento výsledok je zaujímavý, keďže komerčné vzorky by mali byť úplne zrelé, a teda by sme pri nich očakávali pestrejší prchavý profil. Na druhej strane, ak sa modelové vzorky nachádzali ešte len v počiatočnej fáze zrenia, nestihlo v nich ešte dôjsť ku všetkým metabolickým procesom, ktorých súčasťou je aj odbúranie niektorých prchavých látok. Tento predpoklad potvrdzuje skutočnosť, že väčšina prchavých látok, ktoré boli identifikované navyše v modelových vzorkách boli alkoholy (12). Tie budú pravdepodobne metabolizované v pokročilejších fázach zrenia. Ako druhý potvrdzujúci predpoklad je možné uviesť to, že v komerčných vzorkách nebola okrem zlúčenín etyl-pentanoát a dimetyl trisulfid prítomná žiadna látka, ktorá by nebola zaznamenaná aj v modelových vzorkách. Ďalej boli pri látkach nachádzajúcich sa len v niektorých vzorkách zaznamenané zlúčeniny prenol, pentán-3-ol, etyl oktanoát a kyselina nonánová chýbali len vo vzorke D. Ich absenciu teda môžeme pravdepodobne pripísať neprítomnosti termofilnej kultúry. Najväčšia podobnosť s modelovými vzorkami bola prítomná v prípade vzorky M 20 % tvs. Toto posúdenie podobnosti však nemôže byť považované za veľmi objektívne vzhľadom na neúplnú zrelosť modelových vzoriek.

Tabuľka 9: Porovnanie jednotlivých chemických skupín zlučenín identifikovaných vo vzorkách (celkový počet)

	D	G	J	H	I	M 20 % tvs	M 30 % tvs	M 45 % tvs
alkohol	7	13	11	13	14	6	6	4
ester	7	8	7	6	4	5	3	3
ketón	6	9	6	8	6	3	3	3
aldehyd	4	5	5	5	4	2	2	2
kyselina	4	5	5	5	5	5	5	5
laktón	3	2	2	3	3	2	3	3
terpénový uhl'ovodík	2	2	2	2	2	1	1	1
terpénový alkohol	1	2	2	2	2	0	0	0
terpénový ketón	1	1	1	1	1	0	0	0
terpénový aldehyd	0	1	0	1	0	0	0	0
sírna zlučenina	1	2	1	1	2	3	2	2
fenol	0	1	1	1	1	1	0	0
celkom	36	51	43	48	44	28	25	23

Značenie vzoriek vid' Tabuľka 4; M – komerčne zakúpené syry

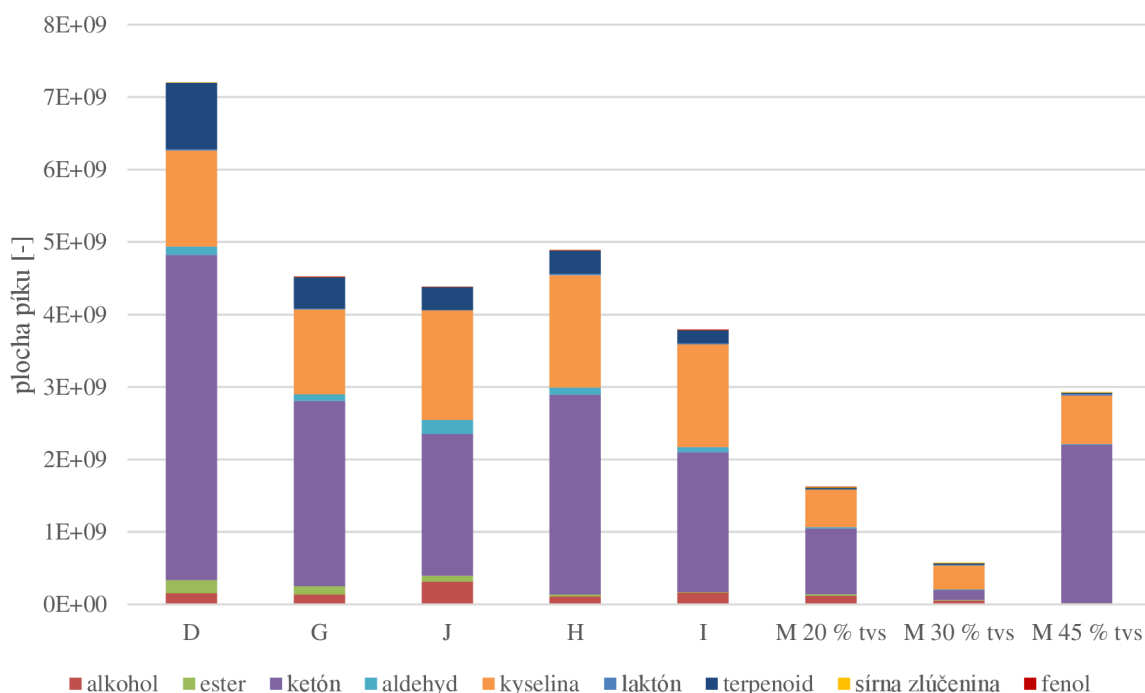


Graf 1: Porovnanie jednotlivých chemických skupín zlučenín identifikovaných vo vzorkách (celkový počet); značenie vzoriek vid' Tabuľka 4; M – komerčne zakúpené syry

4.2 Semikvantifikácia aromaticky aktívnych látok vo vzorkách

Obsah jednotlivých aromatických látok vo vzorkách bol zisťovaný len semikvantitatívne, vzhľadom na to, že z vysokej finančnej náročnosti nebolo možné použiť štandardy všetkých identifikovaných zlučenín pre ich úplnú kvantifikáciu. Semikvantitatívna analýza spočívala v porovnávaní plôch píkov jednotlivých zlučenín, čo je do istej miery zjednodušujúce, avšak rozdiely medzi jednotlivými vzorkami sa týmto spôsobom dajú dostatočne dobre vystihnúť.

Grafické znázornenie výsledkov, zrovnanie obsahu identifikovaných zlúčenín (viď Graf 2), je vyhotovené za použitia priemernej plochy píku z troch meraní jednej vzorky ($n = 3$).



