



# 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

# VÝROBA A CHARAKTERIZACE SÝRŮ S PŘÍDAVKEM ROSTLINNÉHO EXTRAKTU

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHEESE WITH THE ADDITION OF PLANT EXTRACT

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Štefan Kučerka

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2021

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1556/2020 Akademický rok: 2020/21  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Štefan Kučerka**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Výroba a charakterizace sýrů s přídavkem rostlinného extraktu

### Zadání diplomové práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
  - čerstvé sýry – charakteristika, složení a vlastnosti, technologie výroby
  - sensorická kvalita, těkavé (aromatické) látky, mastné kyseliny v čerstvých sýrech
  - stručná charakteristika vybraných rostlinných materiálů, obsažené těkavé (aromatické) látky, látky s antioxidačním potenciálem, jejich význam a možnosti využití v potravinářství
  - možnosti stanovení těkavých látek a mastných kyselin v čerstvých sýrech – princip, provedení, přehled aplikací
  - možnosti sensorického hodnocení sýrů – přehled aplikací na čerstvé sýry
  - možnosti měření antioxidační aktivity – princip, provedení, přehled aplikací na čerstvé sýry
- Vyrobte modelové vzorky čerstvých sýrů s přídavkem bylin a bylinných extraktů
- Pomocí vybraných metod posuďte antioxidační potenciál, profil těkavých látek a mastných kyselin, a celkovou sensorickou kvalitu vyrobených vzorků

### Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

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

-----  
Bc. Štefan Kučerka  
student(ka)

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

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## Abstrakt

Táto diplomová práca sa zaoberala prípravou a charakterizáciou čerstvých syrov s prídavkom rastlinných extraktov, konkrétne extraktov z *Plectranthus amboinicus* (rýmovník) a *Echinacea purpurea* (echinacea purpurová). Účelom bolo pripraviť vzorky s vyššou senzoricou kvalitou a nutričnou hodnotou.

Vyrobené syry boli charakterizované z hľadiska prchavých (aromatických) látok, obsahu mastných kyselín, celkových fenolických látok, antioxidačnej aktivity a senzorickej kvality.

Vzorka syra s prídavkom extraktu z echinacey dosiahla najvyššie hodnoty obsahu fenolických látok ( $0,172 \pm 0,019 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  syra) a antioxidačnej aktivity ( $91,2 \pm 2,2 \mu\text{g}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$  syra). V porovnaní so štandardným syrom (bez prídavku extraktu), vzorka syra s prídavkom extraktu z rýmovníka taktiež dosiahla vyššie hodnoty obsahu celkových fenolických látok a antioxidačnej aktivity.

V oboch vzorkách s prídavkami extraktov (rýmovník, echinacea) bolo identifikovaných zhodne 43 prchavých (aromatických) látok, vo vzorke štandardného syra 33. Vo vzorke s echinaceou tvoril vysoký obsah kamfor (15,23 %) zodpovedný za gáľrovú arómu, ktorý bol taktiež identifikovaný v malom množstve vo vzorke s rýmovníkom. Najvyšší obsah prchavých látok bol identifikovaný vo vzorke s rýmovníkom.

Zo senzorickeho hľadiska bola najlepšie hodnotená vzorka štandardného syra. Prídavok extraktov mal negatívny vplyv na vnímanie farby, chute aj vône syrov. Najsilnejšia bylinková chuť bola identifikovaná u vzorky s echinaceou, nahnedlá farba tejto vzorky sa prejavila nižšou príjemnosťou farby.

Zo získaných výsledkov vyplýva, že prídavok extraktov zvyšuje nutričnú hodnotu syrov (vyšší obsah aromatických látok a fenolických zlúčenín, vyššia antioxidačná aktivita), ale znižuje ich senzoricú kvalitu a celkovú prijateľnosť spotrebiteľmi.

## Kľúčové slová

Čerstvé syry, rastlinné extrakty, antioxidanty, aromatické látky, MK, SPME, GC-FID/MS

## Abstract

This master's thesis deals with production and characterization of fresh cheese with addition of herb extracts, specifically extracts from *Plectranthus amboinicus* and *Echinacea purpurea*. The purpose of this thesis was to prepare samples with higher sensory quality and nutritional value.

Produced cheeses were characterized in terms of volatile (aroma) substances, fatty acid content, total phenolic substances, antioxidant activity and sensory quality.

Cheese sample with added extract from *E. purpurea* reached the highest value of total phenolic compounds ( $0,172 \pm 0,019 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  of cheese) and antioxidant activity ( $91,2 \pm 2,2 \mu\text{g}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$  of cheese). Cheese sample with added extract from *P. amboinicus*, compared to standard cheese sample (without added extract) also reached higher values of total phenolic compounds and antioxidant activity.

43 volatile (aroma) compounds were identified in both samples with added extracts (*P. amboinicus*, *E. purpurea*), in standard cheese sample it was 33. In sample with *E. purpurea* camphor was present in high amount (15,23 %) responsible for the camphor aroma, camphor was also identified in small amount in sample with *P. amboinicus*. Highest volatile matter content was identified in sample with *P. amboinicus*.

Standard cheese sample was rated as the best from the sensory perspective. Addition of extracts had negative effect on color, taste, and aroma perception of cheese. Strongest herbal taste was identified in sample with *E. purpurea*, brownish color of this sample manifested in lower pleasantness of color.

Obtained results show, that extract addition increases the nutritional value of cheese (higher content of aromatic substances and phenolic compounds, higher antioxidant activity), but lowers sensory quality and overall consumer acceptability.

## Key words

Fresh cheese, plant extracts, antioxidants, aroma compounds, FA, SPME, GC-FID/MS

KUČERKA, Štefan. Výroba a charakterizace sýrů s přídavkem rostlinného extraktu. Brno, 2021. Dostupné tiež z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131321>. Diplomová práca. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedúci práce Eva Vítová.

### **Prehlásenie**

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

.....  
Podpis študenta

**Pod'akovanie:** Chcel by som sa poďakovať svojej vedúcej doc. Ing. Eve Vítovej Ph.D. za vedenie diplomovej práce, za cenné rady a pripomienky, za trpezlivosť a čas.

## OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČASŤ	9
2.1	Čerstvé syry	9
2.1.1	Charakteristika čerstvých syrov	9
2.1.2	Rozdelenie čerstvých syrov	10
2.1.3	Vlastnosti čerstvých syrov	10
2.1.4	Zloženie čerstvých syrov	11
2.1.5	Technológia výroby čerstvých syrov	12
2.1.6	Mastné kyseliny v čerstvých syroch	14
2.1.7	Aromatické látky v čerstvých syroch	16
2.2	Vybrané rastlinné materiály	17
2.2.1	Rýmovník – <i>Plectranthus amboinicus</i>	17
2.2.2	Migrénovník – <i>Tetradenia riparia</i>	19
2.2.3	Echinacea	21
2.3	Možnosti stanovenia prchavých látok v čerstvých syroch	23
2.3.1	Mikroextrakcia pevnou fázou	23
2.3.2	Plynová chromatografia	23
2.3.3	Hmotnostná spektrometria	24
2.3.4	Prehľad aplikácií na čerstvé syry	25
2.4	Možnosti stanovenia mastných kyselín v čerstvých syroch	25
2.4.1	Plameňovo ionizačný detektor	26
2.4.2	Prehľad aplikácií na čerstvé syry	26
2.5	Možnosti merania antioxidačnej aktivity	26
2.5.1	Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) test	26
2.5.2	Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) test	27
2.5.3	Test na vychytávanie 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylového radikálu (DPPH)	27
2.5.4	Ferric reducing antioxidant power (FRAP) test	27
2.5.5	Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) test	28
2.5.6	Celkový obsah fenolických látok	28
2.5.7	Príklady použitia – aplikácie na čerstvé syry	28
2.6	Možnosti senzorického hodnotenia čerstvých syrov	29
2.6.1	Senzorické vlastnosti čerstvých syrov	29
2.6.2	Senzorické hodnotenie čerstvých syrov	29
3	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	31
3.1	Laboratórne vybavenie a chemikálie	31
3.1.1	Prístroje	31
3.1.2	Plyny	31
3.1.3	Laboratórne vybavenie	31
3.1.4	Chemikálie	32
3.1.5	Štandardné chemikálie	32

3.1.6	Suroviny pre výrobu čerstvých syrov	32
3.2	Analyzované vzorky	32
3.2.1	Postup výroby čerstvých syrov s prídavkom rastlinných extraktov	33
3.2.2	Príprava vodných extraktov čerstvých syrov	34
3.3	Použité metódy a experimentálne postupy	34
3.3.1	Stanovenie prchavých látok	34
3.3.2	Stanovenie obsahu vody a sušiny	35
3.3.3	Stanovenie voľných a viazaných mastných kyselín	35
3.3.4	Spektrofotometrické stanovenie celkového obsahu fenolických látok	40
3.3.5	Spektrofotometrické stanovenie antioxidačnej aktivity	40
3.3.6	Senzorická analýza	41
3.3.7	Štatistické vyhodnotenie výsledkov	42
4	VÝSLEDKY A DISKUSIA	43
4.1	Prchavé (aromatické) látky vo vzorkách čerstvých syrov	43
4.1.1	Identifikované prchavé (aromatické) látky vo vzorkách	43
4.1.2	Štatistické spracovanie dát pre aromatické látky	49
4.2	Mastné kyseliny vo vzorkách čerstvých syrov	54
4.2.1	Stanovenie tuku v sušine vo vzorkách čerstvých syrov	55
4.3	Stanovenie obsahu fenolických látok vo vzorkách čerstvých syrov	57
4.4	Stanovenie antioxidačnej aktivity vo vzorkách čerstvých syrov	59
4.4.1	Korelačná analýza	60
4.5	Senzorická analýza vzoriek čerstvých syrov	61
4.5.1	Korelačná analýza	63
4.5.2	Poradový test celkovej prijateľnosti	64
5	ZÁVER	66
6	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	68
7	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	75
8	PRÍLOHY	76

## 1 ÚVOD

Syr je všeobecné pomenovanie skupiny fermentovaných mliečnych potravinových produktov, ktoré sa podľa regiónu líšia v chuti, textúre, tvare. Niektoré články uvádzajú, že existuje okolo 1000 rôznych druhov. Celosvetová produkcia syrov sa pohybuje okolo  $21,3 \cdot 10^6$  ton ročne (OECD/FAO 2014), pričom sa odhaduje, že 30 % z toho tvoria syry čerstvé. Z hľadiska technologického procesu je výroba čerstvých syrov časovo najmenej náročná, preto bol zvolený práve tento variant na prípravu vzoriek v tejto práci.

*Plectranthus amboinicus* (rýmovník), *Tetradenia riparia* (migrénovník) a *Echinacea purpurea* (echinacea purpurová), všetky patria medzi rastliny veľmi často využívané v tradičnej medicíne, ľudovom liečiteľstve na liečenie chrípky, bolesti hrdla, bolesti hlavy, ale aj v potravinárstve, napríklad ako koreniny pri príprave jedál. Cieľom tejto práce bolo zavedenie extraktov týchto rastlín do vyrobených modelových čerstvých syrov, za účelom ako zvýšenia senzorickej kvality, tak aj nutričnej hodnoty, pričom na zhodnotenie senzorickej kvality bola prevedená identifikácia prchavých aromatických látok a senzorickej kvality bola prevedená identifikácia prchavých aromatických látok a senzorickej kvality, na zhodnotenie nutričnej hodnoty určenie obsahu celkových fenolických látok a určenie antioxidantnej aktivity. Na všeobecnú charakterizáciu vzoriek syrov bola uskutočnená identifikácia a kvantifikácia mastných kyselín a určenie obsahu tuku v sušine.



## 2 TEORETICKÁ ČASŤ

Táto práca je zameraná na výrobu modelových vzoriek syrov s prídavkom vybraných rastlinných extraktov.

Prvá fáza zahŕňa optimalizáciu technologického postupu výroby, vzhľadom k jednoduchosti boli zvolené syry čerstvé; nasledujúce kapitoly teoretickej časti sú zamerané na charakteristiku, rozdelenie, vlastnosti a popis technológie výroby čerstvých syrov.

V druhej fáze boli do vyrobených syrov aplikované extrakty vybraných prírodných materiálov, konkrétne rýmovníka a echinacey s cieľom zvýšiť ich sensorickú kvalitu a prípadne aj nutričnú hodnotu. V zvláštnych kapitolách sú charakterizované uvedené rastliny a ich význam z hľadiska liečivých účinkov.

Ako hlavné charakterizujúce parametre kvality vzoriek boli vybrané a sledované: voľné a viazané mastné kyseliny, aromaticky aktívne látky, sensorická kvalita a v neposlednom rade prípadný antioxidačný potenciál.

### 2.1 Čerstvé syry

Vyhláška č. 397/2016 Sb. hovorí o tom, že ako „čerstvý syr“ sa označuje syr nezrejúci, spolu s nezrejúcimi syrmi termizovanými [1].

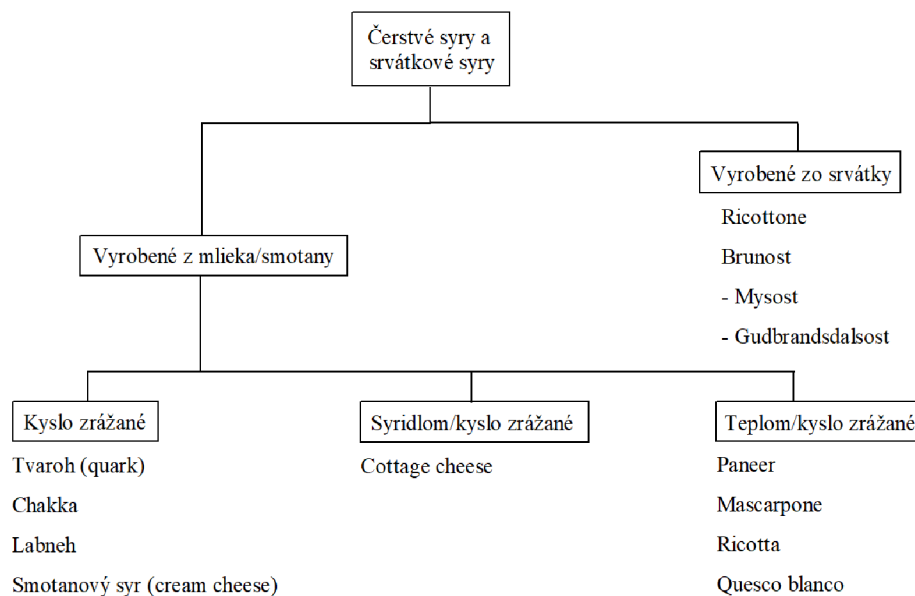
#### 2.1.1 Charakteristika čerstvých syrov

Čerstvé syry reprezentujú rozmanitú skupinu produktov vyrobených koaguláciou mlieka, smotany alebo srvátky okyslením, okyslením s prídavkom malého množstva syridla alebo kombinácie okyslenia a zvýšenej teploty, pričom sú po výrobe pripravené ku konzumácii [2]. Od syridlom zrážaných druhov (kamembert, čedar, ementál) sa líšia tým, že koagulácia u syridlom zrážaných druhov prebieha pri hodnotách pH 6,4 – 6,6 s pomocou syridla, u kyslo zrážaných je to pH okolo 4,6 čo odpovedá izoelektrickému bodu kazeínu (u syru typu ricotta pH = 6,0; teplota 80 °C). Produkcia čerstvých kyslo zrážaných syrov zahŕňa predbežnú úpravu mlieka, pomalú acidifikáciu a geláciu, separáciu srvátky a tvorbu syroviny. Mnohé procesné faktory (rýchlosť acidifikácie, teplota, pH) ovplyvňujú štruktúru koagulátu teda reologickú a fyzikálno-chemickú stabilitu výsledného produktu [3].

Kyslo zrážané syry boli produkované ako prvé typy syrov, keďže môžu byť výsledkom prirodzeného kysnutia mlieka. Okyslenie je najčastejšie docielené pomocou mezofilnej kultúry (in situ konverzia laktózy na kyselinu mliečnu) alebo priameho okyslenia (pôvodne citrónová šťava, ocot). Malá skupina syrov je zrážaná kombináciou tepla a okyslenia, najdôležitejšia je podskupina ricotta, taliansky syr vyrábaný zo srvátky [2].

### 2.1.2 Rozdelenie čerstvých syrov

Na Obrázku 1 je uvedené rozdelenie čerstvých syrov podľa použitých surovín a technológie výrobného procesu.



Obrázok 1 Rozdelenie čerstvých syrov [2]

### 2.1.3 Vlastnosti čerstvých syrov

Zo všeobecného hľadiska je syr komplex tukových globúl, zachyteného a voľného tuku, bakteriálnych a kvasinkových buniek, minerálnych látok obsiahnutých v sieti kazeínov so sérovými kanálmi. Sieť kazeínov je tvorená micélami z mlieka, avšak tieto sa zlučujú v prvotnej časti výroby syrov pričom tvoria najskôr reťazce až nakoniec strácajú diskretnú štruktúru [4].

Kvôli ich fyzikálnej a reologickej konzistencii, väčšina kyslo a kyslo/teplom zrážaných čerstvých syrov patrí do skupiny mäkkých syrov, ktoré sú definované WHO ako syry s obsahom vlhkosti v tukoprostom základe viac ako 67 % [5]. Pretože väčšina tejto skupiny syrov je konzumovaná ihneď alebo v krátkej dobe po výrobe, kvôli bezpečnosti výsledného produktu, je dôležité aby mlieko alebo iné použité zložky boli adekvátne pasterizované [6].

Príkladom techník ktoré sa používajú na štúdium kyslej koagulácie u čerstvých syrov sú viskometria, turbidimetria, ultrazvuková spektroskopia, reometria, elektrónová mikroskopia, kolorimetria. Lucey [7] popisuje senzorické zmeny a zmeny textúry u smotanového syra (cream cheese). Keby bolo výsledné pH syra príliš vysoké ( $> 4,7$ ) textúra sa bude javiť ako mäkká a syru bude chýbať chuť. Pri nízkom pH ( $< 4,6$ ) je syr drobivý a samotná chuť syra bude kyslá. Iné nedostatky u smotanového syra môžu byť separácia srvátky v procese skladovania, vzniká textúra podobná kriede.

Tvaroh sa radí do skupiny čerstvých nezrejúcich syrov, jedná sa o koncentrovaný proteín získaný bakteriálnou acidifikáciou a geláciou, farba je biela až smotanovo žltá, má homogénnu jemnú textúru, vyznačuje sa čerstvou a jemne kyslou chuťou. Skladovateľnosť tradičného tvarohu je okolo 2 týždňov pri teplote 15 – 20 °C, u tvarohov vyrobených

modernými procesmi s dodržovaním zásad GMP (good manufacturing practices) je to 30 dní, teplota 4 – 6 °C [8]. Tvaroh sa taktiež pridáva do rôznych potravinárskych produktov ku zvýšeniu senzorickej kvality, k zjemneniu chuti a zvýšeniu nutričnej hodnoty [9].

Cottage cheese sa vyznačuje zrnitou štruktúrou, chuť môže byť jemne smotanová, až po mierne kyslú s prímiesou diacetylu. Prídavok syridla pri výrobe má za následok lepšie „žuvanie“ syra a minimalizuje risk vzniku mäkkého gélu, ktorý by sa pri krájaní rozpadol [2].

Ricotta vyrobená z plnotučného a polotučného mlieka má jemnú, krémovú konzistenciu s príjemnou, jemne sladko karamelovou chuťou naopak ricottone sa vyznačuje málo sladkou a nevýraznou chuťou. Skladovateľnosť ricotty je okolo 21 dní, pri správnom balení a skladovaní pri teplote < 4 °C [5]. Sameer a kol. [10] použili na sledovanie mikroštruktúry skenujúcu elektrónovú mikroskopiu (SEM) a ukázali, že matrica ricotty pozostáva hlavne zo siete proteínov, čiastočiek koagulovaných srvátkových proteínov, ktoré sú medzi sebou prepojené, pričom kazeín sa nachádzal v malých klastroch.

Syr paneer má mierne kyslú a sladkú chuť, vyznačuje sa jemnou, kohézivnou, kompaktnou textúrou. V Indii sa používa ako náhrada mäsa. Paneer vyrobený s prímiesou sójového mlieka má nevýraznú chuť, osobitú textúru [11].

Predĺženie skladovateľnosti čerstvých syrov sa dá dosiahnuť pomocou balenia v modifikovanej atmosfére, alebo vo vákuu. Barukčić a kol. [12] porovnávali syry balené v atmosfére 70/30 N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>; 60/40 N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> a vo vákuu, pričom došlo ku všeobecnému predĺženiu skladovateľnosti, a taktiež došlo k zachovaniu veľmi dobrej senzorickej kvality. Ku zmenám došlo v textúre, k zníženiu tvrdosti syra a došlo k zvýšeniu elasticity.

#### 2.1.4 Zloženie čerstvých syrov

U čerstvých syrov sa najčastejšie sledujú tieto parametre: obsah sušiny, tuku, proteínov, soli, vápnika (Ca), pH, taktiež vlhkosť, obsah uhlíkovodíkov, popol, obsah laktózy. Porovnanie zloženia niektorých druhov čerstvých syrov je ukázané v Tabuľke 1.

Tabuľka 1 Približné zloženie rôznych typov čerstvých syrov [2]

Typ syra	Sušina	Tuk	Proteíny	Sol'	Ca	pH
	% hm.				mg/100 g	
Labneh	25,5	10,2	10,5	-	-	4,6
Cottage cheese	21,0	4,2	12,5	1,0	60	< 5,2
Mascarpone	39,0	54,0	2,6	0,2	-	5,8
Ricotta - plnotučné mlieko	28,0	13,0	11,0	< 0,5	207	5,7
Ricotta – polotučné mlieko	25,5	8,0	11,5	< 0,5	272	5,7
Plnotučný paneer	46	23,4	18,3	-	-	-
Nízkoťučný paneer	38,3	8,6	21,6	-	-	-
Queso Blanco	49,0	15,0	22,9	-	-	-

Farkye [5] popisuje porovnanie v zložení ricotty podľa typu použitého mlieka. Ricotta vyrobená z plnotučného mlieka obsahovala > 11 % tuku, ricotta z polotučného mlieka obsahovala 6 – 11 % tuku a ricottone (vyrobená z srvátky) obsahovala menej ako 1 % tuku.

Detailnejšie porovnanie je uvedené v Tabuľke 2. Porovnanie rôznych typov tvarohov popisuje opäť Farkye [8], porovnanie sa nachádza v Tabuľke 3.

Tabuľka 2 Približné chemické zloženie rôznych typov syru ricotta [5]

Typ syra	Vlhkosť	Tuk	Proteíny	Uhl'ovodíky	Popol	Energia
	g/100 g					kJ/100 g
Ricotta 1	72,0	13,0	11,0	3,0	1,0	728
Ricotta 2	74,5	8,0	11,5	5,0	1,0	577
Ricottone zo srvátky	77,0	2,5	16,0	3,5	1,0	418

1 – vyrobená z plnotučného mlieka; 2 – vyrobená z polotučného mlieka

Tabuľka 3 Typické zloženie nízkotučného a plnotučného nemeckého tvarohu [8]

Typ syra	Vlhkosť	Proteíny	Tuk	TVS	Laktóza	Popol	pH
			%				
Nízkotučný tvaroh	82	12,5–13,5	0,05	≤ 10	3,0–4,0	0,5–1,0	4,4–4,6
Plnotučný tvaroh	76	12,5–13,5	9,6	≥ 40	2,5–3,5	0,4–0,8	4,5–4,6

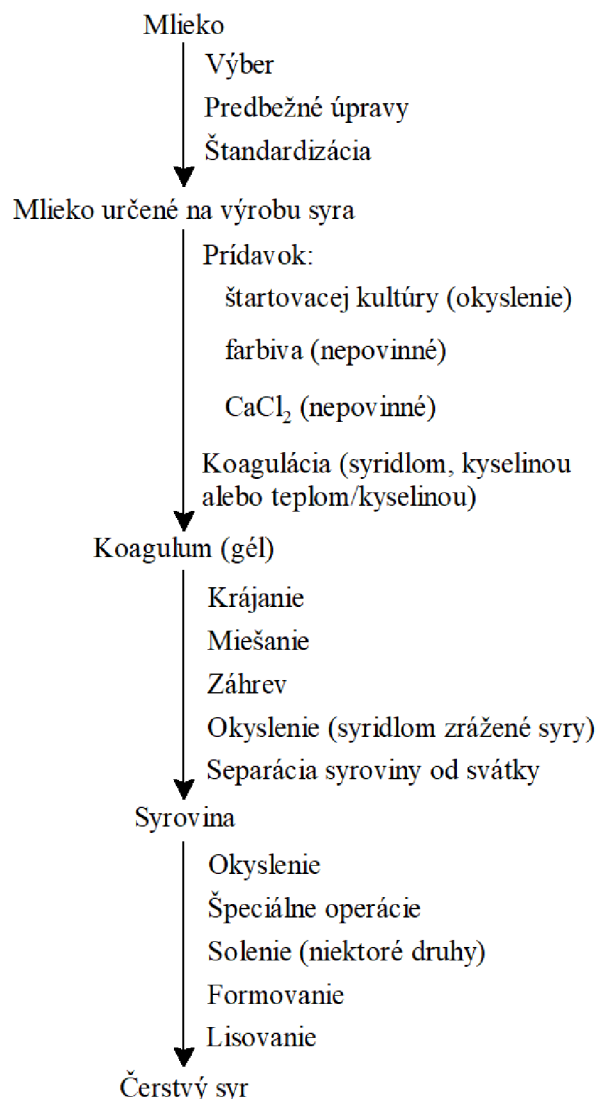
TVS – tuk v sušine

Ortiz a kol. [13] popisujú, ako ovplyvňuje obsah mliečneho tuku fyzikálne, chemické a senzorické vlastnosti ricotty. Odtučnená ricotta bola tvrdšia, viac biela a vykazovala najmenšiu prijateľnosť v porovnaní s ostatnými typmi ricotty. Ricotta so zníženým obsahom tuku a plnotučná ricotta vykazovali rovnakú prijateľnosť, z čoho vyplýva že obsah tuku môže byť znižovaný bez straty senzorických vlastností.

### 2.1.5 Technológia výroby čerstvých syrov

Na Obrázku 2 sa nachádza všeobecná schéma výroby čerstvých syrov. Princiipiálne základné kroky sú [14]:

- Selekcja, štandardizácia a vo väčšine prípadov pasterizácia mlieka
- Acidifikácia najčastejšie vďaka in situ produkcii kyseliny mliečnej vybranými baktériami
- Zrážanie mlieka okyslením alebo proteolýzou
- Dehydratácia koagula za vzniku syroviny pomocou rôznych techník, technika závisí od druhu syra
- Formovanie syroviny do charakteristických tvarov



Obrázok 2 Schéma výroby čerstvých syrov [14]

### 2.1.5.1 Tvaroh

Prevádzková príprava tvarohu začína separáciou odtučneného mlieka najčastejšie centrifugáciou. Mlieko je pasterizované pri 72 °C, 15 sekúnd a následne ochladené na teplotu 25 – 30 °C, pridaná je mezofilná štartovacia kultúra. Typickými kultúrami sú *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteriodes* subsp. *cremoris* [8]. Syridlo je pridané v množstve menšom ako 0,001 %. Fermentácia prebieha v izolovaných, vertikálnych tankoch s dvojrychlostnými miešadlami. Keď pH dosiahne hodnoty 4,6, kyslé koagulum sa rozkrája a mieša sa pri vyšších rýchlostiach (480 ot·min<sup>-1</sup>) po dobu 10 – 15 minút, následne sa rýchlosť miešadiel spomalí (240 ot·min<sup>-1</sup>) aby sa udržala kazeínová suspenzia. Táto suspenzia je následne pumpovaná cez obojsmerný filter, do tzv. tvarohárskej odstredivky kde dochádza k skoncentrovaniu kazeínu, ktorý je odobratý cez trysky vo forme viskóznej bielej pasty ktorá je pripravená na chladenie a miešanie s ďalšími prísadami [15]. V tradičnom procese výroby zmes srvátky a sýreniny je premiestená do ľanových vriec

a dochádza k separácii lisovaním vlastnou váhou, pričom samotný proces trvá 6 – 7 hodín, potom je produkt balený [8].

### **2.1.5.2 Cottage cheese**

Výroba začína pasterizáciou odtučneného mlieka (72 °C, 15 sekúnd), ktoré je fermentované mezofilnými kultúrami, ktoré neprodukujú plyny, proces prebieha typicky v otvorených obdĺžnikových nádržiach. Vada, ktorá môže nastať pri výrobe, je fágová infekcia štartovacej kultúry v pokročilom štádiu tvorby kyseliny a dochádza ku precipitácii kazeínu, nie ku gelácii [2]. Následne sa pridáva malé množstvo syridla ( $\leq 0,0002\%$ ) ako aj chlorid vápenatý v množstve 0,01 – 0,02 %, čo napomáha tvorbe pevnejšej sýreniny. Fermentácia pokračuje, pokým sa nedosiahne pH 4,5 – 4,7, kedy dôjde ku krájaniu krehkej sýreniny pomocou nehrdzavejúcich drôtových nožov na veľkosť 1 – 2 cm, pričom po krájaní dochádza k regenerácii po dobu 5 – 15 minút. Sýrenina a srvátka sú následne zľahka miešané, teplota je zvýšená na cca 49 °C po dobu 30 minút a táto teplota sa udržiava po dobu ďalších 30 – 60 minút. Sýrenina sa zmršťuje a utvrdzuje, dochádza tiež k usmrteniu mikroorganizmov štartovacej kultúry a väčšiny kontaminujúcich mikroorganizmov. Srvátka je následne odstránená, sýrenina je premytá najmenej trikrát vodou (25 °C, 2 – 3 minúty), posledné premytie je pomocou už studenej vody, takže dochádza k ochladeniu sýreniny. Voda musí spĺňať bakteriologickú kvalitu, nesmie obsahovať psychrotrofné kontaminanty, aby sa dosiahlo maximálnej skladovateľnosti [15]. Jedná sa o vodu chlúvanú na hladine 5 – 25 mg·kg<sup>-1</sup> [2].

### **2.1.5.3 Paneer**

Štandardizovaný proces výroby tohto syra popisuje Kumar a kol. [11], pričom prvým krokom je zahriatie mlieka na teplotu 82 °C (~ 90 °C na denaturáciu väčšiny srvátkových proteínov a ich komplexácii s kazeínovými micélami [2]) v špeciálnej nádrži po dobu 5 minút a schladenie na teplotu 70 °C. Po tepelnej úprave dôjde ku pomalému kontinuálnemu prídavku potravinárskej kyseliny (kyselina citrónová 1% roztok) a dochádza ku koagulácii. Tieto podmienky (teplota ~ 70 – 76 °C; pH 5,3 – 5,5) napomáhajú rýchlej agregácii proteínov a vzniku gélu, u ktorého dochádza ku spontánnej synerézii. Celá zmes je miešaná, pokým nedôjde k jasnému oddeleniu srvátky a sýreniny, ktorá má tendenciu sa usadzovať na dne nádoby (10 minút po ukončení miešania). Ďalším krokom je odstránenie srvátky, čo je docielené pomocou mušelinovej textílie, teplota je udržiavaná stále nad 63 °C. Sýrenina je následne preložená do špeciálnej nádoby (35 × 28 × 10 cm), v ktorej sa nachádza opäť mušelinová textília. Na sýreninu v nádobe sa následne položí doska a záťaž o hodnote 45 kg po dobu 15 – 20 minút. Stlačený blok je potom odobratý, nakrájaný na veľkosť 15 – 20 cm a nakrájané kusy sú ponorené do zachladenej vody o teplote 4 – 6 °C po dobu 2 – 3 hodiny. Po uplynutí tejto doby sú nakrájané kusy osušené po dobu 10 – 15 minút a balené [5][11].

### **2.1.6 Mastné kyseliny v čerstvých syroch**

Nudda a kol. [16] popisujú profil mastných kyselín v ovčom mlieku, v syre z tohto mlieka a ricotty zo získanej srvátky. Princípom stanovenia bola bázičná transesterifikácia extraktu a separácia metylesterov mastných kyselín pomocou plynovej chromatografie.

Z Tabuľky 4 sa dá usúdiť, že profil mastných kyselín v mliečnych produktoch reflektuje zloženie mastných kyselín v surovom mlieku. Neboli pozorované žiadne veľké rozdiely medzi mliekom a ricottou. V najvyššom zastúpení boli kyselina palmitová, olejová a stearová.

Seguel a kol. [17] sledovali zmeny profilu mastných kyselín v syre ricotta, konkrétne efekt stravovania dobytku, kde ako doplnok stravy bola repa kýmna (*Brassica rapa* ssp. *rapa*) a repa olejná (*Brassica napus* ssp. *biennis*). Profil mastných kyselín bol stanovený pomocou GC-FID. Medzi rôznymi diétami sa obsah nasýtených, mononenasýtených, polynenasýtených mastných kyselín, ako aj pomer omega-3/omega-6 mastných kyselín nelišil ( $p > 0,05$ ). Rozdiely boli v obsahu kyseliny myristovej a palmitovej ( $p = 0,03$ ). Najviac zastúpené MK v kontrolnej vzorke boli kyselina palmitová (37,11 %) olejová (21,10 %) myristová (11,55 %), stearová (8,98 %), obsah všetkých nenasýtených MK činil 72,28 %, mononenasýtených MK 25,32 % a polynenasýtených MK 2,40 %.

