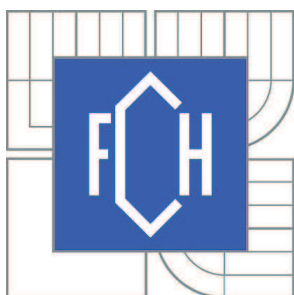


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN ANALOGŮ TAVENÝCH SÝRŮ

COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN PROCESSED CHEESE ANALOQUES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. KATEŘINA SKLENÁŘOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

DOC. ING. FRANTIŠEK BUŇKA,
PH.D.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0414/2009	Akademický rok: 2009/2010
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Kateřina Sklenářová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí práce	doc. Ing. František Buňka, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Eva Vítová, Ph.D.	

Název diplomové práce:

Složení mastných kyselin analogů tavených sýrů

Zadání diplomové práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - složení a vlastnosti sýrových analogů
 - technologie výroby
 - přehled metod vhodných pro stanovení mastných kyselin (MK) v sýrech
- Pomocí plynové chromatografie identifikujte a kvantifikujte MK ve vzorcích sýrových analogů
- Získané výsledky srovnajte s obsahem MK v klasických sýrech

Termín odevzdání diplomové práce: 14.5.2010

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Kateřina Sklenářová
Student(ka)

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá stanovením mastných kyselin analogů tavených sýrů. Cílem je identifikovat a kvantifikovat mastné kyseliny ve vybraných vzorcích sýrových analogů.

V úvodu práce je zpracován stručný přehled složení a vlastností sýrových analogů, technologie výroby a možností jejich využití. Dále jsou popsány vhodné metody pro stanovení obsahu mastných kyselin v sýrech a sýrových analogích. Z těchto metod je největší část věnována plynové chromatografii, která je nejvyužívanější metodou detekce těkavých mastných kyselin.

Jednotlivé sýrové analogy, použité pro analýzu, obsahovaly různé druhy přidaných tuků. Konkrétně se jedná o mléčný tuk, kokosový tuk, slunečnicový olej, palmový tuk a máslo. Ze vzorků byly tyto tuky extrahovány a poté převedeny na methylestery esterifikací methanolem za katalýzy hydroxidem draselným.

Pomocí plynové chromatografie byly identifikovány a kvantifikovány nejdůležitější mastné kyseliny ve vzorcích sýrových analogů a srovnány s mastnými kyselinami tuků, které byly pro přípravu těchto analogů použity.

KLÍČOVÁ SLOVA

Sýrové analogy, GC, MK

ABSTRACT

This thesis deals with the determination of fatty acids of processed cheese analogues. The aim is to identify and quantify the fatty acids in selected samples of cheese analogues.

The introduction is a brief overview of the composition and properties of cheese analogues, technology and application options. The following describes the appropriate method for the determination of fatty acids in cheese and cheese analogues. Of these methods the largest part is devoted to gas chromatography, which is most frequently used method for detection of volatile fatty acids.

Individual cheese analogues used for the analysis, contained various types of added fats. Specifically, the milk fat, coconut oil, sunflower oil, palm oil and butter. Samples of these fats were extracted and then converted to methylesters by methanol esterification with catalysis by potassium hydroxide.

The most important fatty acids were identified and quantified in samples of cheese analogues using gas chromatography and compared with fatty acids of fats used for the preparation of these analogues are used.

KEYWORDS

Cheese analogues, GC, FA

SKLENÁŘOVÁ K. *Složení mastných kyselin analogů tavených sýrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 91 s. Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. František Buňka, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

Podpis studenta

Poděkování: Děkuji Ing. Evě Vítové Ph.D. za odborné vedení a všestrannou pomoc při realizaci této diplomové práce.

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1	Tavené sýry	10
2.1.1	Obecná charakteristika	10
2.1.2	Výroba tavených sýrů	10
2.1.3	Dělení tavených sýrů	11
2.1.4	Význam tavených sýrů ve výživě	12
2.2	Sýrové analogy.....	15
2.2.1	Obecná charakteristika a klasifikace	15
2.2.2	Suroviny vhodné pro výrobu sýrových analogů.....	16
2.2.2.1	Tuky	16
2.2.2.2	Mléčné proteiny	19
2.2.2.3	Rostlinné proteiny	20
2.2.2.4	Škroby	20
2.2.2.5	Tavicí soli.....	21
2.2.2.6	Hydrokoloidy	24
2.2.2.7	Příchutě a jejich zvýrazňovače.....	24
2.2.2.8	Minerální a vitamínové přípravky	24
2.2.3	Technologie výroby analogů tavených sýrů	24
2.2.3.1	Formulace směsi	25
2.2.3.2	Předmixování	26
2.2.3.3	Tavení	26
2.2.3.4	Přídavek regulátorů kyselosti a příchutí	27
2.2.3.5	Homogenizace.....	28
2.2.3.6	Balení	28
2.2.3.7	Chlazení a uskladnění	29
2.2.4	Vlastnosti sýrových analogů.....	29
2.2.5	Srovnání analogů tavených sýrů s klasickými tavenými sýry	31
2.2.6	Legislativa	31
2.2.7	Možnosti a důvody použití sýrových analogů	32
2.2.7.1	Sýrové analogy v ČR	33
2.3	Stanovení mastných kyselin.....	35
2.3.1	Mastné kyseliny	35
2.3.1.1	Nasycené mastné kyseliny	35

2.3.1.2	Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou	36
2.3.1.3	Nasyčené mastné kyseliny s dvěma a více dvojnými vazbami.....	36
2.3.1.4	Nenasycené mastné kyseliny s trojnými vazbami	37
2.3.2	Fyziologie a výživa mastných kyselin.....	37
2.3.2.1	Syntéza mastných kyselin v lidském těle.....	37
2.3.2.2	Odbourávání mastných kyselin v organismu	38
2.4	Metody pro stanovení mastných kyselin.....	39
2.5	Plynová chromatografie	39
2.5.1	Instrumentace plynové chromatografie	40
2.5.1.1	Zdroj nosného plynu	40
2.5.1.2	Regulační a čistící zařízení	41
2.5.1.3	Injektor (dávkovač).....	41
2.5.1.4	Chromatografické kolony	41
2.5.1.5	Termostat	42
2.5.1.6	Detektor.....	42
2.5.1.7	Vyhodnocovací zařízení.....	43
2.6	Esterifikace	44
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	45
3.1	Laboratorní vybavení	45
3.1.1	Chemikálie pro extrakci tuku z vzorku sýra.....	45
3.1.2	Chemikálie pro přípravu a stanovení methylesterů mastných kyselin	45
3.1.3	Plyny	45
3.1.4	Přístroje.....	45
3.1.5	Pracovní pomůcky	45
3.2	Podmínky GC analýzy	46
3.2.1	Stanovení methylesterů mastných kyselin.....	46
3.3	Vzorky.....	46
3.3.1	Postup výroby	46
3.3.2	Příprava vzorků.....	47
3.3.2.1	Extrakce tuku ze vzorku sýra.....	47
3.3.2.2	Příprava methylesterů mastných kyselin	47
3.4	Statistické zpracování	48
4	DISKUZE A VÝSLEDKY	49
4.1	Výběr vhodné metody esterifikace	49
4.1.1	Metoda 1: Kysele katalyzovaná esterifikace 1	49

4.1.2	Metoda 2: Kyselá katalyzovaná esterifikace 2	51
4.1.3	Metoda 3: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 1	51
4.1.4	Metoda 4: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 2	52
4.1.5	Metoda 5: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 3	52
4.1.6	Metoda 6: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 4	52
4.2	Optimalizace podmínek GC pro analýzu mastných kyselin	54
4.2.1	Optimalizace průtoku nosného plynu	54
4.2.2	Optimalizace teploty detektoru	54
4.2.3	Optimalizace teploty injektoru	54
4.2.4	Optimalizace teplotního programu	55
4.3	Stanovení mastných kyselin v různých typech sýrových analogů	62
4.3.1	Zastoupení vybraných mastných kyselin ve vzorcích sýrových analogů	62
4.3.1.1	Sýrový analog s kokosovým tukem	64
4.3.1.2	Sýrový analog s máslem	64
4.3.1.3	Sýrový analog s mléčným tukem	65
4.3.1.4	Sýrový analog s palmovým tukem	65
4.3.1.5	Sýrový analog se slunečnicovým olejem	66
4.4	Porovnání zastoupení mastných kyselin jednotlivých typů sýrových analogů	66
4.5	Zastoupení vybraných mastných kyselin ve vzorcích tuků	67
4.5.1	Zastoupení mastných kyselin v kokosovém tuku	68
4.5.2	Zastoupení mastných kyselin v másle	68
4.5.3	Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku	69
4.5.4	Zastoupení mastných kyselin v palmovém tuku	69
4.5.5	Zastoupení mastných kyselin ve slunečnicovém oleji	70
4.6	Porovnání zastoupení mastných kyselin jednotlivých tuků	70
4.7	Srovnání mastných kyselin v sýrových analogích a tucích	71
5	ZÁVĚR	75
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	76
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	79
8	PŘÍLOHY	80

1 ÚVOD

Tavené sýry patří v České republice k oblíbeným potravinám. Se stoupající spotřebou a s nárůstem ceny přírodních sýrů se objevil požadavek na výrobu levnějšího produktu se sníženým obsahem tuku a cholesterolu, se stejnou nebo lepší nutriční hodnotou. Produkty, které tyto podmínky splňují, nazýváme sýrové analogy (imitace, substituty, náhražky).

Mnoho lidí se domnívá, že sýrový analog je něco "umělého" a díky svým předsudkům o chemii a jejím využití v potravinářství tyto výrobky bez "boje" ztracují. Nejedná se však o náhražky v pravém slova smyslu, ale náhražka v tomto spojení znamená záměnu pouze určitých složek použitých při výrobě.

V našem případě jde především o nahrazování mléčných tuků rostlinnými. Rozdíl mezi nimi je v obsahu mastných kyselin. Ty plní v živém organismu mnoho funkcí. Jsou důležitou součástí buněčných membrán, představují prekurzory při syntéze hormonů a hrají roli při řízení fyziologických pochodů. Vzhledem ke skutečnosti, že některé mastné kyseliny si lidské tělo vyrobit dokáže a některé získá jedině v podobě potravy, je důležité znát složení jednotlivých tuků, které je možno použít místo mléčného tuku.

Není to jediný důvod proč nahrazovat živočišný tuk rostlinným. Ekonomické náklady na výrobu sýrových analogů klesají, při prakticky stejném výrobním procesu.

Tato diplomová práce se zabývá stanovením obsahu mastných kyselin v tucích vybraných sýrových analogů metodou plynové chromatografie.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Tavené sýry

2.1.1 Obecná charakteristika

Dle vyhlášky 77/2003 Sb. taveným sýrem rozumíme sýr, který byl tepelně upraven za přídavku tavících solí. Tavený sýr je výrobek, který se získává z přírodního sýra jeho mletím, mícháním a tavením s tavícími solemi při teplotě nad 80°C. Tavené sýry jsou nejmladší skupinou sýrů. Začaly se vyrábět na začátku 20. století, poprvé v roce 1911 ve Švýcarsku. Hlavním důvodem bylo prodloužení trvanlivosti přírodních sýrů. Další výhodou je možné zhodnocení sýrů, které jsou chuťově bezvadné, ale neodpovídají danému typu po vzhledové stránce. Tavené sýry mohou být různé konzistence, existují různé chuťové obměny. V České republice patří tavené sýry mezi oblíbené potraviny. Průměrná roční spotřeba na jednoho obyvatele je 2,7 kg. [1, 2, 3]

2.1.2 Výroba tavených sýrů

Základní surovinou pro výrobu tavených sýrů jsou odborně vyrobené sýry, které nevykazují chyby vůně, chuti, ani zrání. Mohou mít ale chyby ve vzhledu, např.: slepé sýry bez tvorby ok, sýry s trhlinami aj. V České republice se mezi nejčastěji používané přírodní sýry řadí Eidamská cihla, Eidamský blok nebo Moravský blok o různém obsahu tuku v sušině. Pro požadovanou konzistenci tavených sýrů a optimální hodnoty pH 5,7 se kromě normálních zralých sýrů s pH 5,2 až 5,8 používá směs mladších sýrů nebo tvarohu s pH 4,9 až 5,2 a starších sýrů v pokročilém stádiu zrání s pH 5,8 až 6,2. Pro výrobu tavených sýrů jsou vyráběné i přírodní sýry určené jenom pro tento účel. [4,6]

Běžně není možné zahřívat přírodní sýr nad 80 °C, aniž by se směs nerozdělila na tři fáze-vysráženou bílkovinu na dně, vodní fázi ve střední části a volný tuk na povrchu. Abychom tomuto rozdělení zabránili, přidáváme k rozemleté směsi tavící soli. Mechanismus jejich účinku spočívá ve výměně vápníku, vázaného na kasein sýru, za sodík. Ten umožňuje vazbu vody na bílkovinu, vzniká homogenní hmota, která váže vodu i tuk. Tavící soli obsahují jednomocný kation a vícemocný anion. Dnes se používají především sodné soli fosfátů, polyfosfátů a citrátů, většinou ve směsích v množství do 3% (w/w). Určení směsi je závislé na požadovaných vlastnostech výsledného taveného sýru a charakteru surovin. Citrátové soli jsou vhodné zejména k získání lomivé konzistence. Fosforečné soli mohou zajišťovat dobrou roztíratelnost. Polyfosfáty mají velkou schopnost peptizace a ovlivňují krémování tavených sýrů. [12]

Mezi další suroviny patří pitná voda, která upravuje obsah sušiny. Dále pak tvaroh, který slouží jako zdroj kaseinu, snižuje pH vyráběného sýra a zvyšuje obsah tukuprosté sušiny. Máslo zvyšuje obsah tuku. Smetana zjemňuje výsledný výrobek. Do vybraných tavených sýrů se také přidávají látky ovlivňující chuť a barvu. Suroviny přidávané do tavených sýrů jsou uvedeny v tabulce 2.1. [2]

V současné době se tavené sýry vyrábí diskontinuálně nebo kontinuálně. Při diskontinuální přípravě se směs přírodních sýrů smísí s ostatními surovinami a vzniklá směs je použita jako vsádka do tavícího kotle. Diskontinuální příprava tavených sýrů je rozdělena do několika fází: příprava směsi určené k tavení, vlastní proces tavení a balení, chlazení, skladování a expedice.

V první fázi se sýr zbaví nežádoucího povlaku (kůrky, vosku, mazu) a odstraní se poškozená místa. Takto připravená surovina se rozřeže a pomele. Poté je rozmělněná směs dopravena k tavicímu kotlí, kde jsou přidány další suroviny (máslo, tvaroh, tavicí soli apod.), a poté zahájena nejdůležitější část procesu - tavení. Faktory, které ovlivňují tavení, jsou teplota, doba ohřevu a způsob a rychlost míchání. Za sníženého tlaku se v krátkém čase zvýší teplota na tzv. tavicí teplotu. Ta se pohybuje v rozmezí od 80 do 120 °C. Rychlost míchání se pohybuje od 60 do 150 min⁻¹ a doba ohřevu sýrové směsi trvá přibližně 5 minut. Záleží na požadované konzistenci finálního výrobku. Pro roztíratelné sýry se aplikují vyšší teploty, delší doba tavení a intenzivnější míchání. Po několika minutách se směs stává homogenní a nadbytečná voda se podtlakem odstraní. Čím kratší je doba záhřevu, tím lépe se zachová světlá barva a původní aroma. [2, 3, 6, 12]

Látky labilní při vysokých teplotách se přidávají po tavicím procesu a 1 až 2 minuty se míchají. Poté je směs homogenizována pro lepší zpevnění struktury, postupně ochlazena a tekutá porcována. Nejvhodnějším obalovým materiálem je zatím převážně dokonale pevná, vláčná a oboustranně impregnovaná hliníková fólie o tloušťce 0,0012 až 0,0015 mm. V České republice se tavené sýry nejčastěji balí do obdélníkových nebo trojúhelníkových forem. Zabalený sýr se skladuje při teplotě 4 až 8 °C. [5, 12]

2.1.3 Dělení tavených sýrů

Tavené sýry můžeme rozdělit podle použité suroviny, konzistence, obsahu tuku v sušině, podle příchutí a přísad. Podle obsahu tuku v sušině rozdělujeme tavené sýry na [12]:

- Vysokotučné- tavené sýry s obsahem tuku v sušině 60 % a více
- Plnotučné- tavené sýry s obsahem tuku v sušině 45-55 %
- Polotučné- tavené sýry s obsahem tuku v sušině 30- 45 %
- Nízkotučné- tavené sýry s obsahem tuku v sušině 30 % a méně.

Podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. jako nízkotučný lze označit tavený sýr s obsahem tuku v sušině nejvýše 30 % hmotnostních. Jako vysokotučný lze označit tavený sýr s obsahem tuku v sušině nejméně 60 % hmotnostních.

Podle této vyhlášky rozdělujeme tavené sýry podle použité suroviny na druhově pojmenované a druhově nepojmenované.

- Druhově pojmenované tavené sýry - u těchto sýrů není možné použít jiné mléčné složky než sýr, máslo, máselný tuk, smetanu a máselný koncentrát.
- Druhově nepojmenované tavené sýry - do těchto sýrů lze zahrnout i ostatní mléčné složky, ale obsah laktosu může být ve finálním výrobku nejvýše 5 %.

Druhově pojmenované i druhově nepojmenované tavené sýry mohou obsahovat jedlou sůl, bakteriální kultury a zdravotně nezávadné enzymy se specifickými účinky. U obou skupin nesmí být použity cukry, tj. sacharidy se sladícím účinkem. Ostatní zdravotně nezávadné potraviny mohou být použity pouze v množství nepřekračující jednu šestinu celkového obsahu sušiny v konečném výrobku a za předpokladu, že mají dodávat pouze charakteristickou chuť a že se nejedná o cukry.

Dále tato vyhláška rozeznává kromě tavených sýrů tavené sýrové výrobky, kde není omezení pro laktosu, cukry, ani ostatní zdravotně nezávadné potraviny a platí pouze, že 51% hmotnosti sušiny musí pocházet ze sýra. [1]

Guinne a kol. uvádí následující rozdělení vyráběných tavených sýrů [2]:

- Pasteurized blended cheese (možný český ekvivalent: pasterovaný sýr) – základní suroviny: sýr, smetana, bezvodý mléčný tuk, sušená smetana, voda, sůl, potravinářské barvivo, koření a aroma (jiné než má sýr, kouřový extrakt), inhibitor plísně. Konečný produkt je ve tvaru plátku nebo bloku ve spotřebitelském balení.
- Pasteurized processed cheese (možný český ekvivalent: pasterovaný tavený sýr) - základní složení je stejné jako u pasterovaného sýru, ale může obsahovat další přísady: tavicí soli a organické kyseliny (např. kyselina mléčná, octová a citrónová) pro úpravu pH konečného produktu.
- Pasteurized processed cheese foods (možný český ekvivalent: pasterované tavené sýrové produkty) - základní složení je stejné jako u pasterovaného taveného sýra, ale může obsahovat další mléčné suroviny (mléko, smetana, podmásli, sýr, syrovátkový protein – tekutý nebo sušený).
- Pasteurized processed cheese spread (možný český ekvivalent: pasterovaná tavená sýrová pomazánka) - základní složení je stejné jako u pasterovaného taveného sýra, ale přidávají se ještě hydrokoloidy (např. želatina, karboxymethylcelulosa, karagenan) a sladidla (např. cukr, dextrosa, kukuřičný sirup, glukosový sirup, hydrolyzovaná laktosa).
- Pasteurized cheese spread (možný český ekvivalent: pasterované sýrové pomazánky) základní složení je stejné jako u pasterovaných tavených sýrových pomazánek, ale při výrobě není dovoleno použití tavicích solí.

2.1.4 Význam tavených sýrů ve výživě

Tavené sýry mají díky použité zvýšené teplotě při tavení a přidavku tavicích solí poněkud nižší výživovou hodnotu oproti přírodním sýrům. Teploty nad 80 °C mohou způsobovat inaktivaci některých vitamínů a snížení biologické aktivity bílkovin, které kolísají v závislosti na výši použité teploty a době jejího působení.

Údaje o využitelnosti vápníku z tavených sýrů se liší. Některé zdroje uvádějí stejnou využitelnost jako v mléce nebo v přírodních sýrech, obecně se však vápník, vázaný na mléčnou bílkovinu, považuje za nejlépe využitelnou formu. Při výrobě tavených sýrů se vápník váže na fosforečnan nebo na citrát. Takto vázaný vápník je pro tělo špatně vstřebatelný. Dalším důvodem horší využitelnosti vápníku z tavených sýrů je zvýšený obsah fosforu přidavkem tavicích solí. Optimální poměr Ca:P je 1,3-2:1. V přírodních sýrech je tento poměr velmi příznivý (1,3-1,6:1) na rozdíl od tavených sýrů, kde je poměr nepříznivý (0,6-0,7:1). Špatný poměr Ca:P může zhoršovat tvorbu a obnovu kostí a zubů.

Řada tavených sýrů má poměrně vysoký obsah tuku. Pokud sníme 50 g taveného sýra o tučnosti 70% tuku v sušině, zkonsumujeme zhruba 17 g tuku, což je zhruba čtvrtina denní doporučené dávky tuku pro průměrného člověka. Negativní působení tuků spočívá v jejich vysoké spotřebě a nesprávné skladbě. Z hlediska výživy je skladba mastných kyselin v tucích důležitá, požadovaný poměr mezi nenasycenými, monoenoovými a polyenoovými mastnými

kyselinami je 1:1,4:0,6. Tavené sýry jako potraviny živočišného původu obsahují cholesterol, který je stejně jako vysoký příjem tuku, zejména živočišného původu, rizikovým faktorem při vzniku nemocí srdce a cév. Se stoupajícím obsahem tuku roste i obsah cholesterolu. Sýr s obsahem 70% tuku v sušině obsahuje kolem 100 mg cholesterolu ve 100 g. Denní příjem cholesterolu by neměl překročit 300 mg.

Tavené sýry jsou také významným zdrojem sodíku. Příjem sodíku prostřednictvím kuchyňské soli a výrobků, které ji obsahují je u nás zhruba dvojnásobný. Doporučený denní příjem sodíku se pohybuje v rozmezí 575- 3500 mg/ den. Podle analýz Výzkumného ústavu mlékárenského obsahují tavené sýry 751-1347 mg sodíku ve 100 g sýra, což je množství, které není ve srovnání s doporučenou denní dávkou zanedbatelné.

Tavené sýry také obsahují v malém množství laktosu a vitamíny (retinol, thiamin, riboflavin, niacin a nikotinamid). [5, 7]

Tab. 2.1 Ingredience používané při výrobě tavených sýrů [2]

Typ ingredience	Hlavní funkce/efekt	Příklady
Mléčné produkty Mléčný tuk	Standardizace hmoty- žádoucí složení a struktura Přispívají k celkovému chuťovému efektu a textuře	Smetana, bezvodý mléčný tuk, dehydratovaná smetana, máslo
Mléčné proteiny	Standardizace hmoty- žádoucí složení a struktura Podpora emulgace a formování produktu	Kasein, kaseináty, syrovátkový protein, sušená smetana
Laktosa	Levné plnivo, vliv na texturu	Sušená syrovátka, sušená smetana
Sýrový základ	Náhrada za mladé sýry Podobné vlastnosti jako mléčné proteiny	Mléčná sušina
Stabilizátory Emulsifikační soli	Asistují při vytváření fyzikálně-chemické stability, působí na strukturní a funkční vlastnosti	Sodné citráty a fosfáty
Hydrokoloidy	Zvyšují stabilitu produktu, ovlivňují strukturní a funkční vlastnosti	Karagenany, jedlé gummy (xanthanová, arabská), karboxymethylcelulosa
Kyseliny	Kontrola pH finálního produktu	Organické kyseliny (mléčná, octová, citrónová, fosforečná)
Příchutě a jejich zvýrazňovače	Udělení chuti, zdůraznění chuti	Enzymově modifikované sýry, extrakty z kouře, kvasnicové extrakty, NaCl, koření
Příchutě	Ovlivnění vzhledu, chuti, struktury Produktové rozlišení	Preparáty z masa, ryb, zeleniny, oříšků a ovoce
Sladící činidla	Přidávají sladkost, zvláště u výrobků určených pro děti	Sacharosa, dextrosa, kukuřičný sirup, hydrolyzovaná laktosa
Barviva	Propůjčují žádoucí barvu	Annato, paprika, syntetická barviva
Konzervační činidla	Prodlužují trvanlivost, omezují růst plísní	Nisin, sorbany, propionát sodný, vápenatý

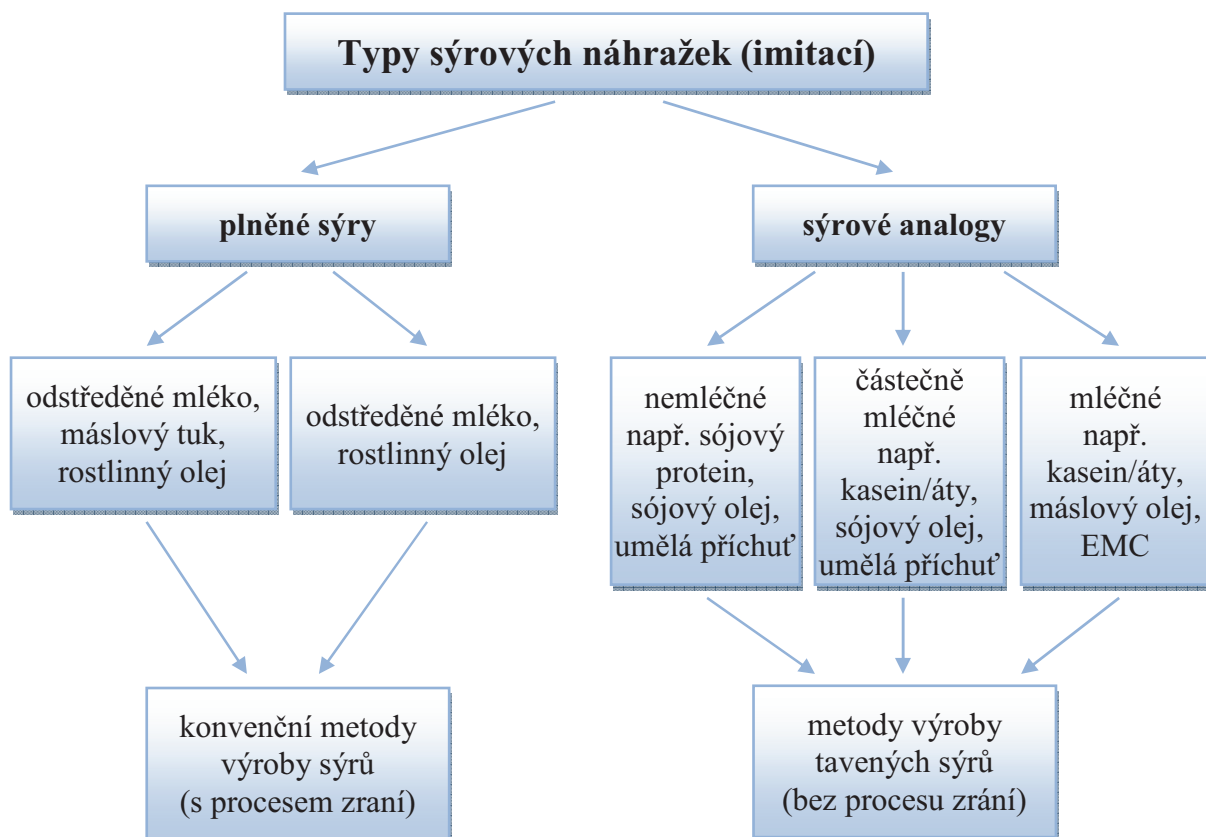
2.2 Sýrové analogy

2.2.1 Obecná charakteristika a klasifikace

Sýrové analogy jsou náhražky přírodních sýrů. Při jejich výrobě je mléčný tuk, mléčná bílkovina nebo obojí částečně nebo zcela nahrazena nebílkovinnou složkou, zejména rostlinného původu. [2]

Sýrové analogy jsou levnější než přírodní produkty, a to díky použití rostlinných tuků místo mléčných, a také díky nižší prodejní ceně kaseinů a kaseinátů mimo Evropskou Unii než ekvivalentní množství kaseinu v syrovém mléku. [9]

Sýrové náhražky se vyrábějí dvěma různými postupy. V první postupu je tekuté mléko zpracováno běžnými sýrařskými metodami. Produkty vyrobené tímto způsobem bývají uváděny jako plněné sýry. Druhý typ je vyráběn mícháním různých surových materiálů za použití podobných postupů jako při výrobě tavených sýrů. Tyto produkty se označují jako sýrové analogy. Při výrobě sýrových analogů jsou použity tukové a/ nebo proteinové zdroje jiné než z přírodního mléka, spolu s napodobením příchutí co nejvíce připomínající přírodní sýry. [10]



Obr 2.1 Odlišné typy sýrových náhražek [9]

Sýrové analogy mohou být rozděleny na mléčné, částečně mléčné a nemléčné, kde tuk a/ nebo proteiny jsou z mléčných nebo rostlinných zdrojů. Nejčastěji se vyrábějí částečně mléčné sýrové analogy, u kterých je mléčný tuk nahrazen rostlinným olejem, např. sojovým,

palmovým nebo řepkovým a protein má mléčný základ, obvykle se používá rennet kasein a/ nebo kaseináty. Skupina nemléčných sýrových analogů, kde je tuk i protein nahrazen rostlinnými surovinami nemá téměř žádný komerční význam. Mléčné analogy nejsou produkovány ve velkém množství kvůli jejich cenové náročnosti. (Obr. 2.1) [2]

Sýrové analogy se mohou dále rozdělovat na základě výživové hodnoty. V USA se za sýrové imitace považují produkty, které se podobají jiným sýrům, ale mají nižší výživovou hodnotu. Horší výživová hodnota je způsobena sníženým obsahem esenciálních látek, kromě tuků. Kalorická hodnota zůstává zachována. Naproti tomu sýrové substituty jsou definovány jako produkty, které napodobují jiné sýry a nemají sníženou výživovou hodnotu. Další sýrům se podobající produkty, které mohou být klasifikovány jako sýrové náhražky nebo imitace jsou Tofu a plněné sýry. [2]

2.2.2 Suroviny vhodné pro výrobu sýrových analogů

Suroviny používané při výrobě sýrových analogů jsou uvedeny v tabulce 2.2.