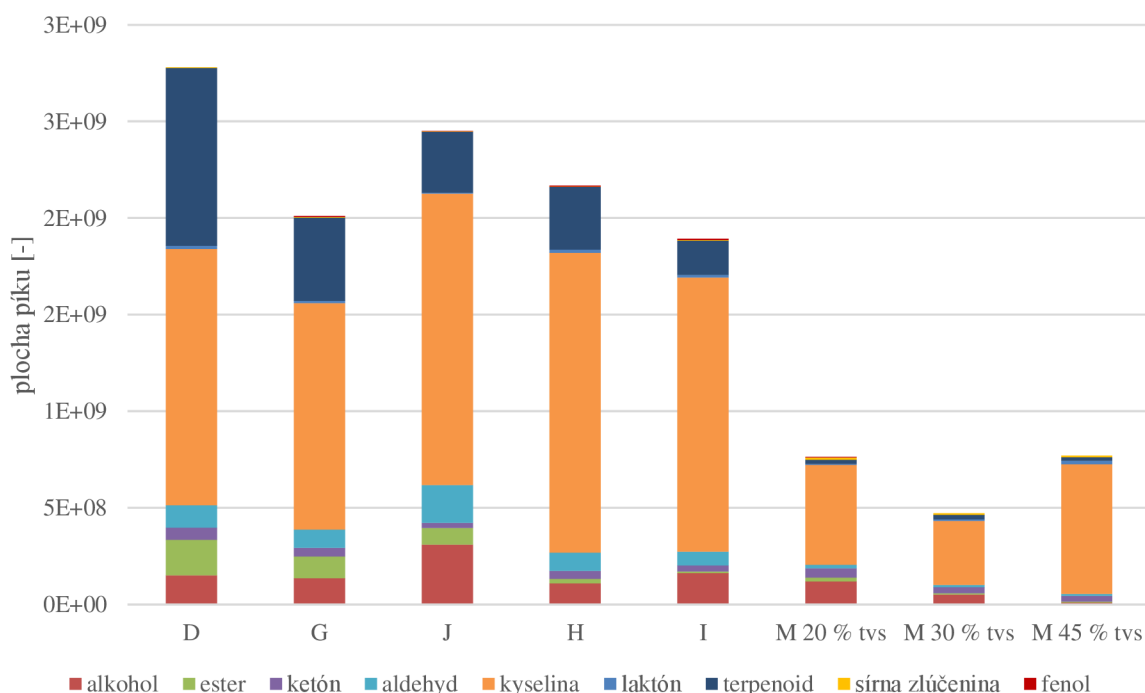
Graf 2: Porovnanie jednotlivých chemických skupín zlúčenín identifikovaných vo vzorkách (celkový obsah); značenie vzoriek viď Tabuľka 4; M – komerčne zakúpené syry

Z Grafu 2 je zrejmé, že najvyšší obsah prchavých látok bol nájdený prekvapivo vo vzorke D (bez prídavku termofilných laktobacilov); je však treba mať na pamäti, že vzorky boli na počiatku zrenia, k hlavným zmenám a uplatneniu termofilných kultúr bude pravdepodobne dochádzať v neskorších fázach zrenia.

Z tohto hľadiska je zaujímavý nízky obsah identifikovaných zlúčenín v komerčných vzorkách. Čiastočne môže byť tento nízky obsah vysvetlený aj tým, že v komerčných výrobkoch bolo identifikovaných zhruba o polovicu menej prchavých zlúčenín, ich celkový obsah teda musí byť v porovnaní s modelovými nižší.

Vo všetkých vzorkách prevládal obsah ketónov a následne kyselín. Vysoký obsah ketónov je spôsobený predovšetkým veľkým množstvom acetoínu. Acetoín je typický produkt metabolizmu laktátu a citrátu, ktorý sa uplatňuje v počiatkovej fáze zrenia syrov a v ďalších fázach zrenia je postupne odbúraný, zrejme výraznejšie prostredníctvom termofilných mikrobiálnych kultúr.

Jeho výrazne najväčší podiel v porovnaní s ďalšími modelovými vzorkami sa nachádza v referenčnej vzorke D, v ostatných vzorkách je jeho obsah približne rovnaký. To potvrdzuje už zmienený záver, že pri použití iba mezofilnej kultúry zrenie syrov v počiatkovej fáze prebieha pomalšie. Do istej miery by táto hypotéza vysvetľovala aj jeho nižší obsah v komerčných vzorkách M 20 a 30 % tvs. Avšak v M 45 % tvs sa jeho obsah približuje modelovým vzorkám, čo predpokladu nevyhovuje.



Graf 3: Porovnanie jednotlivých chemických skupín zlučenín identifikovaných vo vzorkách bez acetoínu (celkový obsah); značenie vzoriek vid' Tabuľka 4; M – komerčne zakúpené syry

Pre lepšiu prehľadnosť je v Grafe 3 uvedené porovnanie vzoriek bez zahrnutia obsahu acetoínu. Za týchto okolností vo vzorkách výrazne prevažuje obsah kyselín, a to v prípade modelových aj komerčných vzoriek. V komerčných vzorkách je ich obsah opäť približne o polovicu nižší pravdepodobne z dôvodu nižšieho celkového zastúpenia prchavých látok. Modelové vzorky ďalej disponujú vyšším obsahom terpenoidov, najmä v referenčnej vzorke D sa ich nachádza približne dvojnásobne toľko. Terpenoidy sa do mlieka a následne do syrov dostávajú predovšetkým z krmiva dojnic, a svedčia tak o použití kvalitného mlieka od dobre kŕmeného dobytku. Najvyšší obsah alkoholov je zase prítomný vo vzorke J.

Tabuľka 10: Štatistické spracovanie výsledkov – porovnanie celkového obsahu identifikovaných zlučenín v modelových vzorkách

	D	G	J	H	I
D		R	R	R	R
G			P	P	P
J				P	P
H					R
I					

Značenie vzoriek vid' Tabuľka 4; R – medzi vzorkami je významný rozdiel ($p < 0,05$)

Zo štatistického porovnania výsledkov (vid' Tabuľky 10 a 11) sú zrejme štatisticky významné ($p < 0,05$) rozdiely medzi vzorkami. Najvyšší obsah prchavých látok bol nájdený vo vzorke D (bez prídavku termofilov); čo sa týka porovnania termofilných kultúr medzi sebou (Graf 2 a 3, Tabuľka 10), výsledky sú opäť nejednoznačné, a sú tu rozdiely aj v rámci kmeňov toho istého druhu, iba v prípade *Lbc plantarum* je však rozdiel štatisticky významný.

Tabuľka 11: Štatistické spracovanie výsledkov – porovnanie celkového obsahu identifikovaných zhlúčenín v komerčných vzorkách

	M 20 % tvs	M 30 % tvs	M 45 % tvs
M 20 % tvs		R	R
M 30 % tvs			R
M 45 % tvs			

Značenie vzoriek: M – komerčne zakúpené syry; R – medzi vzorkami je významný rozdiel ($p < 0,05$)

Z porovnania komerčných vzoriek (Graf 2 a 3, Tabuľka 11) sú viditeľné štatisticky významné ($p < 0,05$) rozdiely, ktoré je možné pripočítať neštandardnosti, čo znamená nie úplne presne známemu zloženiu a spôsobu výroby vzoriek.

5 ZÁVER

Cieľom tejto bakalárskej práce bola identifikácia a kvantifikácia prchavých aromaticky aktívnych látok vo vzorkách eidamských syrov. Ide o látky, ktoré z pohľadu chemického zaradenia môžu byť kategorizované ako alkoholy, estery, ketóny, aldehydy, kyseliny, laktóny, terpenoidy, fenoly a ďalšie. Ich zmes a jemná rovnováha určujú výslednú arómu a chuť syrov. Stanovenie týchto látok prebehlo pomocou metódy HS-SPME-GC-MS, teda mikroextrakcie pevnou fázou s následnou separáciou pomocou plynovej chromatografie a detekciou hmotnostným spektrometrom. Prchavé látky vyextrahované zo vzoriek boli identifikované na základe porovnania ich hmotnostných spektier s knižnicou spektier.