Tabuľka 4 Profil mastných kyselín ovčieho mlieka a z neho vyrobených mliečnych produktov [16]

MK (mg/100mg methylester MK)	Mlieko	Syr	Ricotta
kyselina kaprylová (C8:0)	1,71	1,71	1,75
kyselina dekánová (C10:0)	5,57	5,49	5,73
kyselina laurová (C12:0)	3,43	3,36	3,46
kyselina myristová (C14:0)	9,39	9,28	9,36
kyselina myristolejová (C14:1)	0,17	0,17	0,17
kyselina palmitová (C16:0)	22,32	22,93	22,40
kyselina palmitolejová (C16:1)	0,760	0,755	0,722
kyselina stearová (C18:0)	10,93	11,09	11,04
C18:1 t6-8	0,38	0,38	0,37
kyselina elaidová (C18:1 t9)	0,30	0,28	0,32
C18:1 t10	0,62	0,64	0,68
kyselina vakcénová (C18:1 t11)	3,40	3,33	3,43
kyselina olejová (C18:1 c9)	19,56	19,37	19,85
kyselina linolová (C18:2 c9,c12)	2,60	2,56	2,68
kyselina $\gamma$ -linolénová (C18:3n-6)	0,13	0,13	0,13
kyselina $\alpha$ -linolénová (C18:3n-3)	0,98	0,95	0,99
konjugovaná kyselina linolová c9,t11	1,73	1,69	1,75
konjugovaná kyselina linolová t10,c12	0,037	0,036	0,068
kyselina eikozapentaénová (C20:5)	0,081	0,085	0,087
kyselina dokozaheptaénová (C22:6)	0,048	0,048	0,049

*MK – mastná kyselina*

Pri výrobe syru typu paneer môže dochádzať ku miernemu nárastu obsahu voľných mastných kyselín v mliečnom tuku po konverzii mlieka na paneer. Toto môže byť spôsobené kombináciou tepelnej úpravy, prídavkom kyseliny a lipolytickými zmenami v mlieku pred dosiahnutím teploty pri ktorej dochádza k inaktivácii lipáz [18].

### 2.1.7 Aromatické látky v čerstvých syroch

Povolo a kol. [19] sledovali vplyv pastviny na obsah prchavých, aromatických látok v syroch typu caciotta a ricotta. Na určenie prchavých látok bola použitá mikroextrakcia pevnou fázou (SPME) v kombinácii s GC-MS. V Tabuľke 5 sú uvedené identifikované prchavé látky a ich zastúpenie v mlieku a v ricotte. Podobnosti medzi ricottou a mliekom je vidieť v obsahu toluénu, okt-3-én bol detekovaný len vo vzorkách R1 a R2. Rôzny profil prchavých látok týchto syrov potvrdil, že typ stravy je zodpovedný za prítomnosť nie len markrových zlúčenín, ale aj iných prchavých látok, čo ukazuje na rozdielny metabolizmus zvierat a oxidáciu mliečného tuku.

Tabuľka 5 Prchavé látky mlieka a ricotty (priemer plochy píku/10<sup>6</sup> 3x opakované) [19]

Pík	Zlúčenina	M1	M2	M3	R1	R2	R3
1	dimetylsulfid	-	-	-	0,7	1,6	2,7
2	acetón	19,6	20,6	23,5	12,1	36,1	25,2
3	okt-3-én	-	-	-	3,2	9,7	-
4	bután-3-ón	-	-	-	1,4	4,9	3,5
5	2-metylbutanál	-	4,5	-	-	-	-
6	3-metylbutanál	2,4	7,7	27,9	-	-	-
7	pentán-2-ón	2,8	-	3,0	3,0	11,9	6,0
8	diacetyl	-	-	12,8	-	-	-
9	metylbutanoát	-	17,9	-	-	-	-
10	pentanál	-	-	-	3,9	16,2	6,0
11	toluén	28,9	8,5	-	0,8	15,6	-
12	hexanál	4,9	3,4	-	1,2	3,8	1,6
13	heptán-2-ón	2,6	3,5	1,8	1,5	18,4	7,3
14	heptanál	2,2	-	-	1,6	3,9	0,8
15	metylhexanoát	-	32,3	-	-	1,5	-
16	limonén	-	-	2,6	-	-	-
17	3-metylbután-1-ol	7,9	5,9	25,1	-	4,2	0,8
18	pentán-1-ol	3,6	6,4	-	1,1	5,5	1,8
19	acetoín	-	-	82,7	-	2,8	-
20	nonán-2-ón	-	-	-	1,0	2,8	0,8
21	metyloktanoát	-	7,0	-	-	-	-
22	nonanál	-	-	-	1,0	1,3	0,7
23	kyselina butánová	-	-	-	-	2,2	2,5
24	kyselina hexánová	-	-	-	-	1,4	3,0
25	dimetylsulfón	-	-	-	1,5	1,8	1,4
26	kyselina oktánová	-	-	-	1,6	-	2,2
27	kyselina dekánová	-	-	-	1,8	-	-

*M* – mlieko, *R* – ricotta

Na stanovenie aromatických aktívnych látok môže byť použitá aj metóda SBSE s PDMS vláknom. Pomocou tejto metódy boli stanovené látky tvoriace chuť a vôňu smotanového syra (cream cheese), pričom hlavnými zlúčeninami boli ketóny, MK s dlhým reťazcom (C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub>),



laktóny ( $\delta$ -dekalaktón,  $\delta$ -dodekalaktón) [20]. Kvantitatívnu a kvalitatívnu analýzu prchavých látok v smotanovom syre skladovanom 4 týždne popisuje Jeon a kol. [21], ktorí použili na separáciu a analýzu metódu SPME-GC-MS. V smotanovom syre vyrobenom z plnotučného mlieka identifikovali 13 zlúčenín tvoriacich chuť a arómu. Z chromatogramu boli odčítané tieto: kyselina hexánová, tridekán-2-ón, pentadekán-2-ón, n-dekánová kyselina, 5-(p-aminofenyl)-4-(o-tolyl)-2-tiazolamín, 4,6-di(1,1-dimetyletenyl)-2-metylphenol, kyselina oktánová, kyselina tetradekánová, kyselina tridekánová, kyselina n-hexadekánová.

Volatilné látky v syre typu Queso Fresco sledovali Reyes-díaz a kol. [22], pričom ako štartovaciu kultúru použili divoké kmene *Lactobacillus lactis*. Použitá metóda bola SPME GC-MS. Najviac prchavých látok identifikovaných vo vzorkách syru bolo zo skupiny esterov, najčastejšie metylestery kyselín: octová, butánová, hexánová, heptánová, oktánová, dekánová, dodekánová, 4-decénová; a etylestery kyselín: octová, butánová, heptánová, oktánová. Druhou najväčšou skupinou boli karboxylové kyseliny, konkrétne: butánová, hexánová, heptánová, oktánová, nonánová a n-dekánová. Z alkoholov to boli 3-metylbutan-1-ol (udeľuje arómu čerstvým syrom a mozarella), pentán-1-ol, heptán-1-ol, fenyletylalkohol. Medzi identifikované ketóny patrili: acetoín, nonán-2-ón, acetofenón; identifikované aldehydy: hexanál, benzaldehyd, (E,E)-hepta-2,4-dienal.

## 2.2 Vybrané rastlinné materiály

Pre aplikáciu do vzoriek čerstvých syrov boli predbežne vybrané rýmovník *Plectranthus amboinicus*, migrénovník *Tetradenia riparia* a echinacea, preto budú v tejto kapitole popísané práve tieto rastlinné materiály.

### 2.2.1 Rýmovník – *Plectranthus amboinicus*

*Plectranthus amboinicus*, syn. *Coleus amboinicus*, syn. *Coleus aromaticus* – rýmovník je rastlina patriaca do čeľade Hluchavkovité (lat. *Lamiaceae*). Jedná sa o veľkú sukulentnú trvalku, rastie približne 30 – 90 cm do výšky, má dužinatú stonku a listy. Prirodzený výskyt je v Indii alebo je bežne pestovaná v záhradách. V tradičnej medicíne sa používa na liečbu malárie, hepatopatie, kašľa, chronickej astmy, bronchitídy, epilepsie [23]. Pripisované sú mu antimikrobiálne, protizápalové, protinádorové, antiepileptické, larvicídne, antioxidantné a analgetické vlastnosti [24]. Homeopatické liečivá pripravené z čerstvých listov sú používané v súvislosti s močovým traktom, najčastejšie pri problémoch s močením, pálením pred alebo po močení [25]. V potravinárstve sa používa ako korenina, napríklad náhrada za šalviu, na ochucovanie rôznych typov mäsa a rýb, na prekrytie ich silnej arómy. V indickom subkontinente sa používajú listy rýmovníku, kokos, čili, listy koriandru a listy karí na prípravu ostrej zmesi chutney. Taktiež sa používa ako prísada do polievok vo Vietname, je základom chute polievky z fazule čiernej v Kube a šalátov v karibských ostrovoch. Rastlina sa tiež používa ako doplnok stravy a ako ochucovadlo do nápojov [23].

Z nutričného hľadiska obsahuje proteíny (0,6 %), vitamíny ( $5 \cdot 10^{-3}$  % kyselina askorbová;  $8 \cdot 10^{-6}$  % tiamín), minerálne látky (0,158 % vápnik; 0,016 % fosfor; 0,138 % draslík;  $4,7 \cdot 10^{-3}$  % sodík; 0,088 % horčík), stopové prvky (0,262 % železo;  $3 \cdot 10^{-4}$  % zinok;  $1,2 \cdot 10^{-4}$  % meď;  $2,2 \cdot 10^{-5}$  % chróm), rozpustnú vlákninu (0,31 %), nerozpustnú vlákninu (1,56 %), kyselinu

fytovú ( $9,2 \cdot 10^{-4}$  %). Z tohto sa dá usúdiť že rýmovník je dobrým zdrojom výživových látok, ktoré môžu byť použité ako doplnok stravy [26].

### **2.2.1.1 Prchavé (aromatické) látky rýmovníka**

Esenciálny olej rýmovníku rastúceho v Indii bol bohatý na karvakrol, tymol, eugenol, chavikol, etylsalicylát. Esenciálny olej rýmovníka získaný parnou destiláciou (0,04 – 0,05 %) obsahoval terpinolén (3,75 %),  $\alpha$ -pinén (3,20 %),  $\beta$ -pinén (2,50 %),  $\beta$ -karyofylén (4,20 %), metyleugenol (2,10 %), tymol (41,3 %), 1,8-cineol (5,45 %), eugenol (4,40 %), karvakrol (13,25 %),  $\beta$ -felandrén (1,90 %). Vo všeobecnosti články uvádzajú, že obsah karvakrolu sa v obsahu prchavých látok pohybuje medzi 50 – 67 %. Prítomnosť eukalyptolu v listoch bola preukázaná pomocou parnej destilácie a SPME extrakcie. Prchavé látky z listu boli tiež izolované pomocou parnej destilácie, následným krokom bola extrakcia hexánom a extrakcia superkritickým  $\text{CO}_2$ , 26 látok bolo identifikovaných pomocou GC-MS. U rýmovníka sa tiež sledovali zmeny v zložení prchavých látok v závislosti na ročnom období pomocou kapilárnej GC a GC-MS. V tomto esenciálnom oleji boli identifikované karvakrol, p-cymén,  $\gamma$ -terpinén, ako majoritné zložky. Olej produkovaný v septembri obsahoval väčšie množstvo karvakrolu a  $\beta$ -karyofylénu v porovnaní s olejom, ktorý bol získaný v máji. Iné látky identifikované pomocou GC-MS analýzy boli okt-1-én-3-ol, terpinén-4-ol,  $\beta$ -karyofylén,  $\alpha$ -kadinol [23].

Medzi prchavé látky identifikované v rýmovníku pochádzajúceho z Maurícia patrili kamfor (39 %), karvakrol (41,3 %). Ostatnými zložkami boli (Z)-hexa-1,3-dién (0,1 %), (Z)-hex-3-én-1-ol (0,6 %), (E,Z)-farnesén (0,2 %), (E,E)-farnesén (0,2 %), murolén (0,2 %). GC-MS analýza rýmovníka pochádzajúceho z Pakistanu ukázala že majoritnou zložkou bol tymol a nie karvakrol, popri látkach ako p-cymén, terpinén-4-ol, karyofylén, verbenón, tercbutylanizol. V inej štúdii sa píše že, v rýmovníku z Pakistanu je majoritná zložka karvakrol (40,42 %), ostatnými zložkami boli limonén, eugenol, tymol, etylsalicylát, terpinén, selinén, p-cymén, pinén,  $\beta$ -karyofylén a  $\beta$ -myrcén [26].

Charakterizáciu esenciálneho oleja mikropropagovaného rýmovníka popisuje Arumugam a kol. [27]. Metóda použitá na analýzu esenciálneho oleja bola GC-MS. Identifikovaných bolo 45 zlúčenín. Majoritnou zložkou bol karvakrol (43,3 % kontrolná vzorka, 45,1 % mikropropagovaná vzorka). Obsah karvakrolu sa líšil v závislosti od klimatických a geografických faktorov (obsah karvakrolu v iných článkoch: 90 – 98 %; 70 %; 58 – 65 %; 50 %; 28,65 %). Po karvakrole nasledovali  $\gamma$ -terpinén, monoterpény:  $\alpha$ -thujén,  $\alpha$ -pinén,  $\beta$ -myrcén,  $\alpha$ -felandrén,  $\alpha$ -terpinén, p-cymén, terpinén-4-ol, karvakrol, karvakrylacetát; seskviterpény:  $\beta$ -karyofylén,  $\alpha$ -bergamotén,  $\alpha$ -humulén; sekundárne alkoholy: okt-1-én-3-ol [27]. Iná práca, ktorá študovala esenciálny olej rýmovníka pomocou GC-MS ukazuje prítomnosť látok: tymol (64,3 %), p-cymén (10,3 %),  $\gamma$ -terpinén (9,9 %),  $\beta$ -karyofylén (2,8 %) [28].

### **2.2.1.2 Látky s antioxidačným potenciálom obsiahnuté v rýmovníku**

V metanolovom extrakte listov rýmovníka boli identifikované kyselina chlorogénová, kávová, kumarová, polyfenolické zlúčeniny so silnou antioxidačnou schopnosťou. Antioxidačným potenciálom sa vyznačoval aj vodný extrakt listov. Vo vodnom extrakte sa nachádzali látky vyznačujúce sa vychytávaním voľných radikálov, pričom bol extrakt ďalej separovaný do hexánu, etylacetátu a vody. Spomedzi nich sa etylacetátová frakcia

vyznačovala silnou aktivitou. Tri zlúčeniny sa vyznačovali vychytávaním DPPH radikálu: kyselina chlorogénová, kyselina rozmarínová (majoritná zložka), kyselina kávová [23].

Sulaiman a kol. [29] študovali profil polyfenolických látok pomocou LC MS/MS etanolového extraktu listov rýmovníka. Medzi identifikované polyfenolické látky patrili: kyselina chinová, ferulová, vanilová, kávová, metylgalát, kyselina protokatechová, elagová.

### 2.2.2 Migrénovník – *Tetradenia riparia*

*Tetradenia riparia* patrí do čeľade Hluchavkovité (lat. *Lamiaceae*), jedná sa o ker, ktorý prirodzene rastie v centrálnej Afrike. V tradičnej medicíne sa používa na liečbu chorôb ako sú malária, angína, bolesti hlavy, gastroenteritídy, obličkové kamene a horúčka. Rôzna literatúra referuje o antioxidačných, antibakteriálnych, antifungálnych, antihelmetických, antiparazitických účinkoch [30]. Členovia rodu *Tetradenia* patria medzi aromatické kry dorastajúce do výšky 3 m, málokedy do výšky 5 m. Sú mierne sukulentné, nepravidelne rozvetvené, hladká stonka je hnedej farby, žľazové vlásky pokrývajú obe plochy listov a na dotyk ich robia lepkavými. Listy druhu *Tetradenia riparia* sú svetlozelené, srdcového tvaru, okraje sú zúbkované. Väčšina druhov z rodu *Tetradenia* má chuťovú a aromatickú charakteristiku podobnú zázvoru [31].

#### 2.2.2.1 Prchavé (aromatické) látky migrénovníka

Araújo a kol. [32] sledovali výtazok a zloženie esenciálneho oleja rastliny *Tetradenia riparia* a tiež vplyv dostupnosti svetla (rôzna úroveň tienenia). Použitá metóda na analýzu bola GC-MS. U každého pozorovania bola najviac obsiahnutou zložkou seskviterpén 14-hydroxy-9-epi-(E)-karyofylén. Rastliny kultivované za plného svetla a tienením 30 % a 50 % obsahovali vysoké množstvo monoterpenoidu fenchónu. Chemické zlúčeniny tricyklén, verbenón,  $\alpha$ -humulén, chamigrén a  $\text{epi-}\alpha$ -kadinol boli nájdené len v rastlinách, ktoré boli kultivované na plnom svetle.  $\gamma$ -himachalén a  $\alpha$ -muurolén boli identifikované len v rastlinách ktoré rástli v 30% tienení, výlučne v rastlinách s 50% tienením boli identifikované  $\alpha$ -pinén,  $\beta$ -felandrén, longifolén, widdra-2,4(14)-dién, 1,7-diepi- $\alpha$ -cedrén a v rastlinách s 80 % tienením boli identifikované  $\beta$ -selinén,  $\alpha$ -muurol. Detailné zloženie esenciálnych olejov sa nachádza v Tabuľke 6. Blythe a kol. [33] získali esenciálny olej hydrodestiláciou, a tento bol analyzovaný pomocou GC-FID/MS. Celkovo identifikovali 48 zlúčenín, pričom hlavnými zložkami boli fenchón (14,8 %),  $\delta$ -kadinén (10,6 %), 14-hydroxy-(E)-karyofylén (7,9 %) a  $\tau$ -kadinol (6,9 %). Z celkového obsahu látok v esenciálnom oleji mali najvyššie zastúpenie seskviterpenoidy (56,9 %) a monoterpenoidy (29,7 %). V inej štúdii sa píše, že hlavnými zložkami esenciálneho oleja sú fenchón (18,9 %), (E,E)-farnesol (17,7 %), aromadendrénoxid (17,3 %). Iný zdroj porovnával obsah identifikovaných látok v esenciálnom oleji z listov a z kvetých pukov migrénovníka, z ktorých najvyšší obsah mali 14-hydroxy-9-epi-(E)-karyofylén (puky 25,38 %),  $\alpha$ -kadinol (puky 13,69 %), L-fenchón (listy 11,57 %), abietadién (listy 7,29 %),  $\beta$ -karyofylén (listy 5,70 %),  $\beta$ -kadinén (listy 4,60 %) [34].

Tabuľka 6 Chemické zloženie esenciálneho oleja z rastliny *Tetradenia riparia* podľa rôznej úrovne tienenia [32]

Plné svetlo		30% tienenie		50% tienenie		80% tienenie	
Zložka	RO	Zložka	RO	Zložka	RO	Zložka	RO
tricyklén	0,91	$\alpha$ -thujén	0,79	$\alpha$ -pinén	0,33	$\alpha$ -thujén	0,17
kamfén	0,69	kamfén	0,60	sabinén	0,92	sabinén	0,45
verbenón	1,46	sabinén	1,56	$\beta$ -pinén	0,42	$\beta$ -pinén	0,21
sabinén	0,66	$\beta$ -pinén	0,62	limonén	0,75	limonén	0,32
limonén	0,97	limonén	0,88	$\beta$ -felandrén	0,42	(Z)- $\beta$ -ocymén	0,21
(Z)- $\beta$ -ocymén	0,55	(Z)- $\beta$ -ocymén	0,48	fenchón	7,78	fenchón	3,59
fenchón	7,9	fenchón	9,93	endo-fenchol	0,85	endo-fenchol	0,37
endo-fenchol	0,86	kamfor	1,49	kamfor	1,20	kamfor	0,60
kamfor	1,45	izoborneol	0,53	izoborneol	0,50	izoborneol	0,24
izoborneol	0,53	terpinén-4-ol	0,23	$\alpha$ -terpineol	0,34	$\alpha$ -terpineol	0,18
terpinén-4-ol	0,23	$\alpha$ -terpineol	0,40	$\alpha$ -kopaén	0,42	$\alpha$ -kopaén	0,28
$\alpha$ -terpineol	0,35	$\alpha$ -kopaén	0,40	longifolén	0,94	$\alpha$ -gurjenén	0,78
$\alpha$ -ylangén	0,44	$\alpha$ -gurjenén	0,82	$\beta$ -karyofylén	4,02	$\beta$ -karyofylén	3,07
$\alpha$ -gurjenén	0,61	$\beta$ -karyofylén	3,36	(E)- $\alpha$ -B	0,70	(E)- $\alpha$ -B	0,57
$\beta$ -karyofylén	3,33	(E)- $\alpha$ -B	0,60	W-D	0,25	$\beta$ -selinén	0,28
(E)- $\alpha$ -B	0,46	$\gamma$ -himachalén	0,27	$\alpha$ -zingiberén	0,59	$\alpha$ -zingiberén	0,54
$\alpha$ -humulén	0,16	bicyklogermacén	3,02	bicyklogermacén	3,00	$\delta$ -kadinén	1,15
$\alpha$ -chamigrén	0,22	$\alpha$ -muurolén	0,18	$\delta$ -kadinén	1,86	guajol	0,32
$\alpha$ -zingiberén	0,36	$\alpha$ -amorfén	1,32	guajol	0,40	kubenol	0,80
bicyklogermacén	1,98	kubenol	0,95	1,7-diepi- $\alpha$ -cedrén	1,68	vulgarón B	1,49
$\alpha$ -amorfén	1,15	14H-9EK	16,5	kubenol	4,24	$\alpha$ -muurol	2,87
epi- $\alpha$ -kadinol	0,86	14H- $\alpha$ -H	0,31	14H-9EK	16,4	14H-9EK	16,42
vulgarón B	1,58					14H- $\alpha$ -H	0,29
kubenol	2,7						
14H-9EK	16,03						
14H- $\alpha$ -H	0,35						

RO: relatívny obsah (%); (E)- $\alpha$ -B: (E)- $\alpha$ -bergamotén; 14H-9EK: 14-hydroxy-9-epi-(E)-karyofylén; 14H- $\alpha$ -H: 14-hydroxy- $\alpha$ -humulén; W-D: widdra-2,4(14)-dién

### 2.2.2.2 Látky s antioxidačným potenciálom obsiahnuté v migrénovníku

Fernandes a kol. [30] sledovali celkový obsah fenolov na určenie antioxidačnej aktivity surového extraktu pomocou metód DPPH,  $\beta$ -karotén/linolová (CLAMS) kyselina a FRAP. Najvyšší obsah celkových fenolov bol určený v extrakte, ktorý bol eluovaný v stĺpcovej chromatografii pomocou zmesi acetát-metanol (8:2) (celkový obsah fenolov – 181,97  $\mu$ g kyseliny gallovej/mg vzorky), taktiež bol najviac aktívny pri DPPH a FRAP metóde. Tento výsledok bol opodstatnený prítomnosťou flavonoidov (astragalín a luteolín), ktoré boli identifikované v tejto frakcii. Frakcia eluovaná pomocou zmesi dichlórmetán-hexán (9:1) obsahovala abieta-7,9(11)-dién-13- $\beta$ -ol (diterpén), táto frakcia vykazovala vyššiu antioxidačnú aktivitu pri metóde, kde sa využíva  $\beta$ -karotén/linolovej kyseliny. U frakcie eluovanej dichlórmetánom-etylacetátom bol identifikovaný ibozol (diterpenoid), táto frakcia

vykazovala antioxidantnú aktivitu u DPPH metódy a mala vysoký obsah celkových fenolov (119,85  $\mu\text{g}$  kyseliny gallovej/mg vzorky). V poslednej frakcii (etylacetát) boli identifikované zlúčeniny 8(14)15-sandarakopimaradién-2 $\alpha$ ,18diol a 8(14)15-sandarakopimaradién-7 $\alpha$ ,18diol, obe patria do skupiny diterpenoidov a boli aktívne v antioxidantných skúškach. Iný zdroj uvádza významnú antioxidantnú aktivitu extraktu migrénovníka pri použití FRAP metódy (absorbancia 0,6 pri 1  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Taktiež pomocou DPPH a CLAMS metódy bolo určené že stonka je antioxidantne aktívnejšia v porovnaní s listami [35].

### 2.2.3 Echinacea

Echinacea je rod rastlín z čeľade Astrovité (lat. *Asteraceae*), jedná sa o rastliny trvalé, ktorých prirodzený výskyt je stred-západ severnej Ameriky. Väčšina literatúry uvádza tri základné druhy *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*, *Echinacea purpurea*, pričom posledná z nich je najčastejšie pestovaná. Súčasné použitie v medicíne je založené na ich imunomodulačných vlastnostiach, na liečenie infekcií horného dýchacieho traktu, chrípky a horúčky [36]. Extrakty týchto druhov sa vyznačujú vysoko komplexným chemickým zložením, obsahujú polárne zlúčeniny (deriváty kyseliny kávovej – kyseliny kaftarová, chlorogénová, cichorová, cynarín a echinakozid), nepolárne zlúčeniny (alkamidy/izobutylamidy) a látky s vysokou molekulovou hmotnosťou (polysacharidy a glykoproteíny) [37]. *Echinacea purpurea* dorastá do výšky 15 – 60 cm, má drsnú chlpatú stonku, ktorá je väčšinou nevetvená. Bazálne listy sú oválneho tvaru, s pílkovými okrajmi, kvety majú farbu červenofialovú, zriedka ružovú. Kvety kvitnú od júna do augusta, peľové zrná sú žlté, plody sú malé, tmavé nažky [38].

#### 2.2.3.1 Prchavé (aromatické) látky echinacey

Všetky tri komerčne významné echinacey obsahujú rôzne množstvá esenciálneho oleja v koreni, listoch, kvetoch a iných nadzemných častiach. Esenciálny olej rastliny *E. purpurea* medzi inými zlúčeninami obsahuje boreneol, bornylacetát, pentadeka-8-(Z)-én-2-ón, germacén D, karyofylén a karyofylénepoxid. Esenciálny olej rastliny *E. angustifolia* a *E. pallida* medzi inými zlúčeninami obsahujú pentadeka-(1,8-Z)-dién (44 %), 1-pentadecén, ketoalkény a ketoalkény [39]. Nyalambisa a kol. [40] sledovali prchavé zložky listov a koreňa echinacey pochádzajúcej z Južnej Afriky. Esenciálne oleje sú komplex prchavých zlúčenín, obsahujúcich 20 – 60 jednotlivých zložiek, pričom v tomto prípade autori identifikovali 36. Celkové zloženie esenciálneho oleja sa nachádza v Tabuľke 7.

Ďalšia literatúra popisuje hlavné zložky volatilnej frakcie z celej rastliny. Látky ktoré sa nachádzali bez rozdielu druhu boli kamfén,  $\beta$ -pinén, limonén spolu so zlúčeninami acetaldehyd, dimetylsulfid a hexanál.  $\beta$ -myrcén,  $\alpha$ -pinén, (E)-ocymén, 3-esen-1-ol, 2-metylpen-4-enal boli hlavnými zložkami prchavej frakcie v nadzemnej časti rastlín vo všetkých troch druhoch. Propanály a butanály boli hlavnými predstaviteľmi prchavých látok z koreňového pletiva, terpenoidy boli hlavnými zložkami v nadzemnej časti rastlín, obzvlášť v stonke a kvetoch [37].

Tabuľka 7 Esenciálny olej listu a koreňa echinacey – zloženie [40]

<b>T<sub>R</sub></b>	<b>Zlúčenina</b>	<b>LO</b>	<b>RO</b>	<b>T<sub>R</sub></b>	<b>Zlúčenina</b>	<b>LO</b>	<b>RO</b>
3,24	hex-2-enal	0,9	0,3	17,99	(Z)-karveol	1,0	1,0
4,83	α-pinén	2,8	3,7	18,50	karvón	1,0	3,8
4,92	α-fenchén	-	0,8	18,69	pipertón	1,8	-
5,07	kamfén	-	2,0	18,98	tymol	-	0,4
6,15	β-pinén	1,6	1,2	19,72	α-kubebén	1,4	0,9
6,90	α-felandrén	6,9	6,6	20,60	β-kubebén	0,8	0,4
7,74	p-cymén	3,7	2,9	21,16	metyleugenol	-	0,6
8,32	limonén	2,3	1,7	22,03	karyofylén	4,5	4,0
10,07	linalool	1,5	2,7	22,33	β-humulén	0,1	-
11,08	kamfor	-	3,4	22,72	geranylacetón	-	0,2
11,94	izomentón	0,1	0,5	22,91	α-humulén	0,6	-
12,23	borneol	-	2,1	23,08	γ-murolén	1,2	-
12,93	levandulol	-	0,5	23,47	germacén D	18,1	20,3
15,02	p-cymén-8-ol	-	1,2	26,11	karyofylénoxid	11,3	122,
13,76	α-terpineol	-	0,2	26,28	viridiflorol	2,9	-
14,24	naftalén	7,8	6,4	27,25	cedrol	7,2	10,5
16,66	estragol	2,2	3,3	28,95	ledol	-	3,1
17,24	(E)-karveol	4,8	2,6	29,25	α-kadinol	9,1	5,9

*T<sub>R</sub>* – retenčný čas; *LO* – obsah v es. oleji z listov (%); *RO* – obsah v es. oleji z koreňa (%)

### 2.2.3.2 Látky s antioxidačným potenciálom obsiahnuté v rastline echinacea

Hlavnou fenolicou zlúčeninou v koreni druhu *E. purpurea* je kyselina cichorová (2,27 %). Extrakty z tohto koreňa sa vyznačujú antioxidačnými vlastnosťami v lipid-peroxidových testoch [38]. Erenler a kol. [41], popisujú kvantitatívnu analýzu a antioxidačnú aktivitu druhov *E. purpurea* a *E. pallida*, sledovali vodné a metanolové extrakty listov a kvetín týchto druhov. Hodnoty fenolických kyselín sú vo vodných roztokoch všeobecne nízke, až na kyselinu kávovú. Metanolové extrakty obsahovali vyššie množstvo hlavných komponentov, medzi ktoré patrila kyselina cichorová. Kyselina cichorová, chlorogenová, ferulová a rutín sa vo vysokých hodnotách v metanolových extraktoch nachádzali v listoch aj v kvetoch u oboch druhov rodu *Echinacea*. Kvety obsahovali väčšie množstvo celkových fenolov a kyseliny cichorovej v porovnaní s listami.

*In vitro*, deriváty kyseliny kávovej v druhoch *Echinacea* majú takéto poradie antioxidačnej aktivity: kyselina cichorová > echinakozidy ≥ kávová kyselina, pričom zdá sa že fungujú synergicky s alkylamidmi a polysacharidmi [37]. Kyselina cichorová vykazuje efektívne vychytávanie radikálov DPPH, podobne ako flavonoidy a kyselina rozmarínová [42]. Z fenolických látok obsahujú druhy *Echinacea* ešte des-ramnosylverbaskozid, cynarín, kyselinu kaftarovú, chlorogenovú a izochlorogenovú [39]. Extrakty koreňa echinacey potlačujú oxidáciu ľudských low-density (o nízkej hustote) lipoproteínov, vyhodnotené to bolo vďaka zníženej elektroforetickej mobilite v agarózovom géle, zapríčinenou oxidačnou zmenou Cu<sup>2+</sup> [43].

## 2.3 Možnosti stanovenia prchavých látok v čerstvých syroch

Široké pole zlúčenín, ktoré tvoria arómu syra sú prchavé látky, preto existuje mnoho extrakčných techník s úlohou ich izolovať a koncentrovať. Najviac používané techniky izolácie prchavých látok sú destilácia-extrakcia, simultánna destilácia-extrakcia (SDE), termálna desorpcia (TD), mikroextrakcia pevnou fázou (SPME) [20]. Keďže články popisujúce prchavé látky čerstvých syrov ako aj táto práca použili na stanovenie techniku SPME-GC-MS, budú v nasledujúcich statiach stručne opísané princípy metódy SPME, plynová chromatografia, hmotnostná spektrometria.

### 2.3.1 Mikroextrakcia pevnou fázou

SPME je technika určená na prípravu vzorky, pričom je praktická, rýchla a priateľská ku životnému prostrediu. Výhodou tejto techniky je že sa prakticky nemusí použiť rozpúšťadlo. SPME bola vyvíjaná, aby spojila vzorkovanie, izoláciu a obohacovanie do jedného kroku [44]. Najväčšia výhoda SPME je v extrémoch objemov vzoriek. Keďže je celkový nástroj malý a praktický, vlákna SPME dokážu extrahovať analyty z veľmi malých vzoriek. SPME funguje na princípe extrakcie pevnou fázou, ktorou je kremenné vlákno pokryté špeciálnym sorbentom. Citlivosť tejto metódy závisí na objeme použitej obalovej vrstvy. Výber dizajnu obalovej vrstvy závisí od toho, kam bude vzorka pokračovať, príkladom je použitie povrchu kompatibilného s afinitnou chromatografiou [45].

Pri mikroextrakcii pevnou fázou rozoznávame tri základné typy [45]

- priama extrakcia
- headspace (HS) extrakcia
- prístup s membránovou ochranou

Priama extrakcia sa vyznačuje tým, že obalené vlákno je nasunuté priamo do vzorky, pričom sú analyty transportované priamo z matrice vzorky do extrakčnej fázy. V headspace extrakcii sú analyty transportované cez prekážku (najčastejšie vzduch) na povrch vlákna [45].