2.2.2.1 Tuky

Tuky dávají sýrovým analogům žádoucí složení, texturu a tavící vlastnosti. U sýrových analogů je snaha redukovat obsah mléčného tuku a nahradit jej rostlinnými oleji. Finální výrobek má nižší cenu, zvýšený obsah nenasycených mastných kyselin a snížený obsah cholesterolu. [2]

Sýrové analogy se sníženou kalorickou hodnotou a sníženým obsahem živočišných tuků se vyrábějí s použitím nestravitelné nebo málo stravitelné tukové substance. Mezi nejčastěji používané nízkokalorické tukové materiály patří polyestery polyolů mastných kyselin, cukr a cukerné alkoholy. Vyrábějí se i sýrové analogy s téměř nulovým obsahem tuku. Celkový obsah tuku je nižší než 0,5 %. [10]

Mezi nejčastěji používané tuky při výrobě sýrových analogů patří máslo, sušený mléčný tuk, přírodní nebo částečně hydrogenovaný sojový olej, kukuřičný olej a palmový olej. [2]

Tab. 2.2 *Ingredience používané při výrobě sýrových analogů* [2]

Typ ingredience	Hlavní funkce/efekt	Příklady
Tuky	Dávají žádoucí složení, struktura a tavící charakteristiky, máslový olej předává mléčnou příchut'	Máslo, sušený mléčný tuk, přírodní nebo částečně hydrogenovaný sójový olej, kukuřičný olej, palmový olej
Mléčné proteiny	Dávají žádoucí složení, polotvrdou strukturu, dobrou drobivost, tekoucí a natahovací charakteristiky při zahřívání, napomáhají při vytváření fyzikálně- chemické stability	Kasein, kaseináty, syrovátkový protein
Rostlinné proteiny	Dávají požadované složení, nízké náklady na kasein, komerčně používány zřídka kvůli poškození produktu	Sojový protein, protein z burského oříšku, pšeničný protein
Škroby	Nahrazují kasein, snížení nákladů	Přírodní nebo modifikované formy škrobu z kukuřice, rýže, brambor
Stabilizátory Emulsifikační soli	Napomáhají při vytváření fyzikálně-chemické stability, působí na strukturní a funkční vlastnosti	Sodné citráty a fosfáty
Hydrokoloidy	Zvyšují stabilitu produktu, ovlivňují strukturní a funkční vlastnosti	Karagenany, jedlé gumy (xanthanová, arabská), karboxymethylcelulosa
Kyseliny	Kontrola pH finálního produktu	Organické kyseliny (mléčná, octová, citrónová, fosforečná)
Příchutě a jejich zvýrazňovače	Udělení chuti, zdůraznění chuti	Enzymově modifikované sýry, extrakty z kouře, kvasnicové extrakty, NaCl, koření
Sladící činidla	Přidávají sladkost, zvláště u výrobků určených pro děti	Sacharosa, dextrosa, kukuřičný sirup, hydrolyzovaná laktosa
Barviva	Propůjčují žádoucí barvu	Annato, paprika, syntetická barviva
Konzervační činidla	Prodlužují trvanlivost, omezují růst plísní	Nisin, sorbany, propionát sodný, vápenatý
Minerální a vitamínové přípravky	Zlepšují nutriční hodnotu	MgO, ZnO, Fe, vitamín A, B ₂ , B ₁ , B ₁₀

Mléčný tuk

Mléko obsahuje průměrně 3,7 až 4,1 % tuku. Mléčný tuk je významným zdrojem energie, vitamínů, podílí se na výstavbě buněčných membrán a uděluje organoleptické vlastnosti výrobku. Obsahuje velké množství lipidů s malou molekulovou hmotností a mastné kyseliny s krátkými řetězci. Díky tomu je velmi dobře stravitelný. Hlavní složku mléčného tuku představují triacylglyceroly. Dále jsou v mléčném tuku přítomny diacylglyceroly, monoacylglyceroly, volné mastné kyseliny, fosfolipidy, steroly a v tucích rozpustné vitamíny. [11, 13]

Tab. 2.3 Složení mléčného tuku [13]

Lipid	[%]	[g/l]
Triacylglyceroly	95,8	30,7
Diacylglyceroly	2,25	0,72
Monoacylglyceroly	0,08	0,03
Volné mastné kyseliny	0,28	0,09
Fosfolipidy	1,11	0,36
Cholesterol	0,46	0,15
Estery cholesterolu	0,02	0,006

Vlastnosti mléčného tuku ovlivňuje kyselina myristová, palmitová, stearová a olejová. Kyselina palmitová a olejová jsou nejvíce zastoupeny v mléce i v tukovém podílu krve a jsou hlavním zdrojem energie pro srdeční sval. Typický je i vysoký podíl nízkomolekulárních mastných kyselin (máselná, kapronová, kaprylová), které se podílí na výsledné charakteristické vůni a chuti mléčného tuku. Mléčný tuk obsahuje také malé množství esenciálních mastných kyselin (linolová, linolenová). [8, 11]

Doprovodnými látkami tuků jsou fosfolipidy, cerebrosidy a hlavně steroly. Okolo 60 až 65 % mléčných fosfolipidů je lokalizováno v membráně tukových kuliček. Tyto látky jsou součástí všech buněk, zvláště nervových tkání. Největší podíl (28 % fosfolipidů) tvoří lecitin, který je antagonistou cholesterolu, pomáhá stabilizovat poměr mezi frakcemi LDL a HDL lipoproteinů, přispívá k prevenci onemocnění jater a stimuluje nervový systém. Nejdůležitějším steroidem v mléčném tuku je cholesterol, v menší míře se vyskytuje ergosterol (prekurzor vitamínu D) a tokoferoly (vitamín E). [8,11]

Sušený mléčný tuk je prášek získaný z mléka, smetany nebo másla obsahující více než 99,3 % hmotnostních mléčného tuku. Obsah vlhkosti nižší než 1 % umožňuje dlouhou trvanlivost, při vhodném zabalení může být skladován i několik měsíců při pokojové teplotě. [1, 8]

Rostlinné tuky

Nejčastěji se při výrobě sýrových analogů používá sojový, arašídový, bavlníkový, kukuřičný, palmový a kokosový olej a slouží jako náhražka za mléčný tuk.

Sojový olej se vyrábí ze sojových bobů, jejich olejnatost je 20 až 23 %. Nejvíce zastoupené mastné kyseliny v tomto oleji jsou kyselina linolová (56%), olejová (21 %), palmitová (10 %),

linoleová (8 %) a stearová (4 %). Tradičně se parciálně katalyticky hydrogenuje pro získání tuků vhodné konzistence.

Arašídový olej se vyrábí ze semen podzemnice olejné. Olejnatost semen se pohybuje okolo 47 %. Nejvíce obsahuje kyselinu olejovou (59 %), dále pak kyselinu linolovou (20 %) palmitovou (10 %), stearovou (3,5 %) a v menším množství kyselinu arachovou, behenovou a linolenovou.

Palmový olej se získává z dužiny plodů palmy olejné. Obsahuje 45 % kyseliny palmitové, 38 % kyseliny olejové, 8 % kyseliny stearové, a 8 % kyseliny linolové.

Bavlníkový olej se získává ze semen bavlníku. Olej obsahuje nejvíce kyselinu linolovou (58 %), palmitovou (25 %) a olejovou (18 %). V menší míře kyselinu stearovou a linolenovou.

Kokosový olej obsahuje nejvíce kyselinu laurovou (45 %) a dále pak kyseliny kaprylovou, kaprinovou a myristovou.

Použití rostlinných olejů dává sýrům konsistenci, která je vhodná pro určité aplikace. Např. sójový tuk uděluje sýrovým analogům tvrdost a adhezivitu, ale snižuje jejich kohezivitu a pružnost. Rostlinné tuky neobsahují na rozdíl od mléčných tuků cholesterol, a pokud není přidán během výroby máslový olej, vznikají sýry, které neobsahují cholesterol. [10, 12, 14]

2.2.2.2 Mléčné proteiny

Mezi nejčastější zdroje mléčných proteinů při výrobě sýrových analogů patří kasein, kaseináty a syrovátkový protein. [2]

Kasein

Kasein je hlavní bílkovinou mléka, se kterou se jinde v přírodě nesetkáme. Je obsažen ve všech druzích mléka. Kravské mléko obsahuje 300 krát více kaseinu než mléko lidské. Kaseiny členěné na alfa-, beta-, kappa- tvoří více než 75 % z celkových 30 - 40 g bílkovin v 1 l mléka. Frakce kaseinu jsou spolu vázány do micel. Tyto micely obsahují kromě kaseinových frakcí vápník, hořčík, fosfáty a citráty. [14]

Kasein získáváme z mléka srážením za použití technologických pomocných látek, promýváním a sušením. Podle použitého způsobu srážení můžeme kasein rozdělit na kyselý, při jehož výrobě byly na srážení mléka použity kyseliny (sírová, mléčná) a na sladký (rennet kasein), kdy se mléko sráželo syřidlem na bázi chymozinu a pepsinu. Rennet kasein uděluje sýrovým analogům lepší lepivost a roztažnost. [8, 14, 15]

Kaseináty

Kaseináty jsou rozpustné formy kaseinu s vlhkostí okolo 5 %. Vyrábí se rozpuštěním kaseinu v různých zásadách, solích nebo kyselinách. Na trhu se nejčastěji setkáváme s kaseináty vápenatými a sodnými ve formě prášku. Mají dobré emulgační vlastnosti, které jsou způsobeny, ve vodě rozpustnou, fosfátovou skupinou kaseinátu umístěnou na jednom konci proteinu a na druhém konci nepolární, v tucích rozpustnou částí. Dále pak mají vysokou vaznost vody, dobrou pěnivost a vysokou nutriční hodnotu. [8, 11]

Kaseináty jsou používány hlavně v roztíratelných sýrových analogích. Vlastnosti finálního výrobku sýrového analogu se liší podle druhu použitého kaseinátu. Při použití kaseinátu sodného na místo kaseinátu vápenatého, mají sýrové analogy vyšší pH, nižší pevnost, zvýšený stupeň emulsifikace a kaseinové disociace. [10]

Syrovátkový protein

Syrovátka je vedlejší produkt při výrobě sýrů, tvarohů a kaseinů. Syrovátkové bílkoviny získáváme ze syrovátky ultrafiltrací, při které se odstraní nízkomolekulární složky (laktosa, minerální látky) nebo okyselením a následným zahřáním na 90 °C. V syrovátkové bílkovině jsou nejvíce zastoupeny β -laktoglobulin a albuminy (α -laktalbumin, sérový albumin). Syrovátkové bílkoviny mají využití jako doplňky stravy, hlavně pro sportovce, protože obsahují stoprocentně stravitelné bílkoviny a esenciální aminokyseliny. [3]

2.2.2.3 Rostlinné proteiny

Rostlinné proteiny nahrazují částečně nebo úplně kasein. Nejčastěji se používají proteiny izolované ze sóji, z burského oříšku nebo z hrachu. Tyto proteiny jsou nižší jakosti, při jejich použití dochází k běžným vadám, mezi které patří snížená elasticita, přilnavost, zhoršená tekutost a roztažnost. [8,10]

Sójové proteiny se liší od mléčných proteinů ve velikosti (jsou mnohem větší) a chemické struktuře molekuly (neobsahují fosfoproteiny), což ovlivňuje výsledné vlastnosti sýrových analogů. Pro zlepšení vlastností se využívají různé modifikace s proteasami. [10]

2.2.2.4 Škroby

Škrob je zásobní polysacharid rostlin, uložený v nerozpustných micelách (škrobová zrna, škrobové granule). Skládá se ze dvou polymerů - amylosy a amylopektinu, obvykle v poměru 1:3. Amylosa je ve vodě rozpustná. Její základ tvoří glukosové jednotky spojené v lineární řetězce. Amylopektin je ve vodě nerozpustný. Má větvenou strukturu složenou z glukosových jednotek. [16]

Modifikované škroby vznikají z nativních škrobů úpravou jejich nežádoucích vlastností (nerozpustnost škrobových zrn ve studené vodě, vysoká viskozita škrobových mazů, gumovitá a kohezní struktura výrobků). [17]

Přírodní i modifikované škroby slouží v sýrových analogích jako částečná nebo úplná náhrada za kasein. Komerčně se nejčastěji využívá kukuřičný škrob, v menším množství škrob bramborový, pšeničný a rýžový. Škroby se obvykle používají 2-4 % (w/w), aby nahradily přibližně 10-15 % celkového kaseinu. Produkty připravené nahrazením celkového kaseinu, měly téměř nulovou tavitelnost. Druh použitého škrobu a obsah amylosy rozhoduje o výsledných vlastnostech sýrového analogu. Škroby, které mají vysoký obsah amylosy (kukuřičný, bramborový a pšeničný) zvyšují pevnost a křehkost, na druhou stranu způsobují horší roztíratelnost a tavitelnost sýrových analogů. Škroby s nízkým obsahem amylosy (rýžový škrob) redukují tvrdost. [20, 21]

V tabulce 2.4 jsou ukázány rozdíly ve složení sýrových analogů při použití různých škrobů.

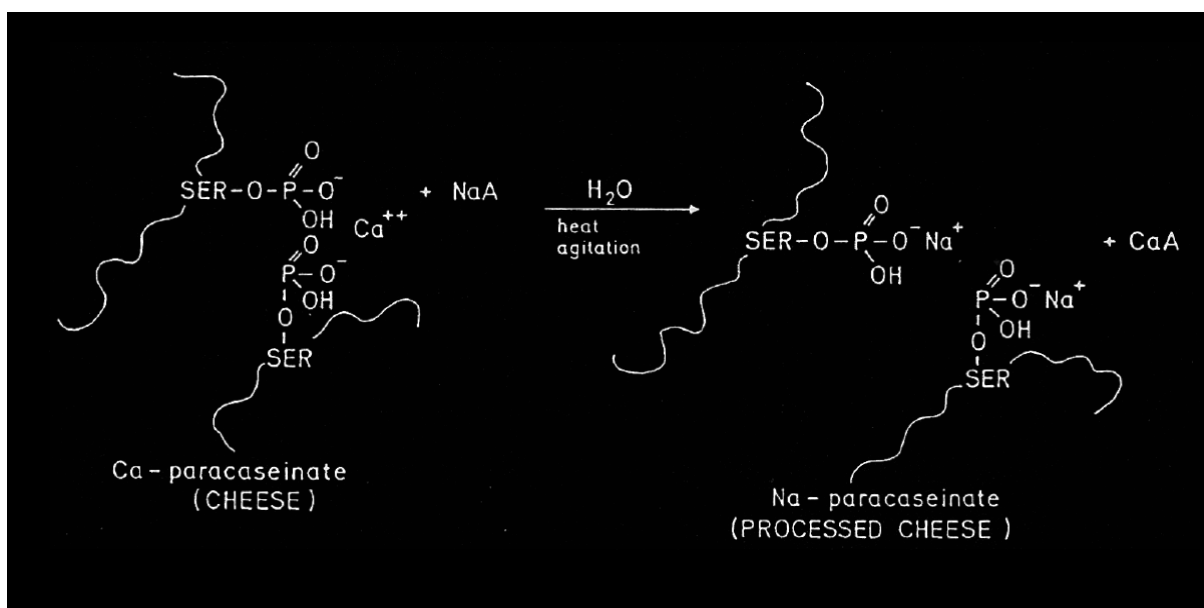
Tab. 2.4 Složení sýrového analogu nízkovlhkostní Mozzareilly s a bez obsahu škrobu [8]

Složení	Analog nízkovlhkostní Mozzareilly		
	Bez škrobu	S bramborovým škrobem	S kukuřičným škrobem
Vlhkost (% w/w)	49,6	50,8	50,1
Tuk (% w/w)	28,0	25,5	26,5
Protein (% w/w)	16,8	14,6	14,1
Ca (mg/g proteinu)	32,6	33,1	33,8
P (mg/g proteinu)	24,4	27,1	26,4
Přidaný škrob (% w/w)	-	34,8	5,1

2.2.2.5 Tavicí soli

Pro zabránění separace fází se při výrobě sýrových analogů používají stejně jak u tavených sýrů tavicí soli, které upravují podmínky rozpouštění bílkoviny a zamezují jejich srážení. Vyhláška č. 304/2004 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných a pomocných látek, definuje tavicí soli jako látky, které mění vlastnosti bílkovin při výrobě tavených sýrů za účelem zamezení oddělování tuku. [12, 18]

Úlohou tavicích solí je upravit prostředí tavené směsi tak, aby přítomné proteiny (kaseiny) mohly uplatnit svou přirozenou vlastnost emulgátorů. Kaseinový komplex není ve vodě rozpustný a tvoří koloidní roztoky. Jednotlivé frakce kaseinu mají nepolární segmenty blíže karboxylovému konci a polární segmenty blíže aminovému konci. Tato struktura předurčuje jednotlivé frakce kaseinů jako přirozené emulgátory. Jejich schopnost je v sýru potlačena přítomností vápenatých mŕstvků zesilujících matrici sýra. Rozpustnost kaseinu ve vodě se zvýší výměnou iontů vápníku za sodík. [2]



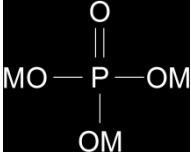
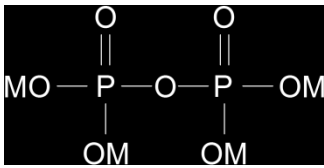
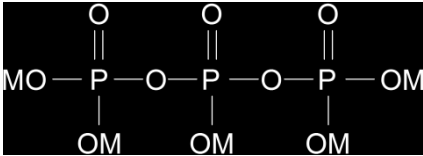
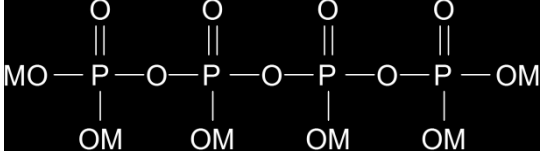
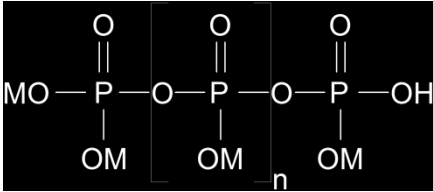
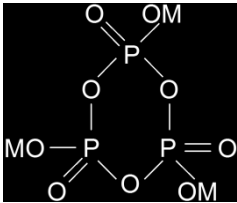
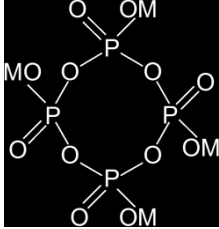
Obr 2.2 Výměna Ca^{2+} iontů za Na^+ iontů při výrobě tavených sýrů [19]

Tavící soli se podílejí na hydrataci proteinů, emulsifikaci tuků, čímž přispívají ke stabilitě emulze, kontrolují a stabilizují pH a významně ovlivňují tvorbu struktury po zchlazení. [14]

Nejčastěji se používají jako tavící soli sodné citráty, orthofosfáty a polyfosfáty. Potenciálně se dají použít glukonáty, laktáty, maláty a amonné soli. [2]

Určení směsi tavících solí závisí na charakteru přírodního sýru (druh, stupeň prozrálosti), na ostatních přidávaných surovinách, na pH a na výsledné konzistenci finálního produktu. Také se musí zohlednit typ výrobního zařízení, balicí technika a způsob chlazení. Důležité je také dodržet správné množství. Předávkování může mít za následek jinou než požadovanou konzistenci a negativní změny v chuti. [19]

Tab. 2.5: Struktura odlišných fosfátů používaných při výrobě sýrových analogů (M:Na, K) [2]

Skupina	Struktura
<p>monomery, orthofosfáty kyselina fosforečná dihydrogenorthofosforečnan draselný hydrogenfosforečnan didraselný orthofosforečnan tridraselný dihydrogenorthofosforečnan sodný hydrogenfosforečnan sodný orthofosforečnan trisodný</p>	
<p>polymery, lineární polyfosfáty difosforečnan tetradraselný difosforečnan disodný difosforečnan trisodný difosforečnan tetrasodný</p> <p>trifosforečnan pentadraselný trifosforečnan pentasodný</p> <p>tetrapolyfosforečnan sodný</p> <p>hexamethafosforečnan sodný (grahamová sůl) rozpustné polyfosforečnany sodné</p> <p>nerozpustné polyfosforečnany sodné (Madrellova sůl)</p>	    <p style="text-align: center;">$M_{(n+2)}P_3O_{(3n+1)}$</p>
<p>cyklické polyfosfáty trimetafosforečnan sodný</p> <p>tetrametafosforečnan sodný</p>	 

2.2.2.6 Hydrokoloidy

Hydrokoloidy jsou látky schopné vázat na sebe vodu a tvořit gely, a tím stabilizovat produkty. Při výrobě sýrových analogů se používají především jedlé gemy (arabská, xantinová, guarová), karagenany, pektiny a karboxymethylcelulosa. Mohou být přidávány v maximálním množství 0,8 % (w/w), obvykle 0,1 až 0,3 % (w/w). Aplikují se pro zpevnění struktury v případě vysokého obsahu vody, ke zlepšení roztíratelnosti a vařících vlastností (tavitelnost, tekutost). [2]

2.2.2.7 Příchutě a jejich zvýrazňovače

Negativní vlastností sýrových analogů bývá jejich chuť, která většinou nedosáhne chuti klasického sýru. Aby se sýrové analogy vyrovnaly svým sýrovým protějškům, musí být v technologickém postupu přidány různé přípravky pro zlepšení a zvýraznění chuti. Tyto přípravky mohou být přírodní nebo syntetické.

Jako přírodní příchutě se používají enzymově modifikované sýry (EMC), které jsou definovány jako koncentrované sýrové příchutě, enzymaticky produkované ze sýrů různého stáří. Hlavními nositeli chuti u EMC jsou volné mastné kyseliny. Např. kyselina máselná způsobuje žluklou a sýrovou chuť, zatímco kaprylová kyselina štiplavou. EMC jsou dostupné v řadě příchutí lišících se v charakteru a intenzitě. Přidáním vhodných enzymů nebo mikroorganismů po tepelném zpracování a umožněním zrání při vhodné teplotě, lze u sýrových analogů dosáhnout téměř jakékoliv chuti. Také se používají přísady proteolytických mikrobů, lipasy nebo jiných příchutěových kultur. [10, 22]

2.2.2.8 Minerální a vitamínové přípravky

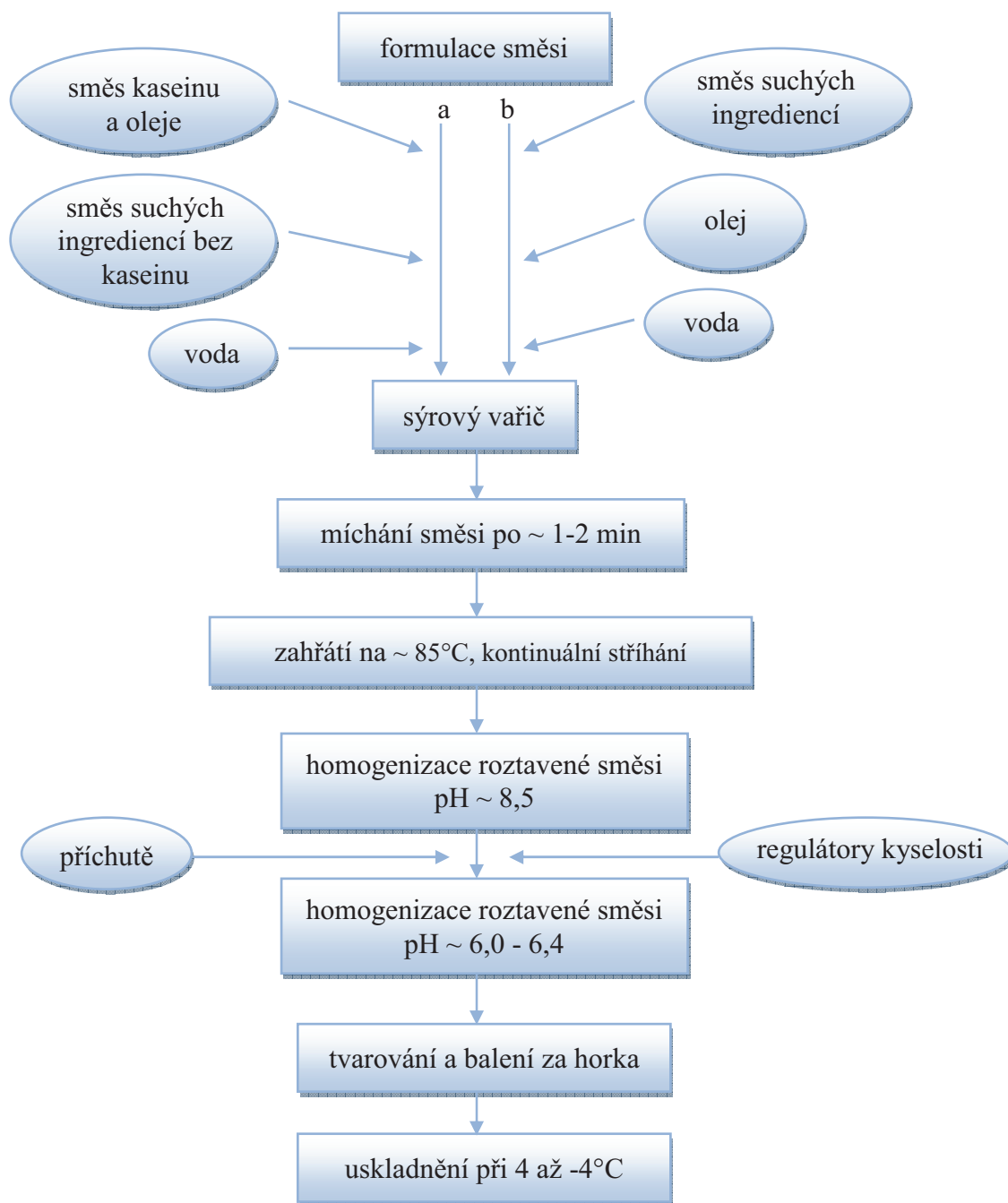
Minerální přípravky (MgO, ZnO, Fe) a vitamíny (A, B₂, B₁, B₁₀) se přidávají v malém množství do analogů tavených sýrů v konečném kroku přípravy, aby zlepšily jejich nutriční hodnotu. [2]

2.2.3 Technologie výroby analogů tavených sýrů

Výrobní technologie analogů tavených sýrů je obdobná jako výroba tavených sýrů. Výrobní postup se u jednotlivých sýrových analogů liší, ale následující kroky jsou pro všechny výroby stejné:

- současné přidání požadovaného množství vody, suchých ingrediencí (tavící soli, kasein) a oleje (asi 90% z celkového množství)
- zahřívání při teplotě ~ 85 °C pomocí přímého vstřikováním páry
- současné stříhání směsi až do vytvoření uniformní homogenní roztavené hmoty (obvykle 5- 8 min)
- přidání příchutěových látek, regulátorů kyselosti a zbytku oleje
- míchání směsi 1- 2 min
- balení za horka
- chlazení a skladování

Schéma výroby nízkovlhkostní Mozzareilly je znázorněno na obr. 3. Odlišné postupy pro přípravu a přidání ingrediencí jsou ukázány jako **a** a **b**. [2, 8]



Obr. 2.3 Typický postup výroby nízkovlhkostní Mozzareilly [2]

2.2.3.1 Formulace směsi

Výběr ingrediencí a výrobní postup je zvolen podle požadované struktury, barvy, vzhledu, chuti a trvanlivosti finálního výrobku. V tab. 2.6 a 2.7 jsou ukázány rozdíly ve formulaci nízkovlhkostního analogu Mozzareilly a analogu Cheddaru. Pořadí přidávaných surovin závisí na hydratačních vlastnostech kaseinu, na typu a množství přidaného škrobu, na výrobním zařízení a na vlastnostech konečného výrobku. [2, 10]

Tab. 2.6 Typická formulace nízkovlhkostního analogu Mozzarely [2]

Surovina	Přidané množství [%, w/w]
Kasein a kaseináty	18-24
Rostlinný olej	22- 28
Škrob	0-3
Emulsifikační soli	0,5- 2
Příchutě a jejich zvýrazňovače	0,5- 3
Stabilizátory	0- 0,5
Kyseliny	0,2- 0,36
Barviva	0,04
Konzervanty	0,1
Voda a kondenzáty	45- 55

Tab. 2.7 Typická formulace směsi analogu Cheddaru [10]

Surovina	Přidané množství [%, w/w]
Kaseinát sodný	13
Kaseinát vápenatý	13
Rostlinný olej	25
Mléčná kyselina	1
Stabilizátory/emulsifikátory	1
Sůl	1,5
Příchutě	1,5
Voda	34
Cheddar	10

2.2.3.2 Předmixování

Při výrobě sýrových analogů se předmixování ingrediencí příliš často nepoužívá. Proces předmixování, zahrnující míchání zahřátého oleje a kaseinu ve vodorovných mixérech, trvá přibližně jednu hodinu.

Díky předmixování se redukuje výrobní čas v tavičce během zpracování, a tím se zvyšuje výkonnost. Další výhodou je, že se zabraňuje bezprostřednímu kontaktu kaseinu a vody, ke kterému dochází při přímém přidávání ingrediencí do vařiče. Znamená to, že se minimalizuje riziko vzniků kousků nerozpuštěného kaseinu v konečném produktu.

Po dokončení předmixování je hotová směs kaseinu a oleje pumpována do vařiče, který obsahuje vodu, emulsifikační soli a další ingredience. [2, 8, 10]

2.2.3.3 Tavení

Jedná se o nejdůležitější fázi výroby tavených sýrů. Největší vliv na tento proces má teplota, doba působení, rychlost míchání a přítomnost tavících solí.

Tavení probíhá v tavičkách, které jsou vybaveny míchadlem, zařízením pro přímý a nepřímý ohřev parou a teploměrem. Pro lepší kontakt mezi emulsifikačními činidly a směsí ingrediencí dochází, při ohřevu parou (u nových zařízení i ohřevu od pláště), k nepřetržitému míchání. Současně s ohřevem se zapíná i vývěva, která vytváří podtlak 0,04 až 0,05 MPa, a tím zkracuje dobu, za kterou se směs ohřeje na danou teplotu. Celková doba tavení, od počátku ohřevu včetně 4 až 5 minut míchání po dosažení požadované teploty $\sim 85^\circ$, je běžně 10 až 15 minut.

Druh zvoleného vařiče má vliv na strukturní vlastnosti finálního produktu a jeho aplikaci. Vařiče, které mají rychlost míchání 250 až 1500 min^{-1} , jsou často využívány pro výrobu náhražek vysokovlhkostních pasterizovaných sýrových produktů. Vysoká rychlost míchání podporuje vysoký stupeň emulsifikace, který u konečného produktu zajišťuje krémový pocit v ústech. Při malých rychlostech míchání (např. 70 min^{-1}) vznikají sýrové analogy, u kterých je vyžadován nízký stupeň tukové emulsifikace. Jedná se o polotvrdé (blokové) sýry, které jsou určeny pro plátkování a strouhání.

Tavení přispívá k rovnoměrnému rozložení všech ingrediencí, rozpuštění emulsifikačních solí, jejich interakci s rennet kaseinem a k následné přeměně vápenatého parakaseinátu na sodný parakaseinát, k rozptýlení tuku na kapénky a vytvoření stabilní emulze oleje ve vodě. Zabraňuje také přítomnosti patogenních sporotvorných mikroorganismů, a tím prodlužuje trvanlivost produktu.

Vzniklá tavenina musí být hladká, lesklá a mít požadovanou viskozitu. Naopak nesmí uvolňovat kapénky tuku, trhat se, ani lepit na obal.

Požadovaných vlastností konečného produktu se dosahuje vhodnou teplotou tavení a dobou výdrže na této teplotě. Čím rychleji se surovina taví, tím rychleji probíhá krémování a vytužování taveniny. [2, 8, 10]

2.2.3.4 Přídavek regulátorů kyselosti a příchutí

Pro zvýšení pH sýrových analogů na hodnotu, která je požadována v konečném produktu se přidávají kyseliny.

V případě, že se kyseliny přidávají na konci výrobního procesu vznikají během zpracování směsi s vysokým pH (~ 8 až 9). Tento postup je žádoucí při výrobě sýrových analogů, kde je hlavní přísadou nerozpustný rennet kasein.

Díky vysokému pH lze lépe, účinkem emulsifikačních solí, oddělit vápník z rennet kaseinu. Jak pH, tak emulsifikační soli zprostředkovávají přeměnu Ca-parakaseinu na Na-parakasein, který váže vodu a emulguje rostlinný olej.

Redukcí pH směsi během zpracování se zvyšuje čas vyžadovaný pro zformování sýrových analogů a pravděpodobně ovlivňuje i jeho vlastnosti (např. pevnost, rozpustnost).

Výsledné pH u roztíratelných tavených sýrů by se mělo pohybovat v rozmezí od 5,8 do 6,0 a u polotuhých a tuhých v rozmezí od 5,6 do 5,7. Tavený sýr s nižším pH má konzistenci pevnější než stejný výrobek s vyšším pH.

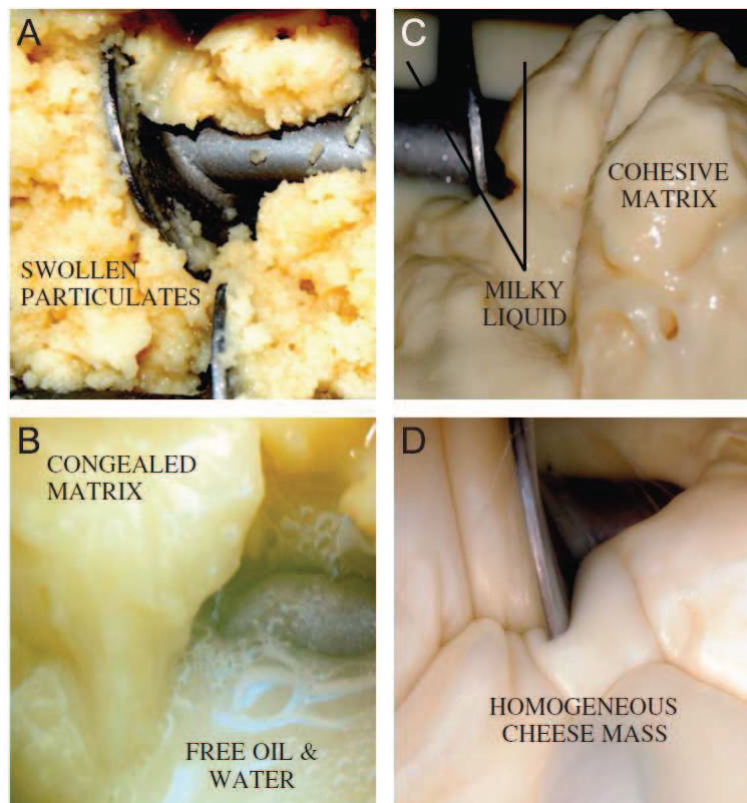
Příchutě se přidávají později, především z toho důvodu, že obsahují aromatické těkavé látky. [2, 8, 10]

2.2.3.5 Homogenizace

Jedná se o mechanickou operaci, která se používá k roztržení tukových kuliček na jemné částice, a tím zabraňuje samovolnému vystupování vrstvy tuku na povrch. Homogenizace má řadu účinků:

- usnadňuje další míchání a redukuje velikost hrubých (např. kůrky) nebo nerozpuštěných částic (např. tavící soli, suché přísady), a tím přispívá k větší homogenitě a hladkosti konečného produktu;
- vede k lepší interakci složek, které jsou v tavenině;
- podporuje jemnější rozptýlení tukových kapiček;
- obecně podporuje zahušťování.