Modelové vzorky analyzované v experimentálnej časti boli vyrobené na Univerzite Tomáša Baťu v Zlíne štandardným technologickým postupom. Predmetom tejto práce boli syry v počiatočnej fáze zrenia (14 dní po výrobe). Vzorky pozostávali zo štyroch exemplárov obsahujúcich základnú mezofilnú zmiešanú kultúru a vybrané kmene dvoch termofilných kultúr (*Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum*), ktoré boli porovnávané s referenčnou vzorkou s použitím len mezofilnej zmiešanej kultúry. Ďalej boli tieto modelové vzorky porovnávané s komerčnými syrmi eidamského typu značky Madeta obsahujúcimi rôzny podiel tvs (20, 30 a 45 % tvs) zakúpenými v bežnej maloobchodnej sieti.

Celkovo bolo vo všetkých vzorkách syrov identifikovaných 64 prchavých zlúčenín, z toho 18 alkoholov, 11 esterov, 9 ketónov, 7 aldehydov, 5 kyselín, 3 laktónv, 2 terpénové uhľovodíky, 2 terpénové alkoholy, 1 terpénový ketón, 1 terpénový aldehyd, 4 sírne zlúčeniny a 1 fenol. Z hľadiska chemických skupín boli v prípade modelových vzoriek zastúpené v najväčšom počte alkoholy, ďalej potom estery, ketóny, kyseliny a terpenoidy. V komerčných vzorkách sa nachádzali v prevahe podobne alkoholy a kyseliny.

V rámci použitých mikrobiálnych kultúr boli najväčšie odlišnosti podľa očakávania zaznamenané medzi referenčnou vzorkou s mezofilnou kultúrou a ostatnými vzorkami obsahujúcimi prídavok termofilných kultúr. V referenčnej vzorke bol identifikovaný výrazne menší počet prchavých zlúčenín. Vo vzorke s mezofilnou kultúrou bude teda pravdepodobne zrenie prebiehať pomalšie ako s prídavkom termofilov. Z pohľadu termofilných kultúr nebolo možné jednoznačne dokázať významné odlišnosti v prchavom profile syrov, drobné zmeny sa však vyskytovali v spojení s použitím ich jednotlivých kmeňov.

Celkovo bol počet identifikovaných zlúčenín v modelových vzorkách približne o polovicu vyšší ako v prípade komerčných syrov. Z hľadiska úplnej zrelosti komerčných vzoriek tento výsledok neodpovedá predpokladu. Na druhej strane pri zohľadnení neúplnej zrelosti modelových vzoriek bolo usúdené, že v nich ešte pravdepodobne bude v neskorších fázach zrenia dochádzať k odbúraniu niektorých látok. Napriek kvantitatívnej odlišnosti modelových a komerčných vzoriek vyplýva z charakteru identifikovaných prchavých zlúčenín značná kvalitatívna podobnosť.

Semikvantitatívna analýza prchavého profilu svedčí opäť o vyššom obsahu prchavých látok približne o polovicu v modelových vzorkách. Nižší obsah látok v komerčných vzorkách je prekvapivý, ale čiastočne veľmi jednoducho vysvetliteľný celkovým nižším zastúpením prchavých zlúčenín. Z modelových, ale aj komerčných vzoriek, bol najvyšší obsah prchavých látok zaznamenaný v referenčnej vzorke, čo je pravdepodobne spôsobené pomalším nástupom zrenia pri použití len mezofilnej kultúry. Táto skutočnosť je potvrdená aj prítomnosťou štatisticky významného rozdielu v porovnaní s ostatnými modelovými vzorkami. V modelových vzorkách s použitím termofilnej kultúry nebol zaznamenaný významný rozdiel v obsahu prchavých zlúčenín, čo zo štatistického hľadiska vystihuje až na jednu výnimku

neprítomnosť významných rozdielov. V prípade komerčných vzoriek boli vzájomné rozdiely markantnejšie, a sú tu prítomné aj štatisticky významné rozdiely pripisované nie úplne známemu zloženiu a spôsobu ich výroby.

V nadväzujúcich experimentoch by mohlo byť zaujímavé porovnanie komerčne dostupných syrov s modelovými vzorkami, ktoré sú úplne zrelé. Pozornosť by ďalej mohla byť venovaná aj posúdeniu, s akou významnosťou jednotlivé identifikované prchavé látky prispievajú k výslednému senzoričkému profilu syrov.

6 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] Vyhláška č. 397/2016 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje § 1. In: Sbirka zákonů. 2016.
- [2] Creating different cheese characteristics. *Science Learning Hub* [online]. The University of Waikato, 2012 [cit. 2019-01-28]. Dostupné z: <https://www.sciencelearn.org.nz/resources/829-creating-different-cheese-characteristics>
- [3] JANŠTOVÁ, Bohumíra. *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. ISBN 978-80-7305-635-3.
- [4] *Sýry v lidské výživě* [online]. 2014 [cit. 2019-01-28]. Dostupné z: http://www.viscojis.cz/teens/index.php?option=com_content&view=article&id=134%3A125&cati=
- [5] TEUBNER, Christian, H. MAIR-WALDBURG a F.-W. EHLERT. *Sýry - velká encyklopedie*. 11. vyd. Bratislava: Trio Publishing, 2003. ISBN 80-968705-1-3.
- [6] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-708-0510-2.
- [7] BUŇKA, František. *Mlékárenská technologie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013. ISBN 978-80-7454-254-1.
- [8] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [9] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [10] SIMPSON, Benjamin K. *Food biochemistry and food processing*. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-081-3808-741.
- [11] MILLER, Gregory D., Judith K. JARVIS a Lois D. MCBEAN. *Handbook of dairy foods and nutrition*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. ISBN 08-493-2828-4.
- [12] ČERNÁ, Marie. *Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků*. Praha: STI, 1979, 141 s.
- [13] KERESTEŠ, Ján. *Mlieko vo výžive ľudí*. Bratislava: CAD Press, 2016. ISBN 978-80-88969-72-3.
- [14] FOX, P. F. *Cheese: chemistry, physics, and microbiology*. 3rd ed. London: Elsevier, 2004. ISBN 01-226-3651-1.
- [15] DRDÁK, Milan, Jolana KAROVIČOVÁ, Eva MÓROVÁ a Július STUDNICKÝ. *Základy potravinárskych technológií spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín: spracovanie rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie, uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. 3rd ed. Bratislava: Malé Centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.
- [16] ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-708-0239-1.
- [17] LAW, Barry A. a A. Y. TAMIME. *Technology of cheesemaking*. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell, 2010. ISBN 978-140-5182-980.
- [18] TAMIME, A. Y., HOLKO, Ivan, ed. *Sýry - Zlín - 2012: perspektivy výroby sýrů a hodnocení jejich jakosti: mezinárodní konference: sborník příspěvků: Zlín, 15. listopadu 2012*. 2nd ed. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2012. ISBN 978-80-7454-231-2.
- [19] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-864-9402-0.