Plynový chromatograf je najčastejšie používaný v kombinácii s SPME [45]. SPME sa dá tiež použiť s plynovou/kvapalinovou chromatografiou alebo plynovou/kvapalinovou chromatografiou spojenou s hmotnostnou spektrometriou. SPME môže byť použité aj spojením iba so samotnou MS [44]. K skúmaniu aromatického profilu je najvýhodnejšia headspace SPME extrakcia [46].

### 2.3.2 Plynová chromatografia

Plynová chromatografia sa využíva k deleniu zmesi látok dynamického systému s plynnou mobilnou fázou. Zložky vzorky sa v tomto systéme delia po prevedení do plynnej fázy. Používa sa na separáciu, identifikáciu a stanovenie zložitejších zmesí plynov a prchavých látok, ale predovšetkým organických zlúčenín s bodom varu menším než 400 °C. V plynovej chromatografii sa najčastejšie používa elučná technika vnášania vzorky po jedno rázovom nástreku na kolónu [47].

Základná schéma jednodimenzionálneho usporiadania chromatografu je tvorená šiestimi samostatnými funkčnými časťami [48]:

- nosný plyn – regulácia rýchlosti prietoku
- injektor – nástrek vzorky
- kolóna – chromatografické delenie
- detektor – premena na signál
- signál – elektronické spracovanie
- vyhodnotenie – prepočet signálu na množstvo

Zdrojom nosného plynu je tlaková nádoba obsahujúca vodík, dusík, hélium alebo argón. Voľba nosného plynu je často určená druhom kolóny [49]. Voľba nosného plynu má vplyv na separačnú účinnosť v dôsledku rozdielnych difúzných koeficientov. Nosný plyn slúži len k transportu zložiek kolónou, sám neinteraguje so separovanými zložkami alebo so stacionárnou fázou [47].

Injektory majú za úlohu dávkovať analyzovanú vzorku na začiatok kolóny, previesť vzorky do plynného skupenstva a vnieť ju do prúdu nosného plynu. Nástrek do kolóny je základnou metódou u náplňových kolón [49]. Injektory s deličom (split) sa používajú v prípade vzorky obsahujúcej veľké množstvo analyzovaných komponentov. Dávkovanie bez deliča (splitless) sa používa pri analýze zriedených roztokov [47].

Kolóny pre plynovú chromatografiu sa delia na náplňové a kapilárne. Chromatografické kolóny sa líšia v dĺžke od 2 m až po 50 m. Vyrobené bývajú z nehrdzavejúcej ocele, kremenného skla alebo teflónu [50].

Detektory sú zariadenia reagujúce na zmeny zloženia pretekajúcej mobilnej fázy, ktoré prevádzajú na elektricky merateľné veličiny. Umožňujú registráciu jednotlivých zón separovaných zložiek, ich identifikáciu a kvantifikáciu [47]. V praxi sú používané tepelnevodivostný, plameňový ionizačný, detektor elektrónového záchytu, fotoionizačný a iné [49].

### 2.3.3 Hmotnostná spektrometria

Princípom hmotnostnej spektrometrie je vytvoriť, separovať a detekovať pozitívne a negatívne ióny v plynnom skupenstve. Keďže sú vzorky typicky nábojovo neutrálne, ako prvé musia byť ionizované [51]. Hmotnostné spektrum predstavuje záznam relatívnej početnosti iónových druhov, vzniknutých procesom ionizácie pôvodnej častice, v závislosti od pomeru ich hmotnosti a neseného náboja [47]. Pri vhodnej kombinácii s inou metódou musí byť hmotnostná spektrometria zaradená vždy ako posledný stupeň [52].

Základnými súčasťami každého hmotnostného spektrometru sú [47]:

- iónový zdroj
- hmotnostný analyzátor (separátor)
- detektor

Pri hmotnostnej spektrometrii sa molekuly vzorky prevádzajú rôznymi excitačnými postupmi vo vákuu alebo v plynnom prostredí na ióny [52]. Ióny vznikajú na základe dodania dostatočného množstva energie [47]. V súčasnej dobe sa väčšinou v organickej stopovej analýze používa 5 budiacich postupov, ktorými sú ionizácia nárazom elektrónov, chemická ionizácia, ionizácia poľom, desorpcia poľom a ionizácia pri atmosférickom tlaku [52].

Hmotnostné analyzátory môžu obecné pracovať v dvojacom móde – tzv. full scan, snímanie hmotnostných spektier periodicky v čase alebo sledovanie intenzity jednej alebo



niekoľko vhodne zvolených iónových druhov v čase. Medzi základné druhy analyzátorov sa zaraďujú magnetický, elektrostatický, kvadrupólový, iónová pasca a prietový (analyzátor doby prieletu TOF) [47].

Typy používaných detektorov súvisia s celkovou konštrukciou zariadenia. Pri väčšine sa využíva Faradayova klietka, po konverzii kladných a záporných iónov na elektróny elektrónového násobiča, prípadne po dopade konvertovaného elektrónu na scintilačnú dosku fotonásobiča. Keďže ióny, vznikajúce riadeným postupom ionizácie môžu meniť neriadene svoju energiu, a to hlavne nechcenými zrážkami, je nutné udržiavať v celom systéme tlak na nízkych hodnotách [47].

#### **2.3.4 Prehľad aplikácií na čerstvé syry**

Jeon a kol. [21] použili vo svojej práci na stanovenie prchavých látok u smotanového syra skladovaného 4 týždne techniku HS-SPME-GC-MS. Extrakcia bola uskutočnená vpichnutím 50/30  $\mu\text{m}$  divinylbenzén/karboxén/polydimetylsiloxanového SPME vlákna do vialky. Vláknko bolo vystavené voľnému objemu nad vzorkou (headspace) po dobu 30 minút pri teplote 50 °C. Po extrakcii boli vzorky desorbované a identifikované pomocou GC-MS. Prchavé látky boli separované použitím kapilárnej kolóny (DB-wax), nosným plynom bolo hélium s prietokom 1,3 ml·min<sup>-1</sup>. Ionizácia prebehla nárazom elektrónov s energiou 70 eV. Zlúčeniny boli identifikované porovnaním s dostupnou databázou spektier.

Pavolo a kol. [19] sledovali prchavé látky v syre typu ricotta, konkrétne látky sa nachádzajú v Tabuľke 5. 50/30  $\mu\text{m}$  divinylbenzén/karboxén/polydimetylsiloxanové SPME vlákno bolo použité na zachytenie volatilnej frakcie. Po sorpcii bolo vlákno SPME premiestnené na kapilárnu kolónu (CP-WAX), teplota bola termostatovaná. Ako nosný plyn bolo použité hélium s prietokom 1 ml·min<sup>-1</sup>, hmotnostným detektorom bol kvadrupól a na ionizáciu bol využitý náraz elektrónov (70 eV). Identifikácia bola uskutočnená porovnaním s databázou.

Reyes-Días a kol. [22] použili HS-SPME-GC-MS na stanovenie prchavých látok u syra typu queso fresco. Príprava vzorky prebiehala v týchto krokoch: 3 gramy najjemno nakrájaného syra, 7 ml nasýteného roztoku NaCl a 5  $\mu\text{l}$  vnútorného štandardu bolo vložených do vialky so šróbovacím uzáverom. Pred SPME extrakciou boli vzorky ekvilibrované pri teplote 70 °C po dobu 30 minút. Po uplynutí tejto doby bolo 75 $\mu\text{m}$  CAR-PDMS vlákno vystavené objemu nad vzorkou (headspace) po dobu 60 minút pri teplote 70 °C. Následne bolo vlákno odobrané a ihneď boli látky desorbované pri teplote 250 °C po dobu 10 minút v injektore s módom splitless. Prietok hélia ako nosného plynu činil 1,5 ml·min<sup>-1</sup>. Zložky boli separované na kolóne s vysokou polaritou (DB-WAX), teplota bola termostatovaná. Jednotlivé látky boli identifikované porovnaním s databázami a retenčnými časmi iónových spektier analytických štandardov.

Prchavé látky identifikované v rámci týchto publikácií sú prehľadne uvedené v kapitole 2.1.7.

### **2.4 Možnosti stanovenia mastných kyselín v čerstvých syroch**

Stanovenie mastných kyselín u čerstvých syrov prebieha výhradne pomocou plynovej chromatografie s plameňovo ionizačným detektorom (FID). Prvým krokom je nutnosť

extrakcie tukovej frakcie zo syra, príkladom je Röse-Gottliebova metóda, ktorá ešte môže byť modifikovaná. Využíva sa amoniak, etanol a hexán ktorý sa pridáva ku vzorke, následne dochádza k centrifugácii a odoberie sa vrchná vrstva. U druhej extrakcii je použitý etanol a hexán, u tretej už len samotný hexán, pričom u oboch sa odoberala vrchná vrstva [16]. Po extrakcii je nutné prevedenie MK na metylestery. Postup esterifikácie popisuje ISO 15884:2002 (IDF 182:2002) [53]. Po esterifikácii dochádza už k samotnému stanoveniu pomocou GC-FID. Plynová chromatografia je popísaná v kapitole 2.3.2.

#### **2.4.1 Plameňovo ionizačný detektor**

FID je jeden z najpoužívanejších detektorov kvôli mnoho výhodám: nízke detekčné limity, široký dynamický rozptyl, cenová prijateľnosť, spoľahlivosť. Vo FID rozpustené látky prechádzajú detekčným komponentom potom ako sú eluované z konca kolóny, pričom sú spaľované v plameni vytvorenom zmesou vzduchu a vodíka. Organické látky (MK) v plameni horia a tým sa tvoria ióny. Tieto sú zachytávané na kolektorových elektródach, tvorí sa prúd, ktorý je amplifikovaný a následne sa meria. FID dokáže detekovať všetky organické zlúčeniny obsahujúce C a H, s výnimkou kyseliny mravčej a metánu [54].

#### **2.4.2 Prehľad aplikácií na čerstvé syry**

Nudda a kol. [16] použili na separáciu metylestero MK (vzorka pochádzajúca z ricotty z ovčieho mlieka) kapilárnu kolónu (100 m × 0,32 mm; hrúbka filmu 0,25 μm). Teplota v injektore a v FID dosahovala 255 °C. Teplota na kolóne bola programovaná. Ako nosný plyn bolo použité hélium. Samotné metylestery boli identifikované porovnaním relatívnych retenčných časov píkov metylestero zo vzoriek, s roztokom štandardov.

Seguel a kol. [17] sledovali profil MK v syre ricotta. Vo svojej práci použili nastavenie FID – teplota ionizačného plameňa 260 °C, injekčný objem 2 μl, prietok vodíka 25 ml·min<sup>-1</sup>, prietok vzduchu 400 ml·min<sup>-1</sup>, prietok dusíka 40 ml·min<sup>-1</sup>.

### **2.5 Možnosti merania antioxidačnej aktivity**

Antioxidanty hrajú dôležitú úlohu v konzervácii potravín, inhibujú oxidačné procesy a prispievajú k zlepšeniu zdravia, sú obsiahnuté v rôznych doplnkoch stravy a funkčných potravinách. Antioxidačná aktivita môže byť meraná rôznymi testami s rôznymi mechanizmami: transfer atómu vodíka (HAT), transfer elektrónu (ET), redukčná schopnosť, chelácia kovu [55].

#### **2.5.1 Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) test**

Test ORAC meria schopnosť ukončovať radikálové reťazové reakcie antioxidantami meraním inhibície peroxylovej oxidácie vyvolanej radikálmi [55]. Metóda ORAC sa spočiatku skladala z merania poklesu fluorescencie proteínu pri strate konformácie vyvolanej oxidačným poškodením, ktorého zdrojom je peroxylový radikál (ROO·). Proteínom v pôvodnej metóde bol β-fykoerytrín, ktorý ale má sériu nevýhod ako je napríklad nesúlad medzi dávkami, forosenzitivita a interakcia s fenolickými zlúčeninami (nešpecifické viazanie proteínov). Na vyriešenie tohto problému bol navrhnutý fluorescín (3',6'-dihydroxyspiro[izobenzofurán-1[3H],9'[9H]-xantén]-3-ón) ako targetový proteín [56]. Bežne

používanými zdrojmi peroxylových radikálov sú skupina azo zlúčenín: lipofilný AIBN, ABAP, AMVN a hydrofilný AAPH [55].

### **2.5.2 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) test**

ABTS/TEAC je široko používaný test na spektrofotometrické stanovenie celkovej antioxidačnej aktivity, ktorého princípom je elektrónový transfer [57]. Tento test meria schopnosť antioxidantov vychytávať stabilný radikál kation ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis(3-etylbenzotiazolín-6-sulfónová kyselina)), modrozelený chromofór s maximom absorpcie pri 734 nm so zníženou intenzitou v prítomnosti antioxidantov. TEAC je používaná na meranie celkovej antioxidačnej aktivity čistých látok, telesných tekutín a rastlinných materiálov [55]. Výsledky sa udávajú ako troloxový milimolárny ekvivalent (TEAC koeficient) – bezrozmerná jednotka definovaná ako redukčný potenciál sledovaného 1 milimolárneho roztoku antioxidantu. TEAC koeficienty modifikovaného CERAC postupu pre antioxidanty boli v tomto poradí: quercetín > rutín > kyselina gallová > katechín > kyselina kávová ≥ kyselina ferulová > naringenín > Trolox ≥ kyselina askorbová [57].

### **2.5.3 Test na vychytávanie 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylového radikálu (DPPH)**

Táto metóda je založená na schopnosti vychytávania DPPH radikálu antioxidantami. Nepárny elektrón atómu dusíka v DPPH je redukovaný atómom vodíka pochádzajúceho z antioxidantu na príslušný hydrazín. DPPH je charakterizovaný ako stabilný voľný radikál, u ktorého dochádza ku delokalizácii voľného elektrónu po celej molekule, takže molekula nie je dimerizovaná, čo je charakteristické pre väčšinu voľných radikálov. Delokalizácia má taktiež za následok tmavoľalovú farbu, s absorpciou v etanolovom roztoku pri 520 nm. Pri prídavku látky, ktorá môže poskytnúť atóm vodíka do roztoku DPPH, dochádza k prechodu do redukovanej formy, a teda ku strate ľalovej farby [58]. Reakčná rovnica sa dá vyjadriť vzhľadom ku transferu atómu vodíka, pričom mechanizmus elektrónového transferu nemožno vylúčiť najmä v fenol-ionizujúcich rozpúšťadlách [57]. Jedným z najzávažnejších obmedzení spektrometrického stanovenia DPPH je prekrytie spektra so zlúčeninami, ktoré absorbujú svetlo v rovnakej vlnovej dĺžke ako DPPH, napríklad antokyaníny. DPPH test môže byť spojený s online HPLC na rýchle skenovanie veľkého množstva vzoriek antioxidantov. Online HPLC-DPPH metódy sú založené na post-kolónovej reakcii elutátov antioxidantov s DPPH radikálmi [55].

### **2.5.4 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) test**

FRAP test bol ako prvý použitý k určeniu antioxidačnej kapacity plazmy, neskoršie modifikácie boli aplikované na iné matrice ako víno a čaj. Metóda je založená na redukcii trojmocného železa na železo dvojmocné antioxidantami v prítomnosti tripyridyltriazínu (TPTZ), ktorý tvorí s Fe<sup>2+</sup> intenzívne modro sfarbený komplex [57]. Antioxidačná aktivita je určená zvýšením absorpcie pri 593 nm, výsledok je vyjadrený v mikromolárnom Fe<sup>2+</sup> ekvivalente alebo vzťahnuté k antioxidačnému štandardu. U FRAP sa jedná o typickú metódu založenú na elektrónovom transfere. V poslednej dobe sa ako železité činidlo najčastejšie používal hexakynoželezitan draselný. Taktiež sa začali využívať elektrochemické detekčné techniky ku zlepšeniu senzitivity, presnosti a reprodukovateľnosti [55]. Nevýhoda FRAP je u určovaní antioxidačnej aktivity u tiolov a karotenoidov, ktoré trojmocné železo neredukujú

[57]. Zloženie pôvodnej zmesi pre FRAP je pripravené zmiešaním zložiek: TPTZ (2,5 ml; 10 mM v 40 mM HCl), 25 ml acetátového pufu a 2,5 ml FeCl<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (20 mM). Pre meranie FRAP hodnoty, 300 µl čerstvo pripraveného FRAP činidla je zahriate na teplotu 37 °C a je odčítaná hodnota blanku pri 593 nm, potom je pridaných 10 µl vzorky a 30 µl vody. Absorbancia je odčítaná po 0,5 s, každých 15 sekúnd po dobu 4 minúty [59].

### 2.5.5 Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) test

Princípom tejto metódy je redukcia medi, pričom sa jedná o variantu FRAP testu. CUPRAC test meria redukčnú silu antioxidantov, ktoré konvertujú ióny meďnaté na ióny meďné. Podobne ako v FRAP je použitý ligand, ktorý tvorí komplex meď-ligand, pričom sa meria absorbancia tohto roztoku. Bežne používaným ligandom je neokuproín. Komplex Cu<sup>2+</sup>-neokuproín môže byť redukovaný antioxidantami na Cu<sup>+</sup>-neokuproín, ktorý je chromofór absorbujúci s absorpčným maximom 450 nm [55]. Metóda CUPRAC bola úspešne aplikovaná na antioxidanty v potravinách, rastlinách a ľudskom sére, taktiež na vychytávače hydroxylových a superoxidových radikálov. Nové články ukazujú na to, že CUPRAC môže byť spojená s online HPLC na selektívne určenie polyfenolov v komplexných rastlinných matriciach. Metóda kombinuje chromatografickú separáciu, analýzu zložiek, post-kolónovú identifikáciu antioxidantov v rastlinných extraktoch [57].

### 2.5.6 Celkový obsah fenolických látok

Fenolické látky patria medzi hlavné zložky zodpovedné za antioxidačnú kapacitu ovocia, zeleniny a obilnín. Folin-Ciocalteova (F-C) metóda je najbežnejšie používanou metódou na určenie celkového obsahu fenolických látok potravinových extraktov. F-C metóda je kolorimetrická metóda založená na elektrónovom transfere medzi F-C činidlom a fenolickou látkou. Je taktiež známe, že ostatné typy zlúčenín prítomné vo veľkom množstve v potravinových extraktoch, môžu redukovať F-C činidlo [60]. Produkty redoxnej reakcie kovov (oxidy volfrámu a molybdénu) nachádzajúcich sa v činidle majú modrú farbu, absorbujú svetlo s maximom vo vlnovej dĺžke 765 nm [59]. F-C metóda sa vyznačuje mnohými výhodami ako je jednoduchosť, reprodukovateľnosť, robustnosť. Predsa len trpí nedostatkami: citlivosť pH, teploty a reakčného času [55].

### 2.5.7 Príklady použitia – aplikácie na čerstvé syry

Na antioxidačnú aktivitu syrov má vplyv dozrievanie syrov. Peptidy vyznačujúce sa antioxidačnou aktivitou sú produkované v čase dozrievania. Na skúmanie antioxidačnej aktivity syru čedar bola využitá metóda DPPH, pričom zvýšenie antioxidačnej aktivity bolo pripísané produkcii peptidov rozpustných vo vode. Taktiež sa dá usúdiť, že antioxidačná aktivita súvisí so stupňom proteolýzy a preto so stupňom dozrievania [61].

Qureshi a kol. [62] popisujú antioxidačný potenciál mäkkého syra typu paneer s prídavkom extraktu z plodov datľovníka obyčajného (*Phoenix dactylifera*). Príprava syra prebehla štandardne, pričom bol extrakt zmiešaný s mliekom a až následne dochádzalo ku koagulácii. Sledované boli vodné roztoky, ktoré boli pripravené zmiešaním rozdrvených datlí, s destilovanou vodou. Sonifikácia bola využitá na prípravu homogénnej zmesi, následne bola vzorka centrifugovaná a bola odobraná tuková vrstva. Sledovaný bol obsah celkových fenolických látok pomocou F-C metódy. Taktiež využili metódu TEAC s nasledujúcim

postupom: zmiešanie vodného roztoku paneera s reakčným činidlom (kyselina sírová, fosforečnan sodný, molybdénan amónny); inkubácia 95 minút, 90 °C; meranie absorbancie pri 695 nm; prepočítanie hodnoty TEAC pomocou štandardnej krivky Troloxu na  $\mu\text{M TE}$ . Čerstvo pripravený paneer s prídavkom extraktu z datle sa vyznačoval vyššími hodnotami celkových fenolických látok a TEAC v porovnaní s kontrolnou vzorkou paneeru. Všeobecne sa dá usúdiť, že takto pripravený paneer ukazuje zvýšenú antioxidačnú aktivitu vďaka prítomnosti významného množstva fenolických látok a flavonoidov.

## 2.6 Možnosti senzorického hodnotenia čerstvých syrov

Senzorická kvalita je konečným meradlom kvality a úspechu produktu. Senzorická analýza obsahuje množstvo výkonných a citlivých nástrojov na meranie ľudskej odpovede na potraviny a iné produkty. Reprodukovateľné, relevantné výsledky sú dosiahnuté vďaka výberu vhodného testu, vhodných podmienok a analýzy výsledkov. Pomocou senzorickej analýzy sa skúma nielen chuť alebo odpor, ale taktiež vnímanie produktu spotrebiteľom, emočná odpoveď, vplyv skladovania, náhrada surovín, spôsob balenia, taktiež môžu byť určené vzťahy medzi inštrumentálnymi testami a senzorickým vnímaním. U senzorickej analýzy rozlišujeme 3 základné skupiny testov [63]:

- Rozlišovacie – stanovenie rozdielu medzi vzorkami
- Deskriptívne – identifikácia a kvantifikácia senzorických vlastností
- Hedonické – hodnotenie príjemnosti, hodnotiteľ = spotrebiteľ

### 2.6.1 Senzorické vlastnosti čerstvých syrov

Senzorická kvalita syrov, vzhľadom k veľkému počtu rôznych druhov, je veľmi rôznorodá. Každý typ syra má svoje unikátne senzorické vlastnosti, ktoré sú dôsledkom vlastností mlieka a jednotlivých krokov výroby. Senzorické vlastnosti základných druhov čerstvých syrov sú popísané v kapitole 2.1.3.

### 2.6.2 Senzorické hodnotenie čerstvých syrov

Olmedo a kol. [64] vo svojej práci popisujú zachovanie senzorických a chemických vlastností ochutených syrov, pripravených na základe smotanového syra, za použitia esenciálnych olejov oregana a rozmarínu. Senzorické vlastnosti boli analyzované deskriptívnou analýzou. Dvanásť školených hodnotiteľov sa podieľalo na deskriptívnej analýze smotanového syra a ochutených vzoriek. Hodnotitelia pracovali 11 rokov v odvetví senzorickej analýzy potravinárskych produktov, ale nikdy nevyhodnocovali vzorky syra. Hodnotitelia boli trénovaní v 8 stretnutiach, ktoré trvali 2 hodiny. Využitá bola hybridná deskriptívna analytická metóda, pozostávajúca z kvantitatívnej deskriptívnej analýzy a spektrálnej deskriptívnej analýzy (senzorické spektrum). Neštruktúrovaná stupnica (150 mm) bola využitá na určenie intenzity.

Qureshi a kol. [62] využili na hodnotenie farby, chute, textúry a celkovej prijateľnosti syra typu paneer s extraktom s datlí 9 stupňovú stupnicu príjemnosti (hedonický test). Panel hodnotiteľov pozostával z 20 hodnotiteľov, medzi ktorých patrili členovia a študenti fakulty (Institute of Food Science and Nutrition, Univerzita Sargodha).

Senzorickú charakteristiku syra typu ricotta sledovali Seguel a kol. [17]. Bola prevedená deskriptívna senzorická analýza. Senzorický panel pozostával z 14 trénovaných hodnotiteľov,

ktorí neboli vopred oboznámený so žiadnymi informáciami ohľadom vzoriek syra (1 cm<sup>3</sup>, cca 10 g). Hodnotitelia dostali vzorku syra vo forme 10g plátku a boli vyhodnocované nasledovné vlastnosti: všeobecný pach, mliečna vôňa, všeobecná chuť, homogenita, tvrdosť, zrnitosť, horkosť, kyslosť, slanosť, dierovanie, priľnavosť, vlhkosť. Hodnotitelia vyhodnocovali syr postupne hodnotením vlastností na spojitú stupnicu intenzity od 0 – 9, kde 0 predstavuje najnižšiu intenzitu a 9 najvyššiu intenzitu.

### 3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Experimentálna časť sa zaoberá výrobou čerstvých syrov (optimalizácia výroby), úpravou a aplikáciou rastlinného extraktu z rýmovníka a echinacey do vyrobených syrov, senzorickou analýzou vyrobených vzoriek a charakteristikou vyrobených vzoriek z hľadiska obsahu prchavých (aromatických) látok, celkových fenolických látok, antioxidačnej aktivity, obsahu MK a VMK, stanovenia sušiny a tuku v sušine (TVS).

#### 3.1 Laboratórne vybavenie a chemikálie

##### 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)
- Plynový chromatograf Trace GC (ThermoQuest S.p.A., Taliansko) s plameňovo ionizačným detektorom, split/splitless injektorom a kapilárnou kolónou DB-WAX (30 m × 0,32 mm × 0,5 μm)
- Knižnica spektier NIST/EPA/NIH, verzia 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Spektrofotometer (Helios Gamma & Delta Spectronic Unicam, USA)
- Analytické digitálne váhy (HELAGO, GR-202-EC, Taliansko)
- Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- Chladnička
- Vákuová rotačná odparka (KIKA WERKE, Nemecko)
- Vodný kúpeľ Julabo TW 2. (Nemecko)
- Exsikátor
- Sušiareň Memmert ULM 400
- Centrifúga Hettich EBA 21 (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Nemecko)

##### 3.1.2 Plyny

- Hélium 4.8, v tlakovej fľaši s redukčným ventilom (SIAD, ČR)
- Dusík 5.0, v tlakovej fľaši s redukčným ventilom a kovovou membránou (SIAD, ČR)
- Vodík 5.5, v tlakovej fľaši s redukčným ventilom (SIAD, ČR)
- Vzduch 5.0, fľaši s redukčným ventilom pre kyslík (SIAD, ČR)

##### 3.1.3 Laboratórne vybavenie

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 μm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA
- Vialky s objemom 10 ml so skrutkovacím magnetickým uzáverom
- Bežné laboratórne sklo a pomôcky
- Riad a pomôcky pre výrobu vzoriek a senzorickú analýzu
- Strúhadlo
- Mikropipety Discovery 10 – 100 μm

### 3.1.4 Chemikálie

- Etanol 96 %, PENTA, ČR
- Metanol 99,5 %, Lach-Ner, ČR
- Dietyléter p.a., Lach-Ner, ČR
- Petroléter p.a., Lach-Ner, ČR
- Hexán p.a., Lach-Ner, ČR
- Hydroxid sodný p.a., Lach-Ner, ČR
- Izooktán p.a., Lach-Ner, ČR
- Kyselina chlorovodíková p.a., PENTA, ČR
- BF<sub>3</sub> (14% roztok metanolu), p.a., Sigma-Aldrich, Nemecko
- Zmesový štandard metylesterov MK (C14-C24), Restek, PA, USA
- Metylbutyrát, metylkapronát, metylkaprylát, metylkaprinát, metyllaurát, Merck, ČR
- Peroxodisíran draselný, Lach-Ner, ČR
- Síran sodný bezvodý p.a., Lach-Ner, ČR
- Chlorid sodný p.a., Lach-Ner, ČR

### 3.1.5 Štandardné chemikálie

- Trolox 97%, ((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina), C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>, Sigma-Aldrich, RUS
- ABTS 98%, (2,2'-azinobis(3-etylbenzotiazolín-6-sulfónová kyselina)), C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>, Sigma-Aldrich, CAN

### 3.1.6 Suroviny pre výrobu čerstvých syrov

- Pasterizované mlieko plnotučné, 3,5 %
- Ocot dostupný v bežnej obchodnej sieti
- Kuchynská soľ
- Čerstvé listy rýmovníka – extrakt [65]
- Sušené listy echinacey (*Echinacea purpurea*) – extrakt [66]

## 3.2 Analyzované vzorky

V experimentálnej časti práce boli analyzované modelové vzorky čerstvých syrov, vyrobené v laboratórnych podmienkach na FCH VUT v Brne. Výroba vychádzala zo štandardného technologického postupu (presný postup vid' kap. 3.2.1), pričom na zrazenie kazeínov bola využitá kombinácia aplikácie zvýšenej teploty a okyslenia kyselinou. Pre výrobu boli ako suroviny použité: pasterizované mlieko plnotučné (3,5 %), ocot a kuchynská soľ.

Táto diplomová práca bezprostredne nadväzuje na diplomové práce, ktoré sa zaoberajú optimalizáciou výroby extraktov z rýmovníka a echinacey. Pre výrobu čerstvých syrov boli vybrané extrakty, ktoré boli vyhodnotené ako najlepšie z hľadiska obsahu prchavých látok, obsahu celkových fenolických látok a antioxidačnej aktivity. Optimálne podmienky extrakcie rýmovníka boli – 1:5 navážka rastliny:objem rozpúšťadla, 40% etanol, 40 minút, 40 °C. Optimálne podmienky extrakcie echinacey – 1:5 navážka rastliny:objem rozpúšťadla, 40% etanol, 60 minút, 60 °C [65].



Spolu boli vyrobené 3 typy vzoriek. Prvá séria vzoriek bola štandardný čerstvý syr bez prídavku rastlinných extraktov (ST). Druhý typ vzoriek bol čerstvý syr s prídavkom extraktu z rýmovníka (R), tretí typ vzoriek bol s prídavkom extraktu z echinacey (E). Z každého typu boli vyrobené 2 syry.

Vyrobené vzorky boli uchovávané v chladničke a mrazničke, dôkladne zabalené v alobale a potravinárskej fólii, aby nedošlo ku zmene chemických a fyzikálnych vlastností a zníženiu senzorickej kvality, najmä k oxidácii tukov a zníženiu celkovej vlhkosti vzoriek.

Pri senzorickej analýze boli vzorky boli hodnotené bez akejkoľvek úpravy (porcia = 40 g), pre všetky chemické analýzy bolo pred samotným meraním nastrúhané potrebné množstvo vzorky na strúhadle a ďalej spracovávané podľa danej metódy.

### **3.2.1 Postup výroby čerstvých syrov s prídavkom rastlinných extraktov**

Mlieko bolo zahriate v hrnci na teplotu 92 °C, bolo pridaných 50 ml octu, zmes bola zľahka premiešaná a nechala sa 30 minút zrážať. Potom bol obsah hrnca scedený cez jemné sitko. Zrazenina sa nechala odkvapať a syrovina bola ochutená 7,5 g soli. Syrovina bola zväžená a do takejto zrazeniny bol pridaný rastlinný extrakt podľa druhu (optimálne podmienky opísané v kapitole 3.2). Prídavok extraktu echinacey činil 2 % hmotnosti syroviny a extrakt rýmovníka činil 1,5 % hmotnosti syroviny. Forma na syr vyložená plátnom bola vložená do pracovnej dózy, syrovina s extraktom bola premiestená na plátno a lisovacím kotúčom zarovnaná. Na stred lisovacieho kotúča bola položená pružina a nádoba bola zatvorená. Syr bol lisovaný 1 hodinu pri laboratórnej teplote a následne vychladený v chladničke. Hotový syr bol vybratý z formy (Obrázok 3) a skladovaný v chladničke a mrazničke.



Obrázok 3 Čerstvý syr s prídavkom extraktu echinacey

### 3.2.2 Príprava vodných extraktov čerstvých syrov

Syrové extrakty boli použité pri stanovení celkového obsahu celkových fenolov a antioxidačnej aktivity. Na prípravu extraktov bol použitý upravený postup, ktorí použili Quereshi a kol. [62], pri príprave extraktov syrov paneer s datľovým extraktom. Navážených bolo 3 g čerstvého syra, pričom bol tento syr následne rozdrvený pomocou trecej misky s tlčíkom s 6 ml destilovanej vody a 300  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $c = 1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na úpravu pH 4,5. Po tomto kroku bola vzorka centrifugovaná 15 minút, 5000 ot. $\cdot\text{min}^{-1}$ . Odstredený supernatant bol následne prefiltrovaný cez filtračný papier KA1 (PAPÍRNA Perštejn s.r.o.,  $\text{Ø}110$  mm). Vzorky vodných extraktov boli skladované v mrazničke, pred analýzami boli rozmrazené.

## 3.3 Použité metódy a experimentálne postupy

### 3.3.1 Stanovenie prchavých látok

Pre identifikáciu a semikvantifikáciu prchavých látok vo vzorkách bola využitá metóda HS-SPME-GC-MS. Časť pripraveného čerstvého syra bola nastrúhaná na strúhadle a do vialky boli navážené 2 gramy vzorky. Vialka bola uzavretá magnetickým uzáverom a umiestená do autosampléra plynového chromatografu.

#### 3.3.1.1 Podmienky HS-SPME-GC-MS analýzy

Podmienky SPME extrakcie:

- Doba inkubácie (temperovanie): 10 minút
- 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

Podmienky GC-MS analýzy:

- Kapilárna kolóna TG-WaxMS (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,5  $\mu\text{m}$ )
- 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 $\cdot\text{min}^{-1}$
- 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

### 3.3.2 Stanovenie obsahu vody a sušiny

#### *Prístroje a pomôcky:*

Analytické váhy, exsikátor, sušiareň nastavená na teplotu  $102 \pm 2$  °C, hliníkové misky so sklenenými tyčinkami, kliešte, morský piesok prepláchnutý a vyžiháný.