Proces homogenizace zvyšuje výrobní náklady, i náklady na údržbu. Proto se doporučuje zařadit ji do výrobního procesu pouze u směsí s vysokým obsahem tuku. [2, 8, 10]



Obr. 2.4 Makroskopické změny struktury hmoty během přípravy sýrových analogů (A - 6 min, B - 11 min, C - 13 min, D - 18 min výroby) [39]

2.2.3.6 Balení

Tavenina se nalévá do formovacích a balících strojů, které ji automaticky zabalí. Teplota před balením by měla u většiny tavených sýrů poklesnout pod 70 až 65°C, aby nedošlo k poškození konzistence hotového sýra. Po zabalení se opatřují etiketou, vkládají do

kartónových krabic a vychladí. Vyšší teplota při balení zabraňuje mikrobiologické kontaminaci.

Jako obaly se používají sýrařské vosky a parafíny, plastické fólie, nátěrové plastické hmoty a běžný nebo upravený celofán. Sýry mohou být baleny také do laminátových fólií, tub, plechovek, plastových nádob (kelímky, vaničky) nebo do plastových střev (tzv. salámků).

Všechny obalové materiály musí být zdravotně nezávadné a nesmí dodatečně ovlivnit organoleptické vlastnosti sýra, nesmějí propouštět světlo, vzduch, vodní páry, cizí pachy a musí být odolné proti růstu mikroorganismů.

Nejčastěji se pro tavené analogy používají hliníkové obalové fólie ve tvaru trojúhelníků, čtverečků nebo hranolků. Sýry balené v plechovkách a střívkách se používají k uzení, nejčastěji tekutým kouřem. [2, 8, 10]

2.2.3.7 Chlazení a uskladnění

Podle typu taveného analogu se volí i metoda a intenzita chlazení. Sýrové bloky jsou chlazeny pomalu. Naopak chlazení roztíratelného sýra by mělo být co nejrychlejší. Rychlost chlazení má také vliv na výslednou konzistenci sýrů. Čím pomaleji se chladí, tím tužší konzistenci získáme.

Po ochlazení se uskladňují v rozmezí teplot 5 až 10 °C.

Trvanlivost tavených sýrů závisí na kvalitě jak samotného sýra, tak na kvalitě a typu použitého obalu. Sýry vyšší kvality mohou mít trvanlivost i několik měsíců. Jsou-li baleny do plastických fólií, pohybuje se jejich trvanlivost okolo 3 až 4 měsíců. Sýry uložené v konzervách nebo tubách mohou mít trvanlivost i delší. [2, 8, 10]

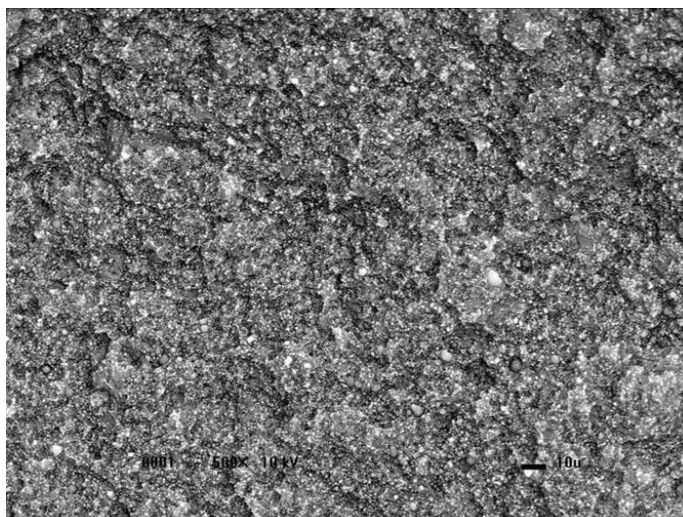
2.2.4 Vlastnosti sýrových analogů

Sýr je komplexní vícefázový koloidní systém. Mikrostruktura sýra závisí na molekulárních interakcích mezi chemickými sloučeninami přítomnými v sýru a dává mu charakteristické vlastnosti. [23]

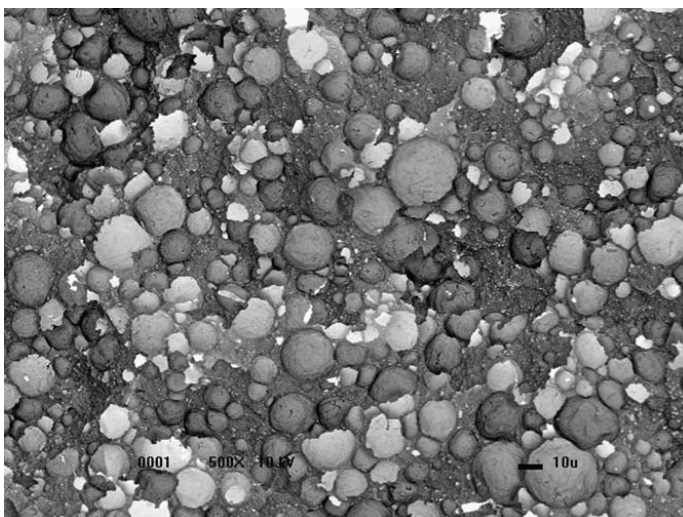
Na obr. 2.5, 2.6 a 2.7 je srovnání mikrostruktury, pomocí skenovací elektronové mikroskopie, taveného sýra a sýrových analogů s různým obsahem hydrogenovaného rostlinného tuku (25% a 50 %). Klasický tavený sýr (obr. 2.5) je tvořen malými částicemi tuku pravidelně rozmístěnými v proteinové matici. Analogy (obr. 2.6 a 2.7) obsahují tukové globule větších rozměrů, méně pravidelně rozmístěné v proteinové matici. Se zvyšujícím se obsahem rostlinného tuku se snižuje počet tukových kuliček a vzrůstá jejich velikost, což má za následek zhoršení emulgace a disperse v hmotě sýra.

Sýrové analogy s obsahem rostlinného tuku 25 % mají menší elasticitu než klasické tavené sýry a analogy s obsahem rostlinného tuku 50 %. Klasické tavené sýry jsou méně tvrdé a přilnavé než sýrové analogy.

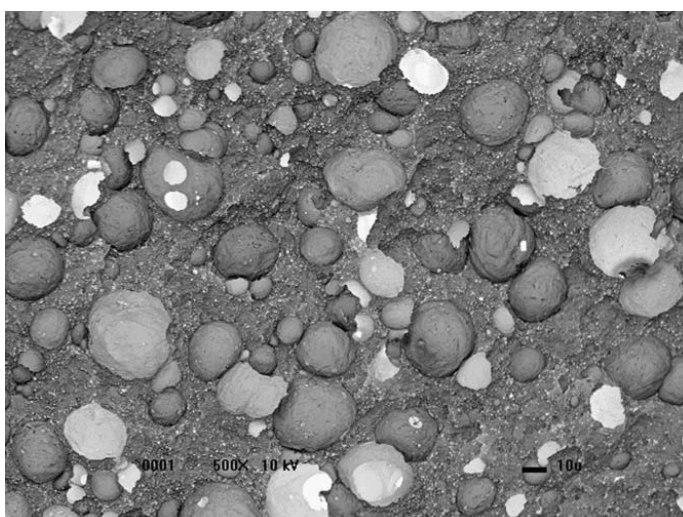
Obsah přidávaného rostlinného oleje má vliv na barvu výsledného produktu. Sýrové analogy s obsahem rostlinného tuku 50 % mají sytější žlutou barvu než klasické tavené sýry. [24]



Obr. 2.5 Klasický tavený sýr [24]



Obr.2.6 Sýrový analog s obsahem hydrogenovaného rostlinného tuku 25 % [24]



Obr.2.7 Sýrový analog s obsahem hydrogenovaného rostlinného tuku 50 % [24]

2.2.5 Srovnání analogů tavených sýrů s klasickými tavenými sýry

Hlavní rozdíl mezi analogy tavených sýrů a klasickými tavenými sýry je ve složení. Klasické tavené sýry obsahují jako hlavní suroviny přírodní sýry, sýrové analogy mléčné nebo rostlinné proteiny, mléčné nebo rostlinné tuky a škroby.

Výrobní proces se příliš neliší. V obou případech je směs surovin rozmělněna, stříhána a zahřívána v homogenní roztavenou hmotu, následně balena za horka a ochlazená.

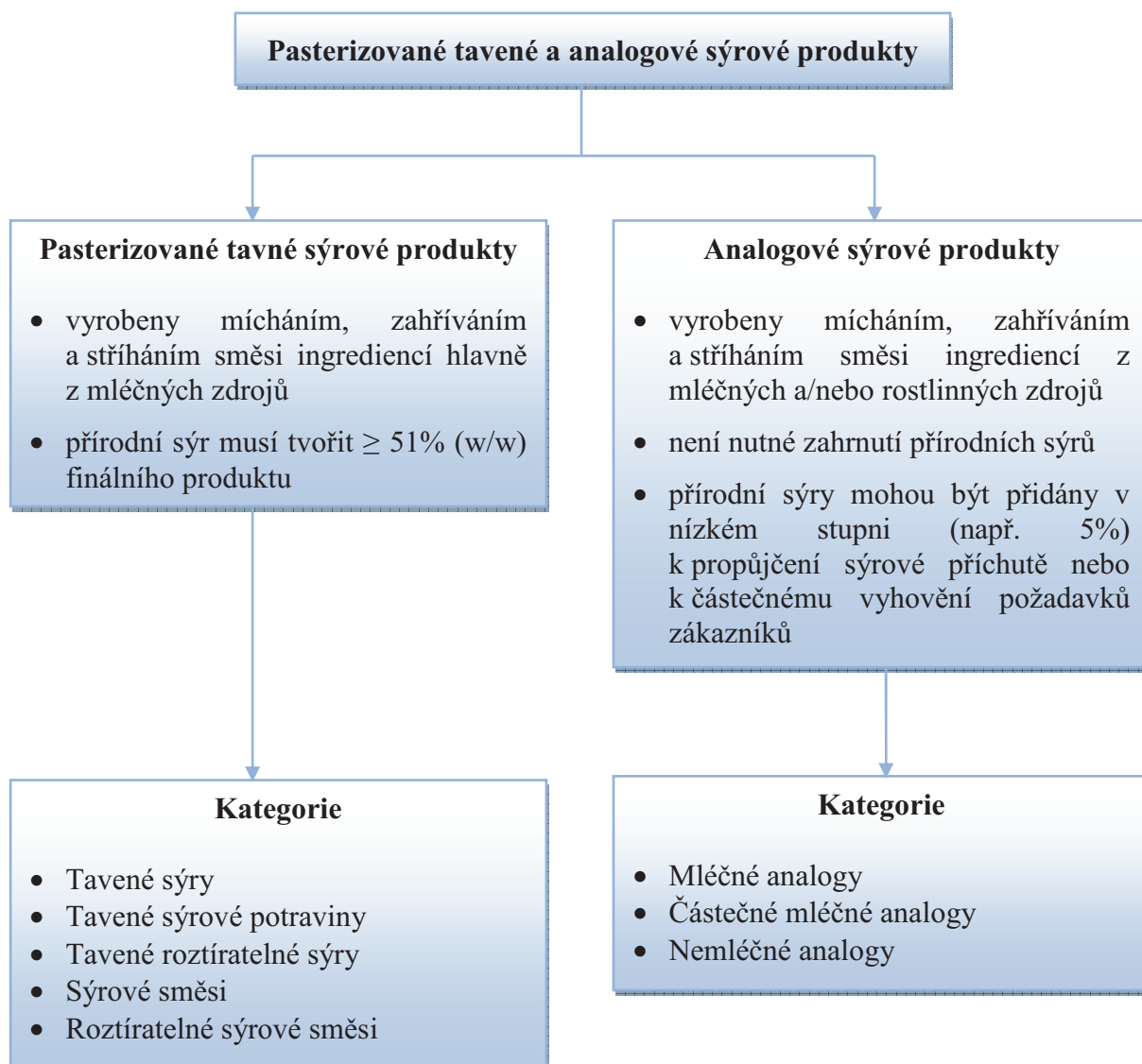
Společné vlastnosti analogů tavených sýrů a klasických tavených sýrů:

- Použití stejných ingrediencí - tavící soli, stabilizátory, nesýrové mléčné ingredience, barviva, příchutě a zvýrazňovače chuti
- Stejná výrobní technologie, zahrnující zahřívání a stříhání směsi, balení za horka, chlazení a skladování
- Stejná mikrostruktura, která je obecně popisována jako emulze oleje ve vodě, stabilizovaná hydratovanými parakaseináty
- Neprobíhá proces zrání
- Rozmanitost v textuře, příchutích, vařících vlastnostech, balících formátů
- Podobné využití
- Alternativní využití přírodních sýrů

Na obr. 2.8 je znázorněno porovnání sýrových analogů s pasterizovanými sýry. [2, 10]

2.2.6 Legislativa

Česká legislativa nezná pojem sýrový analog. Z toho důvodu nesmí být označovány výrobky, ve kterých byla nahrazena nějaká součást mléka (mléčný tuk, mléčná bílkovina, mléčný cukr) jako sýr. Sýrové analogy by měly být označeny na obalu jako potravinový výrobek. Chybné označení nacházíme např. u výrobku Eidam Alternative nebo Nový Eidam, protože Eidame je označení skupiny polotvrdých sýrů holandského typu. [25]



Obr. 2.8: Kategorie sýrových analogů a pasterizovaných tavených sýrů [2]

2.2.7 Možnosti a důvody použití sýrových analogů

Novodobým trendem v mlékárenství se stala výroba analogů mlékárenských výrobků, neboli substitutů, náhražek, imitací. Tento trend byl vyvolán snahou nabídnout maloobchodu výrobek za výhodnější cenu a tedy snahou některých výrobců o náhradu původní mléčné suroviny levnějšími ingrediencemi nebo alespoň některé části ze základní suroviny, především mléčného tuku. Samozřejmě požadavek na snížení ceny jde většinou z druhé strany, tedy z maloobchodu, který často tlačí dodavatele až pod úroveň skutečných výrobních nákladů. Výrobce pak často volí alternativu použití náhradních, levnějších surovin. Na druhé straně to může být i úmysl některého z výrobců přijít na trh s cenově výhodným výrobkem, a tak „uspět“ nad svým konkurentem na trhu.

Částečně mléčné imitace sýrů byly na americký trh uvedeny již na počátku sedmdesátých let dvacátého století. Od roku 1980 dochází v Severní Americe a v Evropě ke změně stravovacích návyků konečných spotřebitelů. Ze strany zdravotních organizací je vyvíjen tlak redukovat množství tuku, cukru, cholesterolu, solí a určitých přísad v jídle. Na tento tlak reagují výrobci jídel, čímž nastal rychlý tržní růst produktů zdravé výživy. K redukcii

kalorické hodnoty byly použity tukové náhražky (např. modifikované škroby, syrovátkové proteiny), které napodobily funkční a organoleptické vlastnosti tuků.

Na kvalitu sýrů má přímý vliv kvalita mléka použitého pro výrobu. Vzhledem ke skutečnosti, že při dodávkách mléka dochází k sezónním výkyvům a k rozdílům kvality léto a zima, vzniká další důvod k výrobě sýrových analogů. Obecně lze totiž říci, že chutnější sýry jsou z mléka nadojeného od jara do podzimu, kdy mají zvířata čerstvé krmění, díky němuž mají sýry výraznější barvu.

Protože se trh potravin stále vyvíjí a mění, jsou přírodní sýry (hlavně Mozzarella nebo Cheddar) znevýhodňovány. Je to zejména kvůli vysokým nákladům na produkci a uskladnění, a také kvůli neschopnosti adaptovat se odlišným nutričním požadavkům. Imitace sýrů mají potenciál překonat všechny tyto uvedené problémy, a tak se potravinářský průmysl zaměřil na imitace jako alternativu k přírodnímu sýru.

V současnosti je komerčně vyráběna široká škála analogů přírodních a tavených sýrů (např.: Cheddar, Monterey Jack, Mozzarella, Parmesan, Romano, Blue, Cream cheese). Vzhledem k vysoké poptávce je současná produkce sýrových analogů v USA okolo 300 000 tun ročně. Hlavními produkty jsou nízkotuková Mozzarella, Cheddar a pasterizovaný Cheddar. Mají řadu možností využití, např. jako zmrazené přísady do pizzy, plátky do hovězích burgerů a přísady do salátů, chlebičeků, sýrových omáček, sýrových chipsů a hotových jídel. Ve srovnání s USA je evropská produkce výrazně nižší, okolo 20 000 tun ročně. Tato skutečnost je zdůvodňována absencí společné evropské právní normy, snahami skupin zajímajících se o ochranu a označení původu mléka a mléčných výrobků a/nebo relativně nízkou spotřebou pizzy a sýrů jako přísad.

Mezi hlavní důvody pro výrobu sýrových analogů patří následující:

- dosažená kvalita finálních produktů může být stejná s mléčnými tuky,
- nižší náklady na suroviny \Rightarrow nižší cena konečného výrobku,
- neexistují sezónní výkyvy v dodávkách \Rightarrow konstantní kvalita po celý rok
- možnost použití stejného výrobního zařízení jako pro obyčejné mléčné produkty,
- jednoduchost a shodná použitelnost v produkci,
- vylepšený nutriční profil, vyšší podíl nenasycených mastných kyselin, nižší nebo žádný obsah cholesterolu, redukované množství nasycených tuků a sodíku, nižší obsah kalorií,
- možnost použití širokého poměru rostlinný tuk/mléčný tuk,
- možnost použití širokého rozsahu zdrojů mléčných tuků a dalších mléčných surových materiálů v kombinaci s rostlinnými tuky. [2, 8, 10, 21, 25]

2.2.7.1 Sýrové analogy v ČR

V ČR se ročně vyrobí kolem 107 000 tun sýrů. Analogy tvoří zhruba 10% z výroby tavených výrobků a jen desetiny % z výroby přírodních sýrů. Z těchto čísel vyplývá, že k současnému sortimentu patří a mají své místo na trhu jako konkurenti svých "mléčných kolegů".

Nejčastěji se můžeme se sýrovými analogy setkat v sortimentu hypermarketů a supermarketů nebo v restauracích, především pizzeriích.

Přestože si už svou cestu na trh našly, nedá se to stejné říct o cestě ke konečnému spotřebiteli. Většina Čechů považuje analogy za něco špatného, nechutného a umělého. A to i přes fakt, že převážná část tavených sýrových analogů není chuťově odlišná od pravých sýrů a že jsou pro konzumaci prospěšnější a pro lidský organismus zdravější. Podle zásad zdravé výživy by totiž měla být ve stravě třetina obsahu tuku živočišného a dvě třetiny rostlinného. Potraviny, které těmto zásadám vyhovují, zcela jistě nelze degradovat na náhražky, ale naopak jde o plnohodnotné potraviny, které mají kromě dietetické výhody také tu, že jsou, právě díky obsahu rostlinné složky, levnější.

V ČR vyrábí sýrové analogy např. firma TPK-Hodonín pod obchodní značkou JAVOR, Apetito a Maratonec, dříve používané pouze pro tavené sýry. Společnost Pribina dodává na trh sýrový výrobek obalený ve strouhance pod označením Lidový Smažák. dále sýrové analogy vyrábí sýrárna Bel Sýry Česko v Želetavě, např. OLYMPIC, RODINKA, Vintř, nebo společnost SYRMEX, např. Taveňáček, Sýrový krém. Také cateringová společnost Svět sýrů nabízí ve svém sortimentu sýrové analogy, např. pod označením tvrdý blok, tavené plátky a jemný tavený výrobek Maratonec. Dále se v obchodech vyskytují pod označením Eidam Alternative, Nový eidam, Cihla na smažení, Uzený Alternative. [8, 25, 26, 27]



Obr. 2.9 Příklady sýrových analogů na českém trhu [26]

2.3 Stanovení mastných kyselin

Vzhledem k tomu, že tato práce se zabývá problematikou stanovení mastných kyselin v různých typech sýrových analogů, v následujících kapitolách je stručně popsán význam a vlastnosti mastných kyselin a možnosti jejich analytického stanovení.

2.3.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) představují nejvýznamnější složku lipidů. Podle organického názvosloví se označují jako mastné kyseliny karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. Tato definice není úplně přesná, protože v lipidech se nachází i mastné kyseliny alicyklické a aromatické.

V potravinách se vyskytují mastné kyseliny:

- Nasycené
- Nenasycené s jednou dvojnou vazbou (monoenové)
- Nenasycené s několika dvojnými vazbami (polyenové)
- S trojnými vazbami a s různými substituenty

2.3.1.1 Nasycené mastné kyseliny

Nasycené mastné kyseliny obsahují 4 - 60 atomů uhlíku, zpravidla o sudém počtu a většinou mají nerozvětvený řetězec. Představují asi 10-40 % všech mastných kyselin lipidů. Nejčastěji se vyskytují mastné kyseliny s počtem uhlíků 14, 16 a 18.

Tab. 2.8 Přehled nejdůležitějších nasycených mastných kyselin

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Triviální název	Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Triviální název
Butanová	4	Máselná	Hexadekanová	16	Palmitová
Hexanová	6	Kapronová	Oktadekanová	18	Stearová
Oktanová	8	Kaprylová	Eikosanová	20	Arachová
Dekanová	10	Kaprinová	Dokosanová	22	Bednová
Dodekanová	12	Laurová	Tetrakosanová	24	Lignocerová
Tetradekanová	14	Myristová	Hexakosanová	26	Cerotová

Nasycené mastné kyseliny představují nejen zdroj energie, ale jsou také součástí buněčných membrán. Mezi potraviny s vysokým počtem nasycených mastných kyselin se řadí máslo, sýry, tučné maso, masné výrobky, tučné mléčné výrobky, pečivo, sádlo, ztužené tuky, palmový a kokosový olej. Volné mastné kyseliny se vyskytují v rostlinných a živočišných organismech v malém množství. Většinou se vyskytují jako estery nebo amidy v homolipidech a heterolipidech. Nižší mastné kyseliny jsou kapalné, vyšší, od kyseliny dekanové, se vyskytují při pokojové teplotě v tuhém stavu. Bod tání je závislý na počtu atomů uhlíku v řetězci. [14, 28, 29]

2.3.1.2 Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou

Nenasycené mastné kyseliny (monoenoové) se liší mezi sebou počtem atomů uhlíku, polohou dvojně vazby a její prostorovou orientací- *cis* nebo *trans*. Prostorová konfigurace bývá u přirozených sloučenin zpravidla *cis*. *Trans* konfigurace se vyskytuje v přírodě poměrně vzácně. *Trans* kyseliny se vyskytují ve značném množství ve ztužených tucích a v tukových výrobcích z nich vyrobených. *Trans* oleje se chovají jako nasycené oleje a významně neovlivňují hladinu cholesterolu v krvi.

Monoenoové kyseliny nejsou rozpustné ve vodě. Rozpouštějí se dobře v organických rozpouštědlech. Jsou podstatně reaktivnější než nasycené mastné kyseliny, např. ve vzduchu samovolně oxidují, vodíkem se hydrogenují za přítomnosti katalyzátoru, adují halogeny.

Mononenasycené mastné kyseliny jsou velmi důležité z hlediska správné struktury buněčných membrán, zejména myelinu v nervových tkáních. [17]

Tab. 2.9 Hlavní monoenoové mastné kyseliny

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojně vazby	Isomer	Triviální název
Decenová	10	9	<i>cis</i>	Kaprolejová
Dodecenová	12	9	<i>cis</i>	Laurolejová
Tetradecenová	14	9	<i>cis</i>	Myristolejová
Hexadecenová	16	9	<i>cis</i>	Palmitolejová
Oktadecenová	18	6	<i>cis</i>	Petroselová
Oktadecenová	18	9	<i>cis</i>	Olejová
Oktadecenová	18	11	<i>trans</i>	Elaidová
Eikosenová	20	9	<i>cis</i>	Gadolejová
Dokosenová	22	13	<i>cis</i>	Eruková

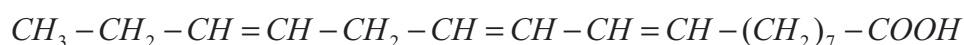
2.3.1.3 Nasycené mastné kyseliny s dvěma a více dvojnými vazbami

Dienové mastné kyseliny jsou důležitou součástí naší potravy. V přírodních lipidech se vyskytují v malém množství. K nejvýznamnějším patří kyselina linolová.

Často se setkáváme s tříděním polyenových mastných kyselin podle polohy první dvojně vazby od koncové methylenové skupiny: n-6 (ω -6) řada polyenových kyselin znamená, že první dvojná vazba se vyskytuje na šestém uhlíku od konce řetězce. Obdobně se setkáváme s mastnými kyselinami řady n-3 (ω -3). [17, 30]

Do skupiny n-3 (ω -3) polynenasycených mastných kyselin patří:

- kyselina α -linolenová (C₁₈, 3 dvojně vazby)
- kyselina eikosapentaenová (C₂₀, 5 dvojných vazeb)
- kyselina dokosapentaenová (C₂₂, 5 dvojných vazeb)
- kyselina dokosaheptaenová (C₂₂, 6 dvojných vazeb)



Kyselina α -linolenová

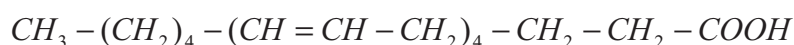
Kyselina linoleová patří mezi esenciální mastné kyseliny, což znamená, že si ji tělo neumí samo syntetizovat a musí být přijímána potravou. Zdrojem jsou hlavně lněná semena, vlašské ořechy, olej z řepky olejné, lískové ořechy a mandle. Při jejím nedostatku v období růstu způsobuje poruchy vývoje nebo neurologické onemocnění. Je prekurzorem pro syntézu kyselin eikosapentaenové (EPA) a dokosahexaenové, které se vyskytují v rybách (makrela, tuňák, losos).

Do skupiny n-6 (ω -6) polynenasycené mastných kyselin patří:

- kyselina linolová (C_{18} , 2 dvojně vazby)
- kyselina γ -linolenová (C_{18} , 3 dvojně vazby)
- kyselina dihomo- γ -linolenová (C_{20} , 3 dvojně vazby)
- kyselina arachidonová (C_{20} , 4 dvojně vazby)



Kyselina linolová



Kyselina arachidonová

Kyselina linolová je esenciální mastná kyselina. Její nedostatek způsobuje poruchy růstu. Také je prekurzorem kyseliny arachidonové. [17, 29, 30]

2.3.1.4 Nenasyčené mastné kyseliny s trojnými vazbami

Vzácně se v lipidech vyskytují mastné kyseliny s jednou nebo více trojnými vazbami nebo kyseliny s dvojnými i trojnými vazbami. Do této skupiny patří kyselina tarinová a kyselina isanová. [17]

2.3.2 Fyziologie a výživa mastných kyselin

Volné mastné kyseliny přijímá člověk ve stravě jen málo. Ostatní lipidy se v žaludku a hlavně v tenkém střevě enzymaticky štěpí na mastné kyseliny, a teprve potom se vstřebávají střevní stěnou. Některé mastné kyseliny (esenciální) nedokáže člověk sám syntetizovat a musí je přijímat potravou. Tyto kyseliny jsou součástí fosfolipidů buněčných membrán a lipoproteinů krevní plazmy a prekurzory pro vznik prostaglandinů, tromboxanů a leukotrienů.

Fyziologické účinky mastných kyselin se posuzují podle ovlivnění hladiny sérového cholesterolu. Tuto hladinu nepříznivě ovlivňují kyselina laurová, myristová a palmitová. Kyselina stearová působí neutrálně. Pozitivně působí mononenasyčené a polynenasycené mastné kyseliny. [30]

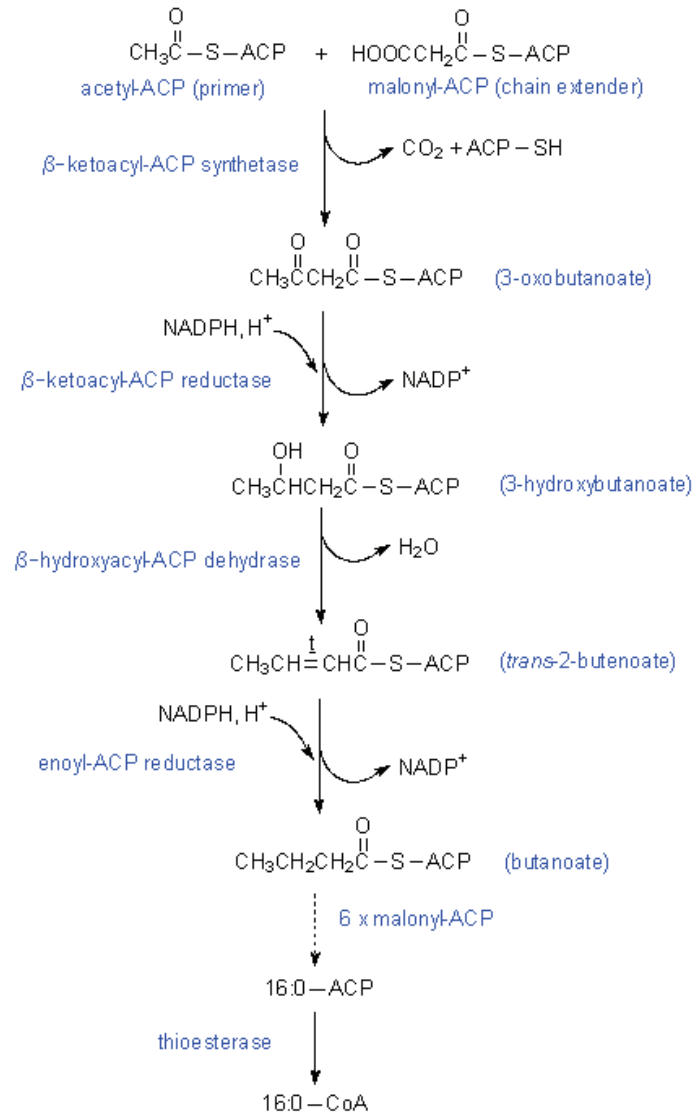
2.3.2.1 Syntéza mastných kyselin v lidském těle

Syntéza mastných kyselin je lokalizována v cytosolu. Výchozí látkou pro syntézu je acetyl-CoA, který vzniká při odbourávání jiných mastných kyselin, při oxidační dekarboxylaci pyruvátu v rámci aerobního odbourávání sacharidů a z uhlíkových koster některých aminokyselin Acetyl-CoA je přeměněn na energeticky bohatší malonyl-CoA pomocí acetyl-CoA-karboxylasy. Malonyl-CoA je sledem reakcí přeměněn na šestnáctiuhlíkový řetězec

palmitové kyseliny pomocí multienzymového komplexu syntetasy mastných kyselin. Další úpravy palmitátu probíhají již v mitochondriích, např. nenasycené mastné kyseliny se tvoří specifickými NADP⁺-dehydrogenasami.

Vodíky potřebné k redukci poskytuje NADPH získaný v pentosovém cyklu. Jako každý anabolický děj vyžaduje i výroba mastných kyselin energii. Meziprodukty biosynthesy jsou thioestery bílkoviny označované ACP (Acyl Carrier Protein). Pro syntézu mastných kyselin je potřeba kromě ATP a NADPH, Mn²⁺ a biotin. [16]

Syntézu mastných kyselin popisuje obr. 2.10.