- [20] TAKÁCSOVÁ, Mária, Alexander PRÍBELA a Jana RIEGLOVÁ. *Chémia potravín*. 2. vyd. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1996. Edícia skript. ISBN 80-227-0861-5.
- [21] VAN LEUVEN, I., T. VAN CAELENBERG a P. DIRINCK. Aroma characterisation of Gouda-type cheeses. *International Dairy Journal*. 2008, 18(8), 790-800. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.01.001. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694608000046>
- [22] DIRINCK, P, A DE WINNE a P. DIRINCK. Flavour characterisation and classification of cheeses by gas chromatographic-mass spectrometric profiling. *Journal of Chromatography A*. 1999, 847(1-2), 203-208. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)00193-4. ISSN 00219673. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967399001934>
- [23] TUNGJAROENCHAI, W., M.A. DRAKE a C.H. WHITE. Influence of Adjunct Cultures on Ripening of Reduced Fat Edam Cheeses. *Journal of Dairy Science*. 2001, 84(10), 2117-2124. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74656-5. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030201746565>
- [24] MCSWEENEY, Paul L.H., Patrick F. FOX a Felicia CIOCIA. Metabolism of Residual Lactose and of Lactate and Citrate. *Cheese*. Elsevier, 2017, 411-421. DOI: 10.1016/B978-0-12-417012-4.00016-8. ISBN 9780124170124. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124170124000168>
- [25] MCSWEENEY, Paul L H, Fernanda F.G. DIAS, Jaqueline D. CALIMAN, Fabio AUGUSTO a Leandro W. HANTAO. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 2004, 57(2-3), 127-144. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x. ISSN 1364-727X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x>
- [26] YVON, Mireille a Liesbeth RIJNEN. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal*. 2001, 11(4-7), 185-201. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00049-8. ISSN 09586946. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601000498>
- [27] COLLINS, Yvonne F., Paul L.H. MCSWEENEY a Martin G. WILKINSON. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*. 2003, 13(11), 841-866. DOI: 10.1016/S0958-6946(03)00109-2. ISSN 09586946. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694603001092>
- [28] VAN LEUVEN, I., T. VAN CAELENBERG a P. DIRINCK. Aroma characterisation of Gouda-type cheeses: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*. 2008, 18(8), 790-800. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.01.001. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694608000046>
- [29] HEAVEN, Michael W. a David NASH. Recent analyses using solid phase microextraction in industries related to food made into or from liquids. *Food Control*. 2012, 27(1), 214-227. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.03.018. ISSN 09567135. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512001466>
- [30] BELINATO, João R., Fernanda F.G. DIAS, Jaqueline D. CALIMAN, Fabio AUGUSTO a Leandro W. HANTAO. Opportunities for green microextractions in comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomics - A review. *Analytica Chimica Acta*. 2018, 1040(1), 1-18. DOI: 10.1016/j.aca.2018.08.034. ISSN 00032670. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267018310006>

- [31] PAWLISZYN, Janusz. *Solid phase microextraction: theory and practice*. New York: Wiley-VCH, c1997. ISBN 04-711-9034-9.
- [32] XU, Chang-Hua, Guo-Sheng CHEN, Zhen-Hai XIONG, Yu-Xia FAN, Xi-Chang WANG a Yuan LIU. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016, 80, 12-29. DOI: 10.1016/j.trac.2016.02.022. ISSN 01659936. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993616300139>
- [33] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [34] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. 2., upr. a dopl. vyd. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [35] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [36] CHRISTIAN, Gary D. a James E. O'REILLY. *Instrumental analysis*. 2nd ed. Boston: Allyn and Bacon, c1986. ISBN 02-050-8685-3.
- [37] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST a F. James HOLLER. *Fundamentals of analytical chemistry*. 7th ed. Fort Worth: Saunders College Pub., c1996. ISBN 00-300-5938-0.
- [38] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. 7th ed. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-718-4586-8.
- [39] BEYERMANN, Klaus. *Organická stopová analýza*. Praha: SNTL, 1987.
- [40] SCHOMBURG, Gerhard. *Gas chromatography: a practical course*. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1990. ISBN 35-272-7879-6.

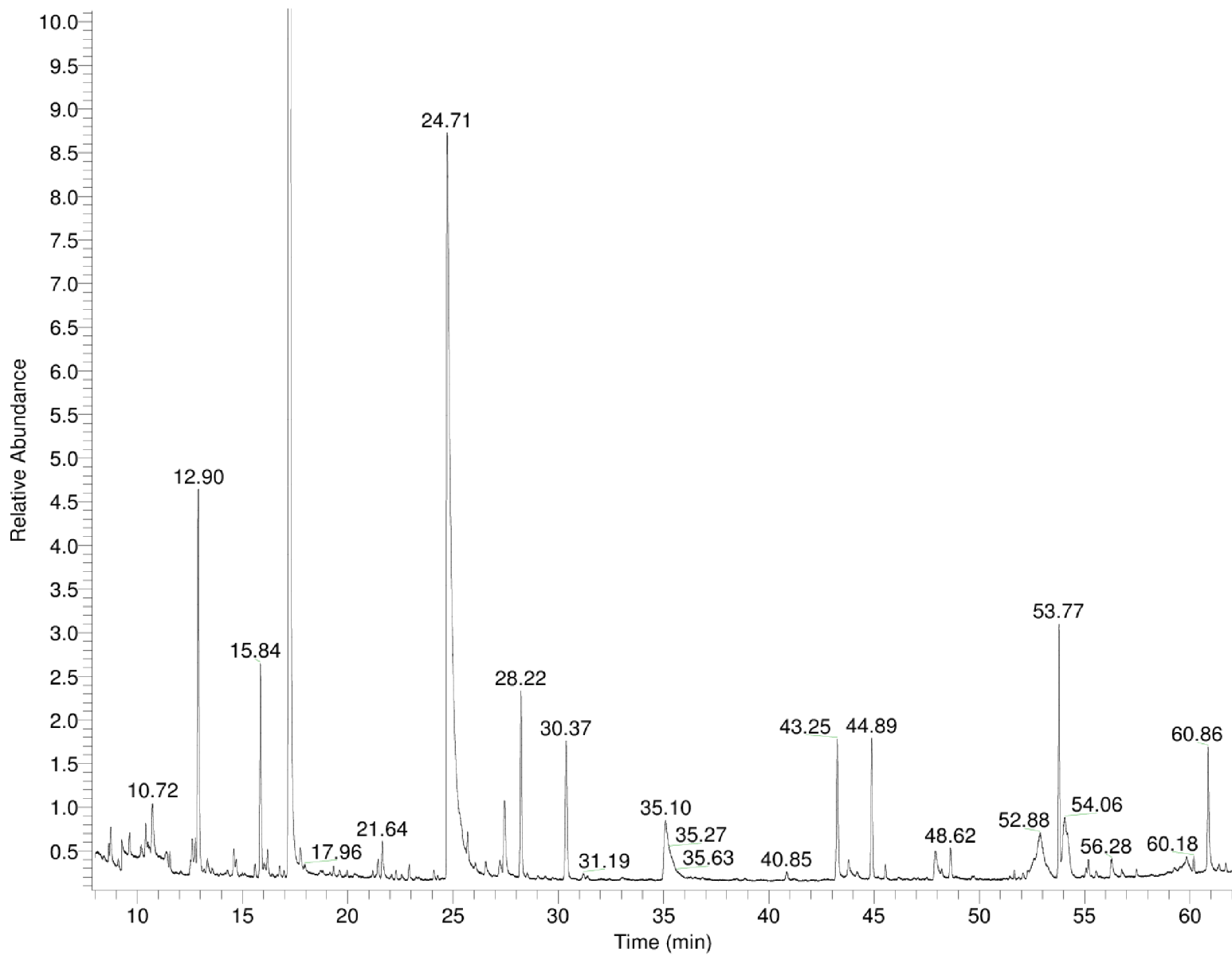
7 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