#### *Postup:*

Miska s 15 – 30 g piesku a sklenenou tyčinkou boli vysušené v sušiarňi po dobu 1 h. Po vychladnutí bola miska s pieskom zvážená s presnosťou na 0,0001 g. Do misiek bolo navážených 3 – 5 g syra s presnosťou na 0,0001 g a obsah bol premiešaný tyčinkou. Miska sa sušila 3 hodiny, počas tohto bol obsah misky premiešavaný v časových intervaloch. Následne bola miska ochladená v exsikátore a zvážená. V sušení a vážení sa pokračovalo v ½ hodinových intervaloch do dosiahnutia konštantnej hmotnosti.

#### *Spracovanie výsledkov:*

$$w_V = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m_1 - m_0} \quad (3.1)$$

$w_V$  obsah vody [%]

$m_0$  hmotnosť misky s pieskom a tyčinkou [g]

$m_1$  hmotnosť misky s pieskom, tyčinkou a navážkou (pred sušením) [g]

$m_2$  hmotnosť misky s pieskom, tyčinkou a navážkou (po sušení) [g]

$$w_{\text{suš}} = 100 - w_V \quad (3.2)$$

$w_{\text{suš}}$  obsah sušiny [%]

### 3.3.3 Stanovenie voľných a viazaných mastných kyselín

Pre identifikáciu a kvantifikáciu mastných kyselín vo vzorkách bola využitá metóda GC-FID po ich prevedení na metylestery.

#### 3.3.3.1 Extrakcia lipidov zo vzorky syra

Extrakcia lipidov zo vzorky syra bola uskutočnená podľa normy ČSN EN ISO 1735:2005.

#### *Princíp:*

Po rozpustení netukových látok výrobku sa uvoľnený tuk vytrepe kvantitatívne zmesou dietyléteru a petroléteru a po ich odparení sa zväží.

#### *Prístroje a pomôcky:*

Strúhadlo, nôž, skúmavka, deliaci lievnik, odmerný valec 10 ml, destilačná banka s guľatým dnom 100 ml, vodný kúpeľ, pipeta 5 ml, analytické váhy, vákuová odparka.

#### *Chemikálie:*

Kyselina chlorovodíková 35 % p.a., etanol 96 % obj. p.a., dietyléter p.a., petroléter p.a.

#### *Postup:*

Syr bol nastrúhaný na jemnom strúhadle, do skúmavky bol navážený 1 g vzorky s presnosťou na 4 desatinné čísla. Následne bolo pridaných 5 ml kyseliny chlorovodíkovej a zmes sa nechala zahrievať vo vodnom kúpeli pri 80 °C až do úplného rozpustenia syra. Zmes bola následne ochladená pod tečúcou vodou.

Pomocou 5 ml etanolu bola zmes prevedená kvantitatívne do deliaceho lievika. Následne bolo ku zmesi pridaných 9 ml dietyléteru a 9 ml petroléteru, pričom po každom prídavku bola

zmes premiešaná a potrepaná po dobu 1 min. Potom sa nechala zmes odstáť po dobu 30 min. Horná fáza bola odobratá pipetou (prvá extrakcia) do vysušenej a vopred zváženej destilačnej banky s guľatým dnom (50 ml). Následne bola uskutočnená druhá a tretia extrakcia podobne, ale s polovičným množstvom rozpúšťadiel. Všetky 3 extrakty boli spojené a rozpúšťadlo bolo odparené na vákovej rotačnej odparke pri teplote 40 °C.

Množstvo tuku bolo zistené gravimetricky – zvážením vyextrahovaného tuku na analytických váhach s presnosťou na 0,0001 g a odčítaním čistej destilačnej banky. Keďže bolo uskutočnené stanovenie celkového obsahu tuku vo vzorke syra, zhromaždený tuk v destilačnej banke sa ešte sušil 1 hodinu v sušiarňi pri teplote 102 °C a potom bol zvážený.

Percentuálny obsah tuku ( $w_{\text{tuk}}$ ) bol vypočítaný pomocou vzorca:

$$w_{\text{tuk}} = \frac{m_{\text{tuk}} \cdot 100 \%}{m_{\text{syř}}} \quad (3.3)$$

$m_{\text{tuk}}$  hmotnosť vyextrahovaného tuku [g]  
 $m_{\text{syř}}$  navážka vzorky syra [g]

Percentuálny obsah tuku v sušine ( $w_{\text{tvs}}$ ) bol vypočítaný pomocou vzorca:

$$w_{\text{tvs}} = \frac{w_{\text{tuk}} \cdot 100 \%}{w_{\text{suš}}} \quad (3.4)$$

$w_{\text{tuk}}$  obsah tuku [%]  
 $w_{\text{suš}}$  obsah sušiny [%]

### 3.3.3.2 *Príprava metylesterov mastných kyselín*

Na prípravu metylesterov MK bola použitá kyslá esterifikácia s bórtrifluoridom ( $\text{BF}_3$ ) ako katalyzátorom, táto metóda bola využitá ako pre stanovenie všetkých (TAG) tak aj voľných mastných kyselín (VMK). Vzhľadom k toxicite  $\text{BF}_3$  bol celý proces uskutočnený v digestore.

### 3.3.3.3 *Kyslá esterifikácia s $\text{BF}_3$ ako katalyzátorom (TAG)*

#### **Princíp:**

V prvom kroku sú glyceroly transmetylované pomocou metanolického roztoku NaOH na metylestery, prítomné VMK sú týmto krokom prevedené na soli. Princípom druhého kroku kyslej katalýzy je prevedenie MK na metylestery (MeMK) reakciou s komplexom  $\text{BF}_3$ -metanol.

#### **Prístroje a pomôcky:**

Destilačná banka s guľatým dnom, spätný chladič, vykurovacie hniezdo, pipeta 5 ml, odmerný valec 50 ml, vialka (2 a 4 ml).

#### **Chemikálie:**

Metanolický roztok hydroxidu sodného ( $c = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ),  $\text{BF}_3$  metanolický roztok 10%, izooktán p.a., chlorid sodný p.a. (nasýtený vodný roztok), síran sodný bezvodý p.a.

#### **Postup:**

Do destilačnej banky s guľatým dnom (50 ml) bol kvantitatívne prevedený všetok vyextrahovaný tuk.

Následne bolo pridaných 4 ml metanolického roztoku hydroxidu sodného a varný kamienok. Ku banke bol pripojený spätný chladič, banka bola vložená do vykurovacieho hniezda a obsah banky sa varil, pokým nevymizli kvapky tuku. Každých 30 s bola banka premiešavaná krúživými pohybmi. Tento krok trval medzi 5 – 10 minút.

Následne bolo do vrúcej zmesi cez spätný chladič pridaných 5 ml metanolického roztoku  $\text{BF}_3$  a pokračovalo sa vo vare (celková doba varu 30 minút). Potom sa do vrúcej zmesi cez hornú časť chladiča pridalo 3 ml izooktánu, destilačná banka bola vybraná z vykurovacieho hniezda a var bol zastavený.

Bez akéhokoľvek chladenia sa pridalo do zmesi 20 ml nasýteného vodného roztoku NaCl, banka bola uzavretá a obsah bol pretrepaný po dobu 15 s. Potom bolo pridané väčšie množstvo nasýteného vodného roztoku NaCl tak, aby hladina dosiahla hrdlo banky, aby išlo rozoznať rozhranie dvoch fáz. Po tomto kroku sa nechala banka ešte 5 minút odstáť.

Z hornej izooktánovej vrstvy boli odobrané 2 ml do 4 ml vialky, bolo pridané malé množstvo bezvodého  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , pre odstránenie stôp vlhkosti. S takto pripraveného roztoku bol odobraný 1 ml do vialky k analýze na plynovom chromatografe.

#### ***Príprava metanolického roztoku NaOH ( $C = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ):***

Navážka 2 g NaOH bola za mierneho ohrevu vo vodnom kúpeli rozpustená v 100 ml metanolu. Pripravený roztok bol uchovávaný v chladničke.

#### ***3.3.3.4 Kyslá esterifikácia s $\text{BF}_3$ ako katalyzátorom (VMK)***

##### ***Princíp:***

Voľné MK sú esterifikované zahrievaním v prebytku bezvodého metanolu v prítomnosti  $\text{BF}_3$  ako katalyzátoru.

##### ***Pomôcky a prístroje:***

Destilačná banka s guľatým dnom, spätný chladič, vykurovacie hniezdo, pipeta 5 ml, odmerný valec 50 ml, vialka (2 a 4 ml).

##### ***Chemikálie:***

$\text{BF}_3$  metanolický roztok 10%, izooktán p.a., chlorid sorný p.a. (nasýtený vodný roztok), síran sodný bezvodý p.a.

##### ***Postup:***

Do destilačnej banky s guľatým dnom (50 ml) bol kvantitatívne prevedený všetok vyextrahovaný tuk.

K banke bol pripojený spätný chladič, pridal sa varný kamienok, 5 ml metanolického roztoku  $\text{BF}_3$  a zmes sa priviedla k varu. Po presne 3 minútach sa do vrúcej zmesi pridalo cez horný koniec chladiča 3 ml izooktánu, destilačná banka bola vybratá z vykurovacieho hniezda a zastavil sa var.

Bez akéhokoľvek chladenia sa pridalo do zmesi 20 ml nasýteného vodného roztoku NaCl, banka bola uzavretá a obsah bol pretrepaný po dobu 15 s. Potom bolo pridané väčšie množstvo nasýteného vodného roztoku NaCl tak, aby hladina dosiahla hrdlo banky, aby išlo rozoznať rozhranie dvoch fáz. Po tomto kroku sa nechala banka ešte 5 minút odstáť.

Z hornej izooktánovej vrstvy boli odobrané 2 ml do 4 ml vialky, bolo pridané malé množstvo bezvodého  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , pre odstránenie stôp vlhkosti. S takto pripraveného roztoku bol odobraný 1 ml do vialky k analýze na plynovom chromatografe.

Koncentrácia metylesteru MK ( $c_{\text{MeMK}}$ ) v extrakte (vo vialke) sa vypočíta podľa vzorca:

$$c_{\text{MeMK}} = \frac{c_S \cdot P_{\text{MeMK}}}{P_S} \quad (3.5)$$

$c_{\text{MeMK}}$	koncentrácia MeMK v extrakte [ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]
$P_{\text{MeMK}}$	plocha píku MeMK v extrakte [ $\text{mV} \cdot \text{s}$ ]
$c_S$	koncentrácia štandardu [ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]
$P_S$	plocha píku štandardu [ $\text{mV} \cdot \text{s}$ ]

Výpočet koncentrácie MK prepočtom z koncentrácie metylesteru MK:

$$c_{\text{MK}} = \frac{c_{\text{MeMK}} \cdot M_{r\text{MK}}}{M_{r\text{MeMK}}} \quad (3.6)$$

$c_{\text{MK}}$	koncentrácia MK v extrakte [ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]
$c_{\text{MeMK}}$	koncentrácia MeMK v extrakte [ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]
$M_{r\text{MK}}$	molárna hmotnosť MK [ $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ]
$M_{r\text{MeMK}}$	molárna hmotnosť MeMK [ $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ]

Potrebné koncentrácie, plochy píkov a  $M_r$  štandardov sú uvedené v Tabuľke 8.

Výpočet množstva v pôvodnom objeme v banke:

$$m_{\text{MK}} = c_{\text{MK}} \cdot V \quad (3.7)$$

$m_{\text{MK}}$	celková hmotnosť MK v banke [mg]
$c_{\text{MK}}$	koncentrácia MK v extrakte [ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]
$V$	objem izooktánu (3 ml)

Výpočet koncentrácie MK v syre:

$$c_{\text{syr}} = \frac{m_{\text{MK}}}{m_{\text{syr}}} \quad (3.8)$$

$c_{\text{syr}}$	[ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ]
$m_{\text{syr}}$	navážka vzorky syra [g]

Výpočet koncentrácie MK v tuku:

$$c_{\text{tuk}} = \frac{m_{\text{MK}}}{m_{\text{tuk}}} \quad (3.9)$$

$c_{\text{tuk}}$	[ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ]
$m_{\text{tuk}}$	hmotnosť vyextrahovaného tuku zo vzorky [g]

Tabuľka 8 Štandardy MeMK použité pre identifikáciu a kvantifikáciu

	MeMK	$T_R$ (min)	$c$ (mg·ml <sup>-1</sup> )	$A$ (mV·s)	$Mr_{MeMK}$	$Mr_{MK}$
C4:0	maslová	4,37	0,1	3073915	102,133	88,106
C6:0	kapronová	5,67	0,1	3472798	130,187	116,16
C8:0	kaprylová	6,85	0,1	3196676	158,241	144,214
C10:0	kaprinová	8,00	0,1	3395017	186,295	172,268
C12:0	laurová	9,35	0,1	2873110	214,349	200,322
C14:0	myristová	11,12	0,1	1225992	242,403	228,376
C16:0	palmitová	13,57	0,4	3730560	270,457	256,43
C18:0	stearová	16,83	0,3	2179371	298,511	284,484
C18:1	olejová	17,30	4,5	33592447	296,495	282,468
C18:2	linolová	18,20	1,5	11131918	294,479	280,452
C18:3n3	linolénová	19,74	0,3	2163208	292,463	278,436
C20:0	arachidová	21,31	0,3	1923943	326,565	312,538
C22:0	behenová	28,76	0,3	1722493	354,619	340,592
C22:1	eruková	29,83	2	12034470	352,603	338,576
C24:0	lignocerová	41,26	0,3	806041	382,673	368,646

*MeMK, MK – vid' zoznam použitých skratiek,  $T_R$  – retenčný čas;  $c$  – koncentrácia;  $A$  – plocha píku;  $Mr$  – molárna hmotnosť(g·mol<sup>-1</sup>)*

### 3.3.3.5 Podmienky stanovenia MeMK

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest S.p.A., Taliansko)
- Autosamplér AI/AS 3000
- Kapilárna kolóna DB-WAX (30 m × 0,32 mm × 0,5 µm)
- Termostat – teplotný program
  - 50 °C, 1 minúta
  - Vzostupný gradient 25 °C·min<sup>-1</sup> do 200 °C so zdržaním 0 minút
  - Vzostupný gradient 3 °C·min<sup>-1</sup> do 230 °C so zdržaním 30 minút
  - Celková doba analýzy: 47 minút
- Inlet
  - Teplota injektora: 250 °C
  - Splitless: 1 minúta
  - Dávkovanie: autosamplér bez deliča toku (1 µl)
- Nosný plyn
  - Prietok dusíka: 1 ml·min<sup>-1</sup>
- FID detektor
  - Teplota detektoru: 250 °C
  - Prietok vzduchu: 360 ml·min<sup>-1</sup>
  - Prietok vodíka: 35 ml·min<sup>-1</sup>
  - Make-up dusíka: 30 ml·min<sup>-1</sup>

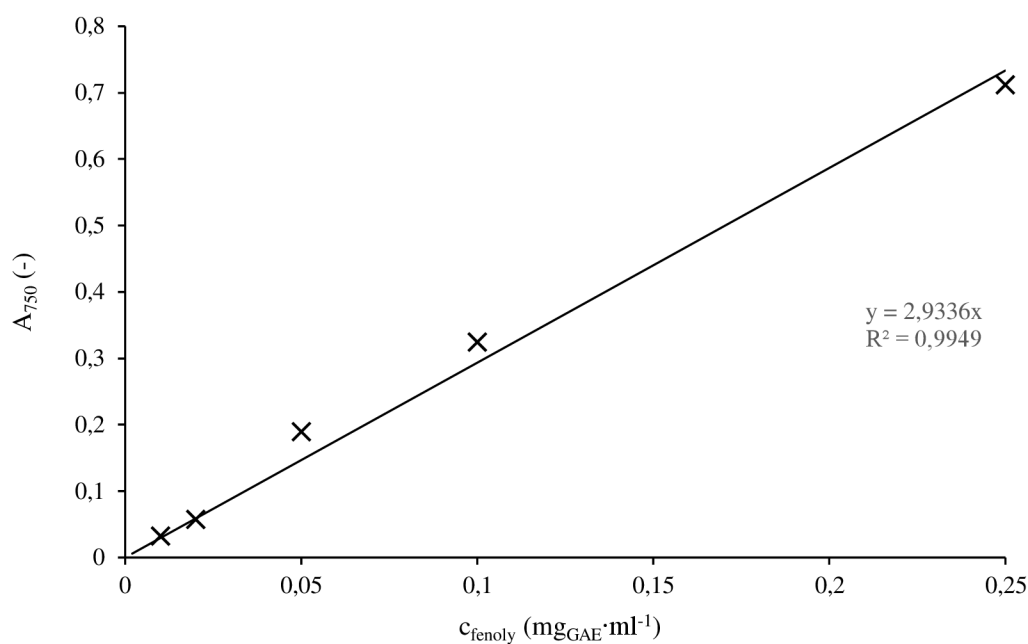
### 3.3.4 Spektrofotometrické stanovenie celkového obsahu fenolických látok

Celkový obsah fenolických látok bol stanovený spektrofotometricky Folin-Ciocalteovou (F-C) metódou. Najskôr bol pripravený pracovný roztok F-C činidla zriedením vodou v pomere 1:9 a nasýtený roztok  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zmiešaním zhruba 7,5 g v 95 ml destilovanej vody.

Do skúmaviek bolo pridaných 100  $\mu\text{l}$  vodného extraktu, 1 ml destilovanej vody a 1 ml zriedeného F-C činidla. Po premiešaní sa nechali vzorky 5 minút stáť. Následne bol pridaný 1 ml roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a po premiešaní boli vzorky umiestnené na tmavé miesto po dobu 30 minút. Paralelne bol namiešaná aj slepá vzorka, pričom namiesto extraktu bola napipetovaná destilovaná voda. Po tejto dobe bola zmeraná absorbancia pri vlnovej dĺžke  $\lambda = 750 \text{ nm}$  proti slepej vzorke.

#### 3.3.4.1 Príprava kalibračnej krivky

Pre zostrojenie kalibračnej krivky kyseliny gallovej boli pripravené roztoky o koncentrácii 0,01 – 0,25  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Výsledky boli vyjadrené ako ekvivalent GAE (Gallic Acid Equivalent), tj. mg kyseliny gallovej na 1 g vzorky.



### 3.3.5 Spektrofotometrické stanovenie antioxidačnej aktivity

Antioxidačná aktivita bola stanovená metódou TEAC. Najskôr bol pripravený roztok  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  o koncentrácii  $7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  rozpustením ABTS vo vode a následne bolo pridaných 2,45 ml  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . Takto pripravený roztok bol ponechaný aspoň 12 hodín v tme a ďalej bol uchovaný v chladničke.

Pred meraním bol roztok  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  nariadený 60% etanolom na absorbanciu  $A = 0,7 \pm 0,02$ . Meranie prebiehalo pri vlnovej dĺžke  $\lambda = 734 \text{ nm}$  proti etanolu. Do zúženej kyvety bol napipetovaný 1 ml nariadeného roztoku ABTS a 10  $\mu\text{l}$  destilovanej vody a bola zmeraná absorbancia ( $A_0$ ). Do ďalšej kyvety bolo pridaných k upravenému roztoku  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  10  $\mu\text{l}$



vzorky a bol sledovaný pokles absorbancie v danom časovom intervale ( $A_1 = 10$  min). Vzorky boli počas merania vždy uchovávané v temne.

Výsledná absorbancia bola vypočítaná pomocou vzorca:

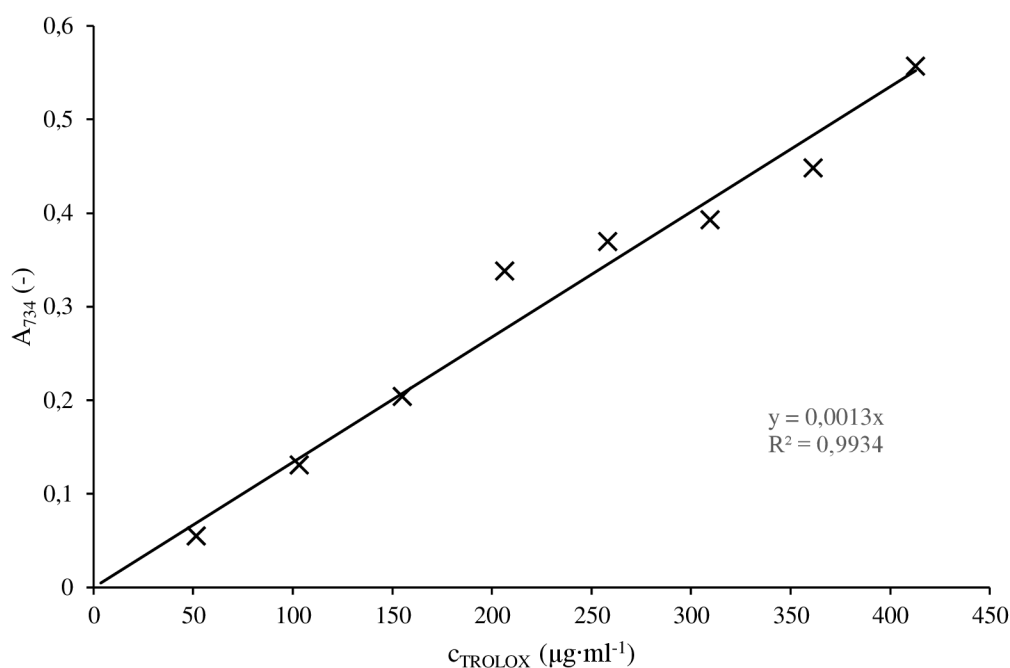
$$A = A_0 - A_1 \quad (3.10)$$

Výpočet percenta zhášania radikálu:

$$\text{zhášanie radikálu (\%)} = 100 \cdot \frac{A_0 - A_1}{A_0} \quad (3.11)$$

### 3.3.5.1 Príprava kalibračnej krivky

Použitá bola kalibračná krivka Troloxu v rozmedzí koncentrácií  $50 - 400 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Štandard Troloxu bol rozpustený v 60 % etanole a bola nameraná kalibračná závislosť absorbancie na koncentracii. Výsledky boli vyjadrené ako ekvivalentné množstvo Troloxu, TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) vzťahnutého na hmotnosť syra. ( $\mu\text{g}_{\text{TEAC}}\cdot\text{g}^{-1}$  syra).



### 3.3.6 Senzorická analýza

Senzorická analýza prebehla jednorazovo so všetkými pripravenými typmi čerstvých syrov. Použité boli rovnaké vzorky ako pre analytické stanovenie, tak aj pre senzorickú analýzu. Panel hodnotiteľov sa skladal zo skúsených študentov doktorského štúdia a študentov 5. ročníka Fakulty chemickej VUT. Počet hodnotiteľov činil 10 osôb. K hodnoteniu bola použitá kategorová stupnica (9 stupňová, 1 najnižší stupeň, 9 najvyšší stupeň) a poradový test.

Senzorická analýza sa skladala z hodnotenia pomocou stupníc, profilového testu a poradovej skúšky. Prijemnosť farby, vône a chute (flavouru) bola hodnotená podľa 9 stupňovej grafickej kategorovej stupnice (neprijateľný → vynikajúci).

V profilovom teste bola hodnotená intenzita vybraných deskriptorov chute: bylinková a príp. iná, ktorá mala byť popísaná; použitá stupnica obdobná, grafická kategorová (nepoznatelná → veľmi silná).

V poradovom teste mali hodnotitelia zoradiť vzorky podľa celkovej prijateľnosti.

Senzorický dotazník je uvedený v Prílohe 1.

### 3.3.7 Štatistické vyhodnotenie výsledkov

Namerané dáta boli spracované a vyhodnotené pomocou programu Excel (Microsoft 365) a softwaru Statistica 13.3. Všetky analýzy boli uskutočnené na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Výsledky senzorickej analýzy boli vyjadrené ako medián dátového setu všetkých hodnotiteľov ( $n = 10$ ) a interkvartilový rozsah ( $IQR = Q_3 - Q_1$ ) v tvare medián(IQR). Pre štatistické hodnotenie bola použitá neparametrická štatistika (všetky dátové sety nespĺňali kritérium normálne rozložených dát) – Kruskal-Wallisov test. Pomocou Grubbsovho testu boli nájdené odľahlé hodnoty a tieto boli z dátového setu vylúčené.

Prchavé látky boli identifikované pomocou programu Xcalibur 2.2 (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) porovnaním hmotnostných spektier s knižnicou spektier. Obsah identifikovaných zlúčenín bol vyjadrený semikvantitatívne použitím plôch príslušných pík v chromatograme. Výsledky sú prezentované formou tabuľky a stĺpcových grafov. Vzorka bola vždy analyzovaná dvakrát ( $n = 2$ ; z každého typu čerstvého syra boli pripravené dva kusy, z ktorých bola pripravená jedna vzorka). Priemerný retenčný čas u vzoriek bol vypočítaný ako aritmetický priemer retenčného času zlúčeniny v jednotlivých analýzach ( $T_R$ ). Obsah jednotlivých druhov zložiek bol porovnaný pomocou testu ANOVA (analýza rozptylu), jednotlivé rozdiely boli zistené pomocou Tukey HSD testu, vyhotovený bol stromový diagram (klastrová analýza) za použitia Wardovej metódy a Euklidovských vzdialeností. Taktiež bola uskutočnená analýza PCA (analýza hlavných komponent).

U stanovení mastných kyselín boli výsledky vyjadrené v tvare  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  syra  $\pm$  smerodajná odchýlka. Každá vzorka bola analyzovaná zvlášť pre stanovenie všetkých a voľných MK. Meranie bolo uskutočnené vždy dvakrát ( $n = 2$ ; z každého typu čerstvého syra boli pripravené dva kusy, z ktorých bola pripravená jedna vzorka). Obsah vybraných MK bol vyjadrený aj graficky v tvare stĺpcového grafu. Tuk v sušine bol vyjadrený v tvare  $\% \text{ TVS} \pm$  smerodajná odchýlka. Obsah jednotlivých druhov zložiek bol porovnaný pomocou testu ANOVA (analýza rozptylu), jednotlivé rozdiely medzi vzorkami boli zistené pomocou Tukey HSD testu. Pre grafickú názornosť bol zhotovený stĺpcový graf.

Celkový obsah fenolických látok a antioxidačná aktivita boli vyjadrené ako aritmetický priemer meraní ( $n = 6$ ; z každého typu čerstvého syra boli pripravené dva kusy, z ktorých boli pripravené extrakty, ktoré boli merané trikrát)  $\pm$  smerodajná odchýlka. Dáta boli štatisticky porovnané pomocou testu ANOVA, jednotlivé rozdiely boli zistené pomocou Tukey HSD testu. Či celkový obsah fenolických látok a antioxidačná aktivita spolu súvisia bolo zistené pomocou korelačnej analýzy podľa Pearsona.

## **4 VÝSLEDKY A DISKUSIA**

Táto práca je pilotná časť rozsiahlej štúdie, ktorá sa bude zaoberať výrobou a charakterizáciou modelových vzoriek čerstvých syrov (výrobný proces popísaný v kapitole 3.2.1) s prídavkom extraktov bylín a prípadne iných prírodných materiálov s cieľom získať senzorycky atraktívny produkt so s zvýšenou nutričnou hodnotou.

Cieľom tejto práce bolo overiť postup výroby kyslo zrážaného čerstvého syra v laboratórnych podmienkach; do vyrobených syrov bol aplikovaný, z pôvodne plánovaných, extrakt rýmovníka a echinacey. Pomocou vybraných metód, overených a optimalizovaných na analýzu čerstvých syrov, bol posúdený antioxidačný potenciál, profil prchavých látok, mastných kyselín, a celková sensorická kvalita vyrobených vzoriek (použité metódy sú popísané v kapitole 3.3). Hlavným zámerom bolo zistiť, či prídavok extraktov bude mať vplyv na uvedené parametre.

### **4.1 Prchavé (aromatické) látky vo vzorkách čerstvých syrov**

V nasledujúcich statiach bude popísaná identifikácia látok a porovnanie jednotlivých vzoriek s prídavkom rastlinných extraktov.

#### **4.1.1 Identifikované prchavé (aromatické) látky vo vzorkách**

Spolu vo všetkých vzorkách bolo identifikovaných 59 prchavých zlúčenín vyznačujúcich sa špecifickou arómou. Vzhľadom k miernym odchýlkam v retenčných časoch ( $T_R$ ) látok v rôznych vzorkách bol výsledným  $T_R$  priemer zo všetkých vzoriek ( $n = 6$ ). Prítomnosť a ich obsah boli vyjadrené ako relatívny obsah  $\pm$  smerodajná odchýlka. Všetky identifikované látky vo vzorkách sa nachádzajú v Tabuľke 9. V Tabuľke 9 je taktiež k identifikovaným látkam priradená ich špecifická aróma, získaná z literatúry.

Všetky identifikované látky boli rozdelené do skupín a to v počte 8 alkoholov, 7 aldehydov, 8 ketónov, 6 kyselín, 9 esterov, 1 aromatický uhl'ovodík, 8 terpénových uhl'ovodíkov, 3 terpénové alkoholy, 1 terpénový aldehyd, 1 terpénový ketón, 1 terpénový éter, 2 furány, 2 laktóny, 2 sírne zlúčeniny.