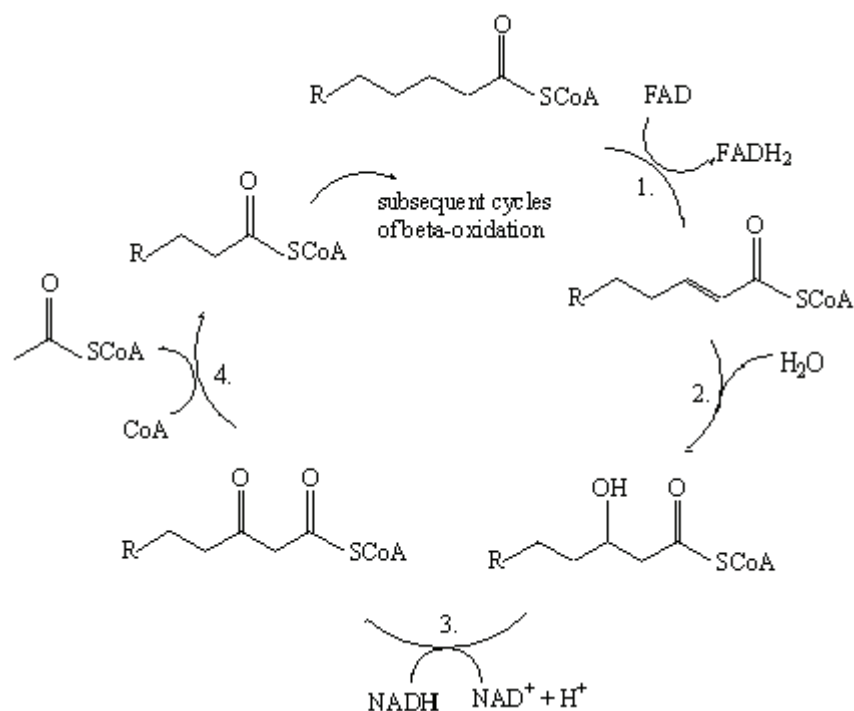
Obr. 2.10 Syntéza nasycených mastných kyselin [28]

2.3.2.2 Odbourávání mastných kyselin v organismu

Energeticky nejvýhodnější cestou odbourávání mastných kyselin je β -oxidace, která probíhá v mitochondriích. Je to cyklický proces, který zkracuje řetězec mastné kyseliny vždy o dva atomy uhlíku. Proces se opakuje tak dlouho, dokud se celá mastná kyselina nerozloží na

acetylové zbytky vázané na CoA. U mastných kyselin je konečným produktem propionyl-CoA, který se karboxylací převede na sukcinyl-CoA.

Nenasycené mastné kyseliny se odbourávají stejně jako nasycené, až se dvojná vazba dostane do polohy β - γ . Pak specifický enzym zajistí přesmyk dvojná vazby z této pozice do polohy α - β . Oxidace pak pokračuje stejně jako u β -oxidace nasycených kyselin. Méně časté jsou α -oxidace a ω -oxidace. [16]



Obr. 2.11 Schéma β -oxidace mastných kyselin[31]

2.4 Metody pro stanovení mastných kyselin

Mezi instrumentální metody, které se využívají ke stanovení jednotlivých mastných kyselin, patří [32]:

- plynová chromatografie
- izotachoforéza,
- spektrofotometrie
- vysokoúčinná kapalinová chromatografie
- extrakce pevnou fází

2.5 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je analytická metoda založená na rozdílech v rozdělovacích koeficientech látek dělících se mezi nepohyblivou (stacionární) a pohyblivou (mobilní) fází. Tato metoda je vhodná pro analýzu těkavých látek, jež je možné převést do plynného stavu. Plynová chromatografie se často používá pro analýzu složení mastných kyselin v lipidech. Mastné kyseliny se většinou nacházejí v netěkavých triglyceridech, a proto je nutná jejich přeměna na deriváty methylesterů před samotnou analýzou GC. [33, 34]

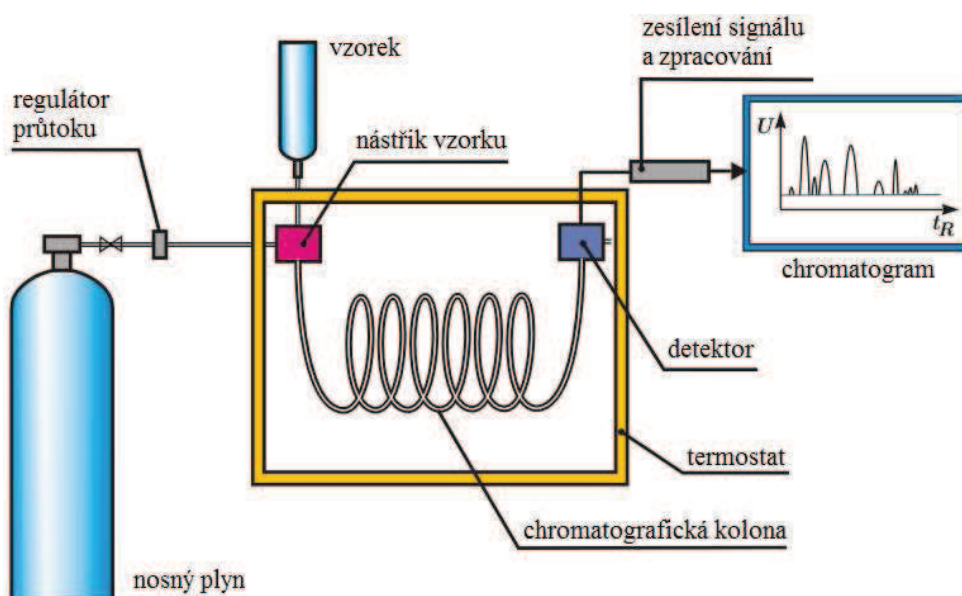
Plynová chromatografie nalézá uplatnění zejména při analýze směsi plynů, těkavých látek a organických sloučenin s bodem varu menším než 400 °C a relativní molekulovou hmotností menší než 1000 g·mol⁻¹.

V plynové chromatografii se nejčastěji používá eluční technika vnášení vzorku po jednorázovém nástřiku na kolonu. Jednotlivé složky vzorku jsou separovány na základě rozdílných interakcí se stacionární fází a jsou postupně vymývány (eluovány) inertním nosným plynem. Složky vycházející z kolony jsou postupně indikovány detektorem a signál odpovídající jejich obsahu (koncentraci) v nosném plynu je registrován jako funkce času a objemu. Separace se provádí při konstantní nebo proměnlivé teplotě v čase (izokratická nebo gradientová eluce). [33,34]

2.5.1 Instrumentace plynové chromatografie

Plynový chromatogram se skládá se z těchto částí (Obr. 2.12) [33]:

- zdroj nosného plynu
- čistící a regulační zařízení
- dávkovací zařízení (injektor)
- chromatografická kolona
- termostat
- detektor
- vyhodnocovací zařízení - počítač



Obr. 2.12: Schéma plynového chromatografu [35]

2.5.1.1 Zdroj nosného plynu

Mobilní fází je inertní nosný plyn (vodík, dusík, helium nebo argon), jehož úlohou je transportovat složky vzorku kolonou. Volba nosného plynu závisí na druhu kolony a detektoru a má vliv na separační účinnosti na základě rozdílných difusních koeficientů. Nemá

přímý vliv na separaci. Další faktory, které mají vliv na volbu nosného plynu jsou: inertnost, viskozita, hustota plynu a bezpečnost při práci. [33, 34]

2.5.1.2 Regulační a čistící zařízení

Pro všechny platí, že nesmí obsahovat vodní páry a kyslík, který významně poškozuje stacionární fázi v koloně. Čistící zařízení zachycuje vlhkost, nežádoucí stopy ostatních plynů a jiné nečistoty v nosném plynu. Regulační systém zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu. [33, 34]

2.5.1.3 Injektor (dávkovač)

Injektor slouží k zavedení vzorku na počátek kolony, převedení vzorku do plynného stavu a vnesení do proudu nosného plynu. Teplota injektoru je volena tak, aby došlo k okamžitému zplynění vzorku.

Dávkování se uskutečňuje nad ústí kolony umístěné na konci injektoru nebo přímo na kolonu pomocí dávkovacích ventilů, plynové mikrostřikačky, ručních a automatických dávkovačů.

Existují různé způsoby nástřiku:

- *nástřik s děličem toku (split injektor)* - používá se u vzorků obsahujících velké množství analyzovaných komponent. Vzorek se po vypaření a smíchání s nosným plynem rozdělí na dvě části, přičemž pro vlastní analýzu je používána podstatně menší část (obvykle 0,1-10 %) a zbytek je oddělen do odpadu. Tento způsob se používá hlavně při kvalitativní analýze, je-li hlavním požadavkem velké rozlišení zón separovaných látek.
- *nástřik bez děliče toku (splitless injection)* - využívá se k analýze zředěných vzorků a relativně velkých objemů, které je nutno použít pro stopovou analýzu. Vzorek se dávkuje pomalu do odpařovací trubice a nechá se 60 s odpařovat. Následně je proveden oplach septa. Proudem nosného plynu je většina vzorku nanesena do kolony a dávkovací kohout je uzavřen. Po otevření kohoutu odchází zbytky vzorku mimo kolonu.
- *Nástřik přímo do kolony (on column)* - většinou se používá u kapilárních kolon a je používán k analýzám látek, jejichž komponenty se těsně nad bodem varu rozkládají. Do kolony zahřáté na nižší teplotu, než je bod varu rozpouštědla použitého pro rozpuštění vzorku, se rychle nástříkne analyzát, který vytvoří kapalný film na stěně kolony.
- *Nástřik s programově zvyšovanou teplotou odpařování vzorku* - součástí injektoru je vložka s chromatografickou náplní sloužící k odstranění rozpouštědla, nízkomolekulárních sloučenin a zachycení netěkavých látek nebo nečistot. [32, 33, 34]

2.5.1.4 Chromatografické kolony

Kolona je část chromatografu, ve které je umístěna stacionární fáze a kde dochází k separaci složek. Stacionární fáze musí mít vysokou tepelnou a chemickou stabilitu a musí disponovat nepatrnou tenzí par při pracovní teplotě, jinak by došlo v průběhu analýzy k jejímu vypaření.

V plynové chromatografii se používají kolony náplňové nebo účinnější kolony kapilární. [32, 33, 34]

- *Náplňové kolony* - jsou to kovové nebo skleněné spirály o vnitřním průměru 2-6 mm a délce 1-5m. Kolony se plní adsorbenty na bázi silikagelu, aktivního uhlí, alumina, molekulovými sítý nebo nosičem pokrytým tenkým filmem stacionární fáze (křemelina nebo modifikovaná křemelina). Částice adsorbentů a neaktivních nosičů mají průměr 0,13-0,40 mm. Čím menší částice se použijí, tím lepší účinnosti se dosáhne. Náplňové kolony mají vyšší kapacitu než kolony kapilární, ale horší rozdělení.
- *Kapilární kolony* - jsou vyrobeny z křemenné, skleněné, plastové nebo kovové kapiláry o vnitřním průměru 100-700 μm a délce 15-100 m. Pro zvýšení mechanické odolnosti se potahují vrstvou polyamidu nebo hliníku. Na vnitřní stěně kapiláry se nachází stacionární fáze o tloušťce 0,1-10 μm . Podle charakteru zakotvené stacionární fáze se rozlišují kolony s kapalnou stacionární fází tvořící tenký film (WCOT kolony), kolony s vrstvou nosiče se zakotvenou kapalinou (SCOT kolony) a kolony s tenkou vrstvičkou pórovitého materiálu jako adsorbentu (PLOT kolony).

2.5.1.5 Termostat

Termostat slouží k přesnému nastavení teploty v dávkovacím zařízení, celém prostoru kolony a detektoru. Tím přispívá k zajištění opakovatelnosti výsledků analýzy. Optimální teplota kolony závisí na bodu varu jednotlivých komponent a požadovaném rozlišení. Pro separaci směsi s širokým rozmezím bodů varu je vhodné použít teplotního gradientu. [33,34]

2.5.1.6 Detektor

Účelem detektoru je zaznamenat změnu složení eluentu a převést ji na signál. Dále zvýraznit rozdíl signálu při průchodu samotného nosného plynu a nosného plynu obsahujícího eluovanou složku na výstupu z kolony. Detektor vysílá elektrický signál, který je zaznamenáván v závislosti na čase.

Mezi důležité vlastnosti detektorů patří citlivost (nízký detekční limit), odezva, lineární dynamický rozsah odezvy, rychlost odezvy, šum produkovaného signálu a nejmenší detekovatelná koncentrace nebo hmotnostní průtok.

Plynová chromatografie využívá několik typů detektorů:

Tepelně vodivostní detektor (Thermal Conductivity Detector - TCD)

Patří mezi nejrozšířenější detektory, protože je středně citlivý a dává odezvu na všechny látky. Nosný plyn proudí přes vlákno žhavené stálým elektrickým proudem a ochlazuje se na určitou teplotu. Přítomnost složky pozmění tepelnou vodivost okolí kolem žhaveného vlákna, a tím i jeho teplotu a elektrický odpor. Nejvyšší tepelnou vodivost má vodík a helium. TCD se používá při analýze anorganických plynů a nízkomolekulárních organických látek.

Ionizační detektory

Ionizační detektory jsou založeny na elektrické vodivosti ionizovaných (nabitých) částic v plynech, které jsou za normálních podmínek nevodivé. Podle způsobu ionizace rozeznáváme tyto druhy detektorů:

- Plamenově ionizační detektor (FID) - je univerzálním detektorem s vynikající stabilitou signálu, malým efektivním objemem a rychlou odezvou. Používá se pro detekci organických látek. Vzorek unášený nosným plynem z kolony se spaluje ve vodíkovo-vzduchovém plameni, který hoří mezi dvěma elektrodami. Molekuly organických látek poskytují radikály, které se mění na ionty, které zvyšují vodivost plamene.
- Plamenový detektor s alkalickým kovem (AFID) - obsahuje v blízkosti plamene sůl alkalického kovu. Ionty alkalického kovu se působením tepla kyslíkovodíkového plamene dostávají do plynné fáze, kde reagují s heteroatomy organických látek, hlavně dusíkem a fosforem.
- Bezplamenový detektor s alkalickým kovem (TID) - zdrojem iontů alkalického kovu je elektricky vyhřívaná sůl tohoto kovu a na jejím povrchu se díky vysoké teplotě spaluje vodík. Detektor se používá na detekci opiátů nebo dopingových látek.
- Detektor elektronového záchyty (ECD) - radioaktivní zářič (^{63}Ni) ionizuje molekuly nosného plynu dusíku a vyvolá ionizační proud. Detektor je velmi citlivý na halogenové sloučeniny, látky obsahující kyslík, fosfor, síru, areny, nitrosloučeniny nebo olovo.
- Fotoionizační detektor (PID) - ionizaci látek způsobuje ultrafialové záření. Selektivita detektoru je ovlivněna volbou vlnové délky záření. Ionizují se organické látky, kyslík, sulfan a amoniak. Naopak dusík, oxid uhelnatý a uhlíčitý, voda a helium se neionizují.
- Heliový a argonový detektor (HeD, ArD) - i když patří tyto detektory k univerzálním, v současné době se prakticky nepoužívají. Jsou citlivé na organické i anorganické sloučeniny, včetně vzácných plynů. Atomy nosného plynu (argon, helium), excitované účinkem β -záření, jsou schopny ionizovat sloučeniny s nižšími ionizačními potenciály. Jako zdroj β -záření se lze použít ^3H , ^{90}Sr nebo ^{85}Kr .

Pro identifikaci nebo objasnění povahy složek analyzované směsi má zvláštní význam kombinace plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem. Po získání hmotnostního spektra každé složky následuje identifikace na základě porovnávání jejího spektra s knihovnou spekter. [32, 33, 34]

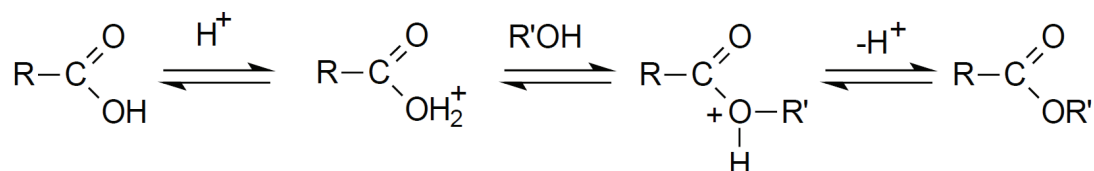
2.5.1.7 Vyhodnocovací zařízení

Toto zařízení zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku a provádí její vyhodnocení. [33, 34]

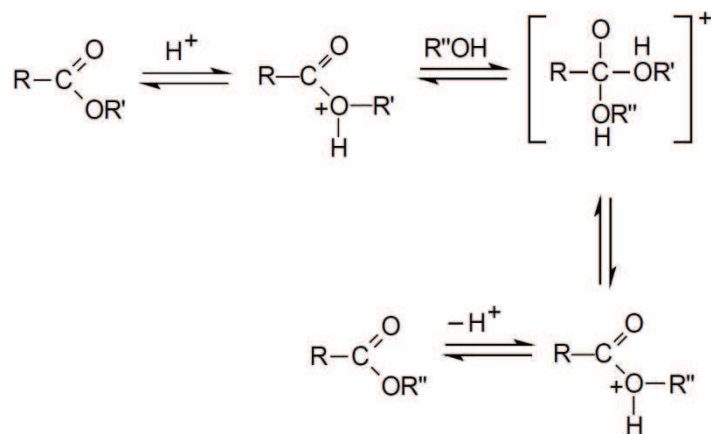
2.6 Esterifikace

Proces plynové chromatografie znamenal revoluci ve studiu tuků tím, že umožňuje v relativně krátkém čase určit složení mastných kyselin v tucích. Aby to bylo možné zrealizovat, jsou složky tuků převedeny na vhodné nejjednodušší běžné těkavé deriváty, obvykle na methylestery. Pro zvláštní případy mohou být přednostně použity i jiné estery.

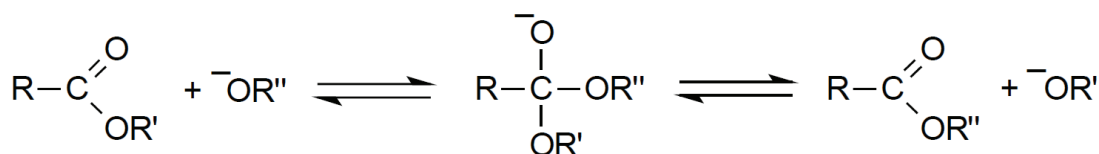
Transesterifikace tuků může probíhat dvojím mechanismem, jako obecně kyselou katalyzovanou solvolýzou, která probíhá atakem protonu v místě karboxylového kyslíku, přesunem elektronů a uvolněním glycerolu z esteru. Reakce probíhá tím lépe, čím je větší reaktivita alkoholu tvořícího reakční prostředí a čím je větší přebytek tohoto alkoholu. Tato reakce probíhá v podstatě stejným mechanismem jako kyselou katalyzovaná esterifikace a řídí se stejnými pravidly. Poněkud odlišně probíhá bazicky katalyzovaná transesterifikace. Báze přemění alkohol v alkoholát, a ten atakuje ester s následným uvolněním glycerolu. Obě metody transesterifikace jsou přibližně stejně často využívány při transesterifikaci rostlinných olejů. [28, 36]



Obr. 2.13 Schéma kyselou katalyzované esterifikace [28]



Obr. 2.14 Schéma kyselou katalyzované transesterifikace [28]



Obr. 2.15 Schéma bazicky katalyzované transesterifikace [28]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení

3.1.1 Chemikálie pro extrakci tuku z vzorku sýra

- Kyselina chlorovodíková 25% p. a., LACHEMA Brno
- Ethanol absolut., RIEDEL - de HAËN
- Diethylether p.a., LACHEMA Brno
- Petrolether p. a., LACHEMA Brno

3.1.2 Chemikálie pro přípravu a stanovení methylesterů mastných kyselin

- Hydroxid draselný
- Methanol p. a., LACHEMA Brno
- Methyloranž
- Kyselina sírová min. 96%, LACHEMA Brno
- n- Heptan, J. T. BAKER Holandsko
- Standard- směs methylesterů mastných kyselin

3.1.3 Plyny

- Dusík 5.0 LINDE v tlakové láhvi s redukčním ventilem s kovovou membránou
- Vodík 5.0 v tlakové láhvi s redukčním ventilem
- Vzduch syntetický SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem pro kyslík

3.1.4 Přístroje

- Analytické digitální váhy AND A&D INSTRUMENT LTD, max. 120 g, min. 10 mg
- Předvážky AND A&D INSTRUMENT LTD, max.
- Sušárna CHIRANA, typ STE 39
- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A, Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, opatřeným split/splitless injektorem a kapilární kolonou SP 2560 (100m x 0,25 mm, tloušťka imobilizované fáze 0,2 μ m)
- Počítač PC, Intel Pentium Processor
- Chladnička s mrazničkou AMICA, model AD 250
- Topné hnízdo LTHS 500. BRNĚNSKÁ DRUTĚVA v. d.
- Vakuová odparka
- Elektrický vařič ETA, typ 2107 - 202

3.1.5 Pracovní pomůcky

- Vialky 2 ml, 4 ml a 40 ml se šroubovacími uzávěry a septy kaučuk - teflon
- Mikropipety BIOHIT 1000 μ l, 200 μ l, 100 μ l
- Odměrné baňky a válce, varné baňky, zpětné chladiče, dělicí nálevky, kádinky
- Stojany, držáky, filtrační kruhy

3.2 Podmínky GC analýzy

3.2.1 Stanovení methylesterů mastných kyselin

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest S.p. A., Itálie).
- Nosný plyn: Dusík; optimální průtok $0,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.
- Dávkování: AutoSampler - $1 \mu\text{l}$; Splitless injection - ventil je uzavřen po dobu 5 min.
- Teplota injektoru: $260 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Teplotní program: $60 \text{ }^\circ\text{C}$, 5 minut; vzestupný gradient $12 \text{ }^\circ\text{C}$ za minutu do $200 \text{ }^\circ\text{C}$ s výdrží 10 minut; vzestupný gradient $5 \text{ }^\circ\text{C}$ za minutu do $220 \text{ }^\circ\text{C}$ s výdrží 20 minut; vzestupný gradient $5 \text{ }^\circ\text{C}$ za minutu do $240 \text{ }^\circ\text{C}$ s výdrží 15 minut.
- Kolona: Kapilární; SP 2560 o rozměrech: $100\text{m} \times 0,25\text{mm} \times 0,2 \mu\text{m}$.
- Detektor: Plamenově ionizační (FID), $260 \text{ }^\circ\text{C}$; průtok vodíku $35 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, vzduchu $350 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, make- up dusíku $30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.
- Celková doba analýzy: 70 minut.

3.3 Vzorky

Vzorky tavených sýrových analogů byly vyrobeny 21. 1. 2010 na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně. Jako hlavní surovina byla použita eidamská cihla vyrobená v mlékárně v Kroměříži (Kromilk a.s.) a různé druhy tuků: máslo, koncentrovaný mléčný tuk, kokosový tuk, slunečnicový olej a palmový tuk. Obsah tuku v sušině (TVS) byl 50%.

Přesné složení jednotlivých vzorků sýrů je uvedeno v tabulce 3.1.

3.3.1 Postup výroby

Suroviny byly rozkrájeny na menší kousky a dány do tavicího kotle, dále se přidala voda a tavicí soli. Následně byla směs zahřáta na 90°C nepřímým ohřevem (pláštěm) a udržována při této teplotě 1 minutu. Náběh na 90°C trval asi 10 minut. Roztavená hmota byla za hoka plněna do plastových kelímků a uzavřena. Nakonec se tavené sýrové analogy nechaly samovolně zchladnout a uskladnily se při teplotě 6°C .

Tab. 3.1 Přesné složení vzorků tavených sýrových analogů

Tuk použitý pro výrobu	Množství suroviny [kg]				Vypočítané hodnoty [%]		
	Eidamská cihla 30%	Tuk	Tavicí sůl	Pitná voda	Sušina	Tuk	TVS
Palmový tuk	0,400	0,100	0,019	0,260	40,19	19,90	49,51
Kokosový tuk	0,400	0,101	0,019	0,260	40,26	19,99	49,67
Slunečnicový olej	0,400	0,098	0,019	0,270	40,16	20,08	49,99
Koncentrovaný mléčný tuk	0,400	0,101	0,019	0,260	40,26	19,99	49,67
Máslo	0,400	0,120	0,019	0,250	40,11	20,08	50,06

3.3.2 Příprava vzorků

3.3.2.1 Extrakce tuku ze vzorku sýra

K 5 g vzorku se přidá 15 ml HCl a udržuje se ve vroucí vodní lázni za mírného míchání do úplného rozpuštění sýra, a poté ještě 20 minut. Po ochlazení se přilije 15 ml ethanolu, 30 ml diethyletheru a 30 ml petroletheru. Po přidavku ethanolu se obsah dělicí nálevky promíchá a mírně protřepe, rovněž po přidavku diethyletheru a petroletheru. Po přidání všech rozpouštědel se baňka uzavře, důkladně protřepe a ponechá v klidu do úplného rozdělení vodné a organické fáze. Vrchní část se pipetou převede do předem vysušené baňky. Ke zbylé vodné fázi se přidá 15 ml diethyletheru a 15 ml petroletheru. Po vytřepání a oddělení druhého podílu se přidá opět 15 ml diethyletheru a 15 ml petroletheru. Opět protřepeme a oddělíme horní část do baňky s ostatními organickými podíly. Poté na vakuové odparce odpaříme rozpouštědla a necháme 1 hodinu sušit v sušárně při teplotě 105 °C. Získaný tuk dále esterifikujeme. [37]

3.3.2.2 Příprava methylesterů mastných kyselin

Esterifikace

K vyextrahovanému tuku (přibližně 1 g) v destilační baňce se přidá 15 ml methanolového roztoku hydroxidu draselného o koncentraci 0,5 mol·dm⁻³ a zmýdelňuje se pod zpětným chladičem 30 minut. Po ochlazení se reakční směs po kapkách neutralizuje koncentrovanou kyselinou sírovou na methylooranž do růžového zbarvení. Po neutralizaci se přidá jedna kapka kyseliny sírové navíc a směs se dalších 30 minut reesterifikuje. Po ochlazení se methylestery vytřepají 15 ml heptanu.

1 ml takto připraveného vzorku se naplní do 2 ml vialky s plynotěsným septem a pomocí autosampleru se dávkuje do plynového chromatografu. [38]

3.4 Statistické zpracování

Výsledky opakovaných měření jsou v důsledku nahodilých chyb rozmístěny okolo střední hodnoty. Odhadem této střední hodnoty je aritmetický průměr \bar{x} (3.1).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3.1)$$

kde: npočet stanovení x_i
 x_ijednotlivé naměřené údaje

Rozdíl hodnoty výsledku a střední hodnoty(aritmetický průměr) udává tzv. směrodatná odchylka s (3.2).

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3.2)$$

kde: npočet stanovení x_i
 x_ijednotlivé naměřené údaje
 \bar{x} aritmetický průměr

Jako měřítko relativní náhodné chyby se také uvádí relativní směrodatná odchylka neboli variační koeficient s_r , vyjádřený jako směrodatná odchylka vztažená na aritmetický průměr. Může být také vyjádřena v procentech (3.3).

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (3.3)$$

kde: ssměrodatná odchylka
 \bar{x} aritmetický průměr

4 DISKUZE A VÝSLEDKY

4.1 Výběr vhodné metody esterifikace

Mastné kyseliny je nutné před vlastní GC analýzou převést na těkavější produkty. Mezi časté derivatizační reakce patří esterifikace. Tvoří se při ní estery, které jsou podstatně těkavější než jim odpovídající kyseliny. Vyšší mastné kyseliny není možno bez předchozí derivatizace v plynné fázi analyzovat. Z esterů se nejčastěji připravují methylestery, které mají oproti vyšším esterům řadu výhod, především lze uvést největší těkavost ze všech esterů, velká reakční rychlost a vysoké výtěžky.

Jako methylační činidlo se nejčastěji používá methanol. Pro získání methylesterů MK lze použít esterifikaci nebo transesterifikaci, což jsou reverzibilní reakce a potřebují přítomnost katalyzátoru. Transesterifikace probíhá za kyselých nebo zásaditých katalýz, zatímco esterifikace probíhá pouze v kyselém prostředí, proto se provádí za přítomnosti silné kyseliny. Reakce s kyselou katalýzou je třeba pro urychlení procesu zahřívat. Jako katalyzátory se používají HCl, H₂SO₄ a BF₃. Při alkalické katalýze je proces rychlejší, stačí mírné podmínky. Jako katalyzátory se používají NaOH, KOH a sodium methoxid (NaOCH₃).

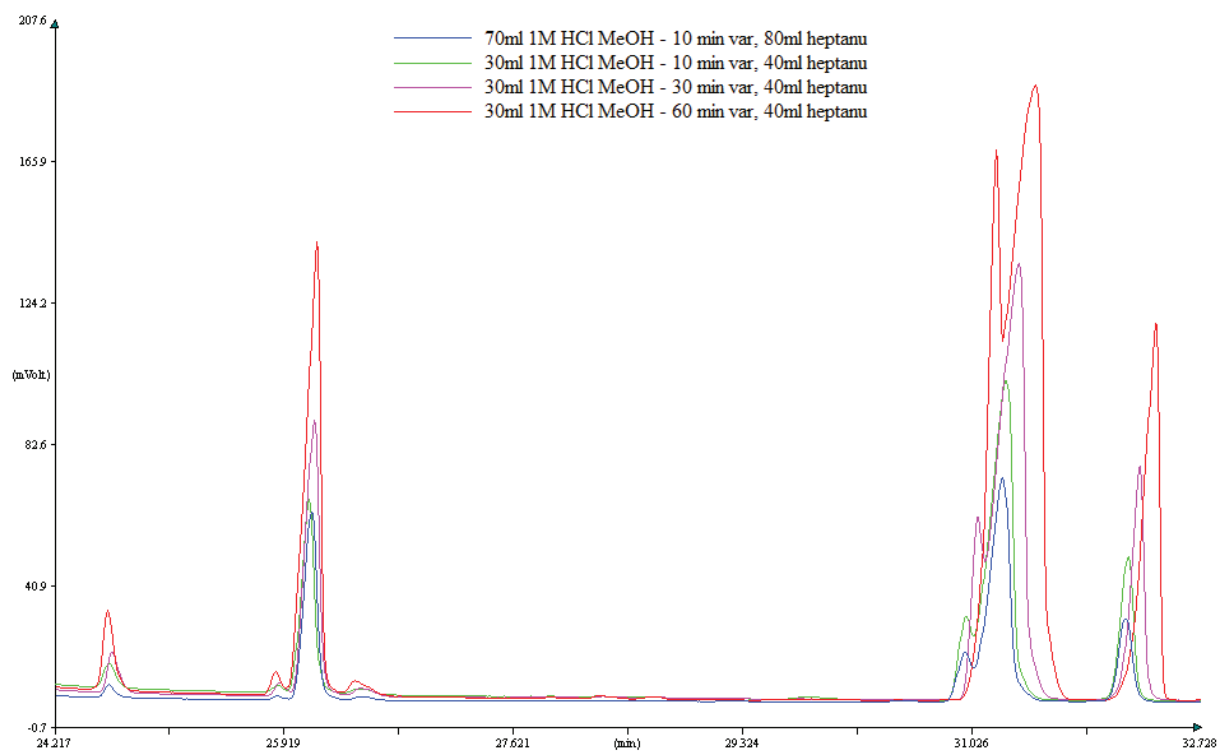
Prvním krokem této práce byl tedy výběr vhodné metody esterifikace MK. Jako kritéria výběru byla stanovena: co nejvyšší výtěžek, jednoduchost provedení, dostupné a bezpečné chemikálie a v neposlední řadě možnost esterifikace volných i vázaných MK odděleně. Celkem bylo vyzkoušeno 6 různých metod esterifikace a transesterifikace.

Pro nalezení vhodné metody esterifikace byl pokaždé odebrán 1 g slunečnicového oleje a podroben esterifikaci, a poté zanalyzován na plynovém chromatografu. Zkoušené metody esterifikace byly již dříve použity v diplomových pracích [40, 41], proto byl nejprve přesně dodržen postup, a poté různě modifikován.

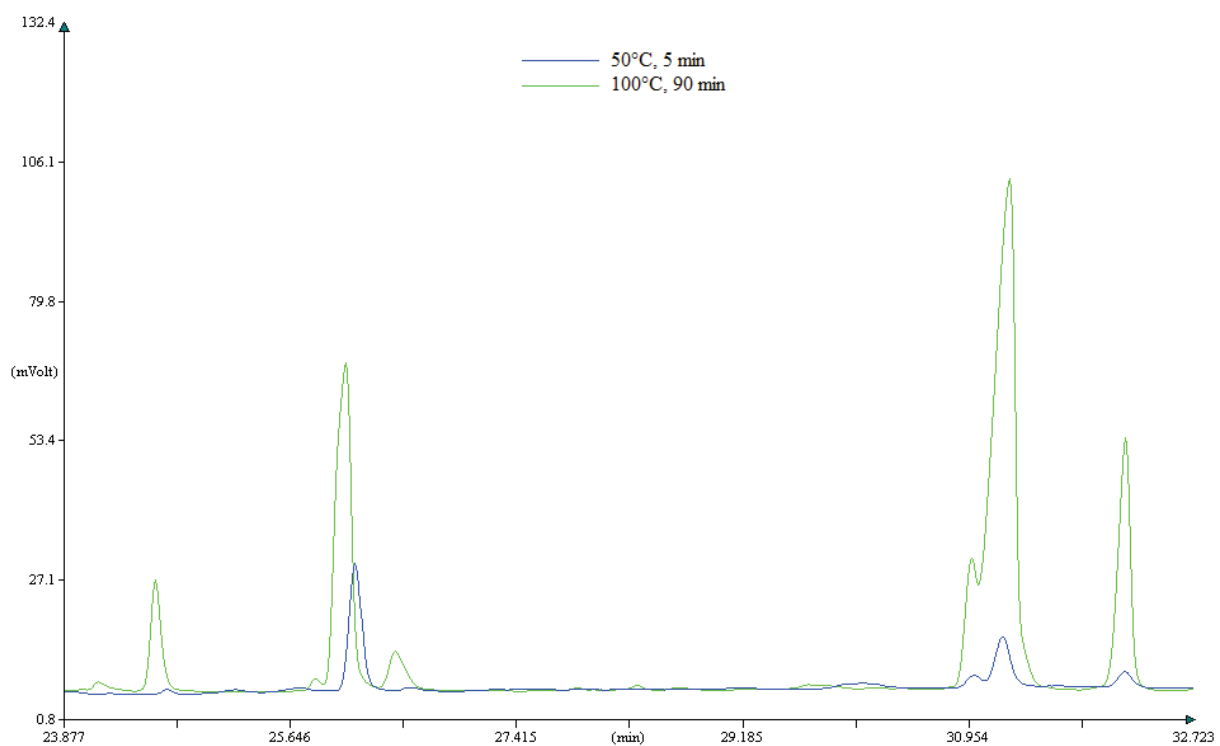
4.1.1 Metoda 1: Kyselá katalyzovaná esterifikace 1

K 1 g slunečnicového oleje se přidá 70 ml (30 ml) 1 mol·dm⁻³ methanolového roztoku HCl. Směs se vaří pod zpětným chladičem 10 (30, 60) minut. Po ochlazení se přidá 40 (20) ml heptanu a směs se protřepe a oddělí se horní organická fáze. Postup se opakuje ještě jednou s 40 (20) ml heptanu.