tvS	tuk v sušine
SPME	Mikroextrakcia pevnou fázou (Solid Phase Microextraction)
HS-SPME	Headspace extrakcia SPME (Headspace SPME)
DI-SPME	Priama extrakcia SPME (Direct Immersion SPME)
TCD	Tepelne-vodivostný detektor (Thermal Conductivity Detector)
FID	Plameňový ionizačný detektor (Flame Ionization Detector)
AFID	Plameňový ionizačný detektor s alkalickým kovom (Alkali Flame Ionization Detector)
TID	Bezplameňový detektor s alkalickým kovom (Thermic Ionization Detector)
ECD	Detektor elektrónového záchytu (Electron Capture Detector)
PID	Fotoionizačný detektor (Photoionization Detector)
EI	Ionizácia nárazom elektrónov (Electron impact ionization)
CI	Chemická ionizácia (Chemical ionization)
FI	Ionizácia elektrickým poľom (Field ionization)
FD	Desorpcia poľom (Field desorption)
FAB	Ionizácia ostreľovaním vzorky rýchlymi atómami (Fast atom bombardment)
SIMS	Ionizácia rýchlymi iónmi (Secondary ion mass spectrometry)
PD	Plazmová desorpcia (Plasma desorption)
MALDI	Desorbčná fotoionizácia (Matrix assisted laser desorption)
TS	Termosprej (Thermospray)
ES	Elektrosprej (Electrospray)
SIM	Single ion monitoring
MID	Multiple ion detection

8 PRÍLOHY

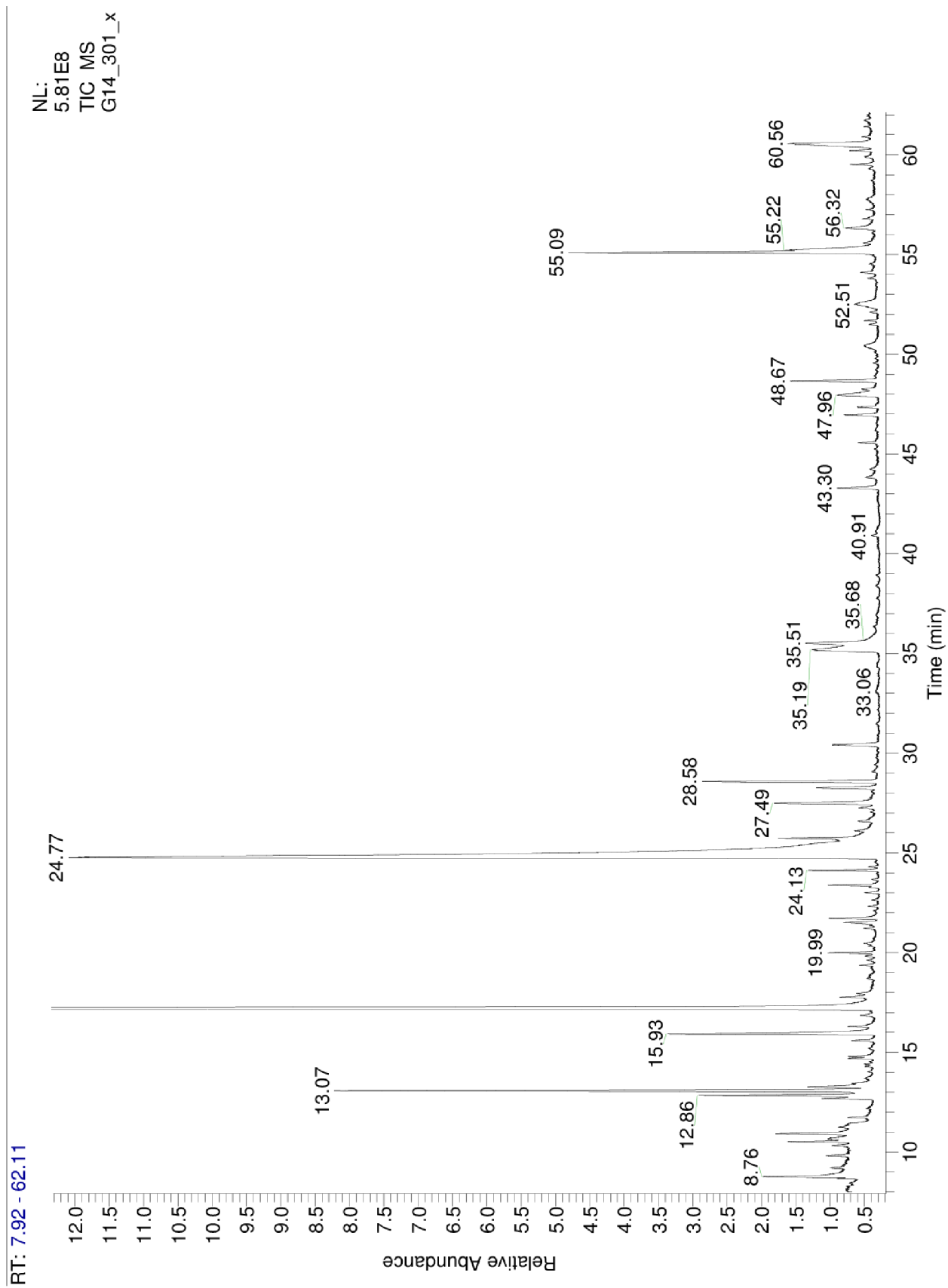
<i>Príloha 1</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke D
<i>Príloha 2</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke G
<i>Príloha 3</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke J
<i>Príloha 4</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke H
<i>Príloha 5</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke I
<i>Príloha 6</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke Madeta Jihočeský Eidam 20 % plátky
<i>Príloha 7</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke Madeta Jihočeský Eidam 30 % plátky
<i>Príloha 8</i>	Chromatogram prchavých látok vo vzorke Madeta Jihočeský Eidam 45 % plátky