Tabuľka 9 Prehľad a relatívny obsah (%) prchavých látok vo vzorkách čerstvých syrov

Názov zlučiny	Aróma/referencia	Tr (min)	ST (%)	R (%)	E (%)
izovaleraldehyd	aldehydová, ovocná <sup>a</sup>	5,55	-	2,15* ± 3,04	-
kamfén	drevená, gáfrova <sup>a</sup>	7,86	0,24* ± 0,34	-	-
hexanál	zelená <sup>bef</sup>	8,65	1,53 ± 0,08	0,85 ± 0,16	1,34 ± 1,10
heptán-2-ón	zatuchlá, sladká <sup>be</sup>	12,56	11,86 ± 0,60	22,99 ± 0,65	12,40 ± 2,60
5-metylhexán-2-ón	ovocná <sup>c</sup>	12,78	0,29* ± 0,41	-	-
eukalyptol	bylinková, mäťová <sup>a</sup>	13,30	-	-	0,11* ± 0,15
2-pentylfurán	ovocná, zelená <sup>a</sup>	14,46	-	0,03* ± 0,05	0,09 ± 0,05
etylhexanoát	ovocná <sup>b</sup>	14,64	0,53 ± 0,00	0,02* ± 0,03	0,10* ± 0,14
γ-terpinén	drevená, citrusová <sup>a</sup>	14,92	-	-	0,07* ± 0,10
pentán-1-ol	sladká, chlebová <sup>aef</sup>	15,47	-	0,45 ± 0,17	0,25 ± 0,01
p-menta-1,3,8-trién	gáfrova, drevená <sup>a</sup>	16,07	-	-	0,03* ± 0,05
p-cymén	bylinková, citrusová <sup>bg</sup>	16,08	-	-	0,05* ± 0,08
oktán-2-ón	zelená, ovocná <sup>b</sup>	16,87	-	0,22 ± 0,01	0,19 ± 0,04
oktanál	tučná, zelená <sup>b</sup>	17,08	1,32 ± 0,06	0,58 ± 0,02	0,67 ± 0,00
acetoín	kyslé mlieko <sup>be</sup>	17,15	-	0,07* ± 0,10	-
okt-3-ylacetát	bylinková, drevená <sup>a</sup>	18,99	-	-	1,25 ± 0,17
6-metylhept-5-én-2-ón	citrusová <sup>a</sup>	19,23	0,70 ± 0,11	0,22 ± 0,03	0,54 ± 0,49
dimetyltrisulfid	vôňa vyzretého syra <sup>d</sup>	20,93	-	0,39 ± 0,23	0,06* ± 0,09
nonan-2-ón	ovocná, zelená <sup>aef</sup>	21,35	3,24 ± 0,03	4,00 ± 1,19	3,72 ± 1,24
nonanál	zelená tučná <sup>be</sup>	21,56	5,99 ± 0,04	1,41 ± 0,91	2,27 ± 1,68
etyloktanoát	ovocná, kvetinová <sup>b</sup>	23,21	1,05 ± 0,02	0,23 ± 0,13	0,31* ± 0,43
linalooloxid	kvetinová, zelená <sup>a</sup>	23,53	-	0,16* ± 0,23	-
okt-1-én-3-ol	zemitá, plesňová <sup>ahi</sup>	23,95	-	1,43 ± 0,70	-
kyselina octová	octovo kyslá <sup>b</sup>	24,45	49,31 ± 0,25	51,70 ± 1,82	51,11 ± 19,91
2-etylhexán-1-ol	citrusová, čerstvá <sup>a</sup>	25,63	1,75 ± 0,04	-	0,37* ± 0,52
dekanál	zelená <sup>b</sup>	25,95	1,02 ± 0,09	1,11 ± 0,45	1,17 ± 0,67
kamfor	gáfrova <sup>agj</sup>	26,50	-	0,15 ± 0,01	15,23* ± 21,54
benzylaldehyd	mandľová <sup>bf</sup>	27,42	0,86 ± 0,04	0,46 ± 0,03	0,64 ± 0,13
linalool	kvetinová, citrusová <sup>a</sup>	28,33	-	-	0,05* ± 0,07
etylenglykol diacetát	zelená <sup>a</sup>	28,64	2,54 ± 0,06	0,04* ± 0,05	0,06* ± 0,09

*Tr* – retenčný čas; *ST* – štandard (bez prídavku); *R* – vzorka s prídavkom extraktu z rýmovníka; *E* – vzorka s prídavkom extraktu z echinacey; *Aróma* – <sup>a</sup>) [67], <sup>b</sup>) [68], <sup>c</sup>) [69], <sup>d</sup>) [70]; Referencie na články – <sup>e</sup>) [19], <sup>f</sup>) [22], <sup>g</sup>) [40], <sup>h</sup>) [23], <sup>i</sup>) [27], <sup>j</sup>) [26], <sup>k</sup>) [39], <sup>l</sup>) [28], <sup>m</sup>) [21], <sup>n</sup>) [20]; \* látka bola identifikovaná len v 1 vzorke

Tabuľka 9 Prehľad a relatívny obsah (%) prchavých látok vo vzorkách čerstvých syrov (pokračovanie)

Názov zlúčeniny	Aróma/referencia	Tr (min)	ST (%)	R (%)	E (%)
oktán-1-ol	vosková <sup>a</sup>	28,85	-	0,17 ± 0,05	0,12* ± 0,17
bornylacetát	bylinková, gáľrová <sup>ak</sup>	29,80	-	-	0,16* ± 0,22
β-karyofylén	klinčeky <sup>chijl</sup>	30,58	-	0,22* ± 0,32	-
metyldekanoát	fermentovaná <sup>af</sup>	31,06	0,44 ± 0,04	-	0,10* ± 0,13
undekán-2-ón	ovocná, kvetinová <sup>b</sup>	31,24	0,71 ± 0,07	0,80 ± 0,13	0,69 ± 0,24
etyldekanoát	ovocná <sup>b</sup>	34,07	0,43 ± 0,04	0,10* ± 0,14	0,14* ± 0,19
kyselina maslová	syrová, skazená <sup>bef</sup>	34,49	1,23 ± 0,02	0,81 ± 0,16	0,68 ± 0,18
α-humulén	drevená <sup>ai</sup>	35,65	-	0,25* ± 0,35	-
(E)-β-farnesén	drevená, citrusová <sup>a</sup>	36,19	-	3,26 ± 3,23	0,19* ± 0,27
endo-borneol	drevená, gáľrová <sup>ag</sup>	38,64	-	-	0,20* ± 0,29
α-murolén	drevená <sup>a</sup>	39,98	0,13* ± 0,19	-	-
δ-kadinén	bylinková <sup>a</sup>	41,49	0,18* ± 0,26	-	-
tridekán-2-ón	tučná, mliečna <sup>am</sup>	45,02	0,14 ± 0,19	0,20 ± 0,05	0,23 ± 0,06
geraniol	kvetinová, sladká <sup>a</sup>	47,17	-	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,03
hyselina hexánová	ostrá-kozia <sup>be</sup>	47,47	5,45 ± 0,01	2,16 ± 0,04	2,25 ± 0,52
benzylalkohol	kvetinová, ružová <sup>a</sup>	48,54	0,58 ± 0,03	0,08* ± 0,12	0,26 ± 0,11
dimetylsulfón	pripálená <sup>be</sup>	49,67	0,90 ± 0,04	0,40 ± 0,01	0,48 ± 0,13
fenyletylalkohol	čerstvá, ružová <sup>af</sup>	49,95	0,51 ± 0,04	0,11 ± 0,00	0,17 ± 0,03
δ-oktalaktón	ovocná, broskyňová <sup>b</sup>	51,97	-	0,07* ± 0,10	-
kyselina heptánová	syrová, kozia <sup>bf</sup>	52,08	0,17* ± 0,24	-	-
dodekán-1-ol	vosková, mydlová <sup>a</sup>	52,15	-	0,35* ± 0,49	0,40* ± 0,57
undekán-1-ol	vosková <sup>a</sup>	52,20	0,59 ± 0,01	0,16* ± 0,23	0,10* ± 0,15
hexylcinnamal	bylinková, kvetinová <sup>a</sup>	54,14	-	0,14* ± 0,20	-
ylangenal		55,81	-	0,11 ± 0,03	-
kyselina oktánová	zatuchlá, tučná <sup>bem</sup>	55,93	4,17 ± 0,16	0,82 ± 0,11	1,10 ± 0,23
kyselina nonánová	vosková, mliečna <sup>af</sup>	59,58	0,81 ± 0,08	-	-
metyloktadekanoát	olejová, vosková <sup>a</sup>	59,90	-	0,13* ± 0,18	-
δ-dekalaktón	sladká, broskyňová <sup>bn</sup>	60,10	0,67 ± 0,01	0,39 ± 0,03	0,27 ± 0,04
etylhexadekanoát	ovocná, melónová <sup>b</sup>	61,75	0,64 ± 0,03	0,35 ± 0,16	0,13 ± 0,06

*Tr* – retenčný čas; *ST* – štandard (bez prídavku); *R* – vzorka s prídavkom extraktu z rýmovníka; *E* – vzorka s prídavkom extraktu z echinacey; *Aróma* – <sup>a</sup>) [67], <sup>b</sup>) [68], <sup>c</sup>) [69], <sup>d</sup>) [70]; *Referencie na články* – <sup>e</sup>) [19], <sup>f</sup>) [22], <sup>g</sup>) [40], <sup>h</sup>) [23], <sup>i</sup>) [27], <sup>j</sup>) [26], <sup>k</sup>) [39], <sup>l</sup>) [28], <sup>m</sup>) [21], <sup>n</sup>) [20]; \* látka bola identifikovaná len v 1 vzorke

V oboch syroch s prídavkom extraktu (R, E) bolo identifikovaných zhodne 43 prchavých aromatických látok, vo vzorke štandardu to bolo 33. Reprezentatívne chromatogramy sa nachádzajú v prílohe (Príloha 2 – 4).

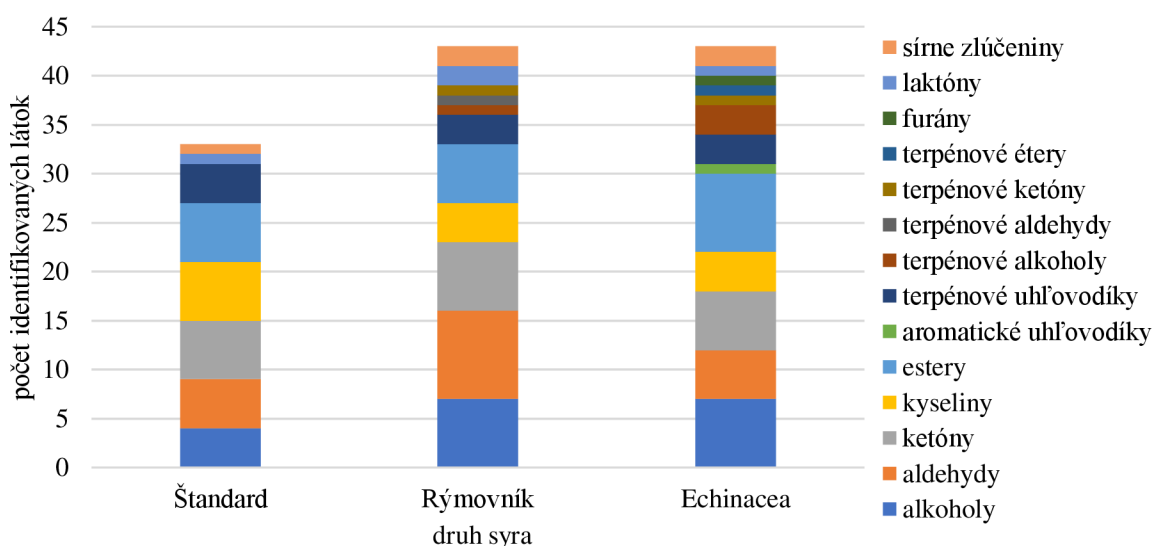
V syroch E bolo konkrétne identifikovaných 7 alkoholov, 5 aldehydov, 6 ketónov, 4 kyseliny, 8 esterov, 1 aromatický uhľovodík, 3 terpénové uhľovodíky, 3 terpénové alkoholy, 1

terpénový ketón, 1 terpénový éter, 1 furán, 1 laktón, 2 sírne zlúčeniny. Identifikované látky ktoré sa nachádzali v tejto vzorke a nenachádzali sa vo vzorke ST boli eukalyptol,  $\gamma$ -terpinén, p-menta-1,3,8-trién, p-cymén, okt-3-ylacetát, kamfor, linalool, oktán-1-ol, bornylacetát, (E)- $\beta$ -farnesén, endo-borneol, geraniol, dodekán-1-ol.

U syrov R to bolo 7 alkoholov, 9 aldehydov, 7 ketónov, 4 kyseliny, 6 esterov, 3 terpénové uhl'ovodíky, 1 terpénový alkohol, 1 terpénový aldehyd, 1 terpénový ketón, 2 laktóny a 2 sírne zlúčeniny. V porovnaní so syrmi ST obsahovali vzorky R navyše izovaleraldehyd, 2-pentylfurán, pentán-1-ol, oktán-2-ón, acetoín, dimetyltrisulfid, linalooloxid, okt-1-én-3-ol, kamfor, oktán-1-ol,  $\beta$ -karyofylén,  $\alpha$ -humulén, (E)- $\beta$ -farnesén, geraniol,  $\delta$ -oktálaktón, dodekán-1-ol, hexylcinnamal, ylangenal, metyloktadekanoát.

V syroch bez prídavku extraktu (ST) boli identifikované 4 alkoholy, 5 aldehydov, 6 ketónov, 6 kyselín, 6 esterov, 4 terpénové uhl'ovodíky, 1 laktón a 1 sírna zlúčenina. Grafické znázornenie a porovnanie počtu skupín v jednotlivých vzorkách sa nachádza v Grafe 1.

Vo všetkých druhoch syrov bol identifikovaný fenyl-metoxi-oxim, ktorý sa nevyznačuje špecifickou arómou, ale patrí medzi prchavé látky, pričom Dursun a kol. [71] popisujú prítomnosť tejto látky v UHT mlieku balenom v tetra-pakových obaloch.



Graf 1 Porovnanie počtu identifikovaných látok vo vzorkách syrov

Ylangenal bol identifikovaný vo vzorke syra vyrobeného s prídavkom extraktu z rýmovníka. Tejto látke nie je síce priradovaná žiadna aróma, ale je súčasťou mnoho esenciálnych olejov aromatických a medicínálnych rastlín. Príkladom sú listy a kvety *Lavandula stoechas* (španielska levanduľa) [72].

Z Grafu 1 zrejme, že počet prchavých aromatických látok v syroch s extraktmi (R, E) je podľa nášho predpokladu vyšší v porovnaní so štandardným syrom. Taktiež bolo možné očakávať vysoké zastúpenie kyseliny octovej, keďže na zrazenie kazeínov bol využitý ocot. Vo všetkých vzorkách tvorí kyselina octová najväčšie relatívne množstvo zo všetkých identifikovaných prchavých aromatických látok (Tabuľka 9).

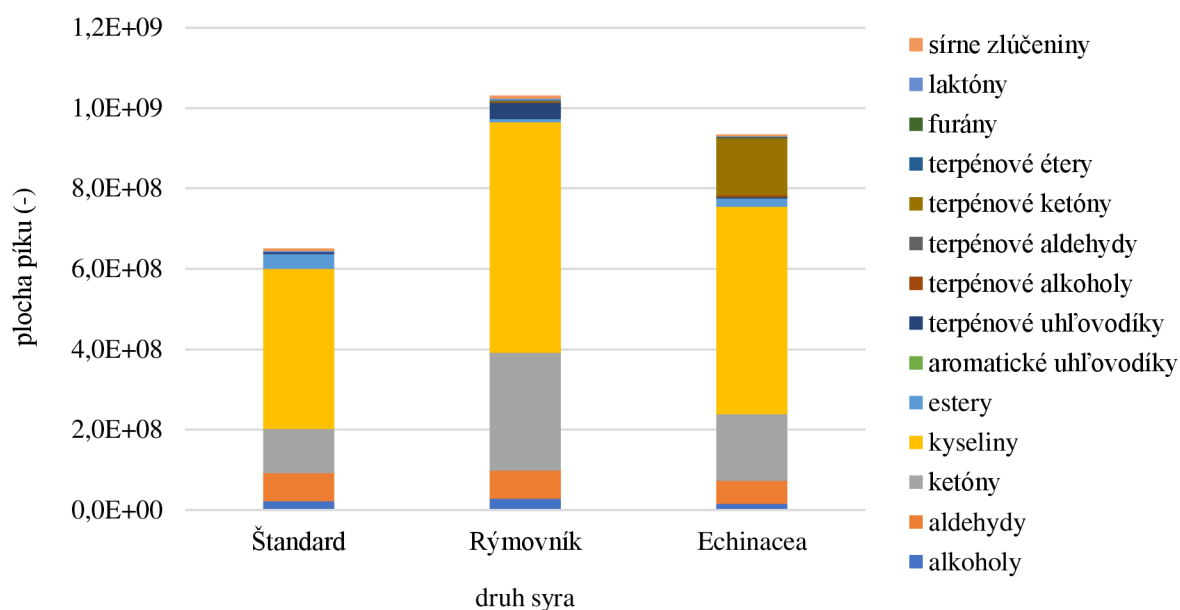
Taktiež bolo možné predpokladať, že vysoký obsah látok budú tvoriť prchavé aromatické látky odpovedajúce mlieku alebo čerstvému syru, pričom bol tento fakt potvrdený na základe Tabuľky 9.

Vo vzorke ST boli najviac zastúpené kyselina octová (49,31 %), heptán-2-ón (11,86 %), nonanál (5,99 %), kyselina hexánová (5,45 %), kyselina oktánová (4,17 %), nonan-2-ón (3,24 %), 2-etylhexan-1-ol (1,75 %), hexanál (1,53 %), oktanál (1,32 %) kyselina maslová (1,23 %), ktoré sú typické látky nachádzajúce sa v čerstvých syroch [19][21]. Identifikované boli aj terpenoidy: kamfén,  $\alpha$ -muurolén a  $\delta$ -kadinén ktoré sa môžu prirodzene nachádzať v čerstvom mlieku z krmiva dojnic [73].

Najvyšší relatívny obsah z prchavých aromatických látok vo vzorke R mali kyselina octová (51,70 %), heptán-2-ón (22,99 %), nonan-2-ón (4,00 %), (E)- $\beta$ -farnesén (3,26 %), kyselina hexánová (2,16 %), izovaleraldehyd (2,15 %), okt-1-én-3-ol (1,43 %), dekanál (1,11 %). Medzi látky typické pre rýmovník boli okt-1-én-3-ol (1,43 %), kamfor (0,15 %),  $\beta$ -karyofylén (0,22 %),  $\alpha$ -humulén (0,25 %) (popísané v kapitole 2.2.1.1) pričom ale tvorili veľmi nízky relatívny obsah celkových prchavých aromatických látok. Medzi identifikované terpenoidy ktoré nie sú typické pre rýmovník patrili linalooloxid, (E)- $\beta$ -farnesén, geraniol. Nízky relatívny obsah mohol byť spôsobený viacerými faktormi : stratou aromatických látok pri odparovaní rozpúšťadla pomocou rotačnej vákuovej odparky, stratou aromatických látok pri aplikovaní rastlinného extraktu do ešte rozohriatej syroviny, vytečením extraktu spolu so srvátkou pri stláčaní syroviny vo forme a všeobecne nižším prídavkom extraktu rýmovníka (1,5 %).

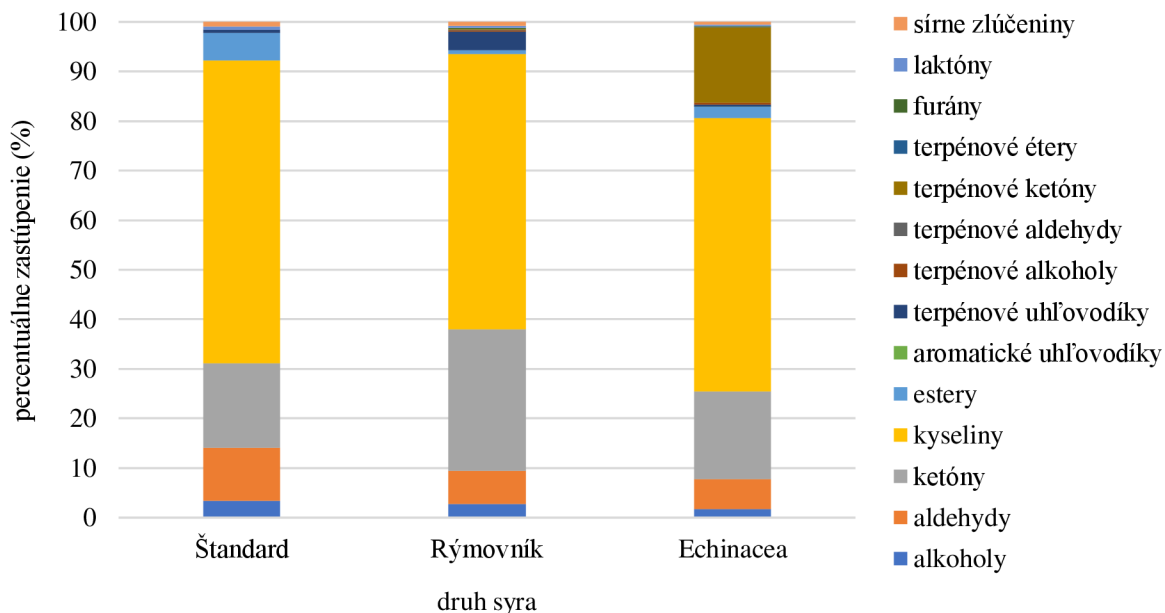
Vzorka E obsahovala s najvyšším relatívnym obsahom opäť kyselinu octovú (51,11 %), kamfor (15,23 %), heptán-2-ón (12,40 %), nonan-2-ón (3,72 %), nonanál (2,27 %), kyselinu hexánovú (2,25 %), hexanál (1,34 %), okt-3-ylacetát (1,25 %), kyselinu oktánovú (1,10 %). Medzi látky typické pre echinaceu patrili kamfor (15,23 %), endo-borneol (0,20 %), bornylacetát (0,16 %) ktoré sa všetky vyznačujú gáfrovou, drevenou a bylinkovou arómou (takouto arómou sa vyznačuje aj identifikovaný p-menta-1,3,8-trién). Medzi ostatné terpenoidy ktoré nie sú typické pre echinaceu patrili eukalyptol,  $\gamma$ -terpinén, linalool, (E)- $\beta$ -farnesén, geraniol.

Zo sírnych zlúčenín bol dimetyltrisulfid identifikovaný v oboch druhoch syrov s prídavkom extraktov, dimetylsulfón bol identifikovaný vo všetkých druhoch syrov. Prítomnosť týchto sírnych zlúčenín sa pripisuje UHT mlieku, kedy ihneď po produkcii má tento typ mlieka sírovú chuť a arómu spôsobenú vysokým zahrevom, pričom v procese skladovania sa obsah sírnych zlúčenín znižuje a po niekoľkých dňoch sa varová chuť a aróma vytrácajú [74].



Graf 2 Porovnanie relatívneho obsahu identifikovaných látok vo vzorkách syrov

Z Grafu 2 je zrejmé, že obsah identifikovaných látok v syroch s extraktmi prevyšuje obsah aromatických látok v samotnom syre ST. Majoritné zastúpenie obsahovo tvorili kyseliny, ako už bolo spomenuté vďaka vysokému obsahu kyseliny octovej a ketóny, predovšetkým heptán-2-ón a nonán-2-ón, čo sú významné zložky arómy väčšiny druhov syrov. U syra E mali vysoké obsahové zastúpenie terpénové ketóny (kamfor). Percentuálne zobrazenie obsahu jednotlivých skupín sa nachádza v Grafe 3.



Graf 3 Percentuálne porovnanie obsahu druhov identifikovaných látok v daných druhoch syra



#### 4.1.2 Štatistické spracovanie dát pre aromatické látky

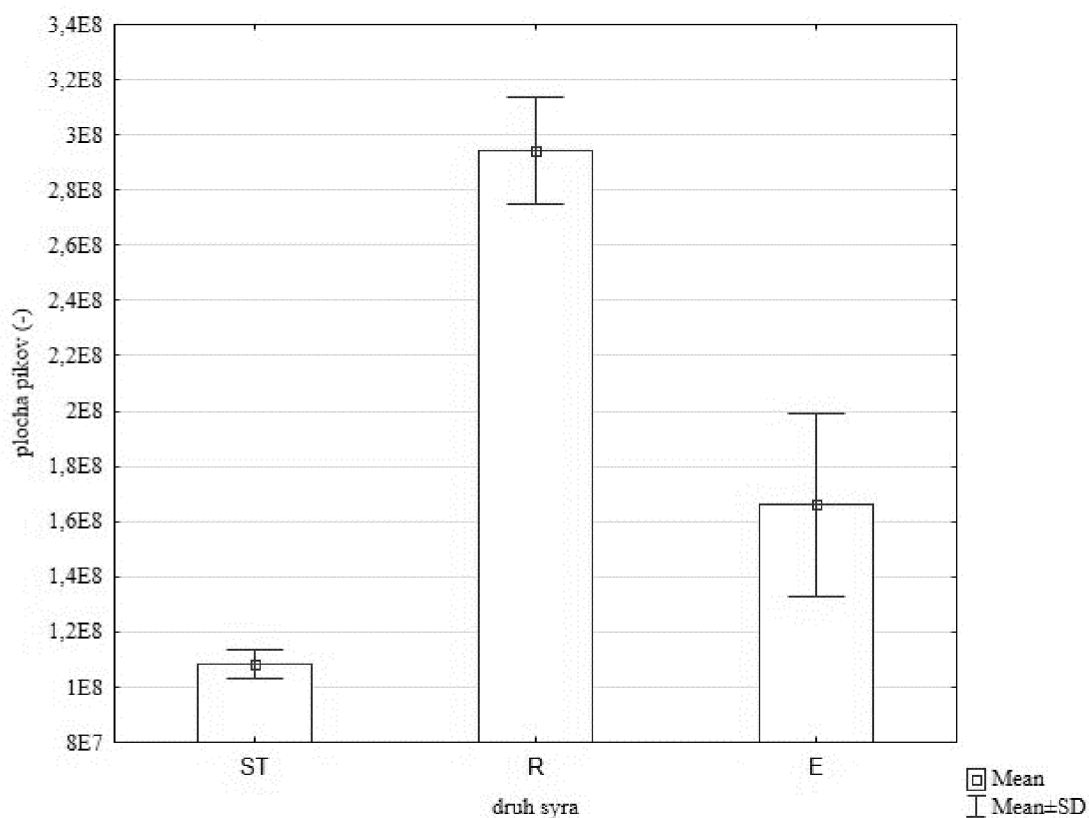
Použité štatistické metódy sú popísané v kapitole 3.3.7. Štatisticky sa druhy syrov líšili v obsahoch ketónov, terpénových aldehydov a laktónov (štatisticky významné rozdiely  $p < \alpha$ ).

Štatistické zosumarizovanie porovnania obsahu skupín v daných druhoch syra sa nachádza v Tabuľke 10 a Grafoch 4 – 6.

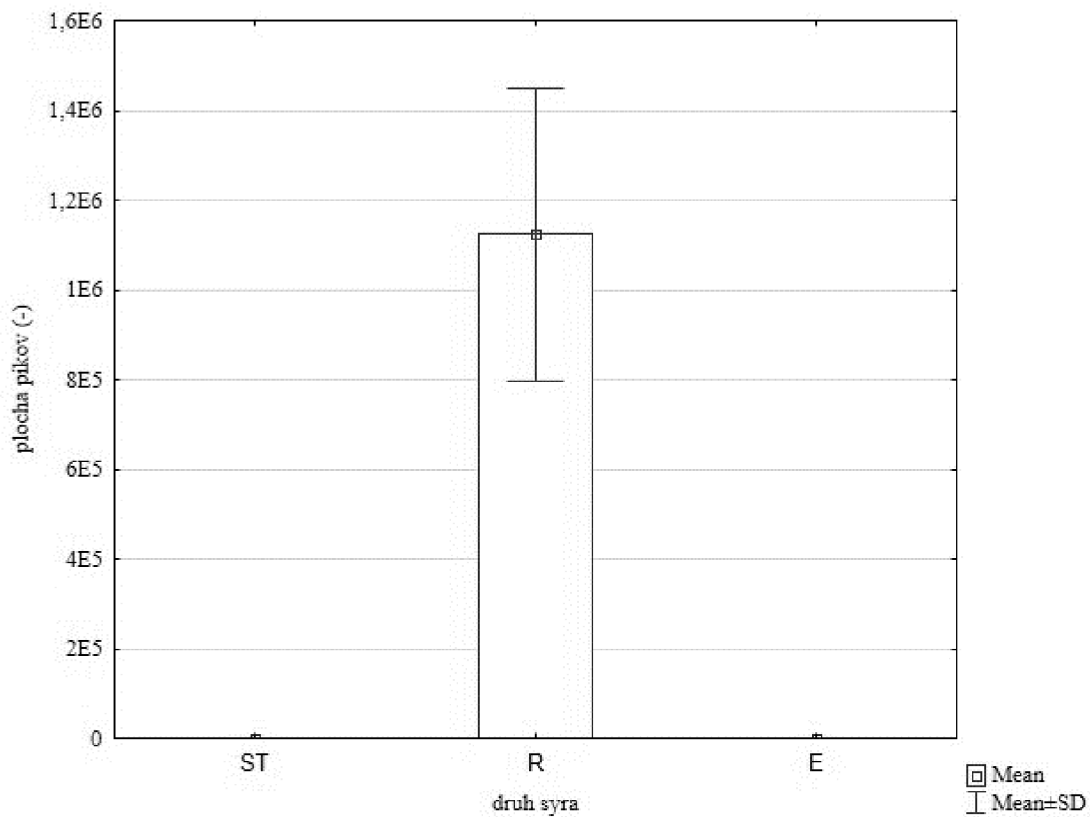
Tabuľka 10 Porovnanie skupín aromatických látok. Hodnoty označené iným písmenom (**a,b**) sa podľa Tukeyho HSD testu štatisticky významne líšia.

Druh syra	Obsah ketónov	Obsah terpénových aldehydov	Obsah laktónov
ST	$(10,83\mathbf{a} \pm 0,50) \cdot 10^7$	$0\mathbf{a} \pm 0$	$(43,26\mathbf{ab} \pm 0,97) \cdot 10^5$
R	$(29,41\mathbf{b} \pm 1,93) \cdot 10^7$	$(11,23\mathbf{b} \pm 3,27) \cdot 10^5$	$(47,67\mathbf{b} \pm 6,42) \cdot 10^5$
E	$(16,60\mathbf{a} \pm 3,33) \cdot 10^7$	$0\mathbf{a} \pm 0$	$(25,59\mathbf{a} \pm 3,48) \cdot 10^5$

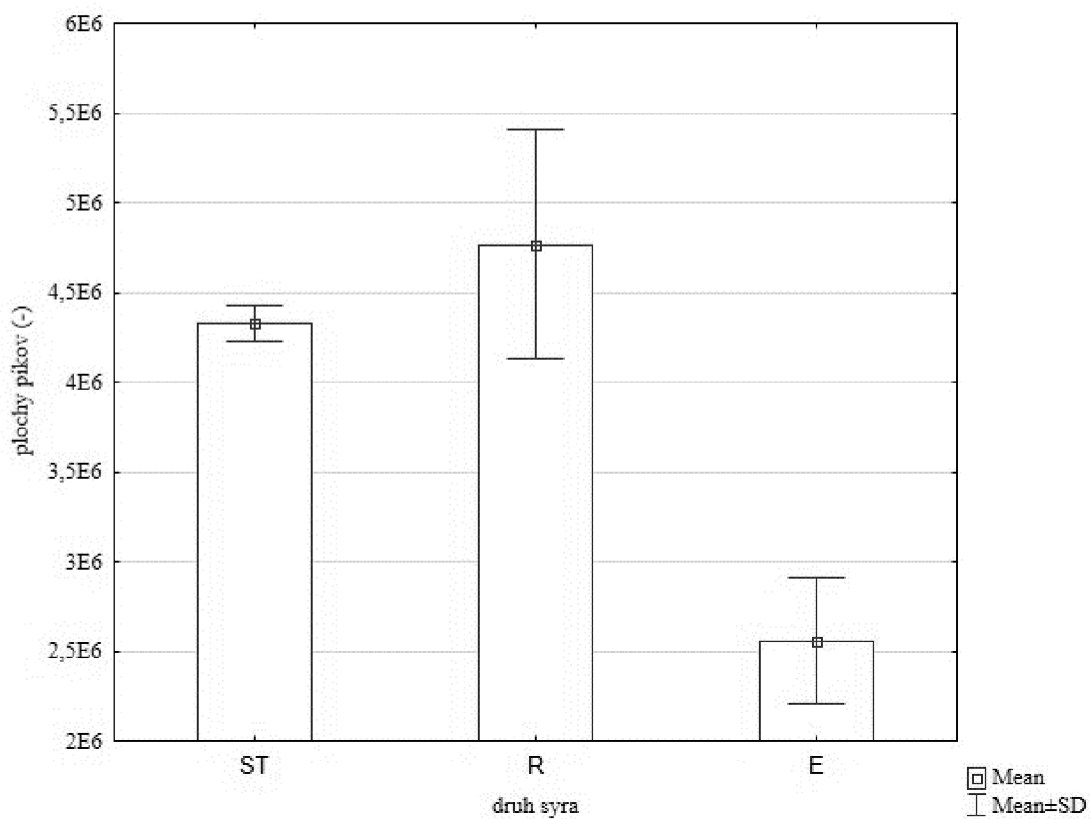
Obsahy daných skupín sú vyjadrené semikvantitatívne v tvare plochy píkov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2



Graf 4 Porovnanie obsahu ketónov v jednotlivých druhoch syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2



Graf 5 Porovnanie obsahu laktónov v jednotlivých druhoch syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2



Graf 6 Porovnanie obsahu laktónov v jednotlivých druhoch syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

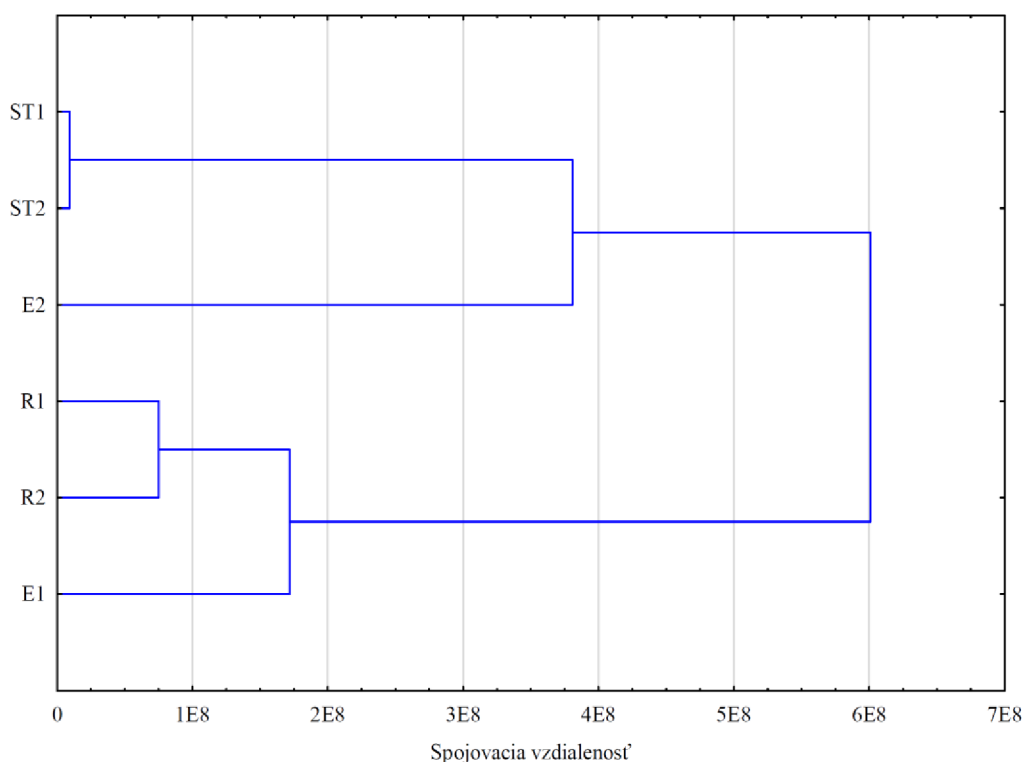
V obsahu ketónov sa štatisticky líšila od ostatných vzoriek vzorka R, grafické porovnanie sa nachádza v Grafe 4. Majoritnú zložku tvoril alifatický ketón heptán-2-ón (22,99 %), ktorý je zložkou hlavne silice škoricovej a badyánovej [75]. Heptán-2-ón je všeobecnou súčasťou syrov, ale taktiež sa môže nachádzať v plodoch klinčekov, papáje, alebo hrušky a v listoch mäty priepornej alebo čaju [67].

Vzorka R sa taktiež štatisticky líšila od ostatných vzoriek v obsahu terpénových aldehydov, grafické porovnanie v Grafe 5. Ylangenal ktorý je radený medzi terpénové aldehydy je prediskutovaný v predošlej kapitole (4.1.1).

V obsahu laktónov sa od seba štatisticky líšili vzorky R a E, grafické porovnanie sa nachádza v Grafe 6. V syre R bol identifikovaný nielen  $\delta$ -dekalaktón ako u ostatných vzoriek, ale aj  $\delta$ -oktalaktón.  $\delta$ -laktóny niektorých nižších a vyšších alifatických hydroxykyselín s priamym reťazcom sa výrazne uplatňujú ako zložky arómy ovocia a mliečnych výrobkov.  $\delta$ -dekalaktón sa vyznačuje arómou pripomínajúcu broskyňu, je zložkou arómy malín a kokosového orechu [75].  $\delta$ -oktalaktón sa vyskytuje v prírode v plodoch manga, broskyne ale prirodzene aj v smotane [67].