Při této metodě byl porovnáván vliv doby vaření směsi a objem použitého methanolového roztoku HCl. Srovnání je uvedeno na obr. 4.1. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při vaření směsi po dobu 60 minut a vytřepání do 40 ml heptanu.



Obr. 4.1 Esterifikační metoda 1



Obr. 4.2 Esterifikační metoda 2

4.1.2 Metoda 2: Kyselá katalyzovaná esterifikace 2

K 1 g slunečnicového oleje se přidá 15 ml 2 % kyseliny sírové a 15 ml hexanu. Směs se promíchá a zahřívá se ve vodní lázni při teplotě 50 (100) °C po dobu 5 (90) minut. Po ochlazení se přidá 30 ml 5 % NaCl a 15 ml hexanu. Směs se protřepe, nechá oddělit a odebere se horní organická fáze. Poté se přidá opět 15 ml hexanu a postup se opakuje.

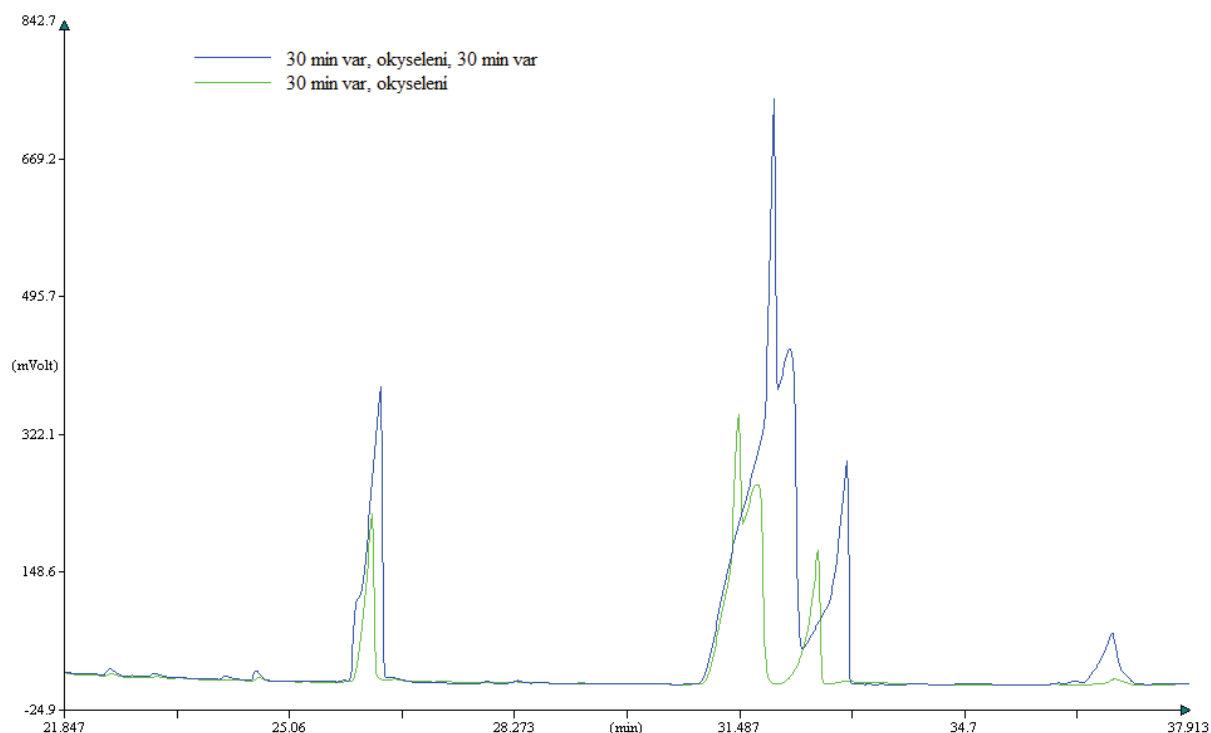
Při této esterifikaci mělo dojít při ohřívání při teplotě 50 °C po dobu 5 minut k esterifikaci volných mastných kyselin. Při zahřívání na 100 °C po dobu 90 minut se esterifikují všechny mastné kyseliny.

Srovnání je uvedeno na obr. 4.2.

4.1.3 Metoda 3: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 1

K 1 g slunečnicového oleje v destilační baňce se přidá 15 ml methanolového roztoku hydroxidu draselného o koncentraci $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a zmydelňuje se pod zpětným chladičem 30 minut. Po ochlazení se reakční směs neutralizuje po kapkách koncentrovanou kyselinou sírovou na methyloranž do růžového zbarvení. Po neutralizaci se přidá jedna kapka kyseliny sírové navíc a směs se dále reesterifikuje dalších 30 minut. Po ochlazení se methylestery vytřepají 15 ml heptanu.

Tento postup byl ještě modifikován a bylo vynecháno druhé ohřívání okyselené směsi. Hned po přidavku kyseliny sírové byla směs převedena do dělicí nálevky a methylestery vytřepány do 15 ml heptanu. Z obr. 4.3 je patrné, že modifikovaný postup neposkytuje lepší výsledky, než původní postup.



Obr. 4.3 Esterifikační metoda 3

4.1.4 Metoda 4: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 2

K 1 g slunečnicového oleje se přidá 25 ml 0,5 mol·dm⁻³ methanolového roztoku KOH a 25 ml hexanu. Směs se promíchá a zahřívá ve vodní lázni při teplotě 50 °C po dobu 10 minut. Po ochlazení se přidá 5 ml koncentrované kyseliny octové a 25 ml hexanu. Směs se zamíchá, pořádně protřepe a po ustálení fází se odebere horní organická vrstva. Přidá se 25 ml hexanu a postup se opakuje.

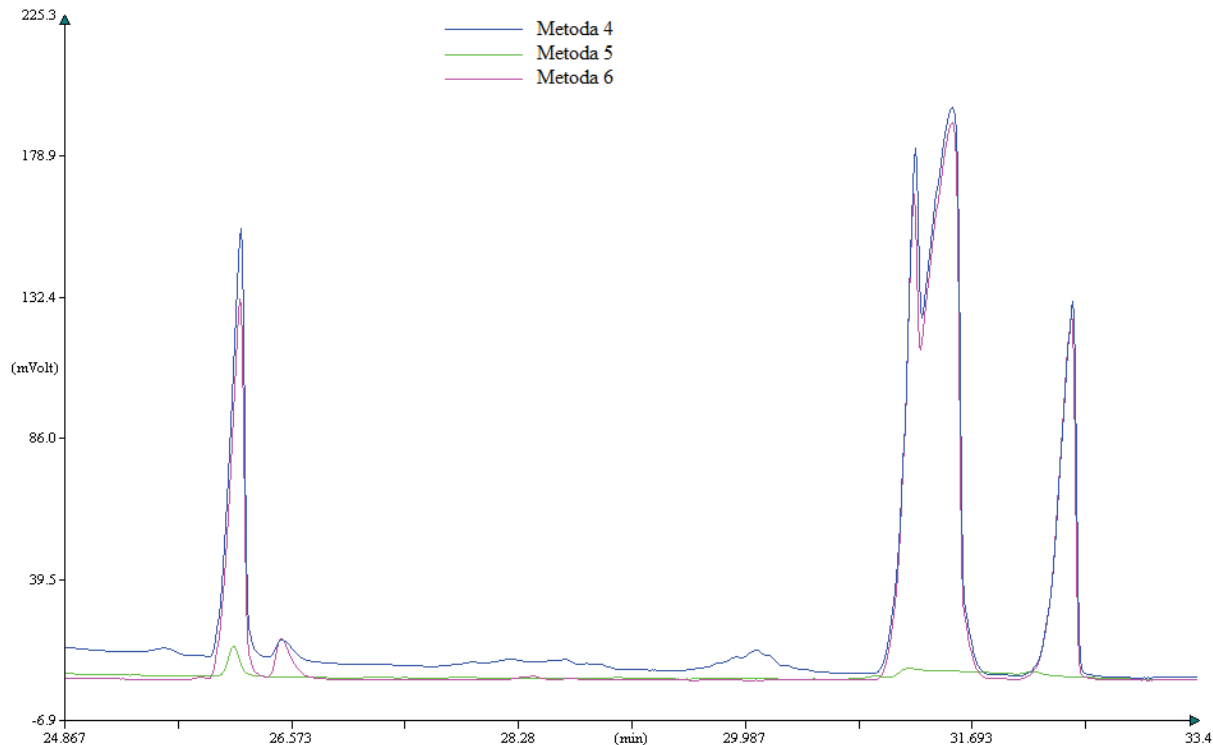
4.1.5 Metoda 5: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 3

K 1 g slunečnicového oleje se přidá 8 ml methanolu a 0,1 ml 1 mol·dm⁻³ methanolový roztok KOH a směs se zahřívá pod zpětným chladičem 5 - 10 minut. Po ochlazení se 20 ml heptanu, protřepe a oddělí se horní organická fáze. Ke spodní vrstvě se přidá 20 ml heptanu a postup se opakuje.

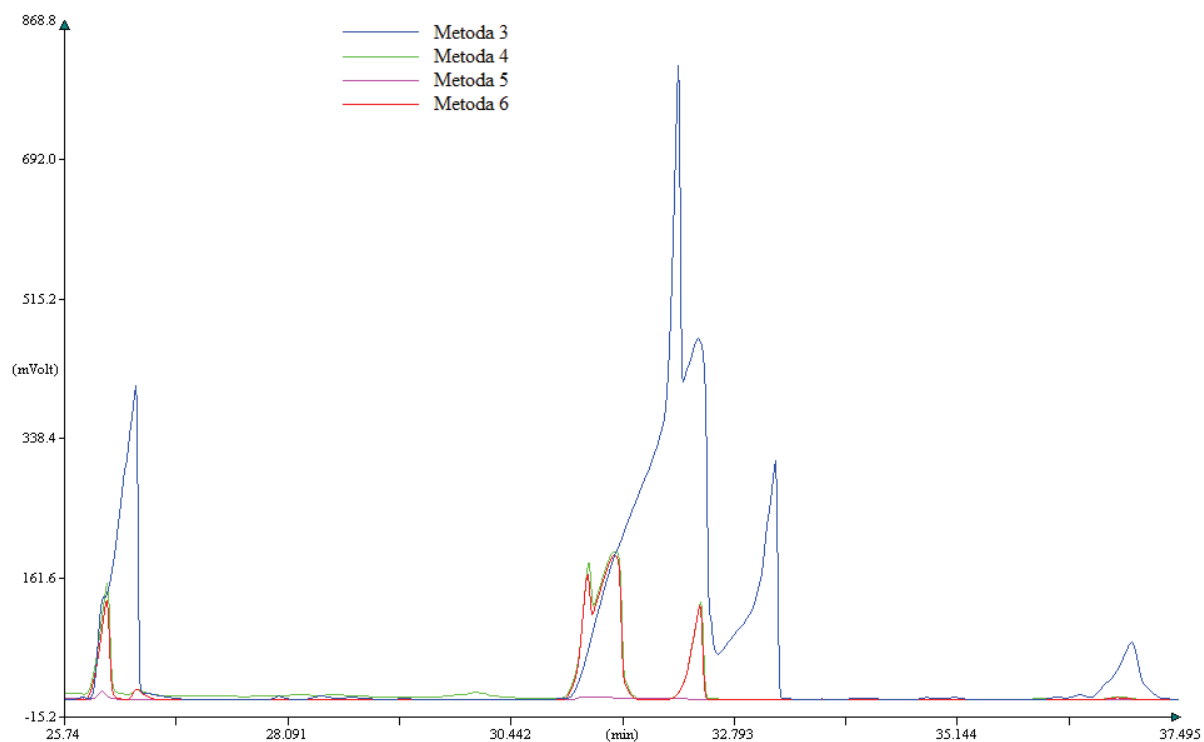
4.1.6 Metoda 6: Zásaditě katalyzovaná esterifikace 4

1 g slunečnicového oleje se rozpustí v 67 ml isooktanu. Poté se přidá 3,5 ml 2 m methanolového roztoku KOH. Směs se protřepe a po ustálení se odebere horní organická vrstva.

Metody 4, 5, 6 jsou porovnány na obr. 4.4. Nejméně vhodnou se jeví metoda 5. Metody 4 a 6 poskytují téměř stejné výsledky. Na obr. 4.5 jsou porovnány všechny zásaditě katalyzované esterifikace. Z chromatogramu je patrné, že nejlepší je metoda číslo 3.

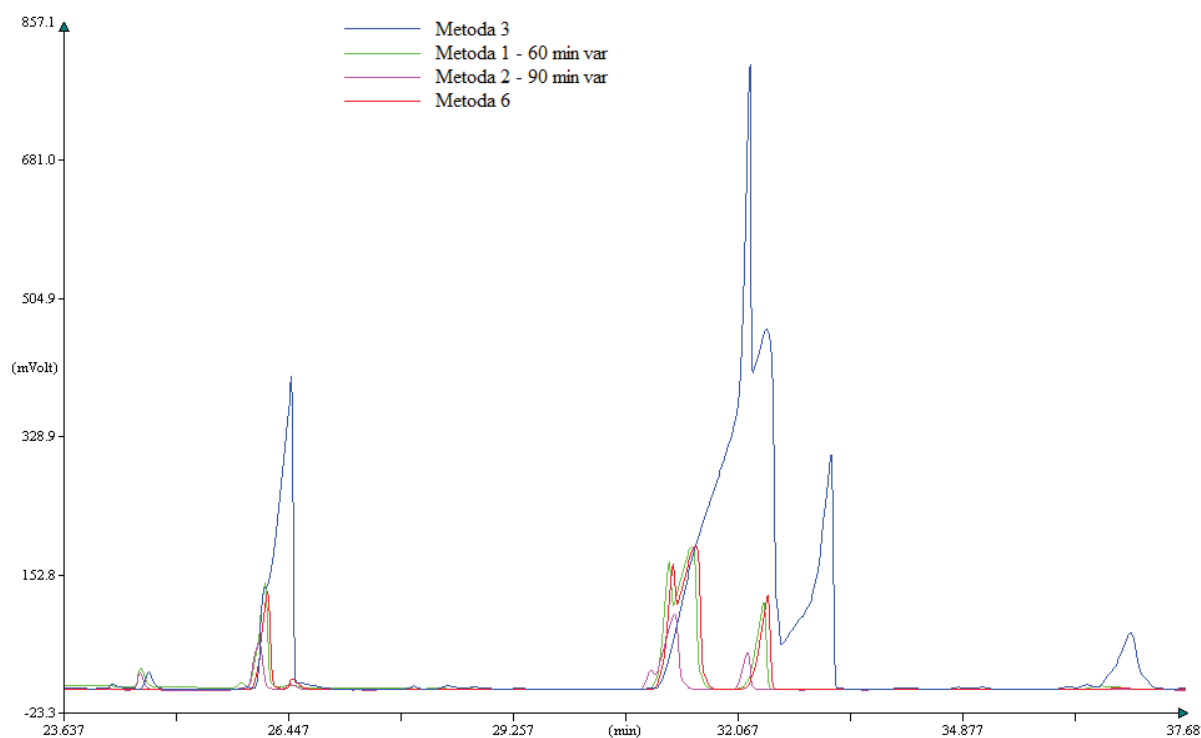


Obr. 4.4 Srovnání esterifikační metody 4,5 a 6



Obr. 4.5 Srovnání zásaditě katalyzovaných esterifikací

Nejvhodnější metodou se podle již zmíněných kritérií stala zásaditě katalyzovaná esterifikace s použitím metanolového roztoku KOH a následným okyslením kyselinou sírovou (metoda 3). Tato metoda poskytovala vysoké výtěžky, proces je poměrně jednoduchý, umožňuje získání methylesterů volných i vázaných MK. Určitá nevýhoda je poměrně dlouhá doba trvání 90 minut. Srovnání je uvedeno na obr. 4.6. Výsledný přesný postup je uveden v experimentální části kap. 3.3.1.2.



Obr. 4.6 Porovnání esterifikačních metod

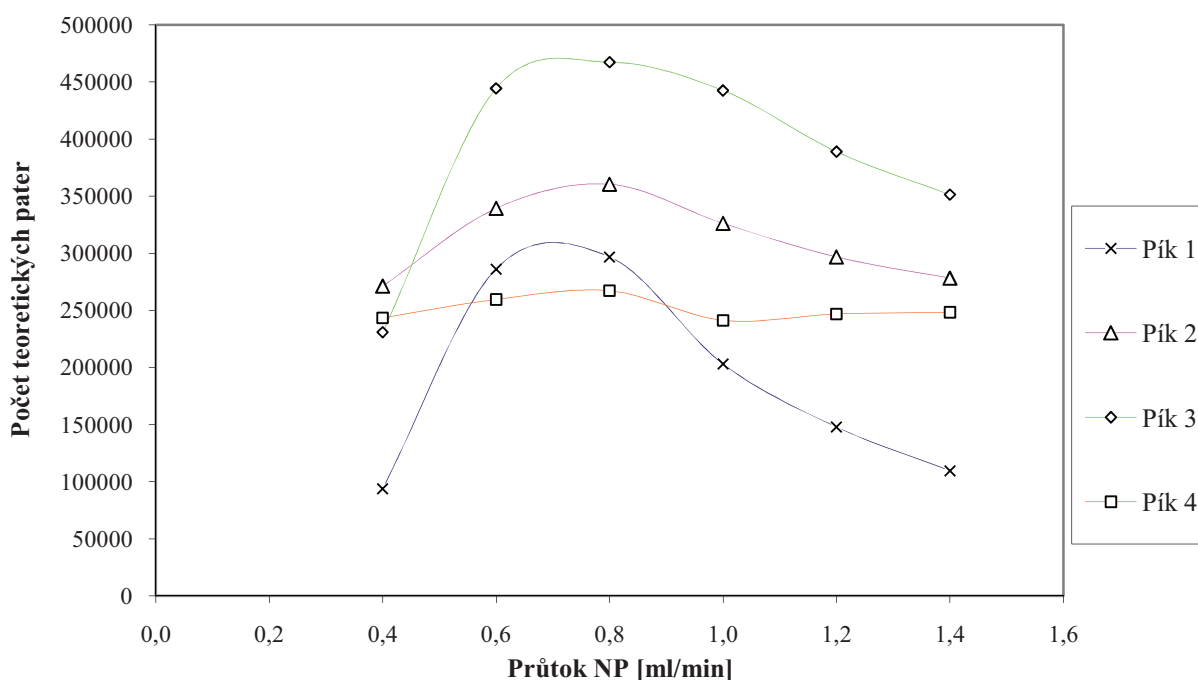
4.2 Optimalizace podmínek GC pro analýzu mastných kyselin

Správné nastavené podmínky v plynovém chromatografu mají zásadní vliv na separaci požadovaných látek.

4.2.1 Optimalizace průtoku nosného plynu

Při volbě nosného plynu (NP) se musí uvažovat následující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu. Průtok nosného plynu musí být optimalizován tak, aby se dosáhlo co nejlepšího rozdělení látek na koloně, tj. nejmenšího rozšíření zón separovaných látek.

Při různých průtocích nosného plynu byl u vybraných píků změřen počet teoretických pater. Naměřená data byla vynesena do grafu. Podle získaných křivek se nejlepšího rozdělení dosahuje při průtoku nosného plynu 0,8 ml/min.



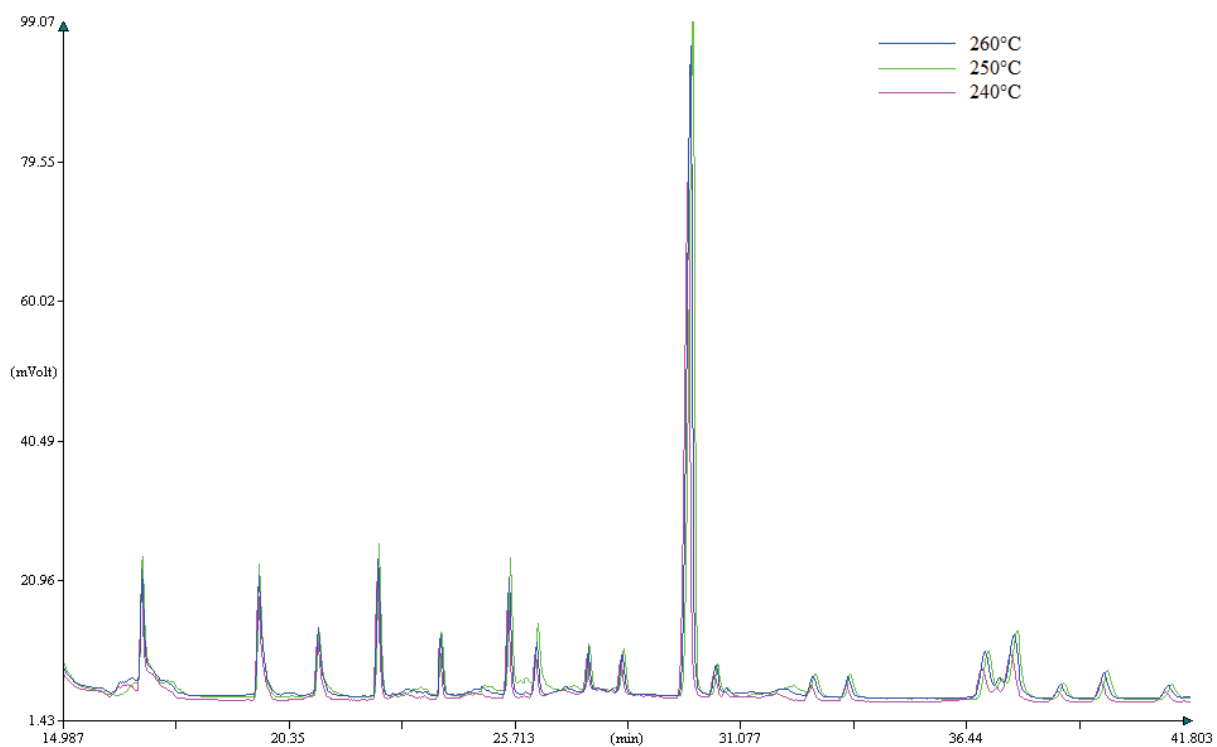
Obr. 4.7 Graf závislosti teoretických pater na průtoku nosného plynu

4.2.2 Optimalizace teploty detektoru

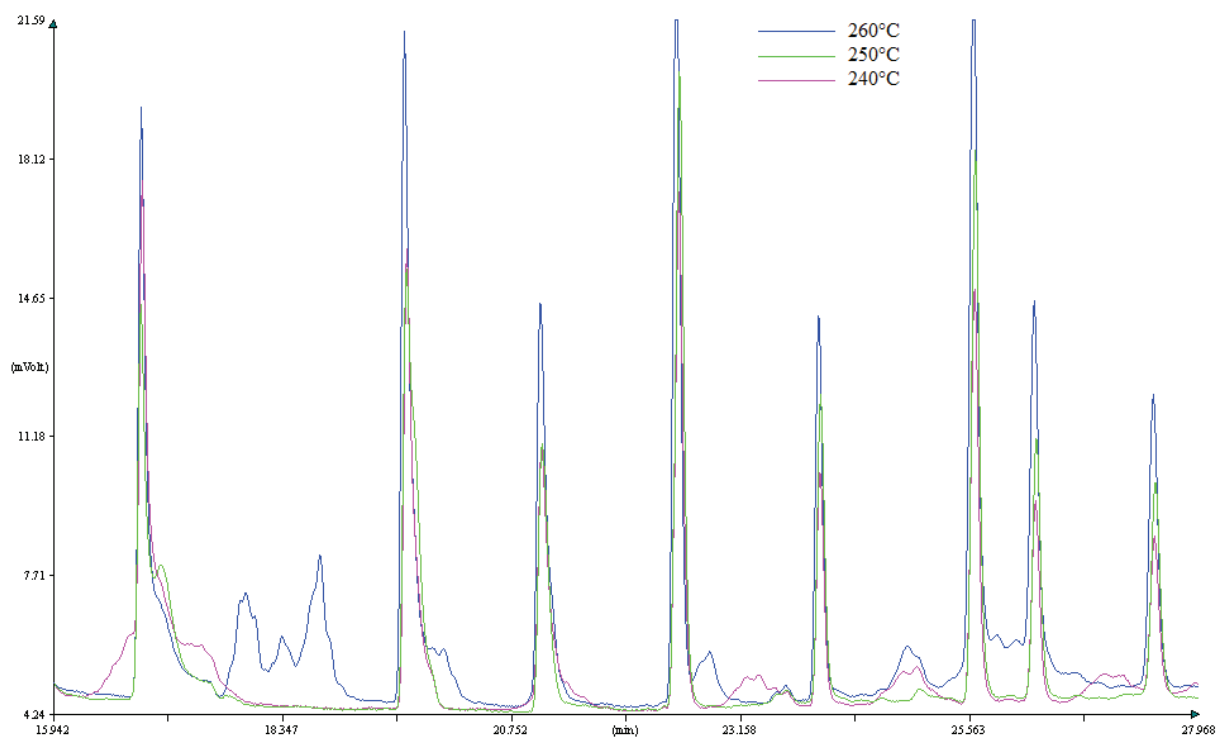
Teplota detektoru by neměla být nižší než je teplota látek, které vycházejí z kolony. V opačném případě by docházelo ke kondenzaci látek v detektoru a tím zhoršení celkové analýzy. Proto při volbě optimální teploty detektoru musí být brán ohled na teplotní program. Dále byl sledován rozdíl v separaci látek při použití různé teploty detektoru. Na obr. 4.8 jsou porovnány 3 různé teploty detektoru. Nebyly pozorovány velké rozdíly mezi jednotlivými teplotami. Nejlepší separace byla dosažena při teplotě detektoru 260 °C.

4.2.3 Optimalizace teploty injektoru

Teplota nástřiku musí být vyšší než teplota bodu varu analyzované sloučeniny, aby došlo k okamžitému zplynění. Byl porovnáván vliv teploty nástřiku na separaci složek. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při teplotě injektoru 260 °C, což je i patrné z obr. 4.9.



Obr. 4.8 Optimalizace teploty detektoru



Obr. 4.9 Optimalizace teploty injektoru

4.2.4 Optimalizace teplotního programu

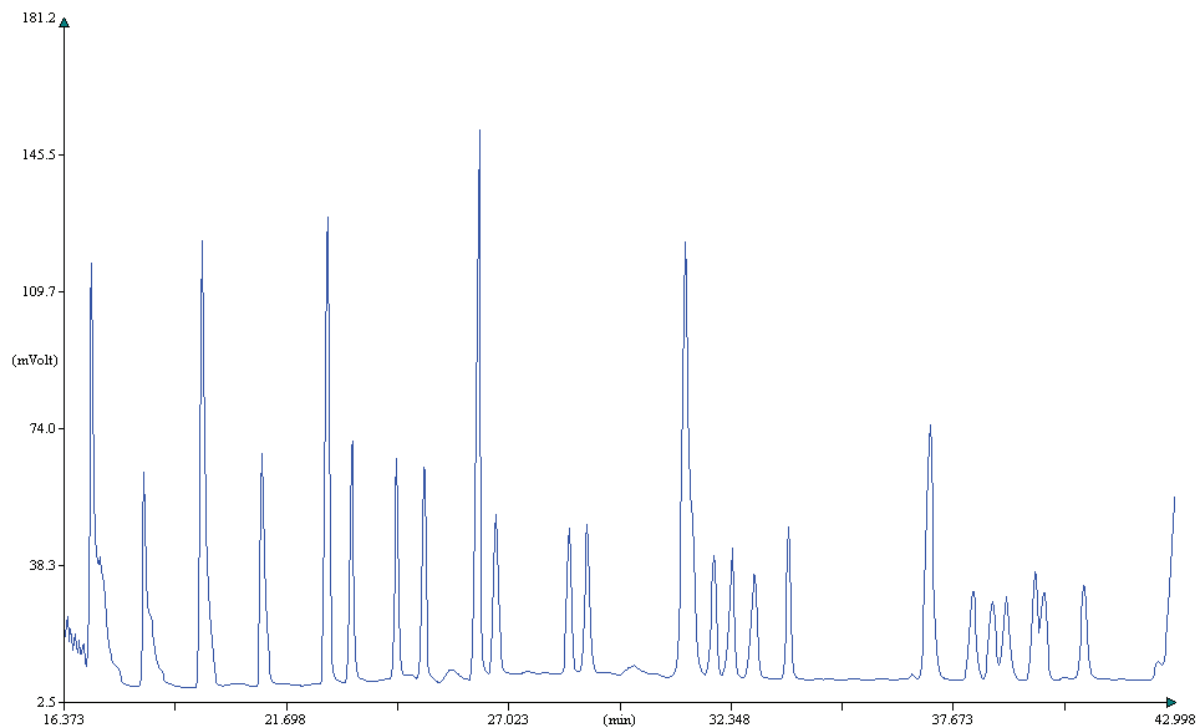
Pro dosažení, co nejlepší separace jednotlivých mastných kyselin v použitém standardu, byly navrženy a vyzkoušeny různé teplotní programy.

V tabulce 4.1 jsou uvedeny zkušební teplotní programy.