RT: 7.85 - 62.10

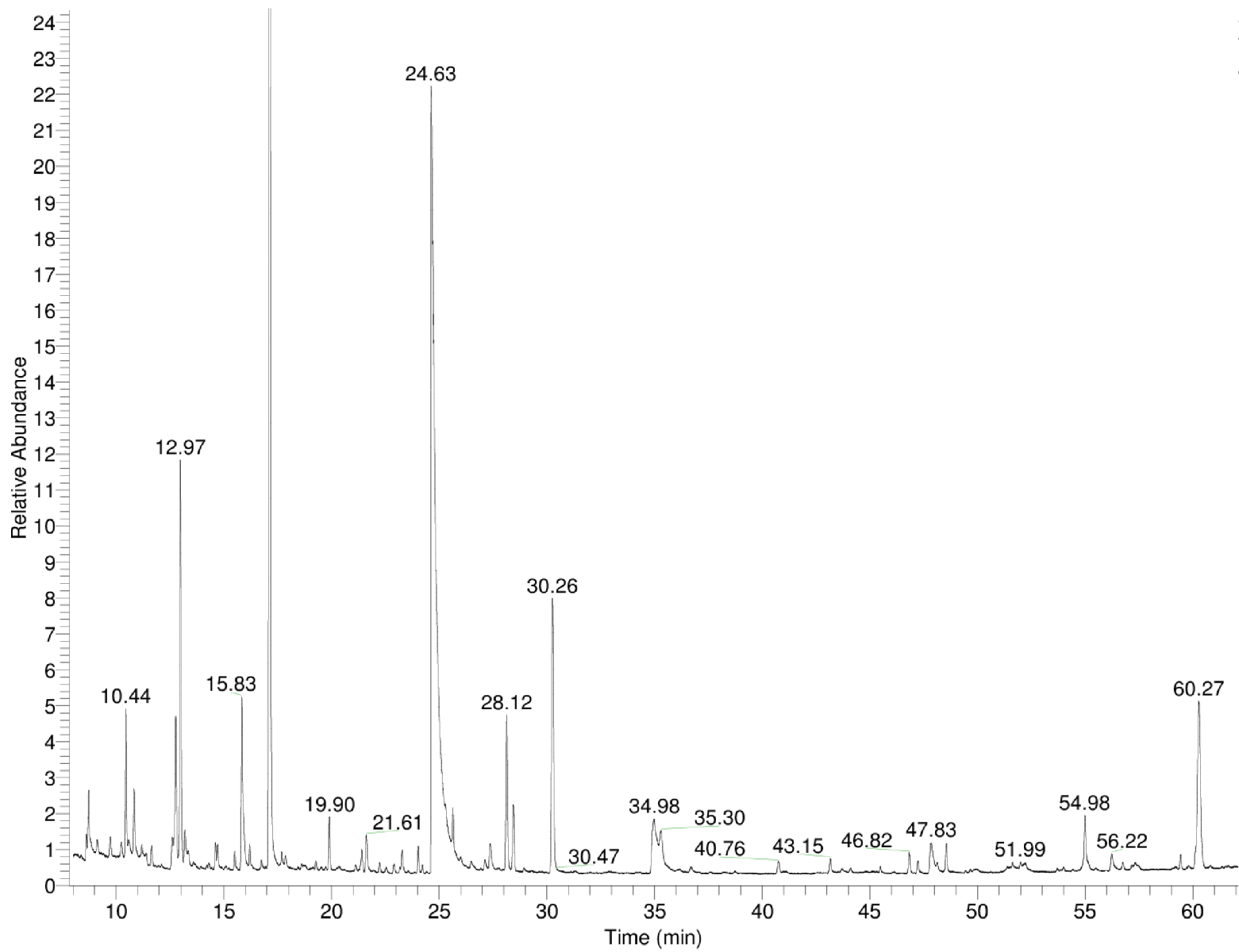
NL:
9.79E8
TIC MS
D14_301_x

Príloha I : Chromatogram prechajúcich látok vo vzorke D; identifikácia zličenin na základe referenčných časov (viď Tabuľka 8)

Príloha 2: Chromatogram prchavých látok vo vzorke G; identifikácia zŕúčenín na základe retenčných časov (vid' Tabuľka 8)