#### 4.1.2.1 Klastrová štatistická analýza – stromový diagram

Podmienky klastrovej analýzy sa nachádzajú v kapitole 3.3.7. K porovnaniu došlo na základe odlišností medzi obsahom skupín aromatických látok v jednotlivých vzorkách.



Graf 7 Stromový diagram pre dané vzorky syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

V Grafe 7, stromovom diagrame, sa utvorilo viacero klastrov a to klaster vzoriek typu ST, ktorý má veľmi malú spojovaciu vzdialenosť, čo vypovedá o celkovo malom rozdiel medzi dvoma vzorkami syrov bez prídavkov rastlinných extraktov (2 syry rovnakého druhu). Tento

fakt môže byť spôsobený tým, že v procese výroby nemusela byť syrovina premiešavaná kvôli aplikácii extraktu a bola v celom objeme homogénna. Keďže v procese výroby mohlo dôjsť k nedokonej homogenizácii extraktu pri aplikácii do syroviny, tento fakt mohol spôsobiť väčšie rozdiely medzi vzorkami.

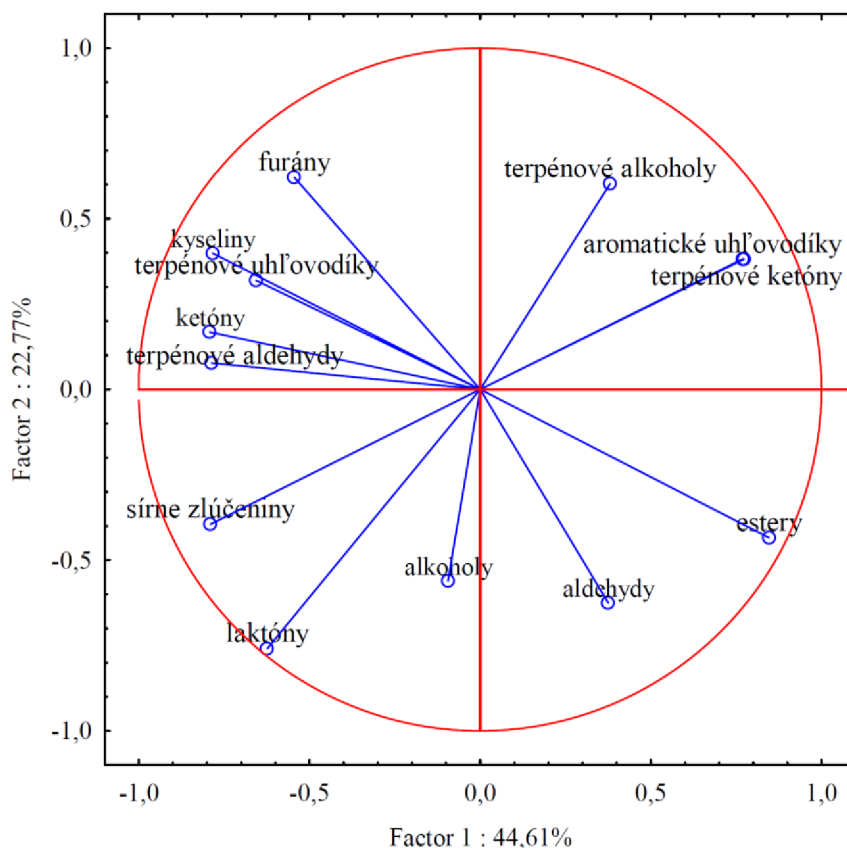
Druhý viditeľný klaster sa utvoril u vzoriek 2 syrov druhu R, ktorý potom prechádza do klastru s jedným zo vzoriek syra s extraktom z echinacey (E1). Vzorky E sa do klastra nezlučujú, čo je pravdepodobne zapríčinené horšou homogenitou oboch vzoriek, keďže sa bralo do úvahy, aby nedošlo k rozbitiu syroviny pred vloženíom do formy, kde bola syrovina stlačená.

V Grafe 7 je pozorovaný ďalší klaster a to oboch vzoriek druhu ST s jedným zo vzoriek syra s druhu E (E2), u ktorých je ale sledovaná veľká spojovacia vzdialenosť.

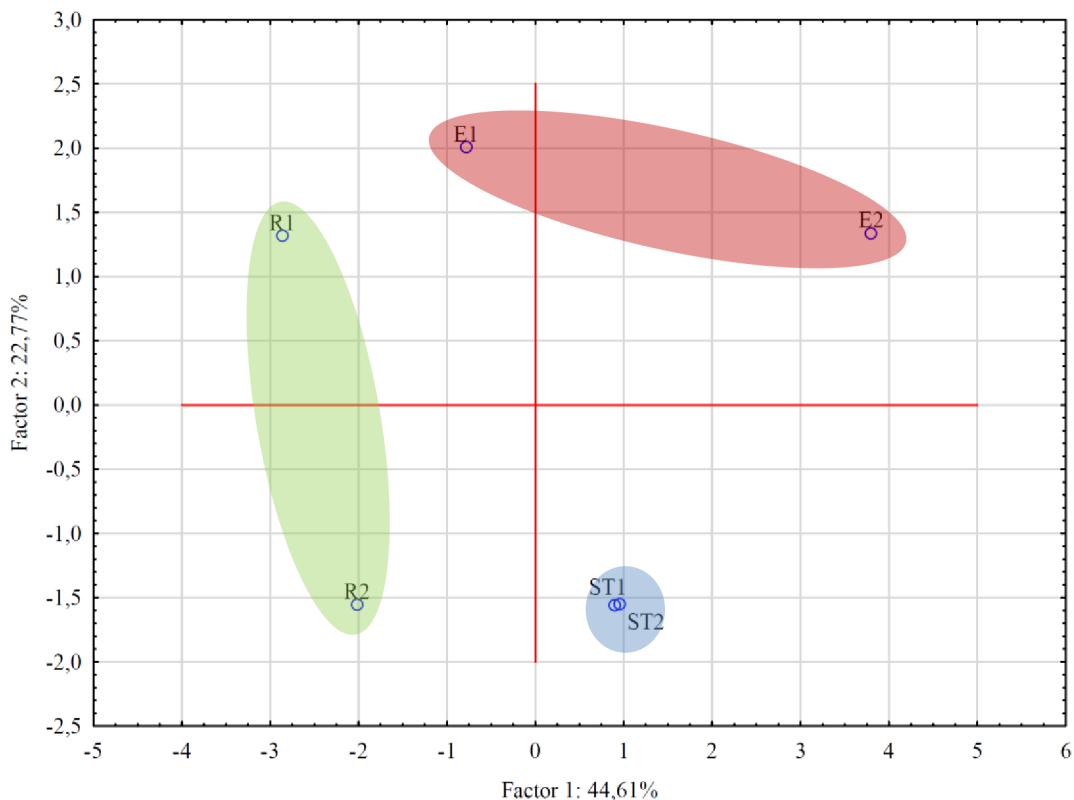
Klastrová analýza ukázala, že sa zhluky tvoria, či už u syra typu ST, alebo s prídavkom extraktu rýmovníka. Vzorky typu E síce zhluk netvoria, ale viditeľne sa líšia od štandardných vzoriek.

#### 4.1.2.2 Analýza hlavných komponentov – PCA

V rámci štatistického spracovania bola uskutočnená aj PCA analýza. Vstupnými premennými boli obsahy skupín aromatických látok všetkých analyzovaných vzoriek. Výstupom PCA je projekcia premenných (alkoholy, aldehydy, ...) na faktorovej rovine a projekcia pôvodných vzoriek na faktorovej rovine. Faktorová rovina je predstavená na ose x. Faktorom 1 (44,61 % variability) a na ose y Faktorom 2 (22,77 % variability). Prvé dva faktory vysvetľujú 67,8 % celkovej variability systému.



Graf 8 Projekcia premenných na faktorovej rovine F1 × F2



Graf 9 Projekcia pôvodných vzoriek na faktorovú rovinu  $F1 \times F2$ ; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Cieľom PCA analýzy bolo ukázať na faktorovej rovine ( $F1 \times F2$ ) korelácie medzi premennými, obsah daných skupín aromatických látok v pôvodných vzorkách a zhlukovanie pôvodných vzoriek.

Keďže ketóny, kyseliny, terpénové uhľovodíky, terpénové aldehydy a furány sa nachádzajú v druhom kvadrante projekcie (Graf 8), dá sa predpokladať že aj v daných vzorkách čerstvých syrov (ST, R, E) v druhom kvadrante (Graf 9) sa budú nachádzať vo vyššom počte. Taktiež sa dá predpokladať nižší obsah látok z daných skupín nachádzajúcich sa v opačnom kvadrante (štvrtý kvadrant) – aldehydy a estery. Takýto istý predpoklad sa dá usúdiť o prvom a treťom kvadrante, teda vzorky čerstvých syrov (ST, R, E), ktoré obsahujú vyšší obsah aromatických uhľovodíkov, terpénových alkoholov a terpénových ketónov budú obsahovať nižší obsah alkoholov, laktónov a sírnych zlúčenín.

Pre syry bez prídavku extraktu (ST) sú typické alkoholy, aldehydy, laktóny prípadne estery, pre vzorky s prídavkom extraktov sú to predovšetkým terpény a terpenoidy.

Z Grafu 9 je jednoznačne vidieť zhlukovanie vzoriek štandardu (štvrtý kvadrant), čo súvisí s jeho jednoduchšou štandardnou výrobou. Vzorky s prídavkom extraktu (R1 a R2; E1 a E2) sú od seba viac vzdialené, čo je, ako bolo zmienené, pravdepodobne spôsobené prídavkom extraktu a jeho obťažnou homogenizáciou v ceste syra.

Zaujímavá je blízkosť vzorky R1 a E1, čo naznačuje určitú podobnosť v ich zložení, toto ale vyvracia veľká vzdialenosť vzoriek R2 a E2. Tieto pozorovania sú podporované stromovým diagramom (klastrovou analýzou), Grafom 7.

## 4.2 Mastné kyseliny vo vzorkách čerstvých syrov

Identifikácia MK prebiehala na základe porovnania retenčných časov MeMK s príslušnými štandardmi a následná kvantifikácia bola uskutočnená porovnaním plôch píkovo so štandardmi so známou koncentráciou (Tabuľka 8). Metóda stanovenia MK je popísaná v kapitole 3.3.3. V jednotlivých vzorkách čerstvých syrov boli sledované viazané a voľné mastné kyseliny.

Vzhľadom k tomu, že sa jednalo o syry čerstvé (nezrejúce), analyzované prakticky ihneď po výrobe, dá sa predpokladať veľmi nízky obsah voľných MK.

Kvôli technickým problémom nebolo možné zmerať obsah viazaných a voľných MK vo vzorkách s prídavkami extraktov (R, E), ale vzhľadom k tomu, že prídavok extraktov pravdepodobne nemá výrazný vplyv na zmeny tuku, resp. MK v syroch, dá sa očakávať rovnaké zloženie MK vo všetkých vzorkách.

Obsah MK vo vzorke ST sa nachádza v Tabuľke 11, grafické znázornenie vid' Graf 10; reprezentatívny chromatogram vid' Príloha 5.

Tabuľka 11 Obsah viazaných a voľných MK identifikovaných vo vzorke ST

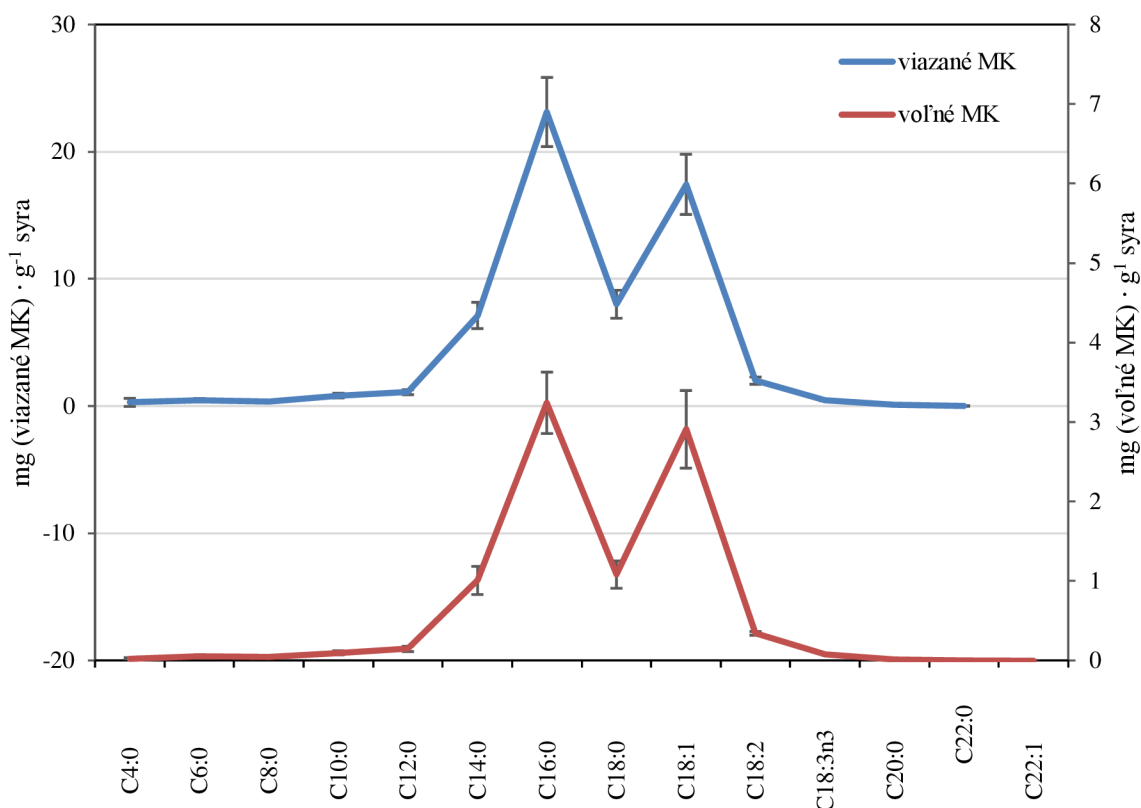
	Viazané MK		Voľné MK	
	mg·g <sup>-1</sup> syra	%	mg·g <sup>-1</sup> syra	%
C4:0	0,29 ± 0,32	0,48 ± 0,52	0,017 ± 0,018	0,19 ± 0,19
C6:0	0,47 ± 0,13	0,76 ± 0,20	0,055 ± 0,016	0,61 ± 0,18
C8:0	0,36 ± 0,09	0,58 ± 0,14	0,046 ± 0,016	0,51 ± 0,17
C10:0	0,83 ± 0,19	1,35 ± 0,31	0,097 ± 0,025	1,07 ± 0,28
C12:0	1,09 ± 0,20	1,78 ± 0,32	0,146 ± 0,034	1,61 ± 0,37
C14:0	7,13 ± 1,03	11,62 ± 1,69	1,007 ± 0,177	11,15 ± 1,96
C16:0	23,12 ± 2,72	37,71 ± 4,44	3,241 ± 0,386	35,90 ± 4,27
C18:0	8,01 ± 1,10	13,06 ± 1,80	1,080 ± 0,171	11,96 ± 1,90
C18:1	17,44 ± 2,36	28,44 ± 3,86	2,907 ± 0,488	32,20 ± 5,41
C18:2	2,00 ± 0,29	3,26 ± 0,47	0,340 ± 0,023	3,77 ± 0,25
C18:3n3	0,46 ± 0,04	0,75 ± 0,07	0,079 ± 0,002	0,88 ± 0,02
C20:0	0,12 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,013 ± 0,002	0,15 ± 0,02
C22:0	0,01* ± 0,02	0,02* ± 0,03	-	-
C22:1	-	-	(1,8 ± 0,5)·10 <sup>-4</sup>	(1,9 ± 0,5)·10 <sup>-3</sup>
C24:0	-	-	-	-

\* MK bola identifikovaná len v jednej vzorke; označenie mastných kyselín vid' Tabuľka 8

Kyseliny palmitová (viazané MK – 37,71 %; voľné MK – 35,90 %), olejová (viazané MK – 28,44 %; voľné MK – 32,20 %), stearová (viazané MK – 13,06 %; voľné MK – 11,96 %) a myristová (viazané MK – 11,62 %; voľné MK – 11,15 %) boli najviac zastúpené medzi voľnými aj viazanými MK. Kyselina lignocerová nebola identifikovaná ani vo viazaných ani vo voľných MK.

Nudda a kol. [16] sledovali obdobný trend v percentuálnom zložení (vid' Tabuľka 4): C16:0 – 22,40 %; C18:1 – 19,85 %; C18:0 – 11,04 %; C14:0 – 9,36 %. Výrazný rozdiel

mohol byť spôsobený použitím ovčieho mlieka na výrobu čerstvého syra. Obsah MK vzťahnutý na hmotnosť syra v ich práci nie je uvedený, preto sa tento obsah nedá porovnať. Seguel a kol. [17] taktiež uvádzajú len percentuálne porovnanie: C16:0 – 37,11 %; C18:1 – 21,1 %; C14:0 – 11,55 %; C18:0 – 8,98 %, u porovnaní s touto prácou mohol byť rozdiel spôsobený rozdielnym stravovaním dobytku (prídavok repy krmnej a olejnej do stravy).



Graf 10 Obsah mastných kyselín vo vzorke štandardného syra

#### 4.2.1 Stanovenie tuku v sušine vo vzorkách čerstvých syrov

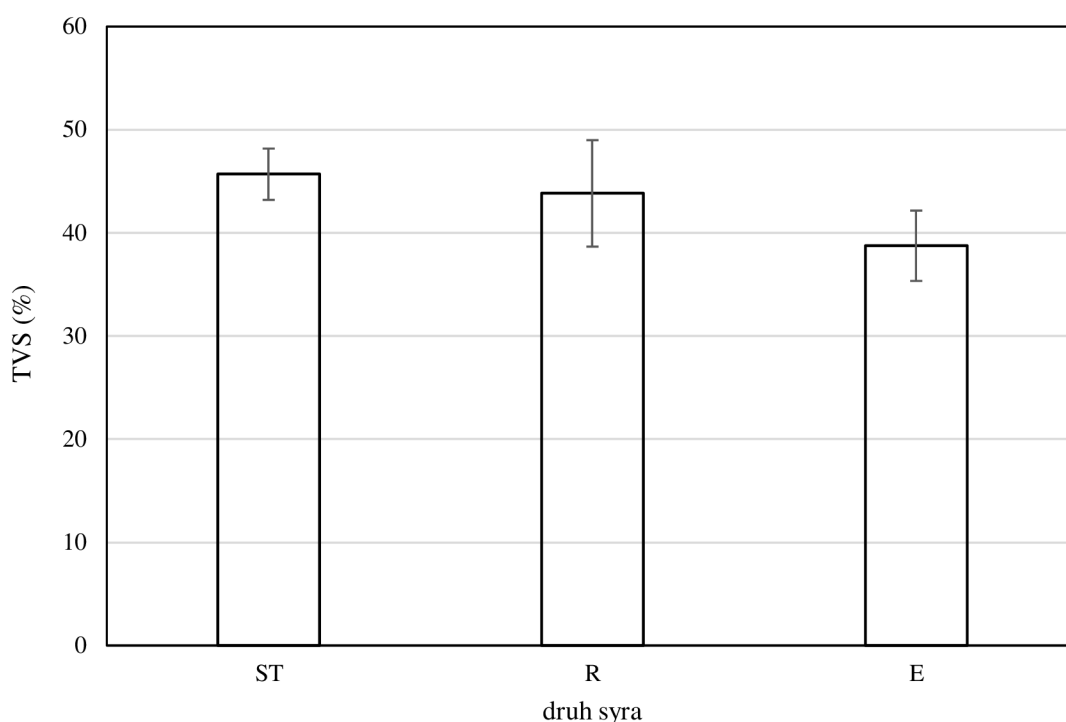
TVS bol vypočítaný pomocou rovníc 3.1 – 3.4. Grafické spracovanie sa nachádza v Grafe 11. Konkrétne hodnoty obsahu tuku v sušine, obsahu tuhu a obsahu sušiny sa nachádzajú v Tabuľke 12.

Podľa legislatívy (Vyhláška č. 274/2019 Sb.) vyrobené modelové vzorky sa dajú zaradiť do kategórie syrov polotučných (25 – 45 % TVS), aj keď u vzoriek ST toto rozmedzie mierne prekračuje.

Tabuľka 12 Obsah tuhu, sušiny a TVS vo vzorkách čerstvých syrov. Hodnoty označené iným písmenom (**a,b**) sa podľa Tukeyho HSD testu štatisticky významne líšia.

Druh syra	TVS (%)	$w_{tuk}$ (%)	$w_{sušina}$ (%)
ST	45,68 ± 2,48	19,48 <b>a</b> ± 0,52	42,65 <b>a</b> ± 1,19
R	43,83 ± 5,16	19,78 <b>a</b> ± 1,88	45,13 <b>a</b> ± 1,02
E	38,75 ± 3,41	16,52 <b>b</b> ± 1,00	43,24 <b>a</b> ± 0,90

$w_{tuk}$  – hmotnostný obsah tuku;  $w_{sušina}$  – hmotnostný obsah sušiny; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

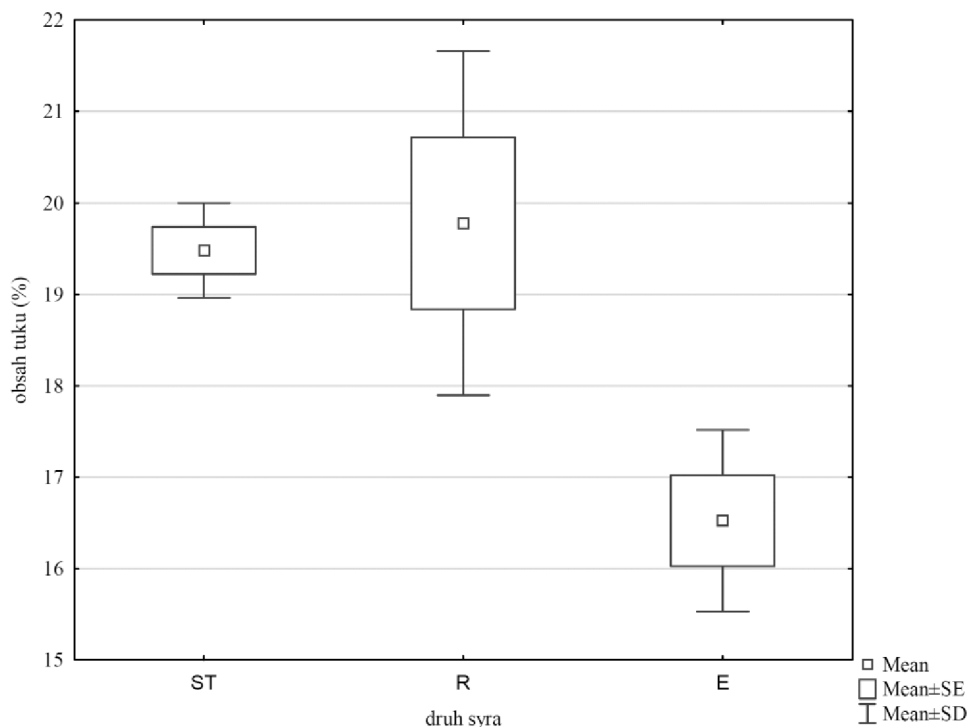


Graf 11 Obsah tuku v sušine v daných vzorkách syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Vzhľadom k tomu, že vzorky boli vyrobené z rovnakej suroviny rovnakým postupom, dá sa očakávať rovnaké zloženie. Avšak z Tabuľky 12 a Grafu 11 sú zrejme rozdiely medzi vzorkami, najvyšší TVS bol vo vzorke štandardného syra a najnižší vo vzorke E. Rozdiel v TVS je spôsobený rozdielnym obsahom tuhu vo vzorkách (štatisticky sa líšia, analýza rozptylu ANOVA  $p < \alpha$ ;  $p = 0,0097$ ), u vzory E bol štatisticky nižší (Tabuľka 12), pričom rozdiel v obsahu sušiny nebol štatisticky významný (analýza rozptylu ANOVA  $p > \alpha$ ;  $p = 0,0186$ ). Grafické znázornenie štatistického rozdielu sa nachádza v Grafe 12. Tento rozdiel sa však dá pripísať skôr neštandardnosti výroby, než pridanému extraktu.

V literatúre sa uvádza TVS v čerstvých syroch zrážaných kombináciou tepla a prídavkom kyseliny takto: plnotučná ricotta 46,4 %; čiastočne-odtučnená ricotta 31,4 %; ricottone 10,9 %; paneer z byvolieho mlieka 42,2 %; paneer z kravského mlieka 42,1 %; plnotučný paneer 50,9 %; nízkoťučný paneer 22,5 %; odtučnený paneer 0,01 % [2]. Porovnaním s týmito hodnotami je vidieť, že sa vyrobené vzorky najviac približujú tým syrom, ktoré boli vyrobené z mlieka s vysokým obsahom tuku. Tento fakt sa predpokladal, keďže mlieko použité na výrobu bolo mlieko plnotučné.





Graf 12 Obsah tuku v daných vzorkách; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

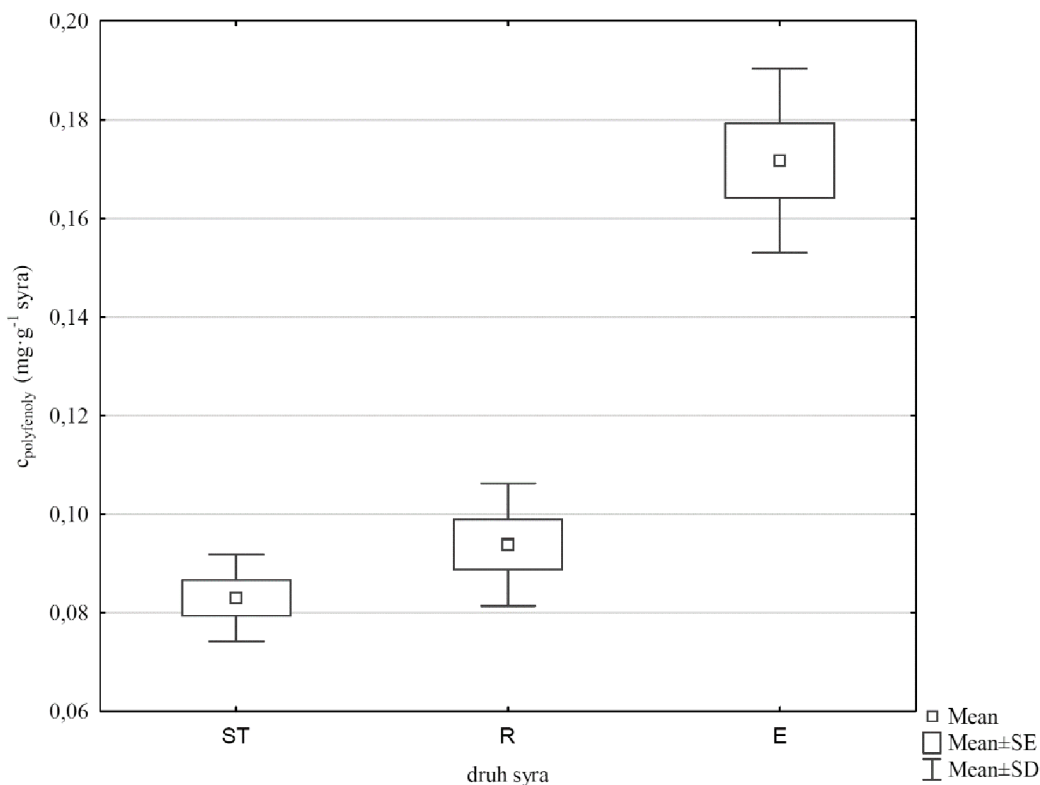
### 4.3 Stanovenie obsahu fenolických látok vo vzorkách čerstvých syrov

Na toto stanovenie bola využitá Folin-Ciocalteova metóda, pričom predpokladom bol vyšší obsah fenolických látok vo vzorkách s rastlinnými extraktmi. Z Tabuľky 13 vyplýva že štatisticky sa líši len vzorka syra E – významne vyšší obsah (analýza rozptylu ANOVA  $p < \alpha$ ;  $p < 0,0001$ ), s obsahom fenolických látok  $0,172 \pm 0,019 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  syra. Vzorky syrov typu ST a R sa štatisticky nelíšili, aj keď je vidieť malý prírastok fenolických látok vo vzorke syra s prídavkom extraktu rýmovníka. Grafické porovnanie sa nachádza v Grafe 13.

Tabuľka 13 Obsah fenolických látok vo vzorkách čerstvých syrov. Hodnoty označené iným písmenom (**a,b**) sa podľa Tukeyho HSD testu štatisticky významne líšia.

Druh syra	Cfenoly	Minimum	Maximum
	(mg <sub>GAE</sub> ·g <sup>-1</sup> syra)		
ST	0,083 <b>a</b> ± 0,008	0,069	0,092
R	0,094 <b>a</b> ± 0,012	0,084	0,117
E	0,172 <b>b</b> ± 0,019	0,148	0,193

Značenie vzoriek vid' kap. 3.2



Graf 13 Obsah fenolických látok vo vzorkách čerstvých syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Nižší obsah fenolických látok vo vzorke syra R mohol byť dôsledkom nižšieho prídavku extraktu do syroviny, 1,5 % hmotnosti, v porovnaní s prídavkom extraktu z echinacey, ktorej množstvo činilo 2 % hmotnosti.

Kyseliny cichorová, chorogénová a ferulová sú najčastejšie spomínané fenolické látky zodpovedné za antioxidačnú aktivitu u extraktov z echinacey. U čisto vodných extraktov je to kyselina kávová [37][41]. U extraktov rýmovníka sú to majoritne kyselina chlorogénová a kávová [23][29].

Qureshi a kol. [62] (upravená príprava extraktu podľa tejto práce) vo svojej práci namerali najvyšší obsah fenolických látok v syre paneer s prídavkom datlí typu Rabi o hodnote 0,191 mg<sub>GAE</sub>·g<sup>-1</sup> syra. V priebehu skladovania došlo k úbytku celkových fenolických látok. V našich vzorkách boli namerané hodnoty mierne nižšie, viac-menej vzorka E je s touto hodnotou zrovnateľná.

Literatúra sa nezmieňuje o samotnom obsahu fenolických látok v čerstvých syroch, tieto sa nachádzajú predovšetkým v rastlinných produktoch, ale v súčasnosti dochádza ku aplikácii fenolických látok do mliečnych produktov. Aj keď publikovaných prác na túto tému zatiaľ nie je mnoho, príkladom je aplikovanie extraktu zeleného čaju do syrov/jogurtov; aplikácia esenciálnych olejov rastlín vyznačujúcich sa vysokým obsahom fenolických látok (*Mintha spicata*); prídavok enkapsulovaných katechínov a epigallokatechínov; prídavok extraktu rozmarínu (forma voľná a mikroenkapsulovaná) do syra cottage cheese [76].

#### 4.4 Stanovenie antioxidačnej aktivity vo vzorkách čerstvých syrov

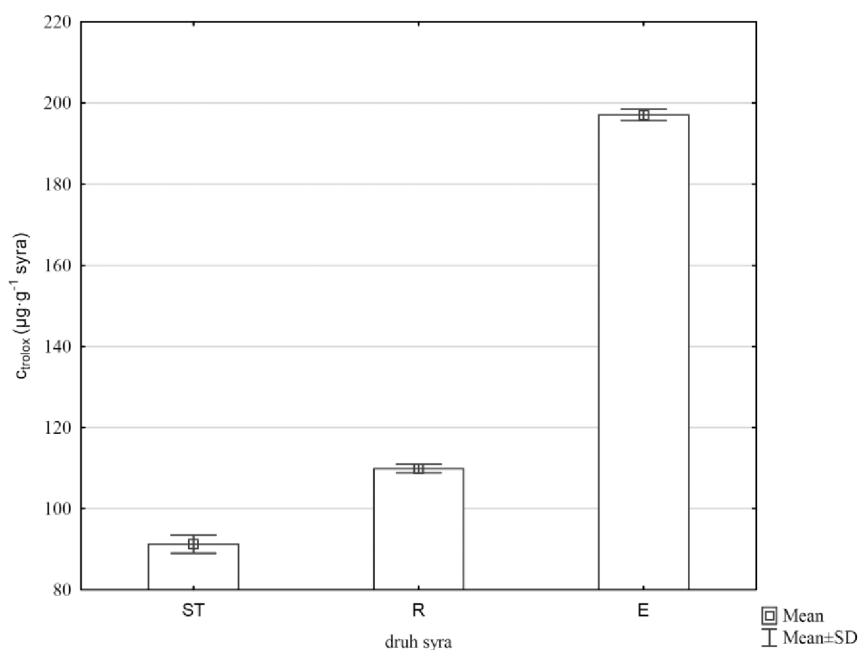
Na stanovenie antioxidačnej aktivity bola použitá metóda TEAC, ktorá je založená na zhášaní ABTS<sup>+</sup> radikál kationu. Podrobný popis tejto metódy je uvedený v kapitolách 2.5.2 a 3.3.5. Zo štatistického hľadiska sa všetky vzorky od seba líšia (analýza rozptylu ANOVA  $p < \alpha$ ;  $p < 0,0001$ ), čo bolo dokázané pomocou Tukey HSD testu. Najvyššiu antioxidačnú aktivitu vykazoval syr E ( $197,1 \pm 1,4 \mu\text{g}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$  syra), významne zvýšenou aktivitou aj vzorka R. Predpoklad, že antioxidačná aktivita vzoriek s prídavkami extraktov bude vyššia sa potvrdil. Výsledné hodnoty získané pomocou TEAC metódy sa nachádzajú v Tabuľke 14. Grafické znázornenie vo forme stĺpcového grafu sa nachádza v Grafe 14.