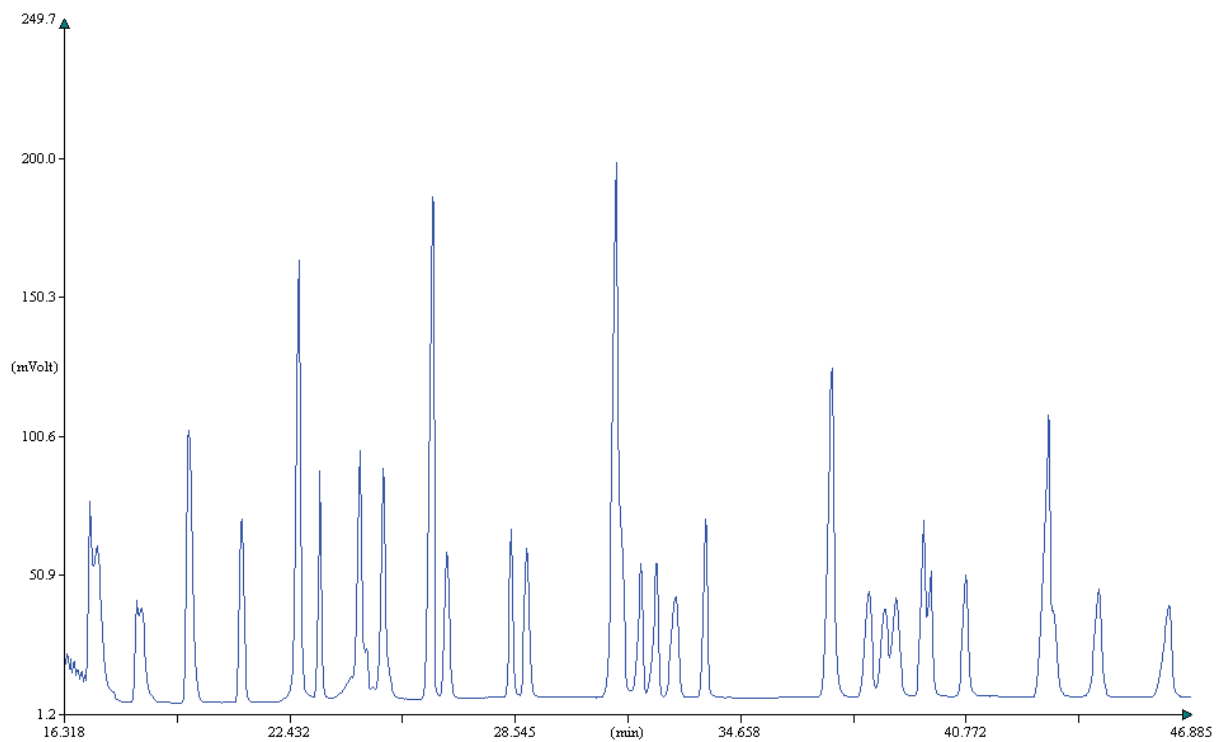
Tab. 4.1 Teplotní programy použité pro analýzu standardů mastných kyselin

	Počáteční stav	Rampa 1	Rampa 2	Rampa 3	Rampa 4	Celkový čas
1	120 °C (2 min)	10 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 240 °C (15 min)			43 min
2	120 °C (2 min)	10 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 240 °C (20 min)			48 min
3	60 °C (15 min)	10 °C/ min 200 °C (60 min)				89 min
4	60 °C (5 min)	10 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 240 °C (10 min)			47 min
5	60 °C (5 min)	15 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 220 °C (15 min)	5 °C/ min 240 °C (15 min)		62 min
6	60 °C (5 min)	12 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 220 °C (20 min)	5 °C/ min 240 °C (10 min)		65 min
7	60 °C (5 min)	12 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 220 °C (20 min)	5 °C/ min 240 °C (15 min)		70 min
8	60 °C (5 min)	12 °C/ min 200 °C (10 min)	5 °C/ min 220 °C (20 min)	5 °C/ min 240 °C (5 min)	5 °C/ min 200 °C (10 min)	76 min

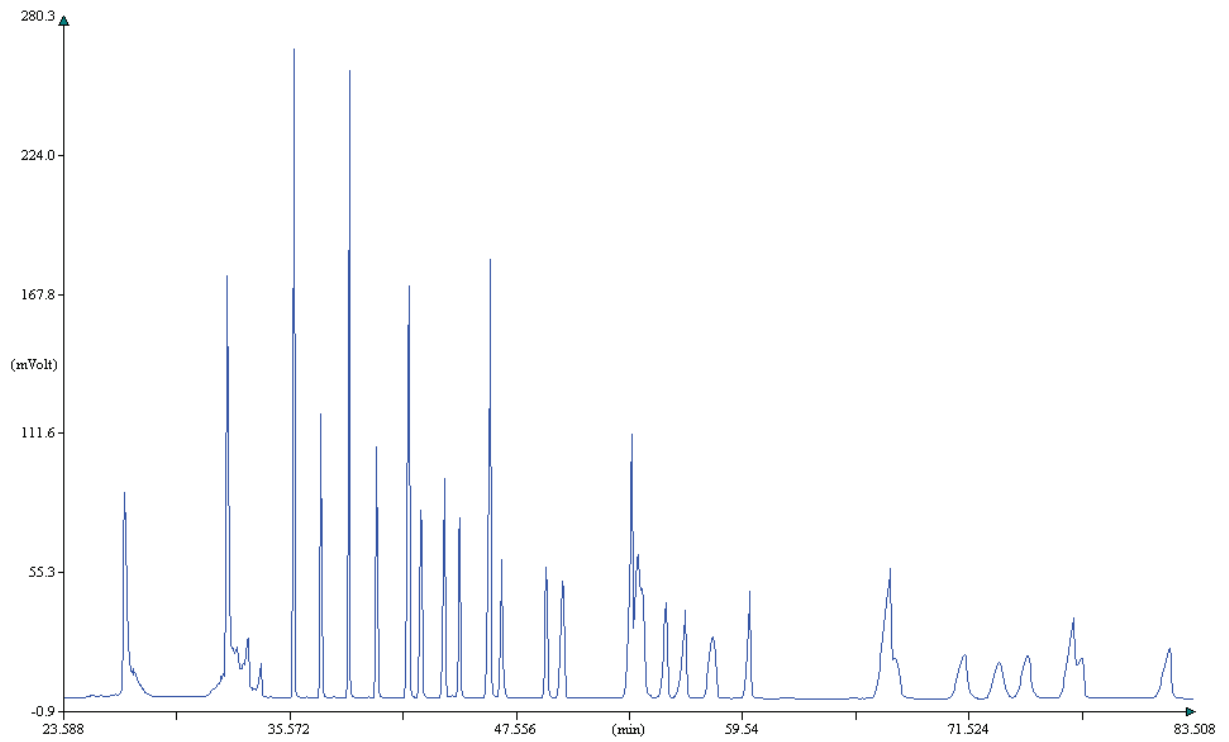
Na následujících obrázcích (4.10 - 4.17) jsou ukázány získané chromatogramy z jednotlivých teplotních programů. Nakonec byl pro identifikaci a kvantifikaci vybrán teplotní program č. 7. Většina píků byla poměrně dobře rozdělená při zachování přiměřené doby analýzy (70 min). Nicméně MK s vyšším počtem uhlíků (> 18) se dělí poněkud hůře a bude potřeba se ještě zaměřit na tuto část analýzy, což bude náplní navazující diplomové práce. Srovnání chromatogramů je na obr. 4.18.



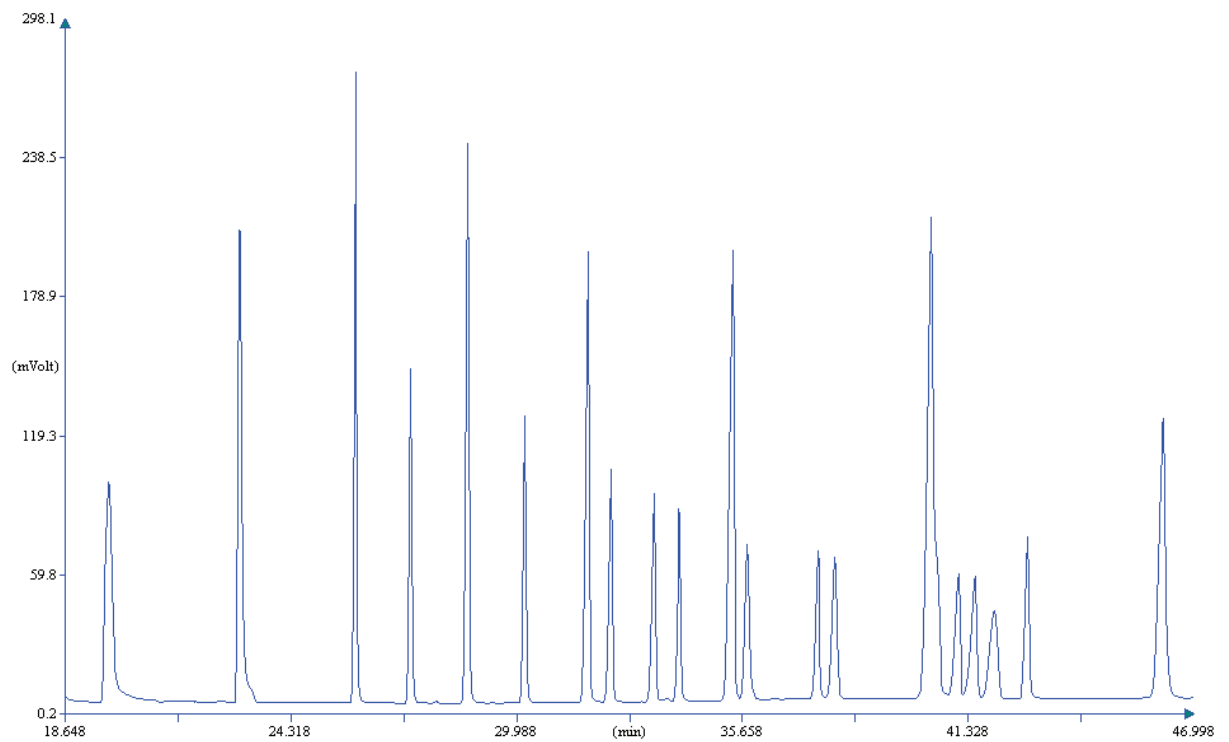
Obr. 4.10 Teplotní program 1



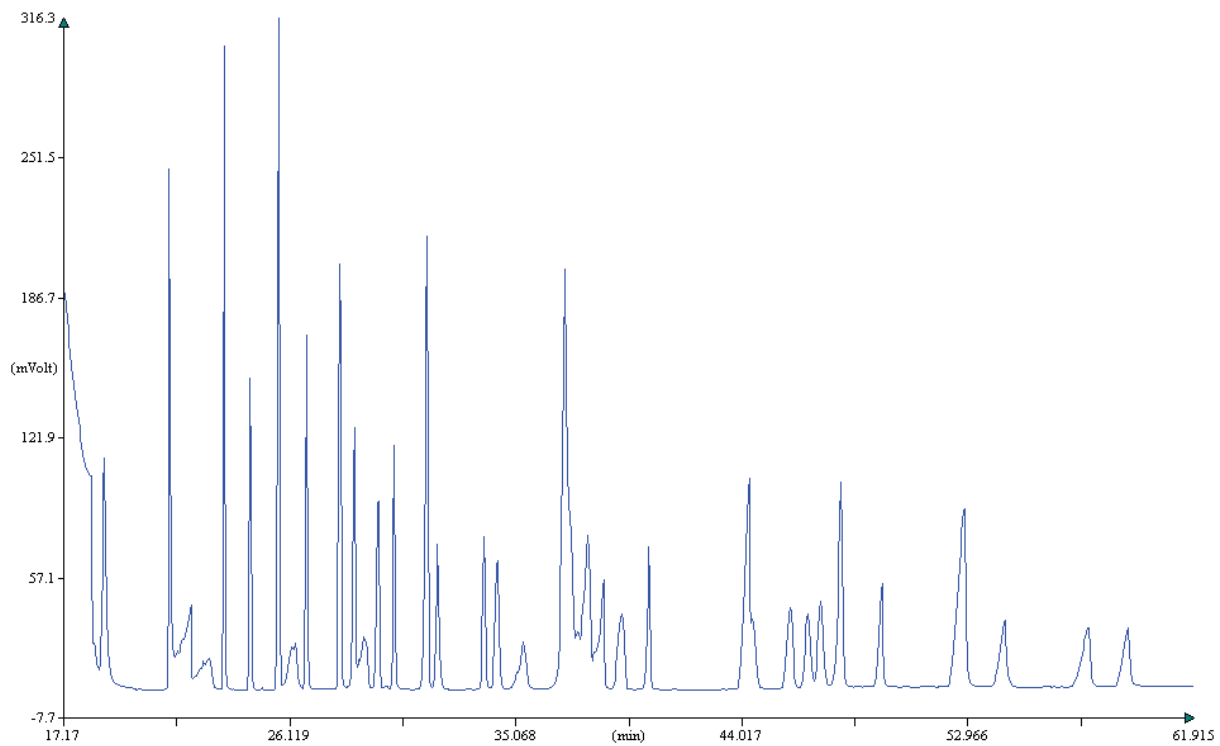
Obr. 4.11 Teplotní program 2



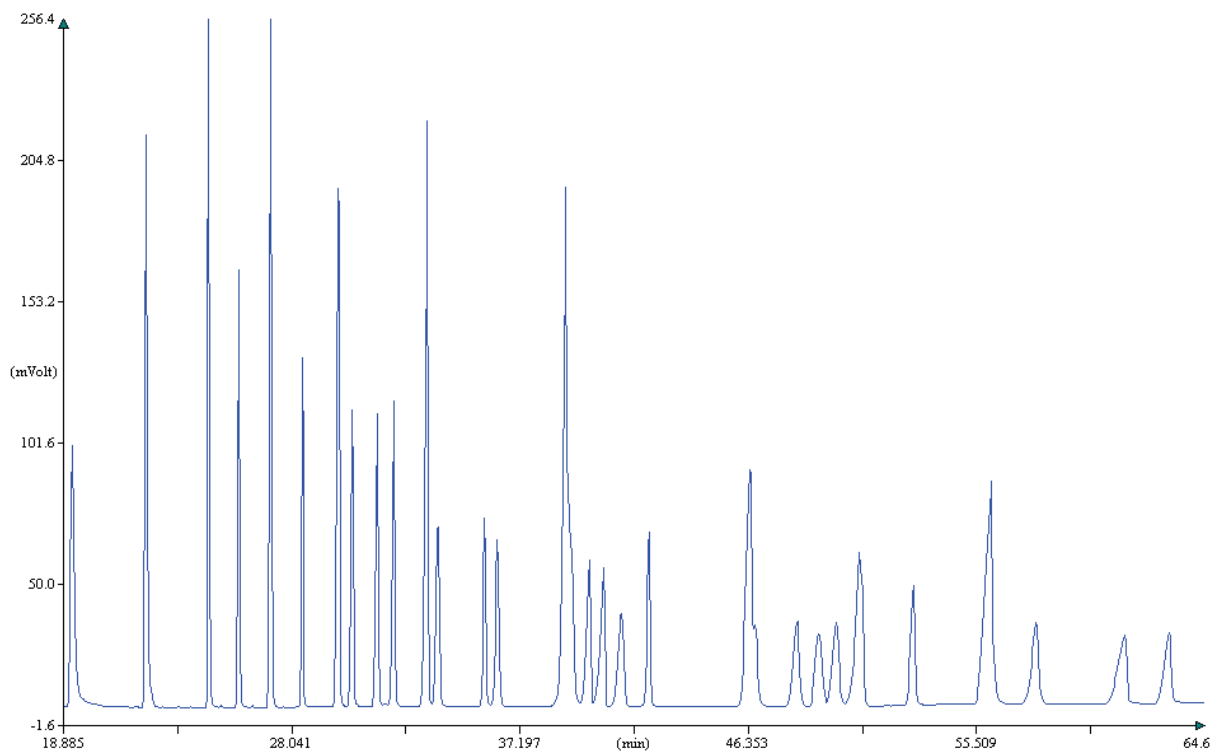
Obr. 4.12 Teplotní program 3



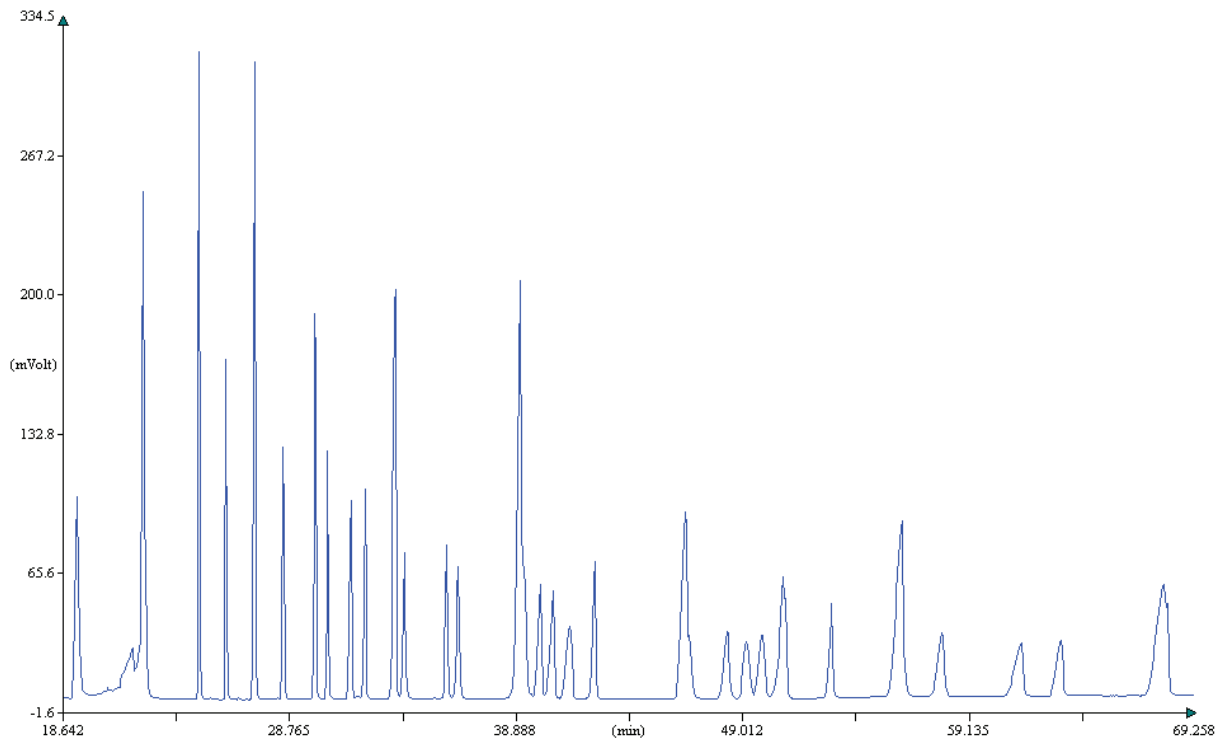
Obr. 4.13 Teplotní program 4



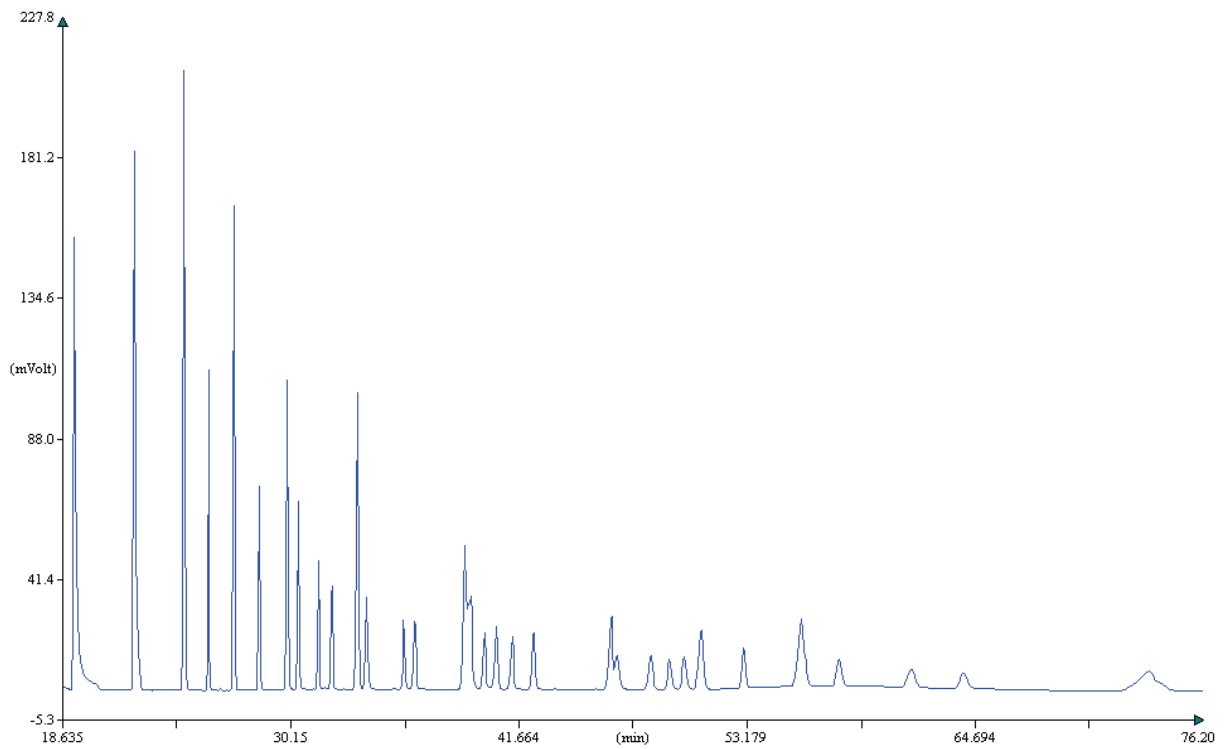
Obr. 4.14 Teplotní program 5



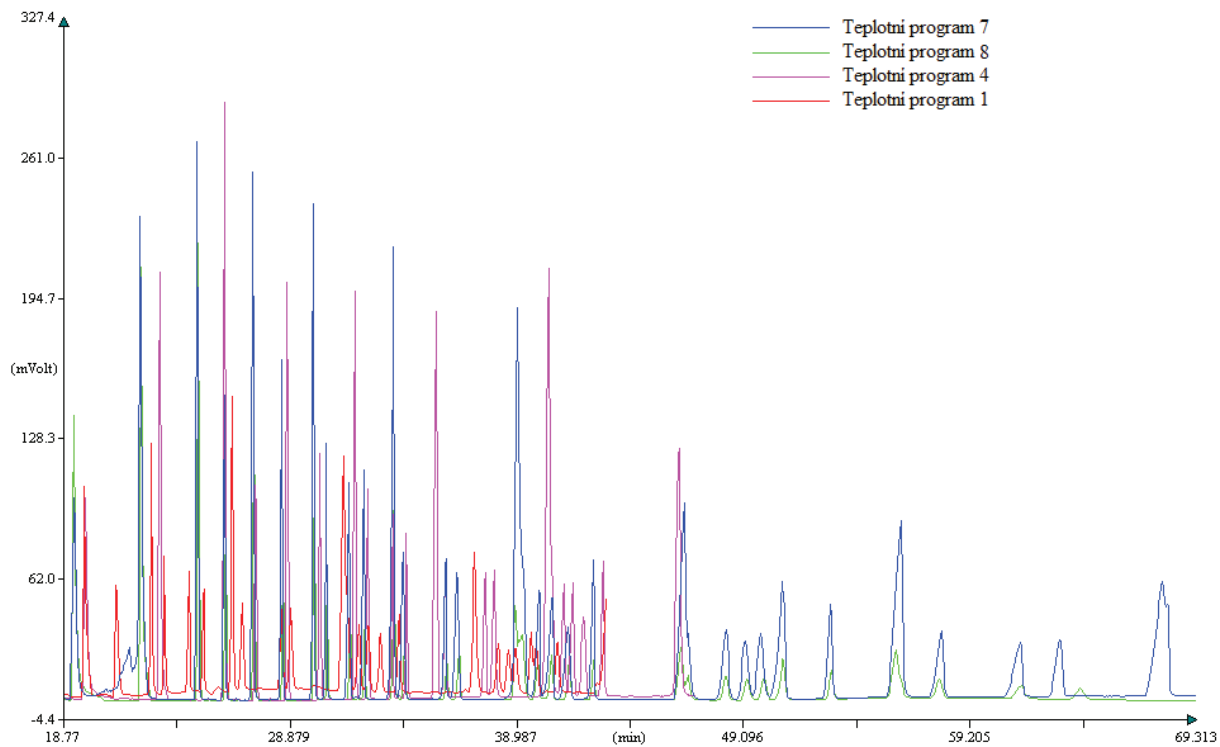
Obr. 4.15 Teplotní program 6



Obr. 4.16 Teplotní program 7



Obr. 4.17 Teplotní program 8



Obr. 4.18 Srovnání teplotního programu 1, 4, 7, 8

4.3 Stanovení mastných kyselin v různých typech sýrových analogů

Optimalizovaná GC metoda byla použita pro stanovení obsahu vybraných MK v různých typech tavených sýrových analogů. Identifikace a kvantifikace esterů mastných kyselin byla provedena na základě směsi standardů, které jsou spolu s jejich retenčními časy uvedeny v tab. 4.2.

Tab. 4.2 Použité standardy methylesterů mastných kyselin

Methylester kyseliny	t _R (min)	Methylester kyseliny	t _R (min)
kapronová	18,97	linolelaidová	39,63
kaprylová	21,91	arachová	40,36
kaprinová	24,41	gama - linolenová	40,37
undekanová	25,59	eicosenová	41,42
laurová	26,84	linolenová	45,27
tridekanová	28,09	heneicosanová	45,42
myristová	29,51	octadekadienová	47,05
myristoolejová	30,06	eicosadienová	47,92
pentadekanová	31,00	behenová	48,59
pentadecenová	31,65	eicosatrienová 6	49,38
palmitová	32,91	eruková	49,58
palmitoolejová	33,30	eicosatrienová 3	51,79
heptadekanová	35,07	arachidonová	54,63
heptadecenová	35,58	trikosanová	56,43
stearová	38,12	docosadienová	59,63
olejová	38,20	eicosapentanová	61,72
linolová	39,06	nervonová	65,80

4.3.1 Zastoupení vybraných mastných kyselin ve vzorcích sýrových analogů

Z jednotlivých sýrových analogů byl extrahován tuk, a poté esterifikován vybranou metodou.

Nejprve byla na základě známé koncentrace standardu vypočítána koncentrace a množství methylesteru mastné kyseliny v 15 ml odměrné baňky

$$c = \frac{c_s \cdot P}{P_s} [mg \cdot ml^{-1}] \quad (5.1)$$

$$m = c \cdot V [mg] \quad (5.2)$$

kde c , P (resp. c_s , P_s) jsou koncentrace a plocha píku methylesteru (resp. standardu); m je množství methylesteru v odměrné baňce; V je objem odměrné baňky v [ml].

Obsah je vyjádřen v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku, proto se vypočtené množství dělilo hmotností vyextrahovaného tuku. Zjištěné koncentrace u vybraných MK u jednotlivých vzorků jsou uvedeny v tabulce 4.3. Výsledky jsou uvedené ve tvaru průměr \pm směrodatná odchylka ($n=3$).

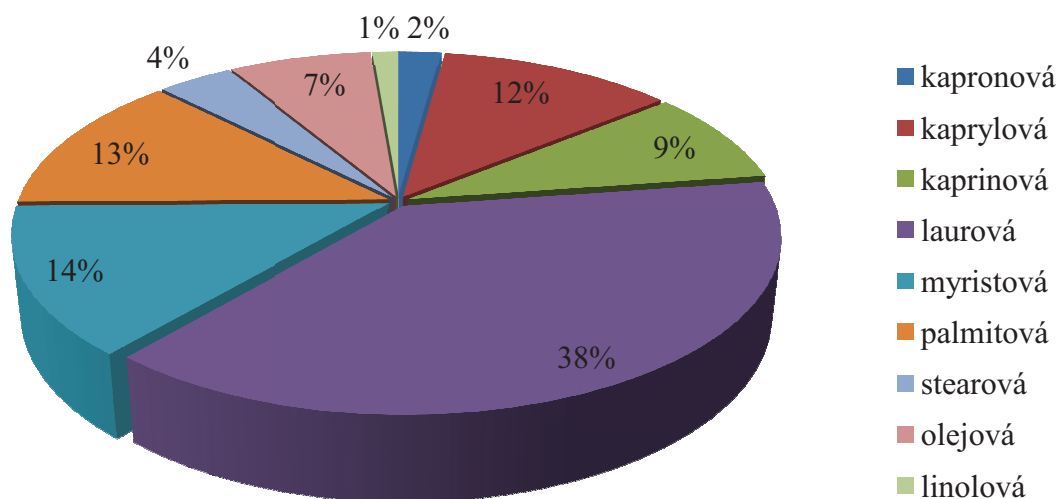
Při porovnávání výsledků analýz bylo zjištěno, že největší podíl na složení tuků jednotlivých sýrových analogů mají následující kyseliny: *kapronová*, *kaprylová*, *kaprinová*, *laurová*, *myristová*, *palmitová*, *stearová*, *olejová*, *linolová*. Vyhodnocení výsledků analýz je zaměřeno právě na těchto devět mastných kyselin.

Tab. 4.3 Koncentrace vybraných mastných kyselin ve vzorcích sýrových analogů

Kyselina	Tuk použitý v sýrovém analogu:				
	Kokosový tuk [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	Máslo [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	Mléčný tuk [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	Palmový tuk [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	Slunečnicový olej [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]
kapronová	17,43 \pm 0,10	42,34 \pm 0,03	10,99 \pm 0,07	10,95 \pm 0,03	16,46 \pm 0,06
kaprylová	96,57 \pm 0,01	28,53 \pm 0,02	9,90 \pm 0,12	10,03 \pm 0,01	10,99 \pm 0,01
kaprinová	69,45 \pm 0,04	56,71 \pm 0,03	15,96 \pm 0,16	18,81 \pm 0,02	19,02 \pm 0,02
laurová	310,89 \pm 0,10	52,93 \pm 0,06	18,41 \pm 0,15	18,23 \pm 0,05	16,13 \pm 0,03
myristová	109,53 \pm 0,17	129,62 \pm 0,10	33,74 \pm 0,15	42,37 \pm 0,010	35,29 \pm 0,06
palmitová	103,89 \pm 0,24	344,62 \pm 0,10	197,52 \pm 0,09	149,32 \pm 0,13	152,29 \pm 0,09
stearová	30,83 \pm 0,31	59,74 \pm 0,15	16,42 \pm 0,14	122,92 \pm 0,22	25,13 \pm 0,18
olejová	58,26 \pm 0,33	266,79 \pm 0,11	177,87 \pm 0,13	291,16 \pm 0,12	184,25 \pm 0,10
linolová	10,41 \pm 0,31	25,25 \pm 0,11	33,86 \pm 0,14	14,54 \pm 0,10	211,60 \pm 0,13

4.3.1.1 Sýrový analog s kokosovým tukem

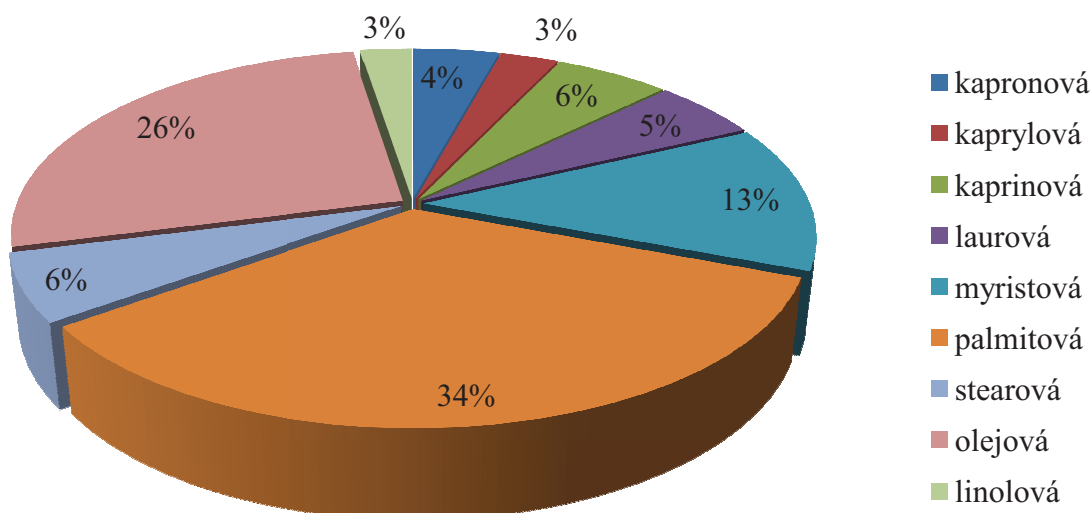
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s kokosovým tukem je na obr. 4.19. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina laurová (38 %), dále pak kyseliny myristová, palmitová, kaprylová, kaprinová, olejová, stearová, kapronová a linolová.



Obr. 4.19 Obsah mastných kyselin v sýrovém analogu s kokosovým tukem

4.3.1.2 Sýrový analog s máslem

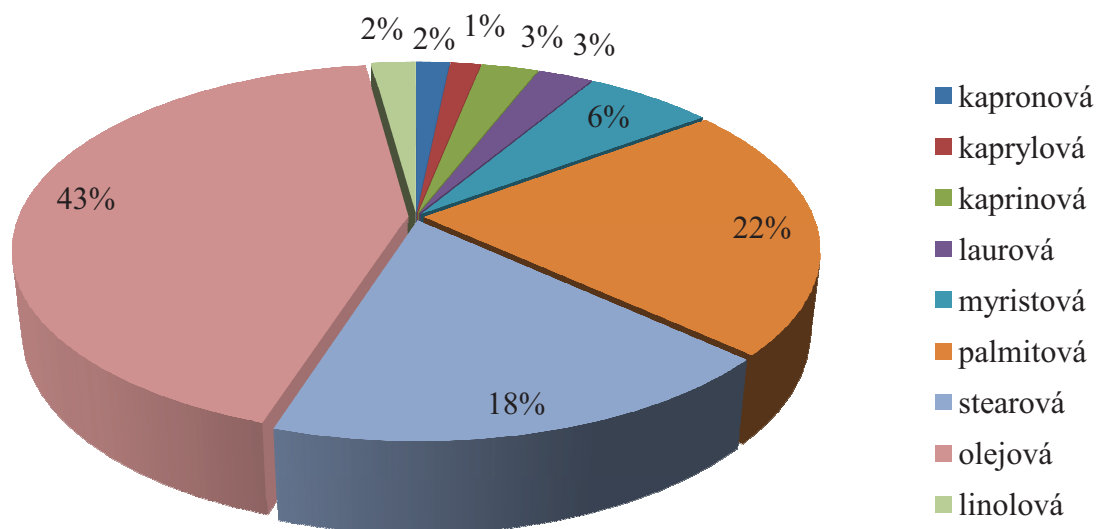
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s máslem je na obr. 4.20. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina palmitová (34 %), dále pak kyseliny olejová, myristová, kaprinová a stearová, kapronová, laurová, kaprylová, a linolová.