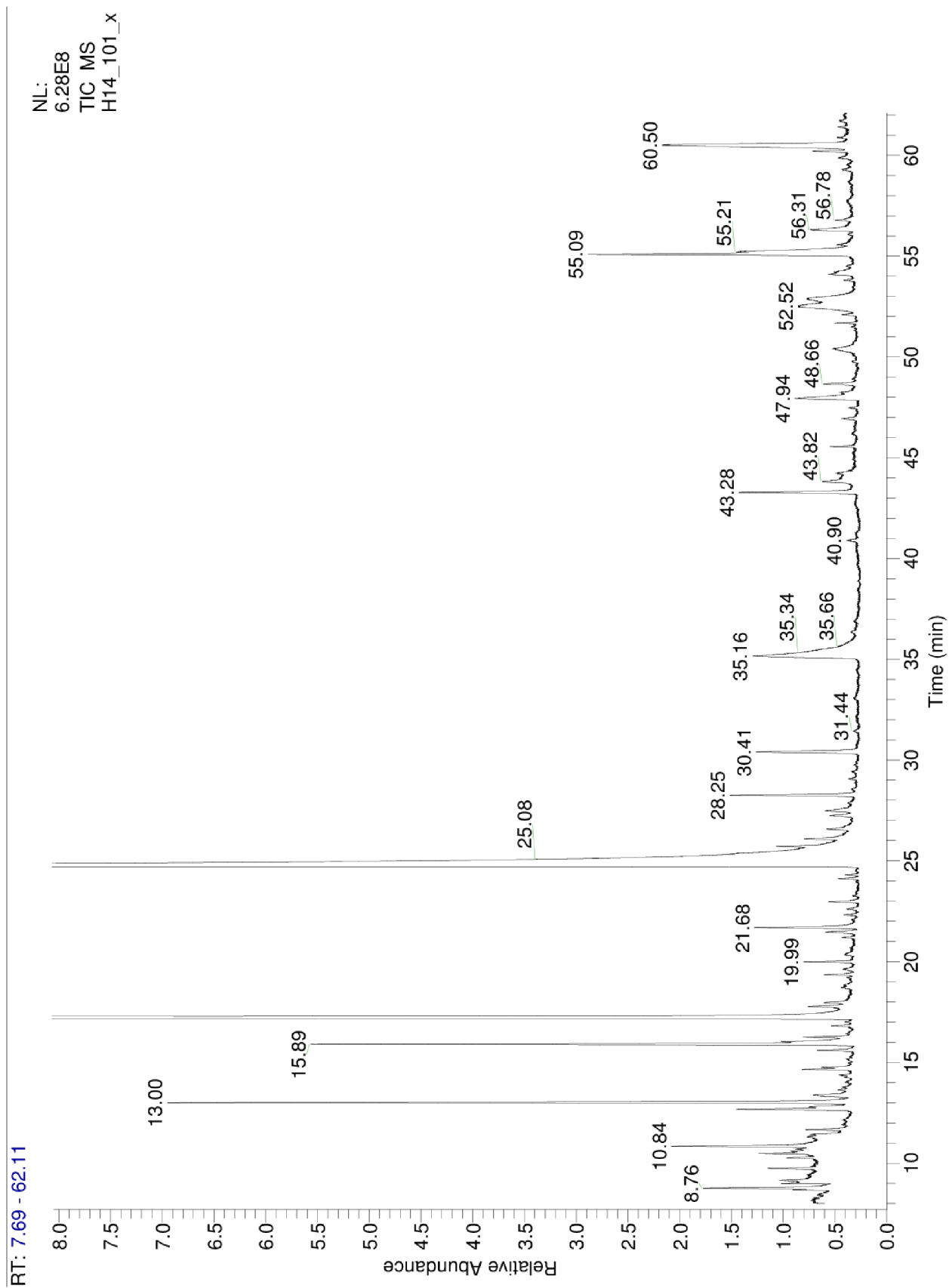
RT: 7.81 - 62.10



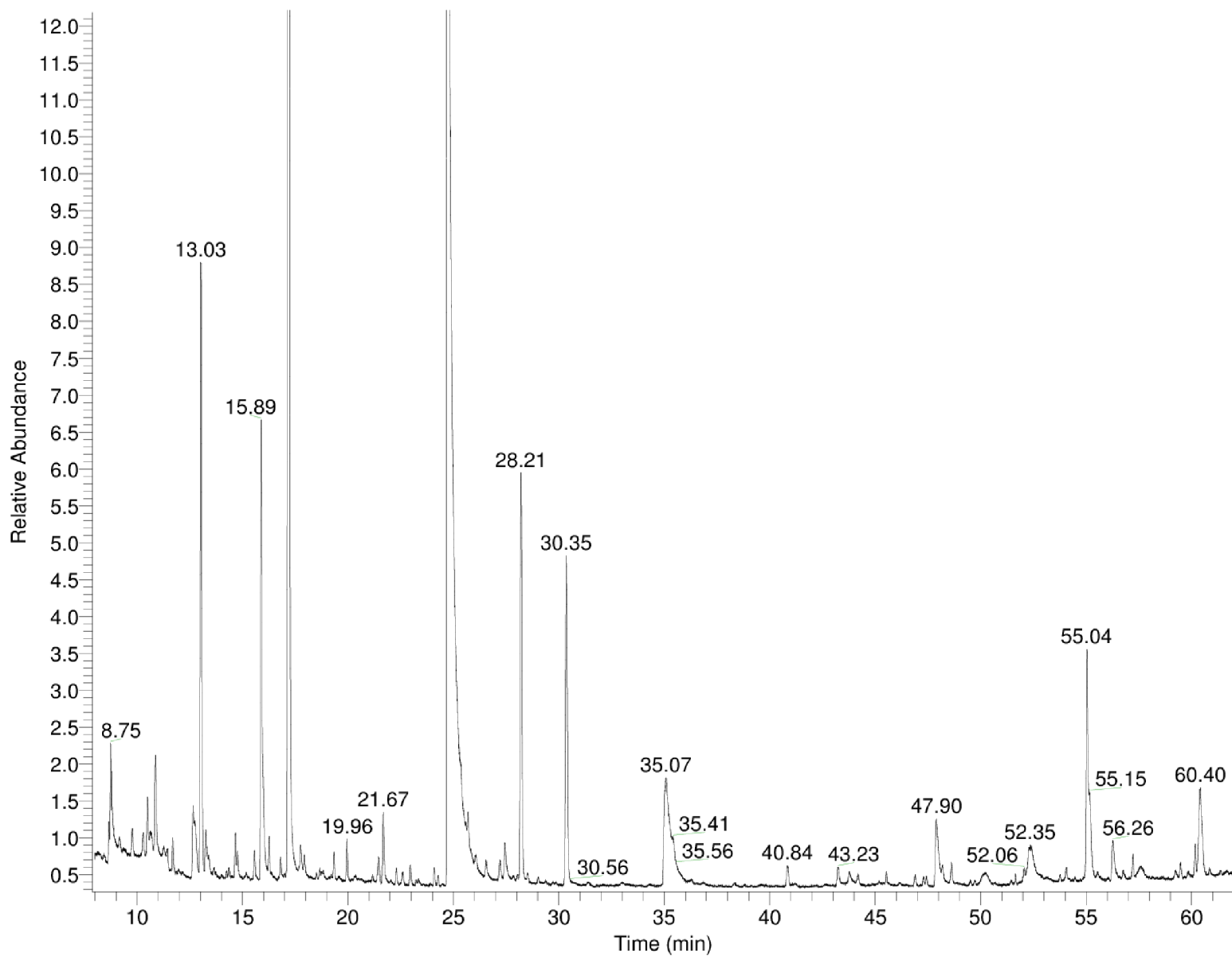
NL:
4.43E8
TIC MS
J14_3_x

Príloha 3: Chromatogram prechajúcich látok vo vzorke J; identifikácia zličenin na základe retenčných časov (viď Tabuľka 8)

Príloha 4: Chromatogram prchavých látok vo vzorke H; identifikácia zložení na základe retenčných časov (vid' Tabuľka 8)