Tabuľka 14 Antioxidačná aktivita vzoriek čerstvých syrov. Hodnoty označené iným písmenom (**a,b,c**) sa podľa Tukeyho HSD testu štatisticky významne líšia.

Druh syra	Antioxidačná aktivita ( $\mu\text{g}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$ syra)	Minimum	Maximum	Zhášanie radikálu (%)
ST	91,2 <b>a</b> $\pm$ 2,2	88,8	93,7	8,63 $\pm$ 0,21
R	109,9 <b>b</b> $\pm$ 1,0	108,3	111,5	10,38 $\pm$ 0,10
E	197,1 <b>c</b> $\pm$ 1,4	195,5	198,6	18,63 $\pm$ 0,14

Značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Revilla a kol. [77] popisujú antioxidačnú aktivitu syrov, pričom zistili štatisticky významnú koreláciu medzi antioxidačnou aktivitou, obsahom retinolu ( $r = 0,399$ ), obsahom tuku ( $r = 0,309$ ), proteínov ( $r = 0,366$ ), draslíka ( $r = 0,385$ ), horčika ( $r = 0,312$ ), sodíka ( $r = 0,432$ ) a fosforu ( $r = 0,272$ ). Celková antioxidačná aktivita závisí od samotného procesu výroby a koreluje s obsahom vitamínov rozpustných v tukoch. Navyše TEAC závisí na dobe zrenia a súvisí s rýchlosťou tvorby rozpustných peptidov s antioxidačnou schopnosťou, ako postupuje proteolýza. Bohužiaľ porovnanie výsledkov sa našimi experimentami nie je možné, keďže práca používala iný spôsob prípravy extraktov zo syrov.



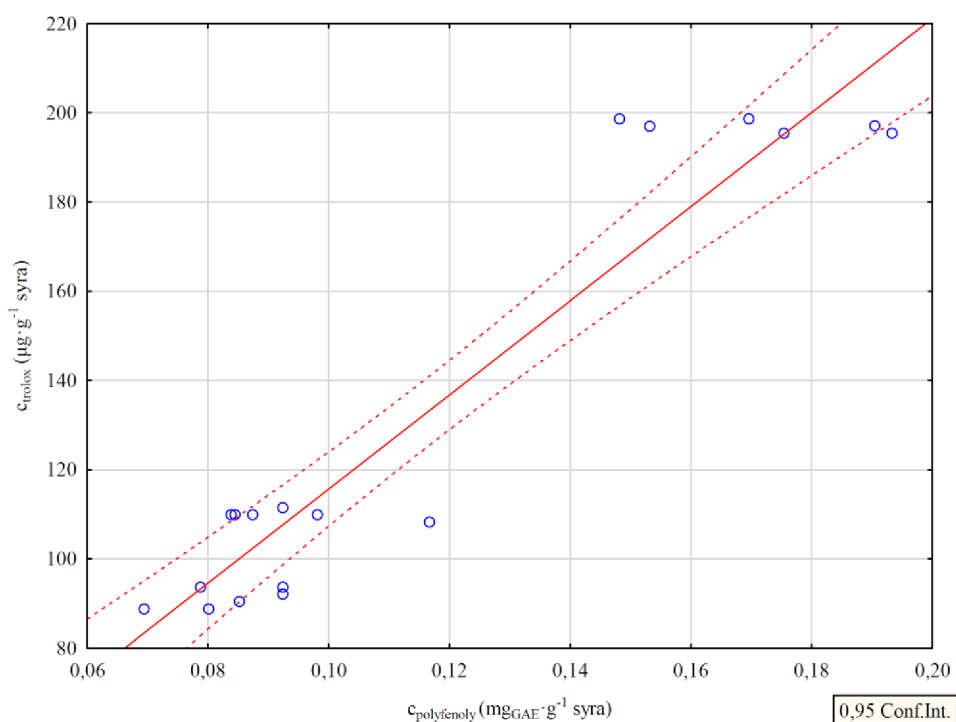
Graf 14 Porovnanie antioxidačnej aktivity daných vzoriek syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Na zvýšenie antioxidačnej aktivity syru typu cottage cheese použili Caleja a kol. [78] extrakt z rumančeka kamilkového (*Matricaria recutita*). Prídavok extraktu v syre výrazne neovplyvnil profil mastných kyselín, ale výrazne ovplyvnil antioxidačný potenciál nezávislý na dobe skladovania. Navyše došlo ku zvýšeniu skladovateľnosti. V ďalšej práci Caleja a kol. [79] použili na zvýšenie antioxidačnej aktivity extrakty feniklu (*Foeniculum vulgare*) a opäť rumančeka kamilkového, tentokrát vo forme ako voľnej tak mikroenkapsulovanej.

Iná literatúra uvádza prídavok antioxidantov – kyseliny askorbovej, glukózooxidázy, cysteínu a extraktu jabuticaby (*Plinia cauliflora*, brazílska vínna réva) do syra typu Petit-suisse, čerstvý nezrejúci syr ktorý je podobný textúrou jogurtom [80].

#### 4.4.1 Korelačná analýza

Medzi obsahom fenolických látok a antioxidačnou aktivitou bola zistená vysoká kladná korelácia (korelačná analýza podľa Pearsona,  $r = 0,948$ ). Tento fakt bol predpokladaný, keďže fenolické látky sa vyznačujú vychytávaním radikálov, a dajú sa preto považovať za najdôležitejšie látky s antioxidačnou aktivitou vo vzorkách. Grafické zobrazenie korelácie sa nachádza v Grafe 15.



Graf 15 Graf závislosti antioxidačnej aktivity na obsahu fenolických látok

K podobným výsledkom došli aj iné práce, zaoberajúce sa obdobnou tematikou. Lee a kol. [81] sledovali vo svojej práci antioxidačné vlastnosti syru typu čedar fortifikovaný extraktom z *Inula britannica* (oman britský). So zvyšovaním množstva extraktu sa zvyšoval aj celkový obsah fenolických látok, v priebehu skladovania však došlo k úbytku. Na určenie antioxidačnej aktivity použili vo svojej práci test DPPH a zistili, že sa antioxidačná aktivita proporcionálne zvyšovala s obsahom fenolických látok ( $r = 0,927$ ).

V práci Quereshi a kol. [62] sledovali obsah fenolických látok a taktiež uskutočnili DPPH test. Z výsledkov je vidieť, že v priebehu skladovania sa znižujúcim sa obsahom fenolických látok znižuje aj ekvivalentné množstvo troloxu (antioxidačná aktivita).

#### 4.5 Senzorická analýza vzoriek čerstvých syrov

Hlavným cieľom sensorického hodnotenia bolo popísať sensorickú kvalitu vzoriek so zámerom predovšetkým na chuť a vôňu a posúdiť, či bude prídavok extraktov do syra sensoricky zreteľný.

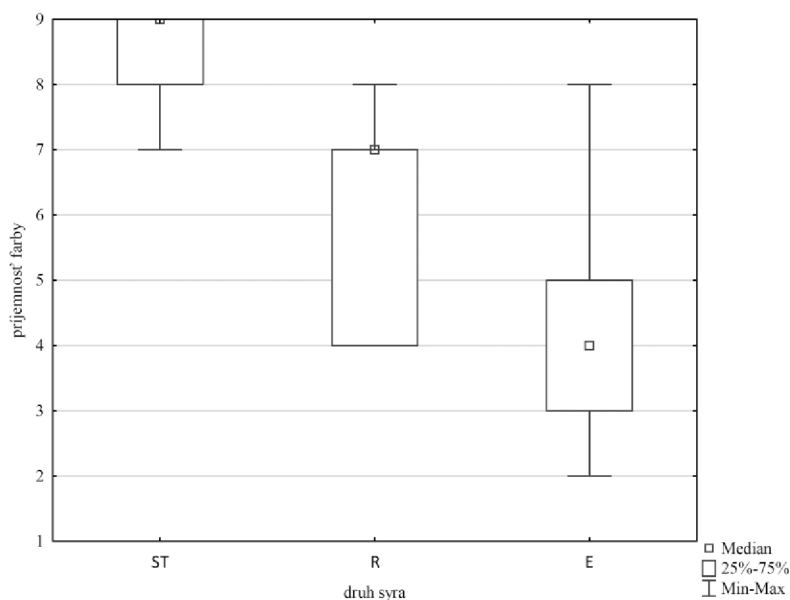
Panel hodnotiteľov sa skladal z 10 členov, z ktorého 5 tvorili muži a 5 ženy. Sledované kritériá sa nachádzajú v kapitole 3.3.6. Pre hodnotenie boli použité kategorové stupnice, v dôsledku toho boli dáta nenormálne rozložené a bola preto použitá neparametrická štatistika, aby nedošlo ku skresleniu dát. Výsledky sensorickej analýzy sa nachádzajú v Tabuľke 15 v tvare medián(IQR).

Tabuľka 15 Porovnanie sledovaných vlastností daných vzoriek syra

Druh syra	Príjemnosť farby	Príjemnosť vône	Príjemnosť chuti	Intenzita bylinkovej chuti
ST	9(1)	7(3)	7,5(2)	3(3)
R	7(3)	6(3)	7(2)	3(1)
E	4(2)	7(0)	6(3)	7(1)

Značenie vzoriek vid' kap. 3.2

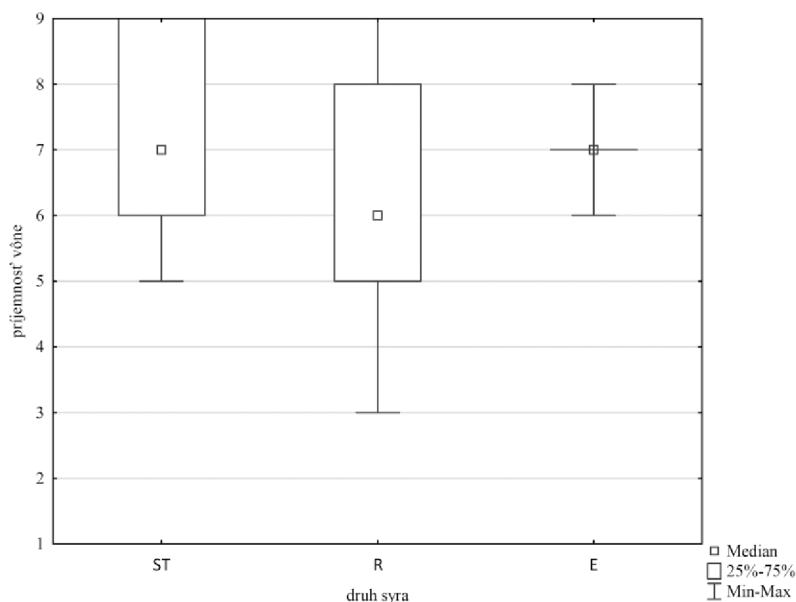
Z výsledkov je zrejmé, že prídavok extraktov mal na vnímanie farby syrov negatívny vplyv, pre bežného spotrebiteľa bola farba týchto vzoriek nezvyklá (vid' Obrázok 3). Z hľadiska príjemnosti farby dosiahol syr ST najvyššie skóre a syr E najnižšie. Hodnotitelia popisovali vzorky ST ako biele, krémové, bez stopy nažltlosti, v porovnaní s typom R sa táto nažltlosť/nahnedlosť vyskytovala, ako aj u syra E, ktorej farba bola popisovaná aj ako oriešková (Obrázok 3). Táto deviácia od štandardu sa prejavila v celkovej príjemnosti farby. Hodnotitelia taktiež poukázali že hnedosť vzorky E pôsobí skazene. Taktiež je vo vzorkách syrov s extraktmi popisovaná nehomogénna farba (Obrázok 3).



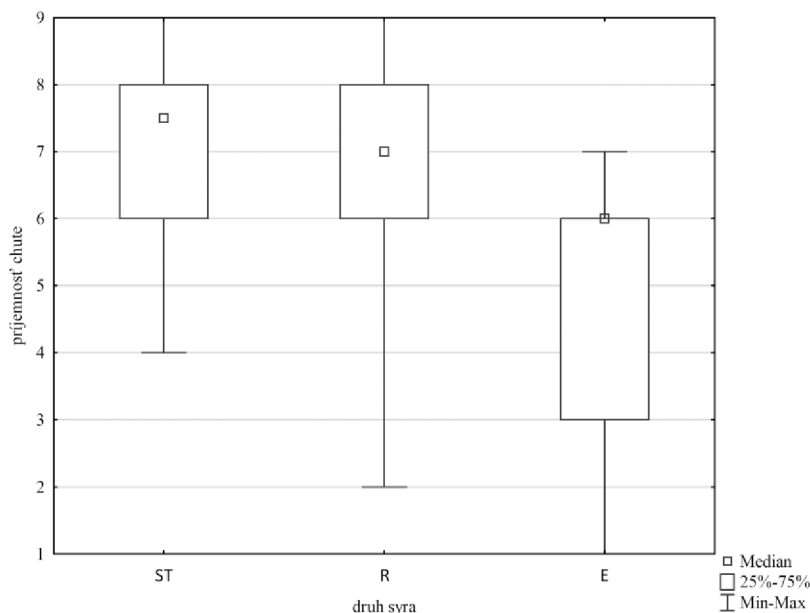
Graf 16 Porovnanie príjemnosti farby v daných druhoch syrov; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Zo štatistického hľadiska sa podľa Kruskal-Wallisovho testu v príjemnosti farby štatisticky líšili od seba syry typu ST a R ( $p = 0,0230$ ), ST a E ( $p < 0,0001$ ), vzorky typu R a E sa od seba štatisticky neodlišovali. Grafické porovnanie sa nachádza v Grafe 16.

Navzdory očakávania mal prídavok extraktov skôr negatívny vplyv aj na vnímanie chute a vône vzoriek, aj keď menej výrazný než v prípade farby. Kruskal-Wallisov ANOVA test ukázal že vzorky sa v príjemnosti vône od seba štatisticky nelíšia ( $p > \alpha$ ). Grafické porovnanie v Grafe 17.



Graf 17 Porovnanie príjemnosti vône v daných vzorkách; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

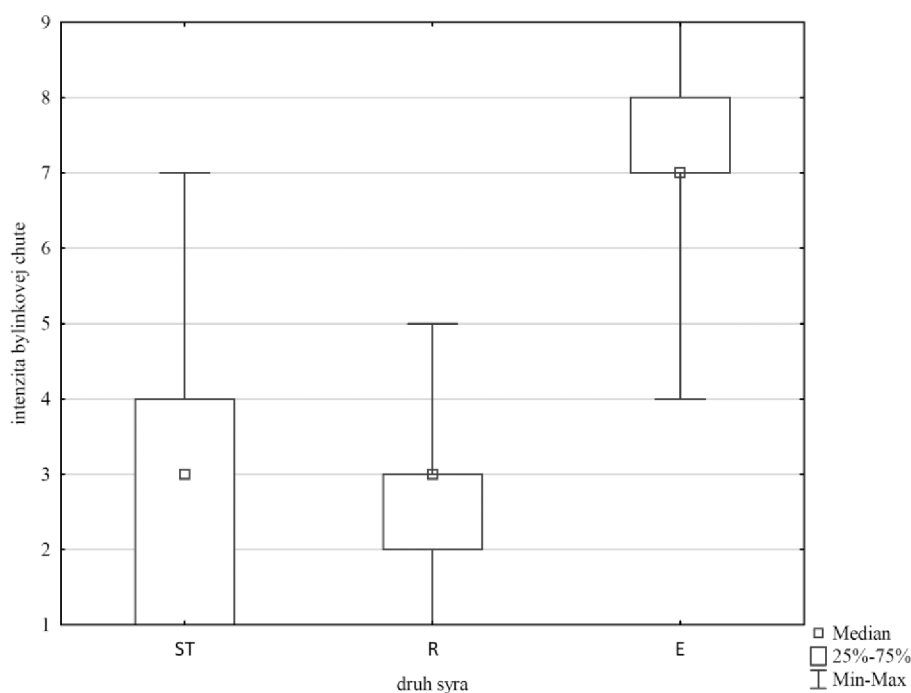


Graf 18 Porovnanie príjemnosti chute v daných vzorkách; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

V príjemnosti chute sa vzorky od seba štatisticky nelíšili ( $p > \alpha$ ), najvyššie skóre však dosiahla vzorka ST. Panel hodnotiteľov popísal syr druhu ST ako syr s jemne nakyslou, veľmi príjemnou smotanovou príchuťou, čo znamená, že zvolený technologický postup výroby syra je vhodný pre výrobu chutných produktov; syr R bol popísaný ako syr s vyváženou chuťou a horkou dochuťou; syr typu E ako syr vyznačujúci sa bylinkovou, korenistou a až nepríjemne horkou chuťou, ktorá je spôsobená najpravdepodobnejšie prítomnosťou kamforu, endoborneolu a bornylacetátu (všetky sa vyznačujú gáfrovou, drevenou a bylinkovou arómou), pričom niektorí hodnotitelia popísali chuť podobnú orieškom. Taktiež bola vzorka E popisovaná ako v ústach výrazne suchá, čo môže mať súvis s nižším nameraným TVS v tejto vzorke, vzorka R bola popisovaná len niečo suchšia, porovnaná so vzorkou ST. Grafické porovnanie príjemnosti chuti sa nachádza v Grafe 18.

V intenzite bylinkovej chuti boli nájdené štatisticky významné rozdiely syrov. Konkrétne medzi vzorkami ST a E ( $p < \alpha$ ;  $p = 0,00330$ ) a taktiež medzi syrmi R a E ( $p < \alpha$ ;  $p = 0,00173$ ). Medzi vzorkami ST a R štatisticky významný rozdiel nebol ( $p > \alpha$ ). Grafické znázornenie porovnania sa nachádza v Grafe 19.

Navzdory očakávania, že prídavok bylín/extraktov bude vnímaný pozitívne (hlavne u syra R sa predpokladalo, že bude bylinková chuť silnejšia), hodnotitelia vnímali skôr chuť nahorklú (u oboch vzoriek), ktorá zhoršovala celkové vnímanie chute.



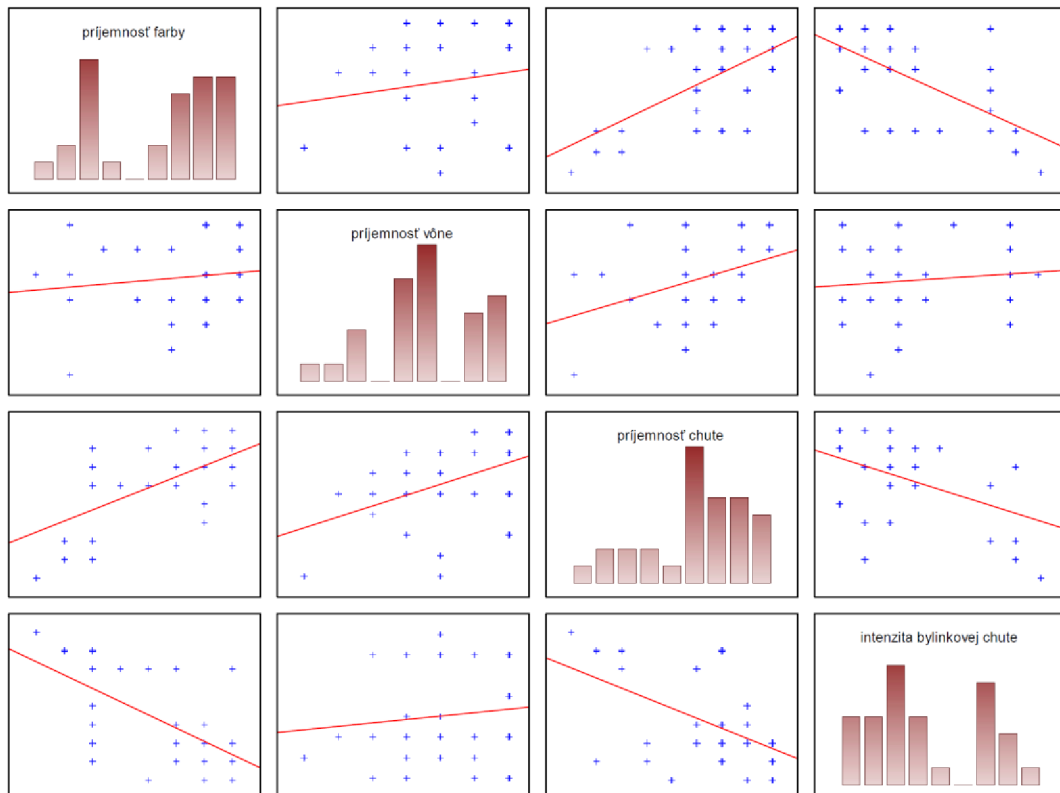
Graf 19 Porovnanie intenzity bylinkovej chute vo vzorkách; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

Medzi inými chuťami boli všeobecne popisované chute slaná a kyslá, niekedy krémová.

#### 4.5.1 Korelačná analýza

Pre nenormálne rozloženie dát bola uskutočnená korelačná analýza podľa Spearmana. Pozitívna korelácia bola nájdená medzi príjemnosťou farby a príjemnosti chute ( $r = 0,535$ ), čo by mohlo súvisieť so známym faktom, že farba môže do určitej miery ovplyvňovať vnímanie

ostatných sensorických vlastností, teda aj chute. A keďže najlepšie bol hodnotený v kategórii príjemnosti farby syr typu ST, dá sa usudzovať že preferovaná forma chute syra bude bez prídavkov extraktov. Tu dochádza ku vyvráteniu predpokladu zvýšenia sensorickej kvality vzoriek syrov pri prídavku extraktov z daných bylín. Tento fakt je potvrdený negatívnou koreláciou medzi príjemnosťou farby a intenzitou bylinkovej chute ( $r = -0,600$ ) a taktiež príjemnosťou chute a intenzitou bylinkovej chute ( $r = -0,445$ ). Pozitívna korelácia bola naopak nájdená medzi príjemnosťou vône a príjemnosťou chute ( $r = 0,404$ ). Komplexné grafické znázornenie sa nachádza v Grafe 20.



Graf 20 Komplexné zobrazenie korelácie medzi jednotlivými pozorovanými kritériami (kombinácia riadok – stĺpec)

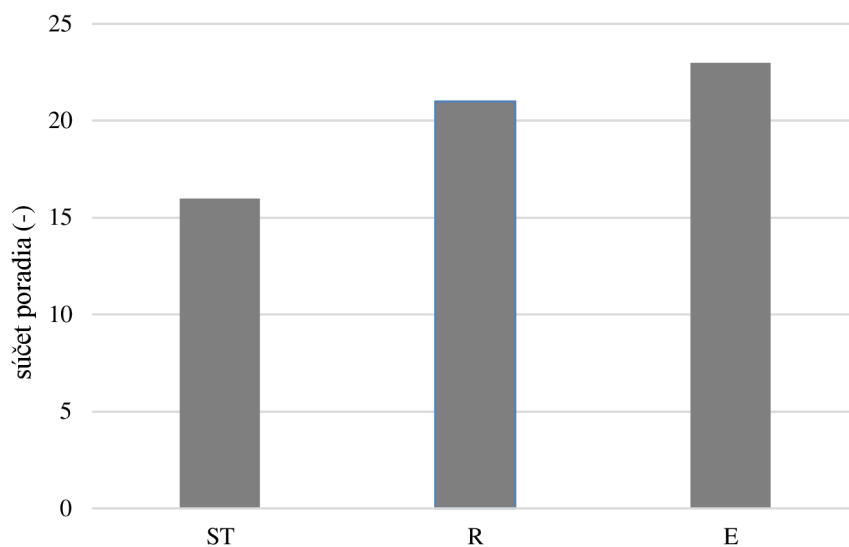
Lee a kol. [81] vo svojej práci pri aplikácii extraktu omanu britského do syra čedar taktiež vykonali sensorickú analýzu, v ktorej zistili, že pri prídavku extraktu sa zvýšila príjemnosť chute a vône extraktu vo vzorke a samotná horkosť vzorky, avšak došlo ku zníženiu hodnôt vône a chute mlieka. Taktiež hodnoty vône extraktu, kyslej chute, horkosti a tmavej farby boli vyššie v porovnaní s kontrolnou štandardnou vzorkou.

#### 4.5.2 Poradový test celkovej prijateľnosti

Výsledky poradového testu potvrdzujú uvedené zistenia. Hodnotitelia vybrali za najpriateľnejší syr ST (5-krát vybraný ako najlepší) a za najmenej prijateľný syr druhu E (5-krát vybraný ako najhorší). Z tohto sa dá usúdiť, že celková prijateľnosť priamo súvisí s prítomnosťou bylinných extraktov, bylinkovej chute. Stĺpcový graf zhodnotenia poradového



testu sa nachádza v Grafe 21, je vyjadrený ako súčet poradí v teste, najnižšia hodnota vyjadruje najlepšie hodnotenú vzorku.



Graf 21 Zhodnotenie poradového testu celkovej prijateľnosti; značenie vzoriek vid' kap. 3.2

## 5 ZÁVER

Cieľom tejto práce bolo pripraviť vzorky čerstvých syrov s prídavkom extraktov z vybraných rastlinných materiálov, rýmovníka a echinacey. Vyrobené syry boli charakterizované z hľadiska prchavých (aromatických) látok, obsahu mastných kyselín, obsahu tuku v sušine, obsahu celkových fenolických látok, antioxidačnej aktivity a senzorickej kvality.

Vo všetkých vzorkách bolo identifikovaných 69 prchavých zlúčenín, z toho 8 alkoholov, 7 aldehydov, 8 ketónov, 6 kyselín, 9 esterov, 1 aromatický uhl'ovodík, 8 terpénových uhl'ovodíkov, 3 terpénové alkoholy, 1 terpénový aldehyd, 1 terpénový ketón, 1 terpénový éter, 2 furány, 2 laktóny a 2 sírne zlúčeniny. Po porovnaní s dostupnou literatúrou sa dajú všetky identifikované zlúčeniny považovať za aromaticky aktívne, ovplyvňujúce výsledný flavour syra.

V oboch vzorkách s extraktmi bol nájdený vyšší počet aj obsah zlúčenín než v štandarde (syr bez prídavku extraktu). V syroch s echinaceou boli navyše identifikované eukalyptol,  $\gamma$ -terpinén, p-menta-1,3,8-trién, p-cymén, okt-3-ylacetát, kamfor, linalool, oktán-1-ol, bornylacetát, (E)- $\beta$ -farnesén, endo-borneol, geraniol, dodekán-1-ol. V syroch s rýmovníkom izovaleraldehyd, 2-pentylfurán, pentán-1-ol, oktán-2-ón, acetoín, dimetyltrisulfid, linalooloxid, okt-1-én-3-ol, kamfor, oktán-1-ol,  $\beta$ -karyofylén,  $\alpha$ -humulén, (E)- $\beta$ -farnesén, geraniol,  $\delta$ -oktalaktón, dodekán-1-ol, hexylcinnamal, ylangenal, metyloktadekanoát. Dá sa usúdiť, že uvedené zlúčeniny pochádzajú z príslušných extraktov.

Na základe zisteného TVS sa dajú vyrobené vzorky zaradiť do kategórie syrov polotučných (vyhláška č. 247/2018 Sb.). Obsah mastných kyselín bol zmeraný len vo vzorke štandardného syra, celkom bolo identifikovaných 14 mastných kyselín a to ako vo forme voľnej tak viazanej; najviac zastúpené boli kyseliny palmitová, olejová, stearová a myristová, čo je v súlade s literatúrou.

Vo vzorkách s prídavkami extraktov bol nájdený vyšší obsah celkových fenolických látok a zároveň vyššia antioxidačná aktivita než vo vzorke štandardu. Medzi týmito dvoma faktormi bola podľa očakávania zistená vysoká korelácia ( $r = 0,948$ ).

Z výsledkov senzorickej analýzy je zrejmé, že prídavok extraktov mal negatívny vplyv na vnímanie farby syrov, pre bežného spotrebiteľa bola farba týchto vzoriek neobvyklá.

Vyrobený štandardný syr mal jemne nakyslú, veľmi príjemnú smotanovú príchuť, prídavok extraktov mal navzdory očakávania negatívny vplyv aj na vnímanie chute a vône. U oboch vzoriek hodnotitelia vnímali skôr než očakávanú bylinkovú chuť nepríjemne horkú pachuť. Konkrétne pridaný extrakt hodnotitelia neboli schopní identifikovať (popísať).

Na základe uskutočnenej štatistickej analýzy (Tukey HSD test, Kruskal-Wallisov test) boli medzi vzorkami nájdené rozdiely ( $p < 0,05$ ), prídavok extraktu má teda vplyv na sledované parametre. Konkrétne došlo ku zvýšeniu nutričnej hodnoty syrov (vyšší obsah aromatických a fenolických zlúčenín, vyššia antioxidačná aktivita), ale naopak ku zníženiu ich senzorickej kvality a celkovej prijateľnosti spotrebiteľmi.

Keďže sa jedná o pilotnú prácu, návrhom na ďalšie práce je optimalizácia prídavku extraktov. Vzhľadom na nutný vysoký objem rozpúšťadla na prípravu extraktov, ktoré bolo nutné odpariť, jednou z možností je prídavok priamo, či už nasekaných alebo pokrájaných

bylín. Ďalším návrhom je použitie syrárskych kultúr a taktiež využitie rôznych spôsobov zrážania mlieka na prípravu rôznych druhov syrov.