Obr. 4.20 Obsah mastných kyselin v sýrovém analogu s máslem

4.3.1.3 Sýrový analog s mléčným tukem

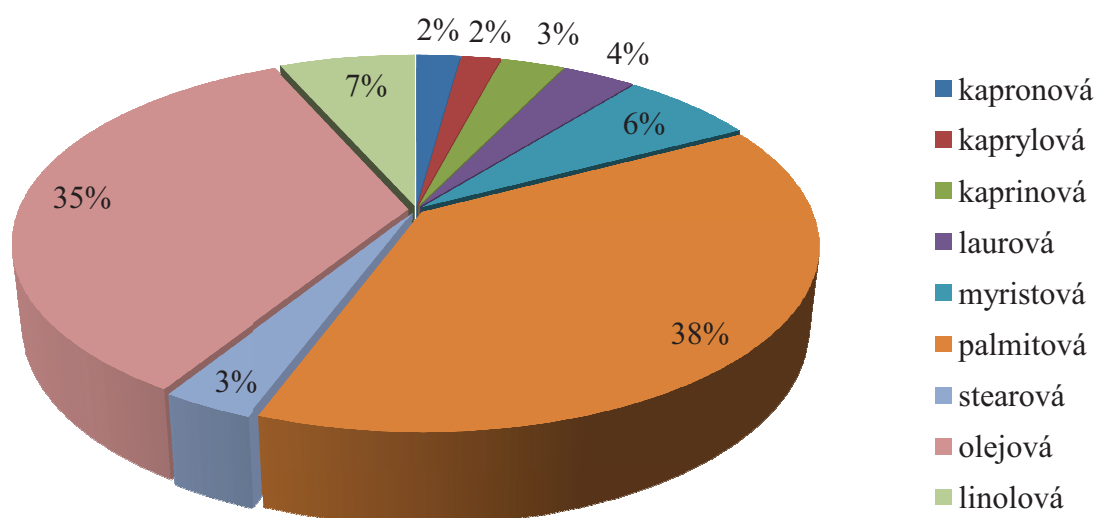
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s mléčným tukem je na obr. 4.21. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina olejová (43 %), dále pak kyseliny palmitová, stearová, myristová, laurová, kapronová, a linolová, kaprylová.



Obr. 4.21 Obsah mastných kyselin v sýrovém analogu s mléčným tukem

4.3.1.4 Sýrový analog s palmovým tukem

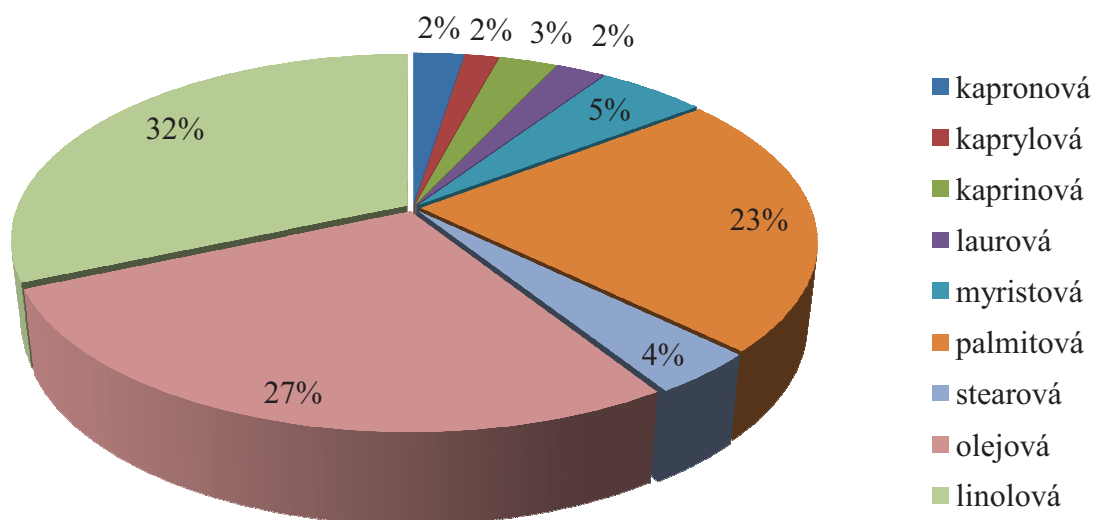
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s palmovým tukem je na obr. 4.22. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina palmitová (38 %), dále pak kyseliny olejová, linolová, myristová, laurová, stearová a kaprinová, kapronová a kaprylová.



Obr. 4.22 Obsah mastných kyselin v sýrovém analogu s palmovým tukem

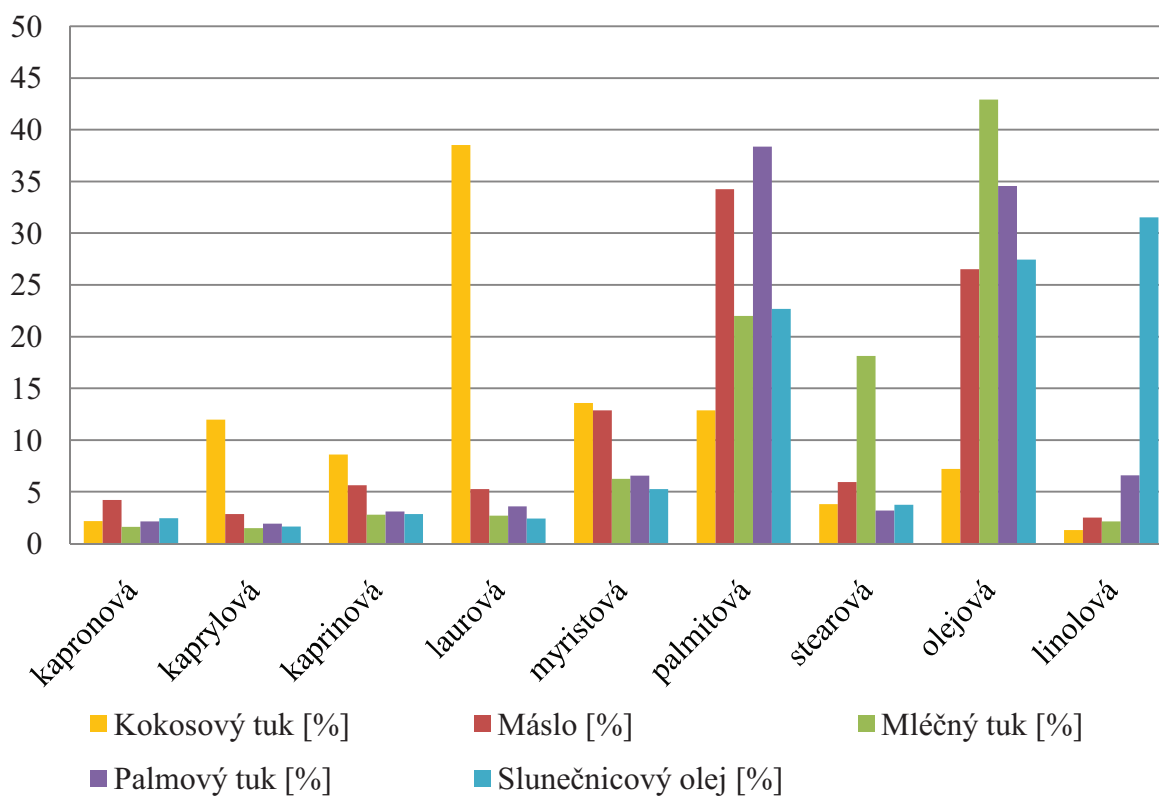
4.3.1.5 Sýrový analog se slunečnicovým olejem

Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu se slunečnicovým olejem je na obr. 4.23. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina linolová (32%), dále pak kyseliny olejová, palmitová, myristová, stearová, kaprinová, laurová, kapronová a kaprylová.



Obr. 4.23 Obsah mastných kyselin v sýrovém analogu se slunečnicovým olejem

4.4 Porovnání zastoupení mastných kyselin jednotlivých typů sýrových analogů



Obr. 4.24 Zastoupení vybraných mastných kyselin v sýrových analogích

V grafu na obrázku 4.24 jsou porovnány obsahy jednotlivých mastných kyselin v sýrových analozích.

V sýrových analozích s živočišnými tuky (máslo, mléčný tuk) mají největší zastoupení kyseliny palmitová a olejová, v menší míře kyselina myristová a stearová. Sýrové analogy s rostlinnými tuky se ve svém složení mastných kyselin odlišují. Sýrový analog se slunečnicovým olejem obsahoval nejvíc kyselinu linolovou, dále kyselinu olejovou a palmitovou. Sýrový analog s kokosovým tukem obsahoval nejvíce kyselinu laurovou, v menší míře kyselinu myristovou, kaprylovou a kaprinovou. Sýrový analog s palmovým tukem se nejvíce podobal svým složením mastných kyselin živočišným tukům, obsahoval nejvíce kyselinu palmitovou a olejovou. Odlišoval se zvýšeným obsahem kyseliny linolové.

Pokud srovnáme jednotlivé kyseliny mezi sebou, kyselina kapronová, kaprinová a myristová jsou poměrně stejně zastoupeny ve všech vzorcích, na rozdíl od ostatních kyselin, kde se výrazně projevuje rozdíl mezi jednotlivými sýrovými analogy.

4.5 Zastoupení vybraných mastných kyselin ve vzorcích tuků

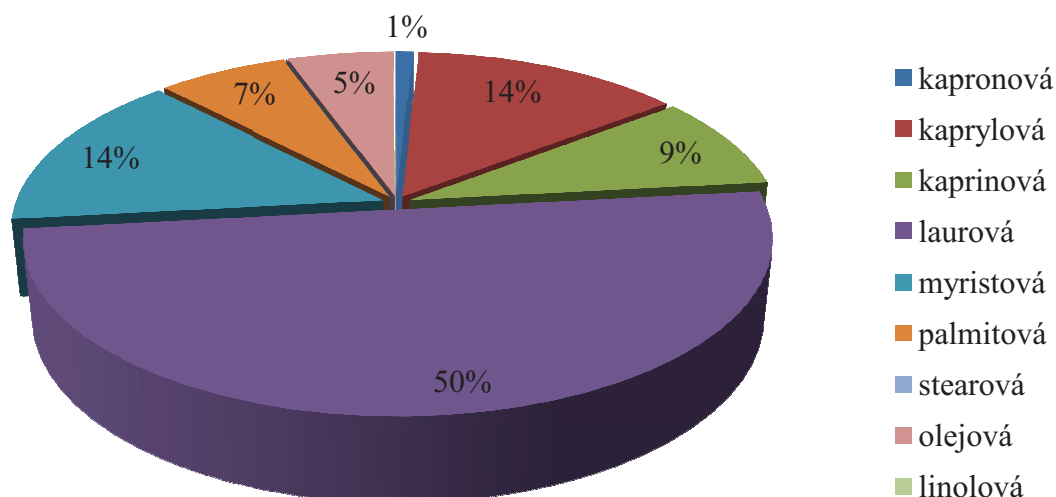
Pro porovnání jednotlivých koncentrací a procentuálního zastoupení mastných kyselin byly analyzovány i samostatné tuky ekvivalentní těm, které byly použity v sýrových analozích. Navážky jednotlivých tuků byly vždy 1 g a byly, stejně jako vyextrahované tuky ze sýrových analogů, podrobeny esterifikaci dle postupu uvedeného v kapitole 4.1.3. V tabulce 4.4 jsou uvedeny koncentrace jednotlivých mastných kyselin.

Tab. 4.4 Koncentrace vybraných mastných kyselin ve vzorcích tuků

Kyselina	Samostatný tuk:				
	Kokosový tuk [mg·g ⁻¹]	Máslo [mg·g ⁻¹]	Mléčný tuk [mg·g ⁻¹]	Palmový tuk [mg·g ⁻¹]	Slunečnicový olej [mg·g ⁻¹]
kapronová	8,14±0,07	23,24±0,13	13,27±0,05	0,00±0,00	0,00±0,00
kaprylová	129,13±0,03	17,41±0,14	8,36±0,19	0,54±0,00	0,00±0,00
kaprinová	81,63±0,03	32,16±0,13	17,91±0,13	0,51±0,15	0,00±0,00
laurová	469,94±0,05	27,36±0,14	18,49±0,08	4,34±0,04	0,52±0,05
myristová	137,35±0,08	59,94±0,15	61,91±0,22	9,84±0,06	1,43±0,12
palmitová	62,62±0,10	142,96±0,17	187,44±0,13	339,95±0,09	90,86±0,14
stearová	0,00±0,00	21,55±0,19	85,99±0,13	19,05±0,13	24,86±0,71
olejová	50,80±0,64	96,58±0,20	253,82±0,20	344,25±0,11	133,80±0,25
linolová	0,44±0,02	6,32±0,37	16,63±0,13	73,04±0,11	281,55±0,17

4.5.1 Zastoupení mastných kyselin v kokosovém tuku

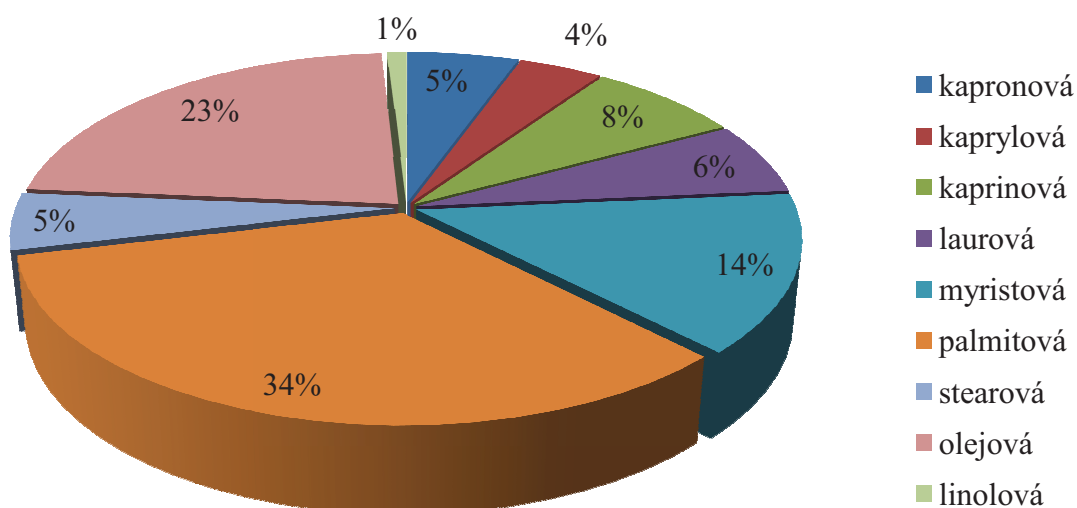
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v kokosovém tuku je na obr. 4.25. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina laurová (50 %), dále pak kyseliny myristová a kaprylová, kaprinová, palmitová, olejová a kapronová.



Obr. 4.25 Obsah mastných kyselin v kokosovém tuku

4.5.2 Zastoupení mastných kyselin v másle

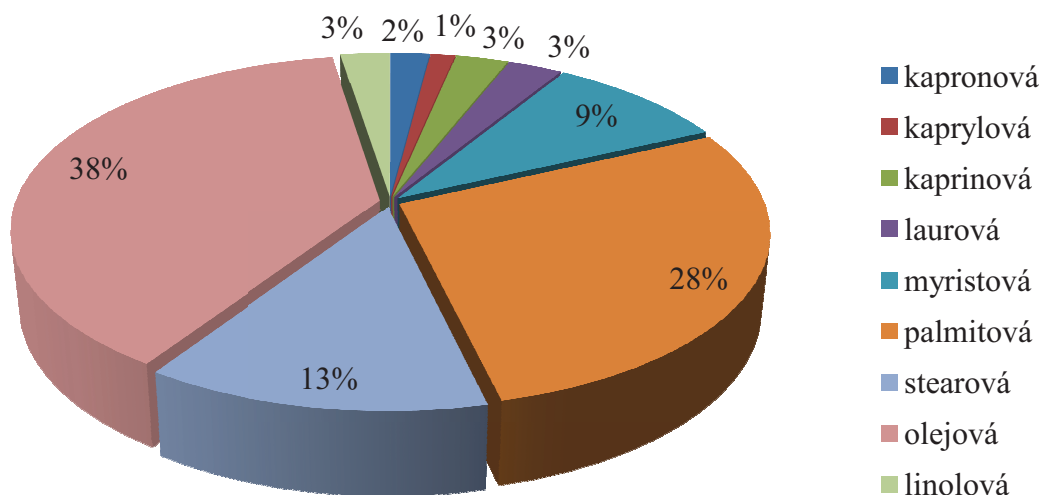
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v másle je na obr. 4.26. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina palmitová (34 %), dále pak kyseliny olejová, myristová kaprinová, laurová, stearová a kapronová, kaprylová a linolová.



Obr. 4.26 Obsah mastných kyselin v másle

4.5.3 Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku

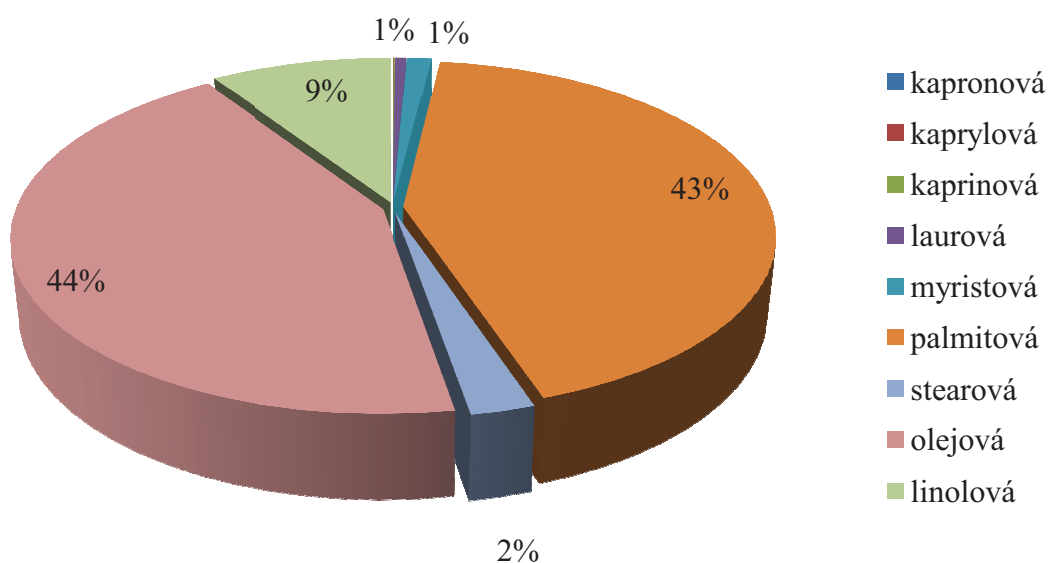
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v mléčném tuku je na obr. 4.27. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina olejová (38%), dále pak kyseliny palmitová, stearová, myristová, linolová a kaprinová a laurová, kapronová a kaprylová.



Obr. 4.27 Obsah mastných kyselin v mléčném tuku

4.5.4 Zastoupení mastných kyselin v palmovém tuku

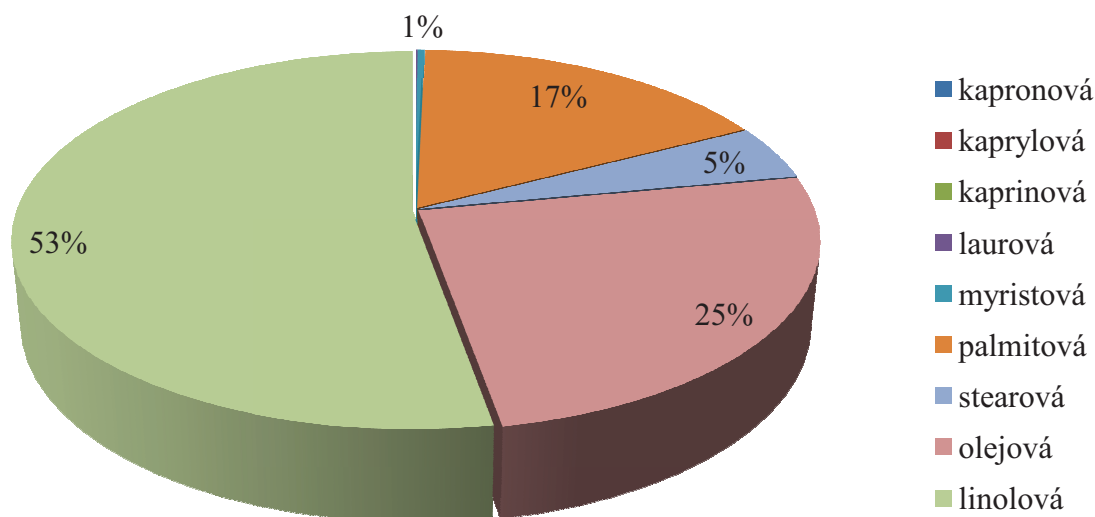
Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin v palmovém tuku je na obr. 4.28. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina olejová (44%), dále pak kyseliny palmitová, linolová, stearová, laurová a kapronová.



Obr. 4.28 Obsah mastných kyselin v palmovém tuku

4.5.5 Zastoupení mastných kyselin ve slunečnicovém oleji

Zastoupení jednotlivých vybraných mastných kyselin ve slunečnicovém oleji je na obr. 4.29. Nejvíce zastoupenou kyselinou je kyselina linolová (53 %), dále pak kyseliny olejová, palmitová, stearová a myristová.



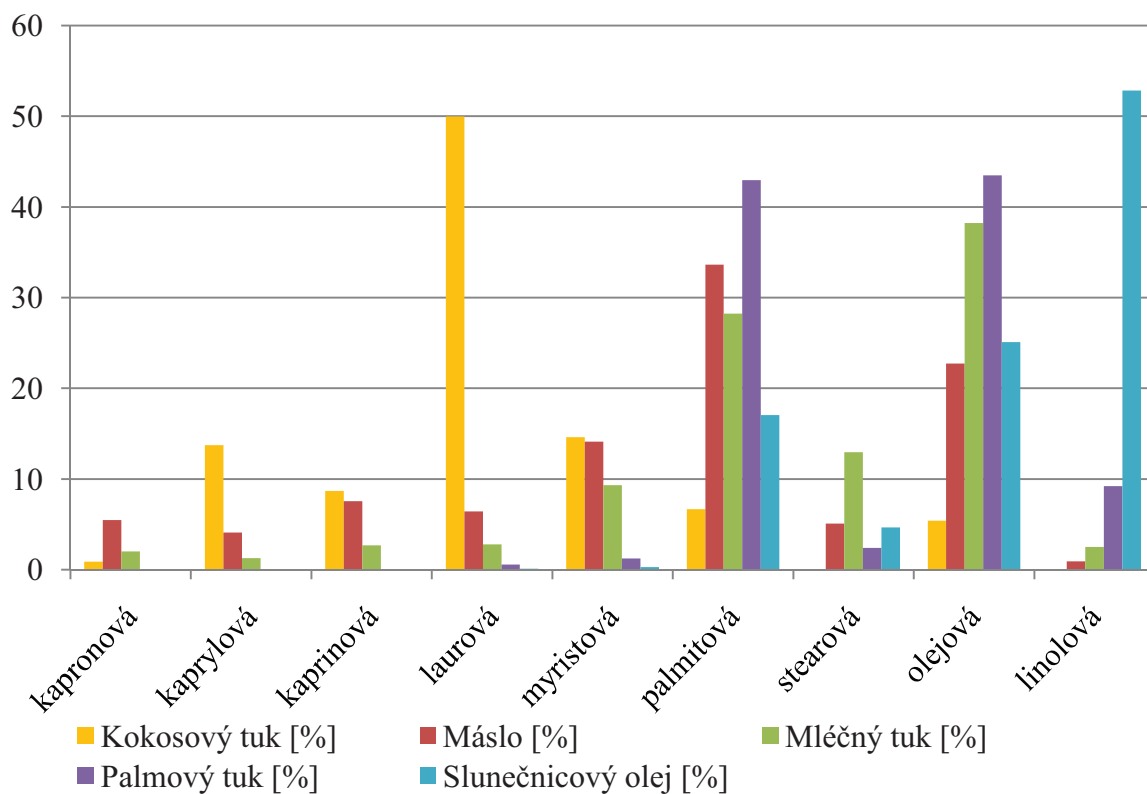
Obr. 4.29 Obsah mastných kyselin ve slunečnicovém oleji

4.6 Porovnání zastoupení mastných kyselin jednotlivých tuků

V grafu na obrázku 4.30 jsou popsány obsahy jednotlivých mastných kyselin v tucích.

V másle i v mléčném tuku se nachází všech devět vybraných mastných kyselin. Největší procentuální podíl mají mastné kyseliny palmitová a olejová, nejméně kyselina linolová. Rostlinné tuky neobsahovaly všechny námi vybrané mastné kyseliny. Kokosový tuk obsahuje spíše méně uhlíkaté kyseliny, nejvíce kyselinu laurovou. Slunečnicový olej a palmový tuk mají obdobné složení mastných kyselin jako živočišné tuky, nejvíce zastoupené kyseliny jsou olejová a palmitová. Liší se obsahem kyseliny linolové. Slunečnicový olej má obsah kyseliny linolové největší ze všech analyzovaných tuků.

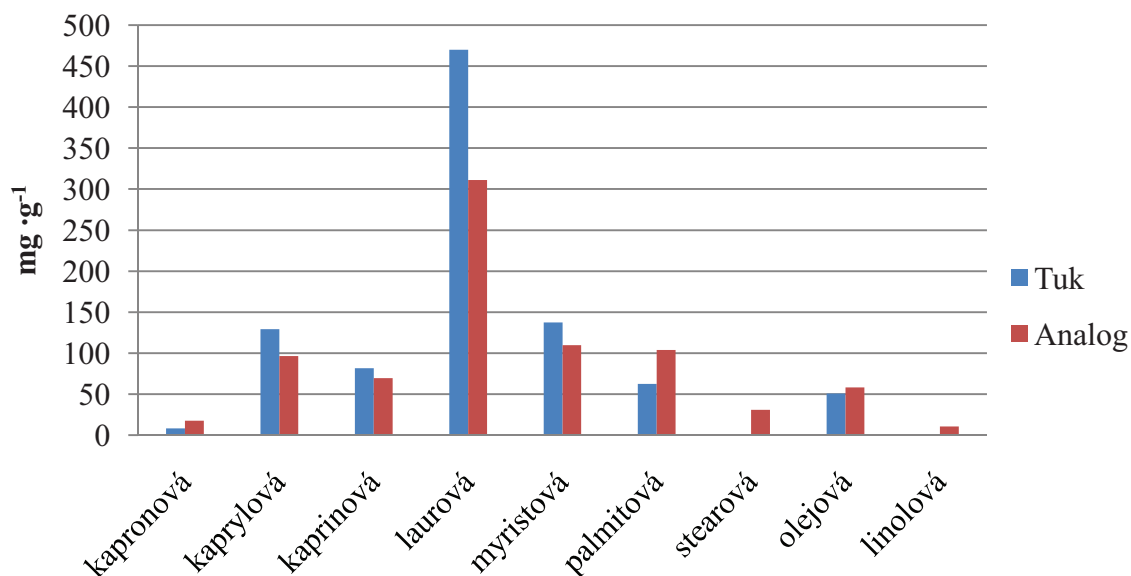
Pokud srovnáme jednotlivé kyseliny mezi sebou, kyseliny palmitová a olejová jsou přítomny ve všech analyzovaných tucích. Kyseliny kapronová, kaprylová, kaprinová, laurová a myristová jsou přítomny jen v živočišných tucích a kokosovém tuku. Kyselina linolová je nejvíce zastoupena v slunečnicovém oleji, méně pak v palmovém tuku. U ostatních tuků byla přítomna jen v nepatrném množství.



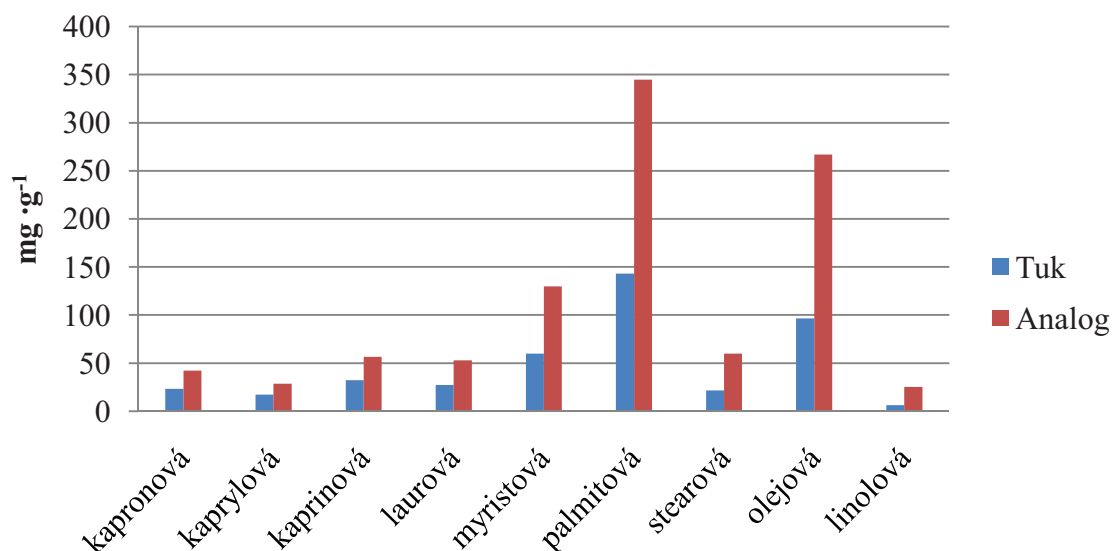
Obr. 4.30 Zastoupení vybraných mastných kyselin v tucích

4.7 Srovnání mastných kyselin v sýrových analozích a tucích

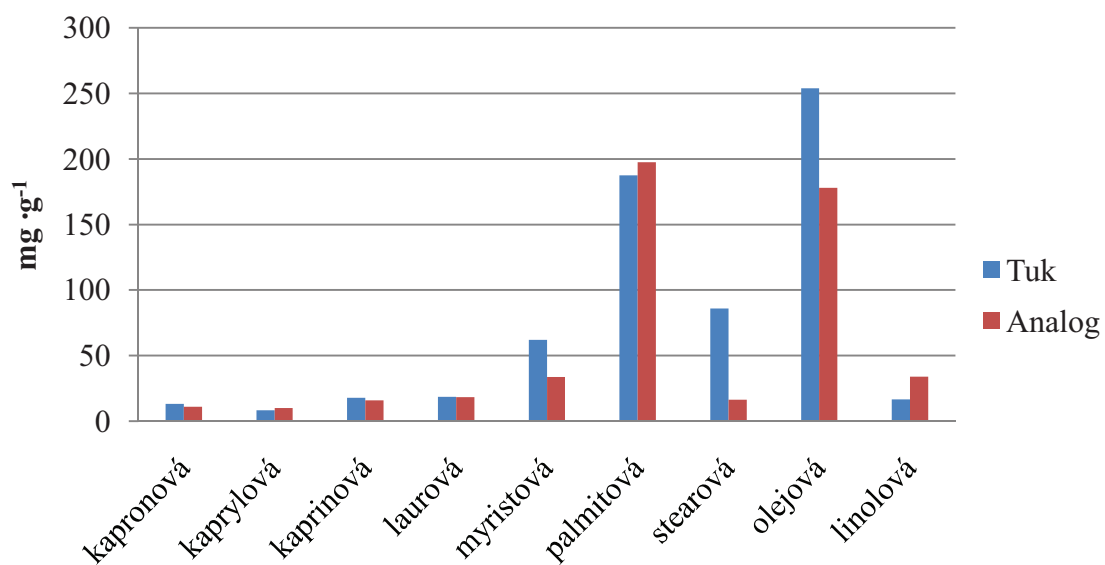
Pro porovnání obsahů kyselin v jednotlivých analozích s obsahem kyselin v samostatných tucích byly vytvořeny následující grafy (viz obr. 4.31 - 4.35):



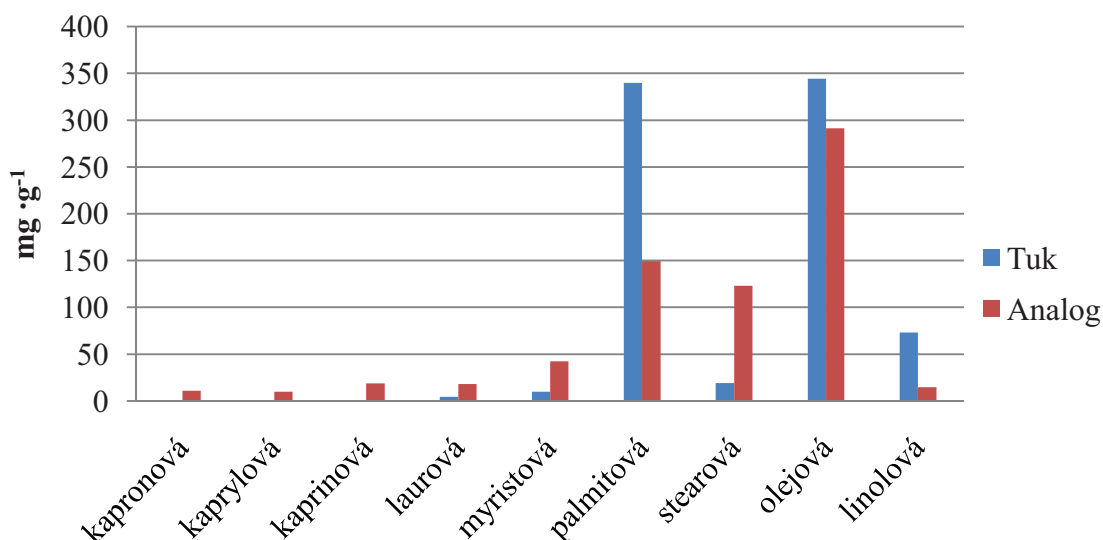
Obr. 4.31 Srovnání koncentrací vybraných mastných kyselin v sýrovém analozu s kokosovým tukem a samostatném kokosovém tuku



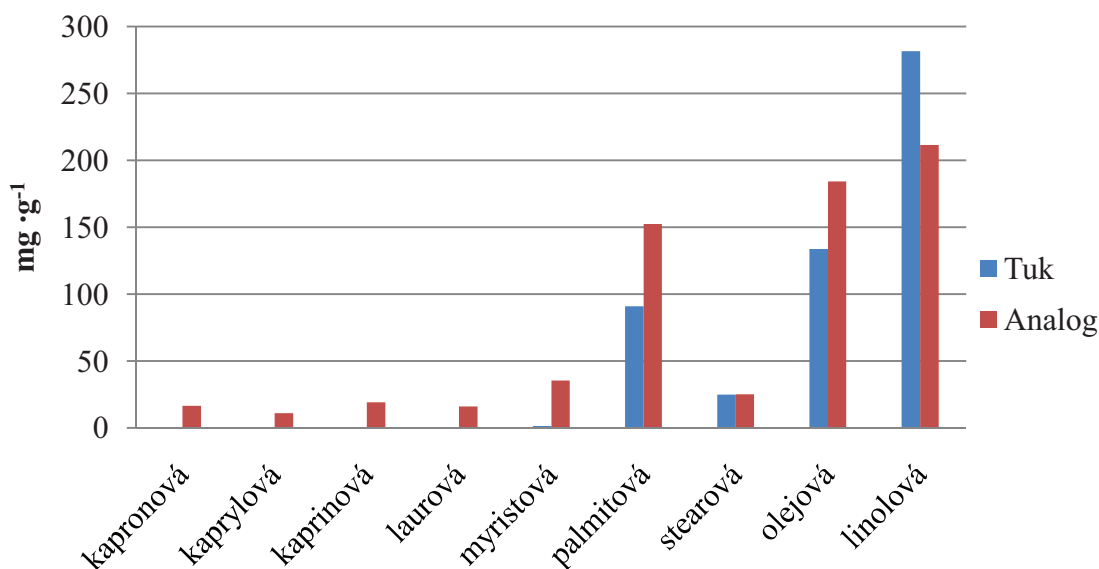
Obr. 4.32 Srovnání koncentrací vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s máslem a samostatném másle



Obr. 4.33 Srovnání koncentrací vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s mléčným tukem a samostatném mléčném tuku



Obr. 4.34 Srovnání koncentrací vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu s palmovým tukem a samostatným palmovým tukem



Obr. 4.35 Srovnání koncentrací vybraných mastných kyselin v sýrovém analogu se slunečnicovým olejem a samostatným slunečnicovým tukem

Při srovnání mastných kyselin samotného kokosového tuku s mastnými kyselinami v sýrovém analogu nejsou pozorovány velké rozdíly v zastoupení jednotlivých mastných kyselin. U obou je nejvíce zastoupena kyselina laurová, dále myristová a kaprylová.