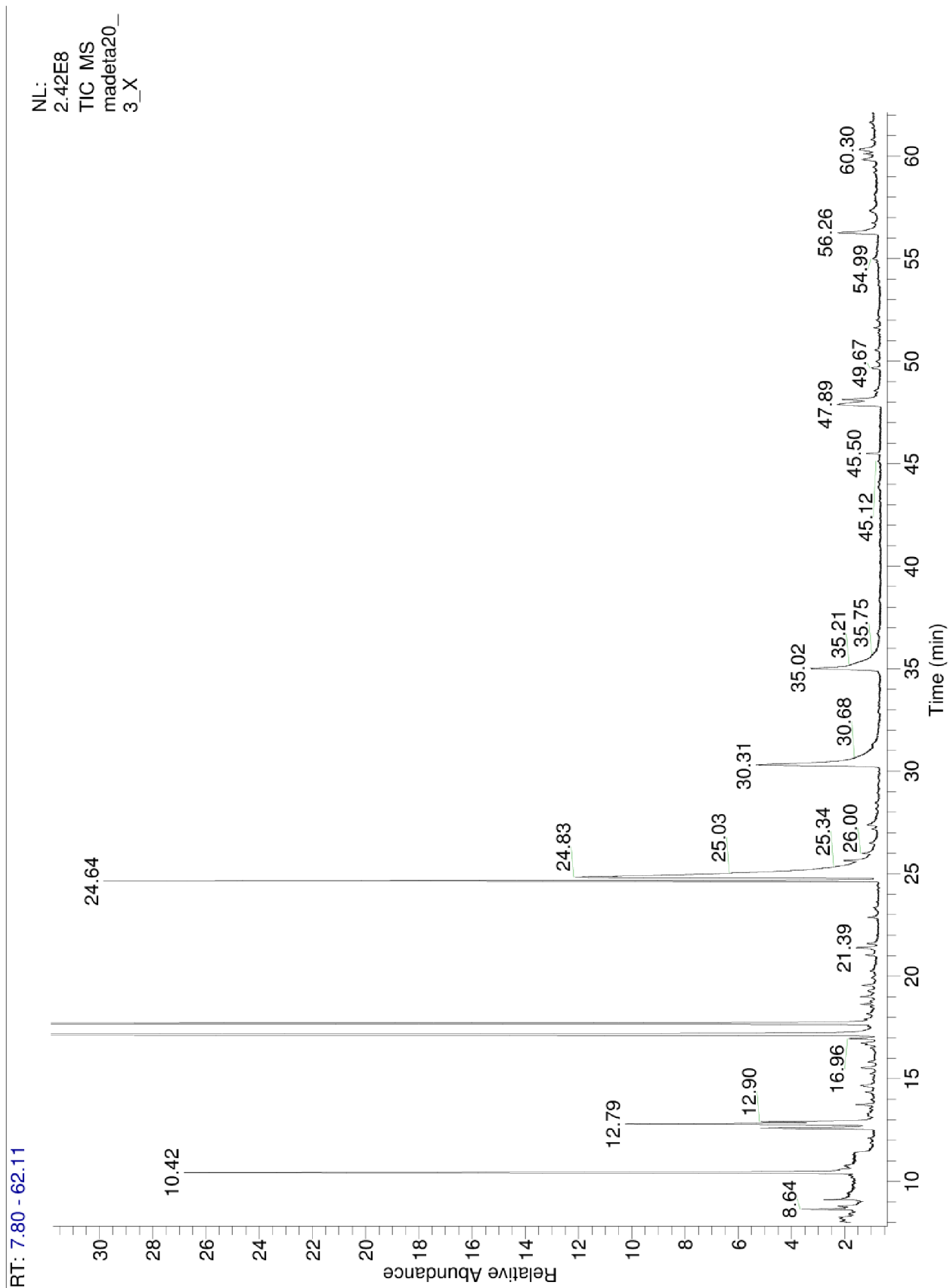


RT: 7.88 - 62.01

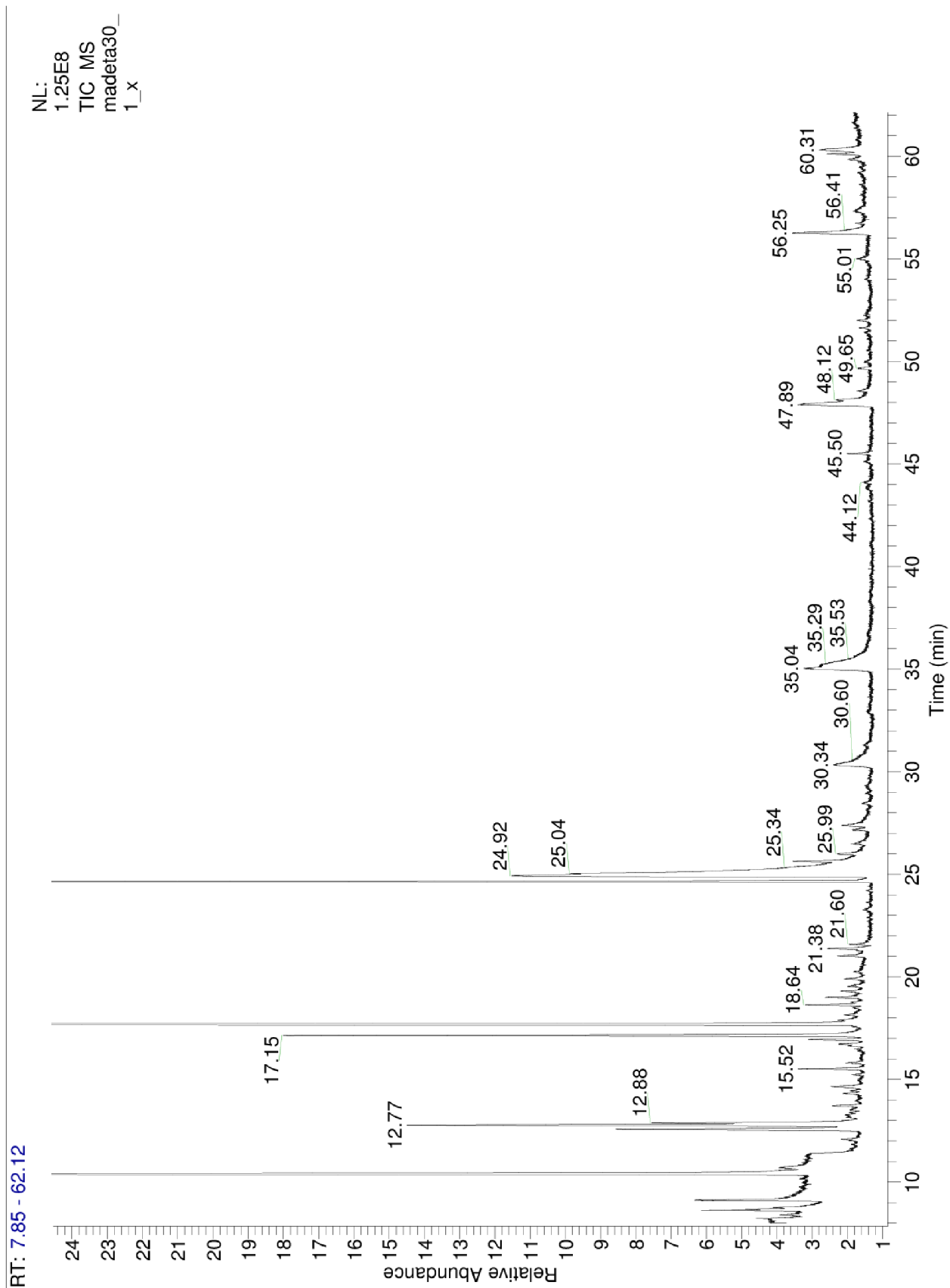
NL:
4.72E8
TIC MS
I14_301_x

Príloha 5: Chromatogram prechajúcich látok vo vzorke I; identifikácia zličenín na základe retenčných časov (viď Tabuľka 8)

Príloha 6: Chromatogram prchavých látok vo vzorke Madeta Jihočeský Eidam 20 % plátky; identifikácia zložení na základe retenčných časov (viď Tabuľka 8)



Príloha 7: Chromatogram prchavých látok vo vzorke Madeta Jihočeský Eidam 30 % plátky; identifikácia zložení na základe retenčných časov (viď Tabuľka 8)



Príloha 8: Chromatogram prchavých látok vo vzorke Madeta Jihočeský Eidam 45 % plátky; identifikácia zložení na základe retenčných časov (viď Tabuľka 8)