## 6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] *Vyhláška č. 397/2016 Sb.: Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.*
- [2] FOX, Patrick F., Timothy P. GUINEE, Timothy M. COGAN a Paul L. H. MCSWEENEY. Fresh Cheese Products: Principals of Manufacture and Overview of Different Varieties. *Fundamentals of Cheese Science*. Boston, MA: Springer US, 2017, 2017-08-23, , 543-588. ISBN 978-1-4899-7679-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4899-7681-9
- [3] GUINEE, T. P., P. D. PUDJA a N. Y. FARKYE. Fresh Acid-Curd Cheese Varieties. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Boston, MA: Springer US, 1994, 1999, , 363-419. ISBN 978-0-8342-1339-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-2800-5\_13
- [4] EVERETT, David W. a Mark A.E. AUTY. Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*. Elsevier, 2008, 2007, **18**(7), 759-773. ISBN 9781845690601. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2008.03.012
- [5] FARKYE, Nana Y. Acid-Heat Coagulated Cheeses. *Cheese*. Elsevier, 2017, 2017, , 1111-1115. ISBN 9780124170124. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00044-2
- [6] FARKYE, Nana Y. Acid and acid/heat-coagulated cheeses. *Cheese Problems Solved*. Elsevier, 2007, 2007, , 343-361. ISBN 9781845690601. Dostupné z: doi:10.1533/9781845693534.343
- [7] LUCEY, John A. Formation, Structural Properties, and Rheology of Acid-Coagulated Milk Gels. *Cheese*. Elsevier, 2017, 2017, , 179-197. ISBN 9780124170124. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00007-7
- [8] FARKYE, Nana Y. Quark, Quark-like Products, and Concentrated Yogurts. *Cheese*. Elsevier, 2017, 2017, , 1103-1110. ISBN 9780124170124. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00043-0
- [9] YADAV, Poonam, Anil K. CHAUHAN a Ram B. SINGH. Quark Cheese. *The Role of Functional Food Security in Global Health*. Elsevier, 2019, 2019, , 395-408. ISBN 9780128131480. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813148-0.00023-2
- [10] SAMEER, Bhagwat, Sangita GANGULY, Yogesh KHETRA, Latha SABIKHI, Kata GALIĆ a Rajka BOŽANIĆ. Development and Characterization of Probiotic Buffalo Milk Ricotta Cheese. *LWT*. Elsevier, 2020, 2019, **121**(7), 2722-2731. ISBN 9780128131480. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2019.108944
- [11] KUMAR, Sunil, D. C. RAI, K. NIRANJAN, Zuhaib F. BHAT, Kata GALIĆ a Rajka BOŽANIĆ. Paneer—An Indian soft cheese variant: a review. *Journal of Food Science and Technology*. Elsevier, 2014, 2019, **51**(5), 821-831. ISBN 9780128131480. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-011-0567-x
- [12] BARUKČIĆ, Irena, Mario ŠČETAR, Iva MARASOVIĆ, Katarina LISAK JAKOPOVIĆ, Kata GALIĆ a Rajka BOŽANIĆ. Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *Journal of Food Science and Technology*. Elsevier, 2020, 2019, **57**(7), 2722-2731. ISBN 9780128131480. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-020-04308-6
- [13] ORTIZ ARAQUE, Leidy C, Magali DARRÉ, Cristian M ORTIZ, Juan F MASSOLO a Ariel R VICENTE. Quality and yield of Ricotta cheese as affected by milk fat content and

- coagulant type. *International Journal of Dairy Technology*. 2018, **71**(2), 340-346. ISSN 1364727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12431
- [14] FOX, Patrick F., Timothy P. GUINEE, Timothy M. COGAN a Paul L. H. MCSWEENEY. Overview of Cheese Manufacture. *Fundamentals of Cheese Science*. Boston, MA: Springer US, 2017, 2017-08-23, , 11-25. ISBN 978-1-4899-7679-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4899-7681-9\_2
- [15] ROBINSON, R. K. a R. A. WILBEY. Cheese manufacture. *Cheesemaking Practice*. Boston, MA: Springer US, 1998, 1998, , 193-231. ISBN 978-1-4613-7667-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-5819-4\_13
- [16] NUDDA, A., M.A. MCGUIRE, G. BATTACONE a G. PULINA. Seasonal Variation in Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid in Milk Fat of Sheep and its Transfer to Cheese and Ricotta. *Journal of Dairy Science*. 2005, **88**(4), 1311-1319. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72797-1
- [17] SEGUEL, Guillermo, Juan Pablo KEIM, Einar VARGAS-BELLO-PÉREZ, Carolina GELDSETZER-MENDOZA, Rodrigo A. IBÁÑEZ a Christian ALVARADO-GILIS. Effect of forage brassicas in dairy cow diets on the fatty acid profile and sensory characteristics of Chanco and Ricotta cheeses. *Journal of Dairy Science*. 2020, **103**(1), 228-241. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2019-17167
- [18] AGHAV, Ashok, Ashok UPADHYAY, Kamal GANDHI, Darshan LAL a Kamal GANDHI. A study on the physico-chemical changes occurring in the milk fat during preparation of Paneer. *Indian J. Dairy Sci.* 2014, **67**(5)
- [19] POVOLO, M., G. CONTARINI, M. MELE a P. SECCHIARI. Study on the Influence of Pasture on Volatile Fraction of Ewes' Dairy Products by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Dairy Science*. 2007, **90**(2), 556-569. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)71539-4
- [20] BERTUZZI, Andrea S., Paul L.H. MCSWEENEY, Mary C. REA a Kieran N. KILCAWLEY. Detection of Volatile Compounds of Cheese and Their Contribution to the Flavor Profile of Surface-Ripened Cheese. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2018, **17**(2), 371-390. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12332
- [21] JEON, Seon-Suk, Seung-Joo LEE, Palanivel GANESAN a Hae-Soo KWAK. Qualitative and Quantitative Analyses of Volatile Compounds in Cream Cheese and Cholesterol-removed Cream Cheese Made from Whole Milk Powder. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2011, **31**(6), 879-885. ISSN 1225-8563. Dostupné z: doi:10.5851/kosfa.2011.31.6.879
- [22] REYES-DÍAZ, Ricardo, Aarón F. GONZÁLEZ-CÓRDOVA, María DEL CARMEN ESTRADA-MONTOYA, José I. MÉNDEZ-ROMERO, Miguel Angel MAZORRA-MANZANO, Herlinda SOTO-VALDEZ a Belinda VALLEJO-CORDOBA. Volatile and sensory evaluation of Mexican Fresco cheese as affected by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *Journal of Dairy Science*. 2020, **103**(1), 242-253. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2019-17188
- [23] WADIKAR, Dadasaheb D. a Prakash E. PATKI. *Coleus aromaticus*: a therapeutic herb with multiple potentials. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, **53**(7), 2895-2901. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-016-2292-y

- [24] RUAN, T. Z., C. L. KAO, Y. L. HSIEH, H. T. LI a C. Y. CHEN. Chemical Constituents of the Leaves of *Plectranthus amboinicus*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2019, **55**(1), 124-126. ISSN 0009-3130. Dostupné z: doi:10.1007/s10600-019-02631-9
- [25] KHARE, C.P. *Coleus amboinicus* Lour. *Indian Medicinal Plants*. New York, NY: Springer New York, 2007, 2007-7-8, , 1-1. ISBN 978-0-387-70637-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-70638-2\_384
- [26] ACHARYA, Rabinarayan, Sagar Kumar MISHRA, Om Prakash ROUT a Rashmibala SAHOO. Pathorchur (*Coleus aromaticus*): A review of the medicinal evidence for its phytochemistry and pharmacology properties. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2012, **3**(4).
- [27] ARUMUGAM, Greetha, Uma Rani SINNIHA, Mallappa Kumara SWAMY a Paul T. LYNCH. *Micropropagation and essential oil characterization of Plectranthus amboinicus (Lour.) Sprengel, an aromatic medicinal plant*. 2020, **56**(4), 491-503. ISSN 1054-5476. Dostupné z: doi:10.1007/s11627-020-10056-1
- [28] TEIXEIRA, A.M.R., I.K.C. LIMA, M.R. XAVIER, et al. Vibrational spectroscopy study of essential oils from *Plectranthus amboinicus* Lour. Spreng and *Vanillosmopsis arborea* Baker. *Vibrational Spectroscopy*. 2018, **98**, 22-29. ISSN 09242031. Dostupné z: doi:10.1016/j.vibspec.2018.05.008
- [29] SULAIMAN, C.T., M. DEEPAK a Indira BALACHANDRAN. Spectrophotometric and tandem mass spectroscopic analysis of Indian borage (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.) for its polyphenolics characterization. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2018, **7**(4), 471-473. ISSN 23148535. Dostupné z: doi:10.1016/j.bjbas.2018.04.004
- [30] FERNANDEZ, Ana Claudia A. M., Mauricio F. ROSA, Carla M. M. FERNANDEZ, et al. Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Extract and Fractions of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) Leaves from Brazil. *Current Microbiology*. 2017, **74**(12), 1453-1460. ISSN 0343-8651. Dostupné z: doi:10.1007/s00284-017-1340-9
- [31] NJAU, Efrem-Fred A. a Patrick A. NDAKIDEMI. The Genus *Tetradenia* (Lamiaceae): A Review of Its Ethnomedicinal, Botanical, Chemical and Pharmacological Activities. *International Journal of Biology*. 2017, **9**(4). ISSN 1916-968X. Dostupné z: doi:10.5539/ijb.v9n4p35
- [32] ARAÚJO, L.L.N., H.C. MELO, J.R. PAULA, F.R.R. ALVES a T.A. PORTES. Yield and Composition of the Essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd (Lamiaceae) Cultivated Under Different Shading Levels. *Planta Daninha*. 2018, **36**. ISSN 1806-9681. Dostupné z: doi:10.1590/s0100-83582018360100066
- [33] BLYTHE, Eugene K., Nurhayat TABANCA, Betul DEMIRCI a Paul E. KENDRA. Chemical Composition of Essential Oil From *Tetradenia riparia* and Its Attractant Activity for Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*. *Natural Product Communications*. 2020, **15**(9). ISSN 1934-578X. Dostupné z: doi:10.1177/1934578X20953955
- [34] CAMPO, Almeida, Caio Franco DE ARAÚJO, Renan Almeida DE JESUS, Herika Line Marko DE OLIVEIRA, Zilda Cristiani GAZIM, José Eduardo GONÇALVES, Ezilda JACOMASSI a Giuliana ZARDETO-SABEC. *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) essential oil: an alternative to *Rhipicephalus sanguineus*. *Australian Journal of Crop Science*. 2020, **14**(10). ISSN 1835-2707. Dostupné z: doi:10.21475/ajcs.20.14.10.p2389
- [35] GHUMAN, S., B. NCUBE, J.F. FINNIE, L.J. MCGAW, E. MFOTIE NJOYA, R.M. COOPOOSAMY a J. VAN STADEN. Antioxidant, anti-inflammatory and wound healing

- properties of medicinal plant extracts used to treat wounds and dermatological disorders. *South African Journal of Botany*. 2019, **126**, 232-240. ISSN 02546299. Dostupné z: doi:10.1016/j.sajb.2019.07.013
- [36] TOSELLI, Francesca, Anita MATTHIAS a Elizabeth M.J. GILLAM. Echinacea metabolism and drug interactions: The case for standardization of a complementary medicine. *Life Sciences*. 2009, **85**(3-4), 97-106. ISSN 00243205. Dostupné z: doi:10.1016/j.lfs.2009.04.023
- [37] BRUNI, Renato, Virginia BRIGHENTI, Lindsay K. CAESAR, Davide BERTELLI, Nadja B. CECH a Federica PELLATI. Analytical methods for the study of bioactive compounds from medicinally used Echinacea species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018, **160**, 443-477. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2018.07.044
- [38] GAJALAKSHMI, S., Devi RAJESWARI a S. VIJAYALAKSHMI. Echinacea purpurea - A potent immunostimulant. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2012, **14**(2), 47-52.
- [39] MISTRÍKOVÁ, Ingrid a Štefánia VAVERKOVÁ. Echinacea – chemical composition, immunostimulatory activities and uses. *Thaiszia – Journal of Botany*. 2006, **16**, 11-26. ISSN 1210-0420.
- [40] NYALAMBISA, M., I.A. OYEMITAN, R. MATEWU, O.O. OYEDEJI, O.S. OLUWAFEMI, S.P. SONGCA, B.N. NKEH-CHUNGAG a A.O. OYEDEJI. Volatile constituents and biological activities of the leaf and root of Echinacea species from South Africa. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2017, **25**(3), 381-386. ISSN 13190164. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsps.2016.09.010
- [41] ERENLER, Ramazan, Isa TELCI, Musa ULUTAS, Ibrahim DEMIRTAS, Fatih GUL, Mahfuz ELMASTAS a Omer KAYIR. Chemical Constituents, Quantitative Analysis and Antioxidant Activities of Echinacea purpurea (L.) Moench and Echinacea pallida (Nutt.) Nutt. *Journal of Food Biochemistry*. 2015, **39**(5), 622-630. ISSN 01458884. Dostupné z: doi:10.1111/jfbc.12168
- [42] SAEIDNIA, Soodabeh, Azadeh MANAYI a Mahdi VAZIRIAN. Echinacea purpurea: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Pharmacognosy Reviews*. 2015, **9**(17). ISSN 0973-7847. Dostupné z: doi:10.4103/0973-7847.156353
- [43] HU, C a D D KITTS. Studies on the antioxidant activity of Echinacea root extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000 May, **48**(5). Dostupné z: doi:10.1021/jf990677+
- [44] FANG, Ling, Jiewei DENG, Yunyun YANG, et al. Coupling solid-phase microextraction with ambient mass spectrometry: Strategies and applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016, **85**, 61-72. DOI: 10.1016/j.trac.2016.05.025. ISSN 01659936. Dostupné tiež z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016599361630022X>
- [45] PAWLISZYN, Janusz. *Solid phase microextraction: theory and practice*. New York: Wiley-VCH, 1997, 15-170. ISBN 04-711-9034-9.
- [46] SONG, Huanlu a Jianbin LIU. GC-O-MS technique and its applications in food flavor analysis. *Food Research International*. 2018, **114**, 187-198. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.07.037. ISSN 09639969. Dostupné tiež z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918305751>
- [47] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. Brno: VUTIUM, 2000, 185-241. ISBN 80-214-1742-0.
- [48] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004, 94-237. ISBN 80-246-0852-9.

- [49] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 10-23. ISBN 80-863-6907-2.
- [50] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST a F. James HOLLER. *Fundamentals of analytical chemistry*. 7th ed. Fort Worth: Saunders College Pub., 1996, 660-695. ISBN 00-300-5938-0.
- [51] CHRISTIAN, Gary D. a James E. O'REILLY. *Instrumental analysis*. 2nd ed. Boston: Allyn and Bacon, 1986, 476-767. ISBN 02-050-8685-3.
- [52] BEYERMANN, Klaus. *Organická stopová analýza*. Praha : SNTL, 1987, 132-193.
- [53] ISO 15884:2002. *Milk fat — Preparation of fatty acid methyl esters*. Geneva: International Dairy Federation, 2002-11.
- [54] FENG, Tao, Min SUN, Shiqing SONG, Haining ZHUANG a Lingyun YAO. Gas chromatography for food quality evaluation. *Evaluation Technologies for Food Quality*. Elsevier, 2019, 2019, , 219-265. ISBN 9780128142172. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-814217-2.00012-3
- [55] SHAHIDI, Fereidoon a Ying ZHONG. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 2015, **18**, 757-781. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2015.01.047
- [56] ZULUETA, Ana, Maria J. ESTEVE a Ana FRÍGOLA. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*. 2009, **114**(1), 310-316. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.033
- [57] APAK, Reşat, Mustafa ÖZYÜREK, Kubilay GÜÇLÜ a Esra ÇAPANOĞLU. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016, **64**(5), 997-1027. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.5b04739
- [58] KEDARE, Sagar B. a R. P. SINGH. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 2011, **48**(4), 412-422. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-011-0251-1
- [59] GUPTA, Deepshikha. METHODS FOR DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY: A REVIEW. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*. 01 February, 2015n. 1., **6**, 546-566. Dostupné z: doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66
- [60] SÁNCHEZ-RANGEL, Juan Carlos, Jorge BENAVIDES, J. Basilio HEREDIA, Luis CISNEROS-ZEVALLOS a Daniel A. JACOBO-VELÁZQUEZ. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*. 2013, **5**(21). ISSN 1759-9660. Dostupné z: doi:10.1039/c3ay41125g
- [61] KHAN, Imran Taj, Muhammad NADEEM, Muhammad IMRAN, Rahman ULLAH, Muhammad AJMAL a Muhammad Hayat JASPAL. Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in Health and Disease*. 2019, **18**(1). ISSN 1476-511X. Dostupné z: doi:10.1186/s12944-019-0969-8
- [62] QURESHI, Tahir Mahmood, Aniq AMJAD, Muhammad NADEEM, Mian Anjum MURTAZA, Masooma MUNIR a Muhammad Hayat JASPAL. Antioxidant potential of a soft cheese (paneer) supplemented with the extracts of date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars and its whey: a comprehensive review of the current knowledge. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2019, **32**(10), 1591-1602. ISSN 1011-2367. Dostupné z: doi:10.5713/ajas.18.0750
- [63] DRAKE, M.A. Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*. 2007, **90**(11), 4925-4937. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2007-0332



- [64] OLMEDO, Rubén H., Valeria NEPOTE a Nelson R. GROSSO. Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *LWT - Food Science and Technology*. 2013, **53**(2), 409-417. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2013.04.007
- [65] CHMELOVÁ, Nikola. Charakterizace bylin rodu *Plectranthus* pro využití v potravinářství. Brno, 2021. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131335>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedúci práce Eva Vítová.
- [66] PALLOVÁ, Jana. Příprava a charakterizace extraktů echinacey. Brno, 2021. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131318>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedúci práce Eva Vítová.
- [67] The Good Scents Company. *TGSC Information System* [online]. [cit. 2021-6-8]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/index.html>
- [68] BOLTAR, I., A. ČANŽEK MAJHENIČ, K. JARNI, T. JUG a M. BAVCON KRALJ. Volatile compounds in Nanos cheese: their formation during ripening and seasonal variation. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, **52**(1), 608-623. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-014-1565-6
- [69] *PubChem* [online]. National Institutes of Health [cit. 2021-6-9]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- [70] MALLIA, Silvia, Barbara GUGGENBÜHL, Sophie FRAPOLLI, Beata BEISERT a Doris RAUHUT. Sulfur-Containing Compounds in Butter and their Influence on Butter Aroma. *Flavour Science*. Elsevier, 2014, , 337-342. ISBN 9780123985491. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-398549-1.00063-5
- [71] DURSUN, Ahmet, Zehra GÜLER a Yunus Emre ŞEKERLI. Characterization of volatile compounds and organic acids in ultra-high-temperature milk packaged in tetra brick cartons. *International Journal of Food Properties*. 2016, **20**(7), 1511-1521. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2016.1213280
- [72] AMRANI, Kaoutar EL, Mohammed BARBOUCHI, M'barek CHOUKRAD, Abderrahim EDDAHBY, Mostafa EL IDRISSE a Mohammed SBITI. In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils of *Lavandula stoechas* from Morocco. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2019, **11**(3), 59-73. ISSN 0975-7384.
- [73] TORNAMBÉ, G., A. CORNU, P. PRADEL, N. KONDOJOYAN, A.P. CARNAT, M. PETIT a B. MARTIN. Changes in Terpene Content in Milk from Pasture-Fed Cows. *Journal of Dairy Science*. 2006, **89**(6), 2309-2319. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72302-5
- [74] DEETH, H. Improving UHT processing and UHT milk products. *Improving the Safety and Quality of Milk*. Elsevier, 2010, 2010, , 302-329. ISBN 9781845694388. Dostupné z: doi:10.1533/9781845699420.4.302
- [75] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-808-6659-176.
- [76] CUTRIM, Camila Sampaio a Marco Antonio Sloboda CORTEZ. A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*. 2018, **71**(3), 564-578. ISSN 1364727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12515

- [77] REVILLA, I., M.I. GONZÁLEZ-MARTÍN, A.M. VIVAR-QUINTANA, M.A. BLANCO-LÓPEZ, I.A. LOBOS-ORTEGA a J.M. HERNÁNDEZ-HIERRO. Antioxidant capacity of different cheeses: Affecting factors and prediction by near infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*. 2016, **99**(7), 5074-5082. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2015-10564
- [78] CALEJA, Cristina, Lillian BARROS, Amilcar L. ANTONIO, et al. Development of a functional dairy food: Exploring bioactive and preservation effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Functional Foods*. 2015, **16**, 114-124. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2015.04.033
- [79] CALEJA, Cristina, Andreia RIBEIRO, Lillian BARROS, João C.M. BARREIRA, Amilcar L. ANTONIO, M. BEATRIZ P.P. OLIVEIRA, Maria Filomena BARREIRO a Isabel C.F.R. FERREIRA. Cottage cheeses functionalized with fennel and chamomile extracts: Comparative performance between free and microencapsulated forms. *Food Chemistry*. 2016, **199**, 720-726. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.12.085
- [80] PEREIRA, E.P.R., R.N. CAVALCANTI, E.A. ESMERINO, et al. Effect of incorporation of antioxidants on the chemical, rheological, and sensory properties of probiotic petit suisse cheese. *Journal of Dairy Science*. 2016, **99**(3), 1762-1772. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2015-9701
- [81] LEE, N.-K., R.K.C. JEEWANTHI, E.-H. PARK a H.-D. PAIK. Short communication: Physicochemical and antioxidant properties of Cheddar-type cheese fortified with *Inula britannica* extract. *Journal of Dairy Science*. 2016, **99**(1), 83-88. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2015-9935

## **7 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK**

MK – masné kyseliny

MeMK – metylester masnej kyseliny

VMK – voľné masné kyseliny

SPME – mikroextrakcia pevnou fázou

GC – plynová chromatografia

MS – hmotnostná spektrometria

FID – plameňový ionizačný detektor

PCA – analýza hlavných komponent

TVS – obsah tuku v sušine

ST – štandardný syr bez prídavku extraktu

R – syr s prídavkom extraktu z rýmovníka

E – syr s prídavkom extraktu z echinacey

## **8 PRÍLOHY**

Príloha 1 Senzorický dotazník

Príloha 2 Chromatogram prchavých látok vo vzorke čerstvého syra bez prídavku extraktov (ST – štandard)

Príloha 3 Chromatogram prchavých látok vo vzorke čerstvého syra s prídavkom extraktu z rýmovníka (R)

Príloha 4 Chromatogram prchavých látok vo vzorke čerstvého syra s prídavkom extraktu z echinacey (E)

Príloha 5 Chromatogram viazaných mastných kyselín vo vzorke čerstvého syra bez prídavku extraktu (ST – štandard)

## DOTAZNÍK PRE SENZORICKÉ HODNOTENIE ČERSTVÝCH SYROV

Vážení hodnotiteľa, zhodnoťte prosím predložené vzorky čerstvých syrov.

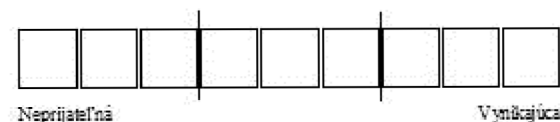
Hodnotiteľ: \_\_\_\_\_ Fajčiar/nefajčiar  
Dátum: \_\_\_\_\_ muž/žena  
Čas: \_\_\_\_\_

**Zhodnoťte predložené vzorky v nasledujúcich znakoch podľa uvedených inštrukcií, použite uvedené stupnice, hodnotenie zapíšte do uvedenej tabuľky.**

### 1. Farba

**Príjemnosť farby** – pomocou uvedenej grafickej kategorovej stupnice určite príjemnosť farby vzorky

Kód vzorky:

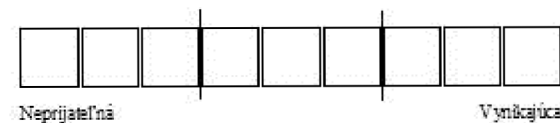


*Popíšte (farba; príjemnosť):*

### 2. Vôňa

**Príjemnosť vône** – pomocou uvedenej grafickej kategorovej stupnice určite príjemnosť vône vzorky

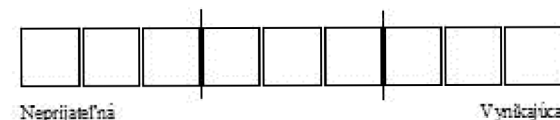
Kód vzorky:



### 3. Chuť (flavour = komplexný pocit v ústach pri konzumácii)

**Príjemnosť chuti** – pomocou uvedenej grafickej kategorovej stupnice určite príjemnosť chuti vzorky

Kód vzorky:



*Popíšte dôvod:*

#### 4. Profilový test vybraných chutí

Posúďte, do akej miery uvedené chute vytvárajú celkový dojem chute. Použite uvedené grafické kategorové stupnice.

Kód vzorky:

Bylinková

--	--	--	--	--	--	--	--

Kód vzorky:

Iná

--	--	--	--	--	--	--	--

Nepoznatel'ná

Veľmi silná

*Popíšte:*

#### 5. Poradový test celkovej prijateľnosti

Zoraďte vzorky podľa celkovej prijateľnosti do zadanej tabuľky.

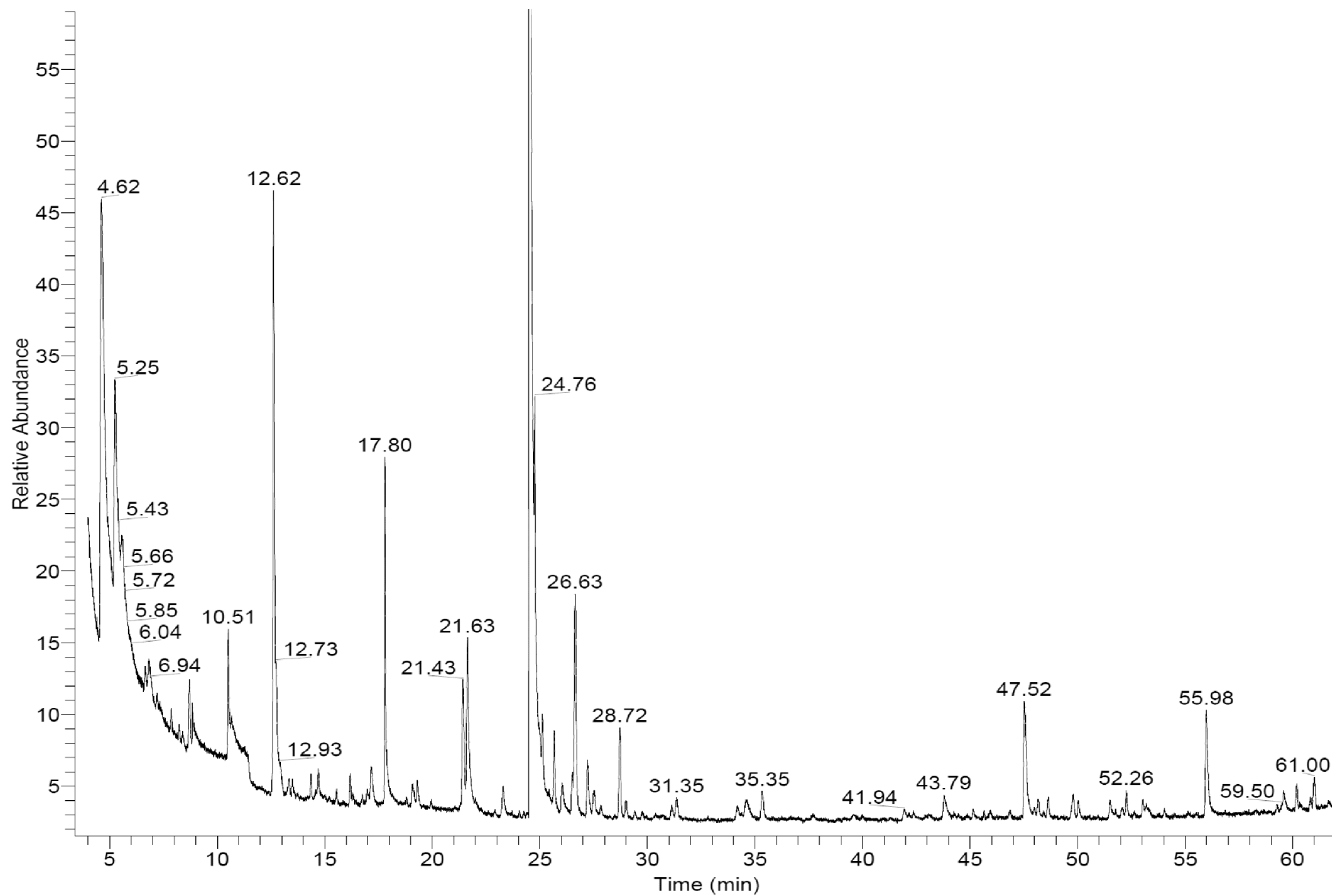
Poradie vzorky	1. (najlepší)	2.	3. (najhorší)
Kód vzorky			

*Odôvodnite:*

Príloha 2 Chromatogram prchavých látok vo vzorke čerstvého syra bez prídavku extraktov (ST – štandard); identifikácia zlúčenín vid' Tab. 9

RT: 3.39 - 62.11

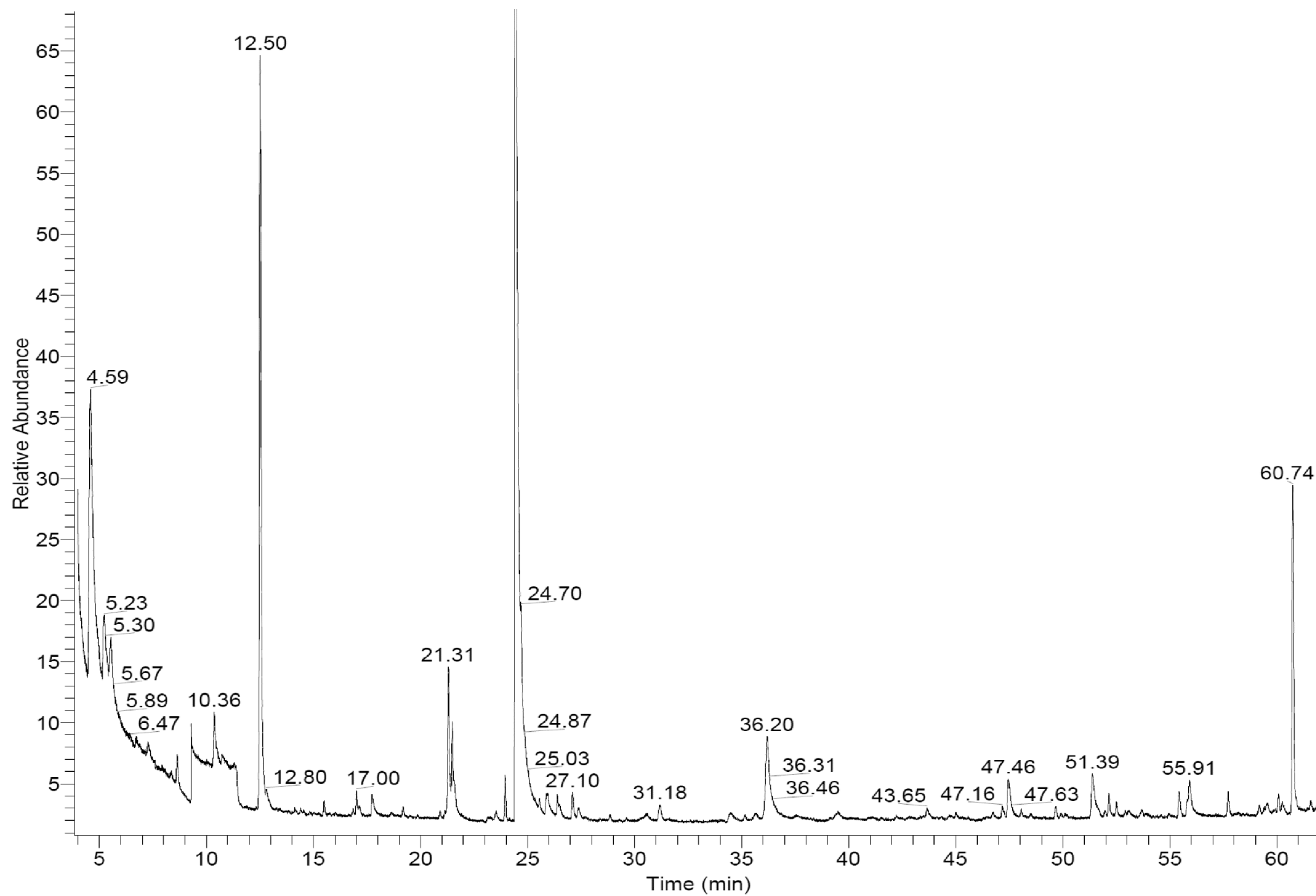
NL:  
4.92E7  
TIC MS  
STsyr2



Príloha 3 Chromatogram prchavých látok vo vzorke čerstvého syra s prídavkom extraktu z rýmovníka (R); identifikácia zlúčenín vid' Tab. 9

RT: 3.85 - 62.11

NL:  
6.96E7  
TIC MS  
KUCR1

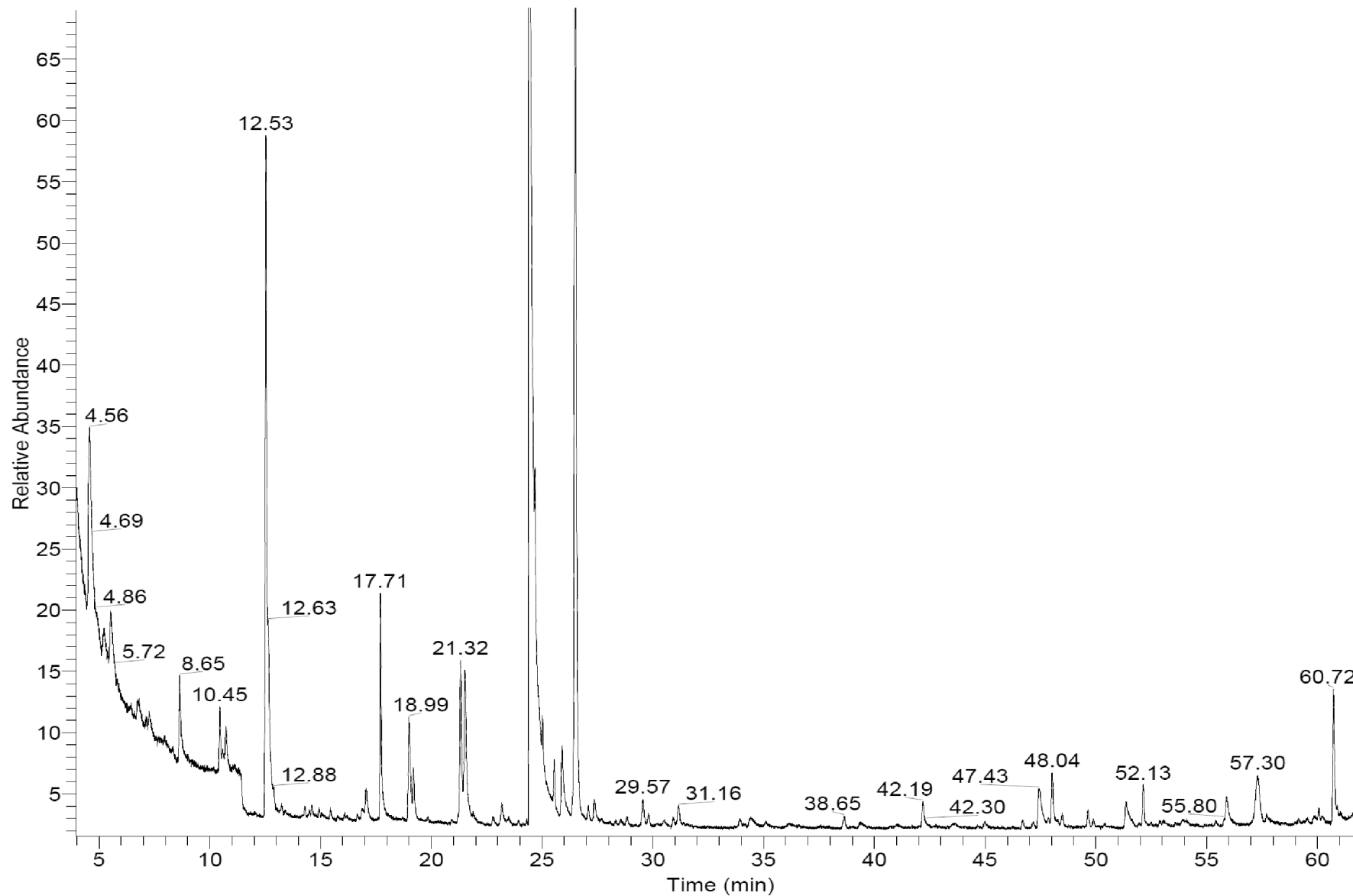




Príloha 4 Chromatogram prchavých látok vo vzorke čerstvého syra s prídavkom extraktu z echinacey (E); identifikácia zlúčenín vid' Tab. 9

RT: 3.97 - 62.12

NL:  
4.88E7  
TIC MS  
KUCE2



Príloha 5 Chromatogram viazaných mastných kyselín vo vzorke čerstvého syra bez prídavku extraktu (ST ); identifikácia vid' Tab. 11