V másle i analogu s máslem lze najít stejné kyseliny (nejvíce palmitová a olejová). Rozdíl je pouze v jejich koncentraci, která je v analogu s máslem přibližně dvakrát větší.

Samotný mléčný tuk má také podobné složení mastných kyselin jako analog, při zhruba stejné koncentraci všech kyselin. Nejvíce zastoupené kyseliny jsou olejová, palmitová a stearová.

U palmového i slunečnicového oleje jsou majoritní kyseliny zastoupeny stejně v obou vzorcích. Jsou to kyseliny palmitová, olejová a linolová. Ostatní kyseliny jsou zastoupeny pouze v analogu, a to v malém množství.

Z uvedených grafů je patrný rozdíl mezi rostlinnými a živočišnými tuky. Zatímco u másla a mléčného tuku lze pozorovat širší spektrum zastoupených mastných kyselin v samostatném tuku, stejně jako je tomu u sýrových analogů, u rostlinných tuků (kokosový, palmový tuk a slunečnicový olej) je výrazný rozdíl mezi sýrovým analogem a samostatným tukem.

5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá složením mastných kyselin v tavených sýrových analogích s různým složením tuků. Vzorky analogů tavených sýrů byly vyrobeny na UTB ve Zlíně a obsahovaly kokosový tuk, palmový tuk, mléčný tuk, slunečnicový olej a máslo.

Sýrové analogy jsou náhražky přírodních sýrů, při jejichž výrobě byl částečně nebo úplně nahrazen mléčný tuk a/nebo mléčné proteiny nemléčnou surovinou, zejména rostlinného původu.

Literární rešerše této práce je zaměřena na problematiku tavených sýrových analogů, na jejich výrobu, složení a použití, dále na obecný popis mastných kyselin a metodu jejich stanovení, plynovou chromatografií.

V experimentální části byla práce zaměřena na stanovení jednotlivých mastných kyselin metodou plynové chromatografie. Ze vzorků sýrových analogů musely být tuky nejprve vyextrahovány a poté převedeny na methylestery pomocí esterifikace methanolem za katalýzy hydroxidem draselným. Jako první krok byl proveden výběr vhodné esterifikační metody, dále byly optimalizovány některé parametry metody stanovení pomocí plynové chromatografie.

K identifikaci a zároveň kvantifikaci mastných kyselin ve vzorcích analogů byla použita směs standardů methylesterů mastných kyselin. Bylo sledováno devět vybraných mastných kyselin, a to kyselina kapronová, kaprinová, kaprylová, laurová, myristová, palmitová, stearová, olejová a linolová.

V analogu taveného sýru s kokosovým tukem byla nejvíce zastoupena kyselina laurová (38%), dále kyselina myristová (14 %), palmitová (14%), kaprylová (13%) a kaprinová (12%). V analogu taveného sýru s máslem byla nejvíce zastoupena kyselina palmitová (34%), dále olejová (26%), myristová (13%), kapronová (6%) a stearová (6%). V analogu taveného sýru s mléčným tukem byla nejvíce zastoupena kyselina olejová (43%), dále palmitová (22%), stearová (18%) a myristová (6%). V analogu taveného sýru s palmovým tukem byla nejvíce zastoupena kyselina palmitová (38%), dále olejová (35%), linolová (7%) a myristová (6%). V analogu taveného sýru se slunečnicovým olejem byla nejvíce zastoupena kyselina linolová (32%), dále olejová (27%), palmitová (23%) a myristová.

Dále byly analyzovány tuky použité na přípravu tavených sýrových analogů. V másle a mléčném tuku byly nejvíce zastoupeny kyseliny palmitová a olejová. Ve slunečnicovém oleji byla kyselina linolová majoritní kyselinou. V kokosovém tuku naopak převládala kyselina laurová. Palmový tuk obsahoval nejvíce kyselinu palmitovou a olejovou, podobně jako živočišné tuky. Od nich se tento tuk odlišoval větším zastoupením kyseliny linolové.

Živočišné tuky (máslo a mléčný tuk) obsahují širší spektrum zastoupených mastných kyselin. Stejně je tomu u sýrových analogů s živočišnými tuky. U rostlinných tuků (palmový tuk, kokosový tuk, slunečnicový olej) je rozdíl mezi sýrovým analogem a samotným tukem.

Tavené sýry jsou oblíbenou potravinou, zvláště v České republice. Tato práce přispívá k lepšímu pochopení problematiky sýrových analogů. Dále může být jedním z výchozích materiálů pro další studium a výzkum sýrových analogů.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Vyhláška 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, v platném znění. *Sbírka zákonů*, 2003, 32, 2488-2516.
- [2] GUINEE, T. P., CARÍĆ, M., KALÁB, M.: Pasterized Processed cheese and Substitute/Imitation cheese products. *Cheese: Chemistry, physics a and mikrobiology*. 2004, Vol. 2, No3, pp. 349- 394. ISBN 0-1226-3653-8.
- [3] DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J.: *Základy potravinářských technologií*. 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 1996.512 s. ISBN 80-967064-1-1
- [4] GÖRNER, F., VALÍK, Ľ.: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Malé Centrum, 2004. 528 s. 1. vyd. ISBN 80-967064-9-7
- [5] DOSTÁLOVÁ, J; ČURDA, L. Význam tavených sýrů ve výživě. *Fórum zdravé výživy* [online]. 27.05.2005, [cit. 2010-05-03]. Dostupný z WWW: <http://www.zdravykorinek.cz/data/sharedfiles/pro_media/tm_vyznam_tavenych_syru.doc>
- [6] ŠTĚPÁNEK, L. *Vliv doby a teploty skladování na jakost sterilizovaných tavených sýrů*. Zlín, 2005. 128 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [7] KOVÁŘOVÁ, P. *Vliv přídavku karagenanů na jakost tavených sýrů*. Zlín, 2007. 78 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [8] BRABCOVÁ, L. *Analogy tavených sýrů*. Brno, 2008. 36 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [9] RANKEN, M. D., KILL, R. C., BAKER, C. G . J.: *Food Industries Manual*. 24. edition. Great Britain: Chapman & Hall, 1997. 653pp. ISBN 0-7514-0404-7
- [10] BACHMANN, H-P: Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal*. July 2001, Vol. 11, No. 4-7, pp. 505-515. ISSN 0958-6946.
- [11] LUKÁŠOVÁ, J.: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. Vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. 180 s. ISBN 80-7305-415-9.
- [12] KADLEC, P a kol.: *Technologie potravin II*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha. 2007.s.236. ISBN 80-7080-510-2.
- [13] FENNEMA, O. R.: *Food Chemistry*. 3rd edition, 1996. 1096 s. ISBN 0-8247-9346-3 ISBN 0-8247-9691-8
- [14] GAJDUŠEK, S., KLÍČNÍK, V.: *Mlékařství*. 2., nezměněné vyd. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1993.129 s. ISBN 80- 7157- 073- 7.
- [15] KUČERA, J.: *Význam mléka a mléčných výrobků ve výživě*. Brno, 2008. 66 s. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně.
- [16] VODRÁŽKA, Z.: *Biochemie 2*. 1. vyd. Praha: Academia, 1993. 136 s. ISBN 80-200-0441-6.

- [17] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 1. 2. upr. vyd.* Tábor: OSSIS, 2002. 344 s. ISBN 80-86659-00-3.
- [18] Vyhláška 304/2004 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných a pomocných látek, v platném znění. *Sbírka zákonů*, 2004, 6322-6397.
- [19] LECIÁNOVÁ, P. *Vliv přídavku pektinu na jakost tavených sýrů*. Zlín, 2008. 98 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [20] MOUNSEY, J. S.; O'RIORDAN, E. D. Characteristics of Imitation Cheese Containing Native Starches. *Journal of food science*. 2001, 4, s. 586-591.
- [21] MOUNSEY, J. S.; O'RIORDAN, E. D. Characteristics of imitation cheese containing native or modified rice starches. *Food Hydrocolloids*. 2008, 6, s. 1160-1169.
- [22] NORONHA, N., CRONIN, D. A., O'RIORDAN, E. D., O'SULLIVAN, M.: Flavouring of imitation cheese with enzyme- modified cheeses (EMCs): Sensory impact and measurement of aroma active short chain fatty acids (SCFAs). *Food Chemistry*. February 2008 Vol. 106, No. 3, pp. 905-913.
- [23] LOBATO-CALLEROS, C., SOSA-PRÉZ, A., RODRÍGUES-TAFOYA, J., SANDOVAL-CASTILLA, O., PÉREZ-ALONSO, C., VERNON-CARTER, E. J.: Structural and textural characteristic of reduced-fat cheese-like products made from W₁/O/W₂ emulsions and skim milk. *LWT-Food Science and Technology*. 2008. ISSN 0023-6438.
- [24] CUNHA, C. R., DIAS, A. I., VIOTTO, W. H.: Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. *Food Research International*. 2010. s. 723-729.
- [25] ZACHARI, P. *Sdružení obrany spotřebitelů* [online]. 05.10.2006 [cit. 2010-05-03]. Sýr nebo potravinový výrobek?. Dostupné z WWW: <http://www.spotrebitele.info/potravinovy_zdravi/clanek.shtml?x=2197699>.
- [26] NĚMCOVÁ, V., *iDnes.cz* [online]. 2008 [cit. 2010-05-03]. Obchodníci prodávají mezi sýry i jejich náhražky. Dostupné z WWW: <http://ekonomika.idnes.cz/test.asp?c=A080409_103544_spotrebitelem_vem>.
- [27] BUŇKA, F.; HRABĚ, J.; ČERNÍKOVÁ, M. *Spotrebitelem.cz* [online]. 2007 [cit. 2010-05-03]. Výroba tavených sýrů a jejich trvanlivost. Dostupné z WWW: <http://www.spotrebitelem.cz/index.php?option=com_content&task=view&id=108670&Itemid=90>.
- [28] CHRISTIE, W. W. *Lipid library* [online]. 2010 [cit. 2010-05-03]. Dostupné z WWW: <<http://lipidlibrary.aocs.org/index.html>>
- [29] MOUREK, J. a kol. *Mastné kyseliny OMEGA 3: Zdraví a vývoj*. 1. Vyd. Praha: Triton, 2007. 174 s. ISBN 978- 80- 7254- 917- 7.
- [30] BAMBASOVÁ, L. *Změny obsahu mastných kyselin v rostlinných olejích během skladování*. Brno, 2008. 88 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.

- [31] *Herkules* [online]. 2002 [cit. 2010-05-03]. Δ^3 - Δ^2 -Enoyl-CoA isomerase from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* Molecular and structural characterization. Dostupné z WWW: <<http://herkules.oulu.fi/isbn9514266579/html/index.html>>.
- [32] SVÍTILOVÁ, L. *Možnosti stanovení těkavých mastných kyselin*. Brno, 2009. 34 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [33] KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*. 2. upr. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [34] SOMMER, L.: *Základy analytické chemie 2*. 1. vyd. Brno: VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [35] File:SchemaGC.png In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, , [cit. 2010-05-03]. Dostupné z WWW: <<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:SchemaGC.png>>
- [36] PROŠKOVÁ, A.; KUČERA, J.; KOPICOVÁ, Z. Porovnání kysele a bazicky katalyzované transesterifikace kafilerního tuku methanolem. *Chemické Listy*. 2009, 103, s. 1034-1036.
- [37] ČSN ISO 1735. *Sýry a tavené sýrové výrobky - Stanovení obsahu tuku - Gravimetrická metoda (Referenční metoda)*. Praha: Český normalizační institut, 1997. 16 s.
- [38] Kolektiv autorů: *Praktikum z analytické chemie potravin. Pracovní sešit*. VUT Brno, Fakulta chemická, Brno 2002.
- [39] NORONHA, N., DUGGAN, E., ZIEGLER, G. R., O'RIORDAN, E. D., O'SULLIVAN, M.: Investigation of imitation cheese matrix development using light microscopy and NMR relaxometry. *International Dairy Journal*. 2008, 18, s. 641-648.
- [40] LOUPANCOVÁ, B. *Vývoj těkavých aromatických látek v průběhu zrání sýrů s modrou plísní v těstě*. Brno, 2004. 100 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [41] ILLKOVÁ, K. *Jednoduchá metoda pro analýzu mastných kyselin plynovou chromatografií*. Brno, 2007. 88 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.

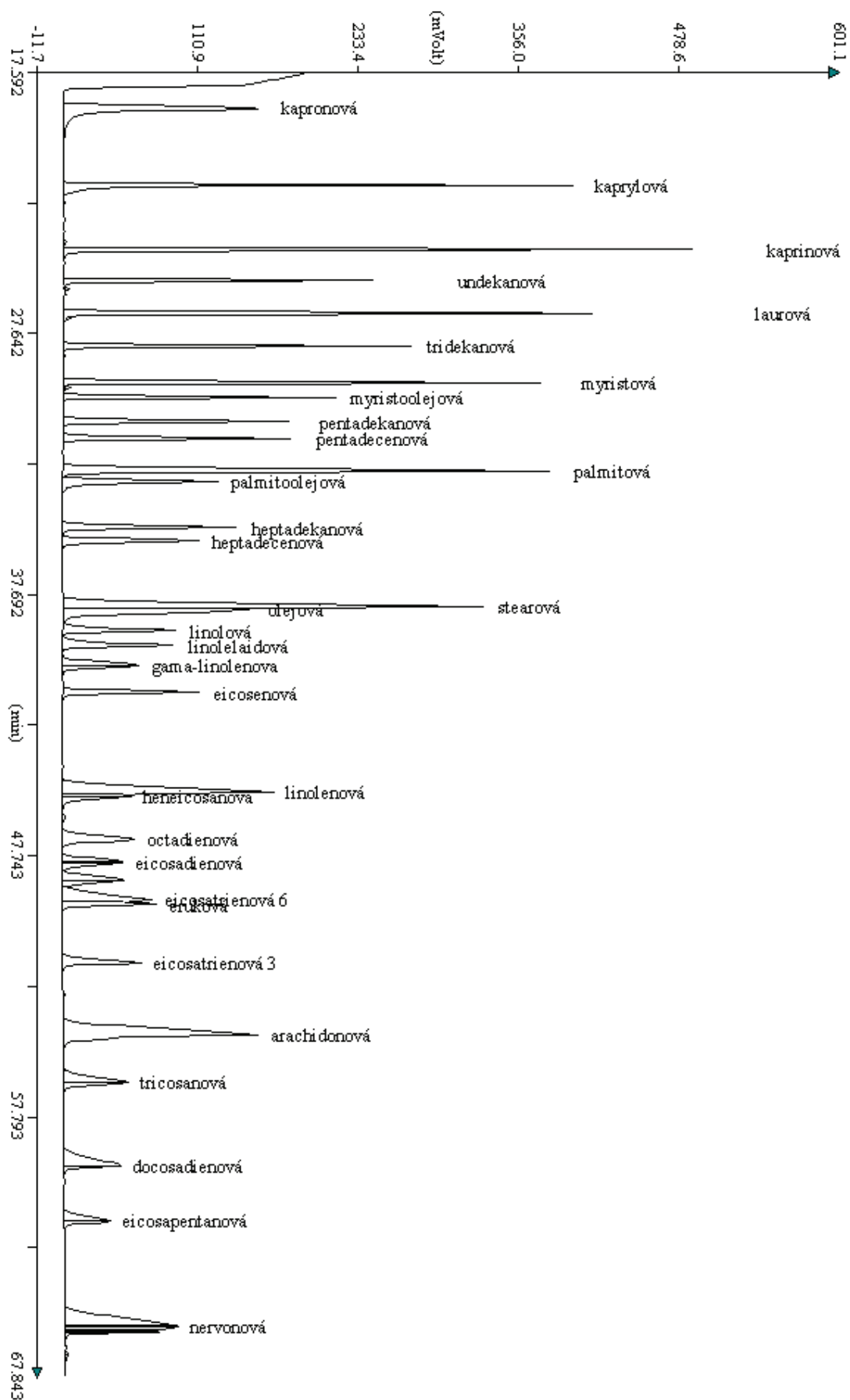
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AFID	Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem
ArD	Argonový detektor
ATP	Adenosin trifosfát
ECD	Detektor elektronového záchytu
FID	Plamenový ionizační detektor
GC	Plynová chromatografie
HDL	High Density Lipoprotein
HeD	Heliový detektor
LDL	Low Density Lipoprotein
NADP ⁺	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfát
MK	Mastná kyselina
PID	Fotoionizační detektor
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
TCD	Tepelně vodivostní detektor
TID	Bezplamenový detektor s alkalickým kovem

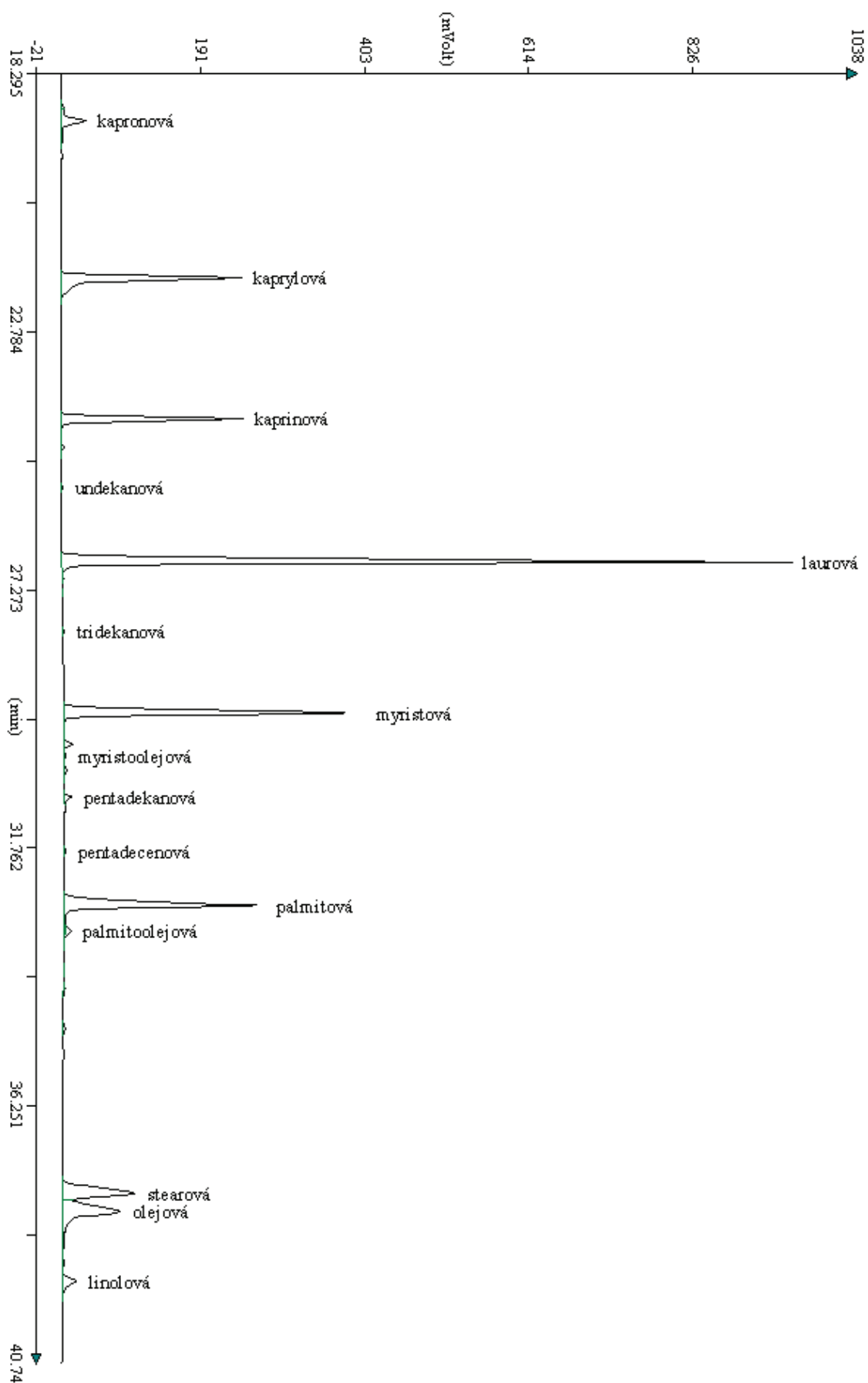
8 PŘÍLOHY

- Příloha 8.1 Chromatogram směsi standardů methylesterů mastných kyselin
- Příloha 8.2 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s kokosovým tukem
- Příloha 8.3 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s máslem
- Příloha 8.4 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s mléčným tukem
- Příloha 8.5 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu se slunečnicovým olejem
- Příloha 8.6 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s palmovým tukem
- Příloha 8.7 Chromatogram methylesterů MK kokosového tuku
- Příloha 8.8 Chromatogram methylesterů MK másla
- Příloha 8.9 Chromatogram methylesterů MK mléčného tuku
- Příloha 8.10 Chromatogram methylesterů MK slunečnicového oleje
- Příloha 8.11 Chromatogram methylesterů MK palmového tuku

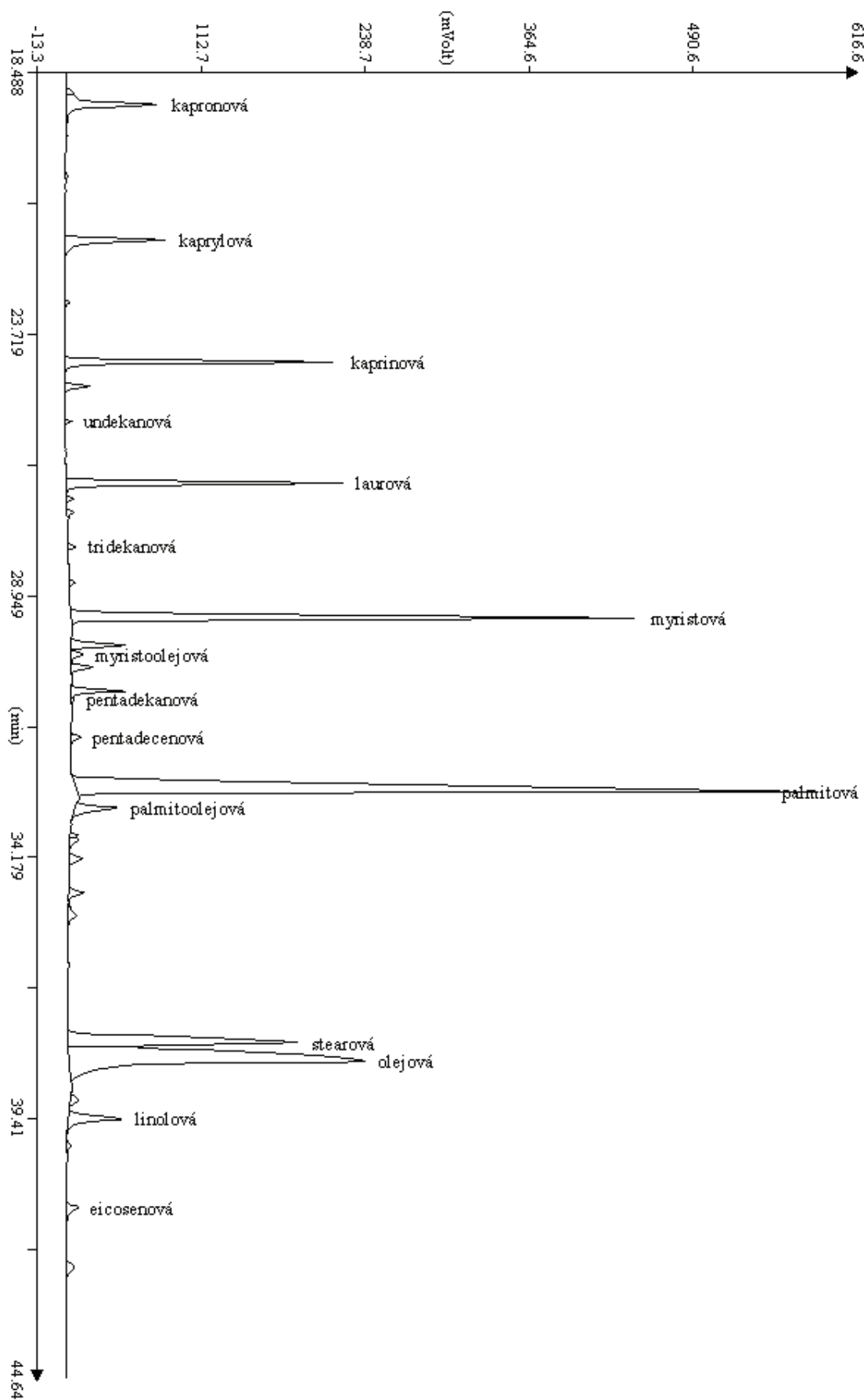
Příloha 8.1 Chromatogram směsi standardů methylesterů mastných kyselin



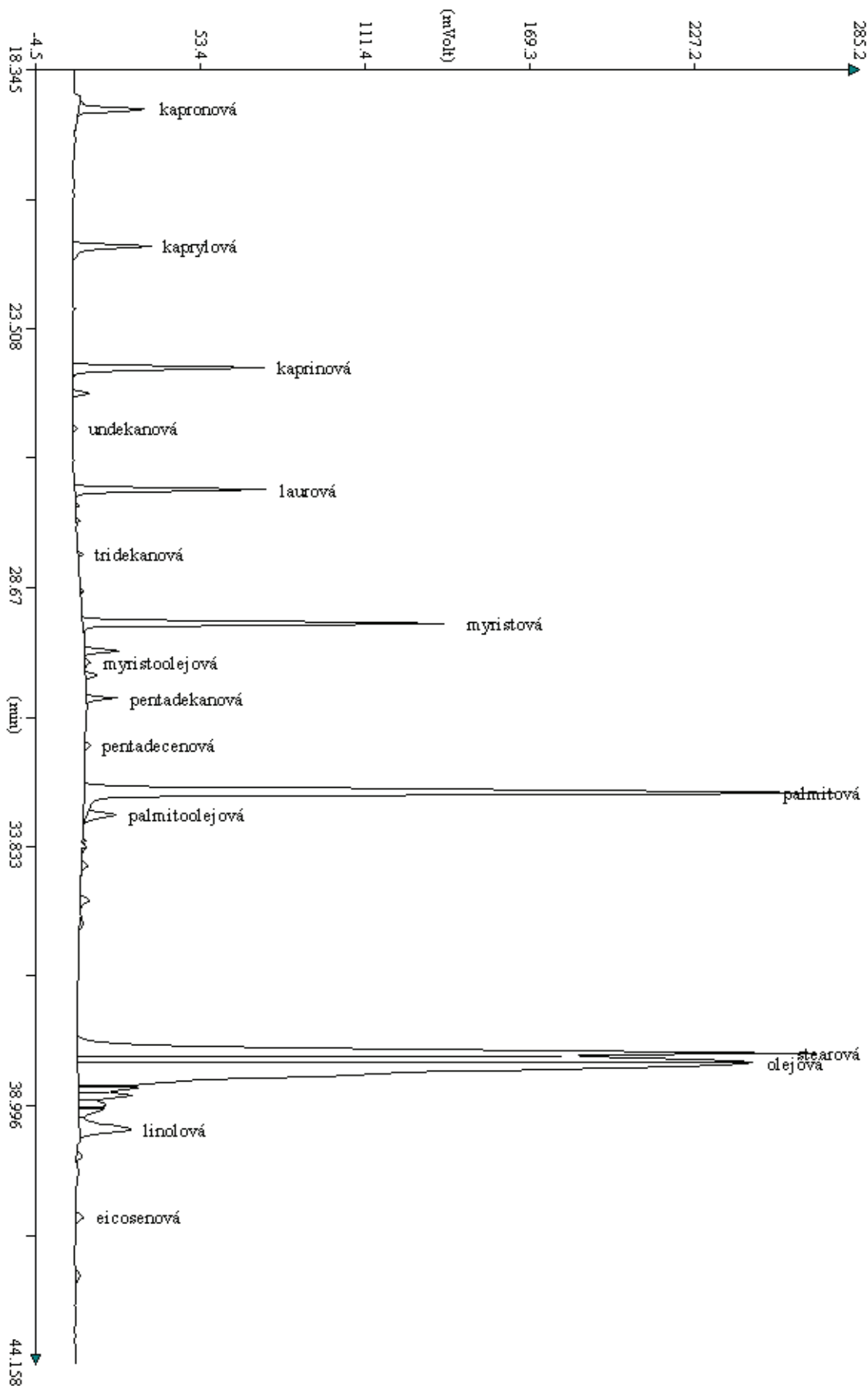
Příloha 8.2 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s kokosovým tukem



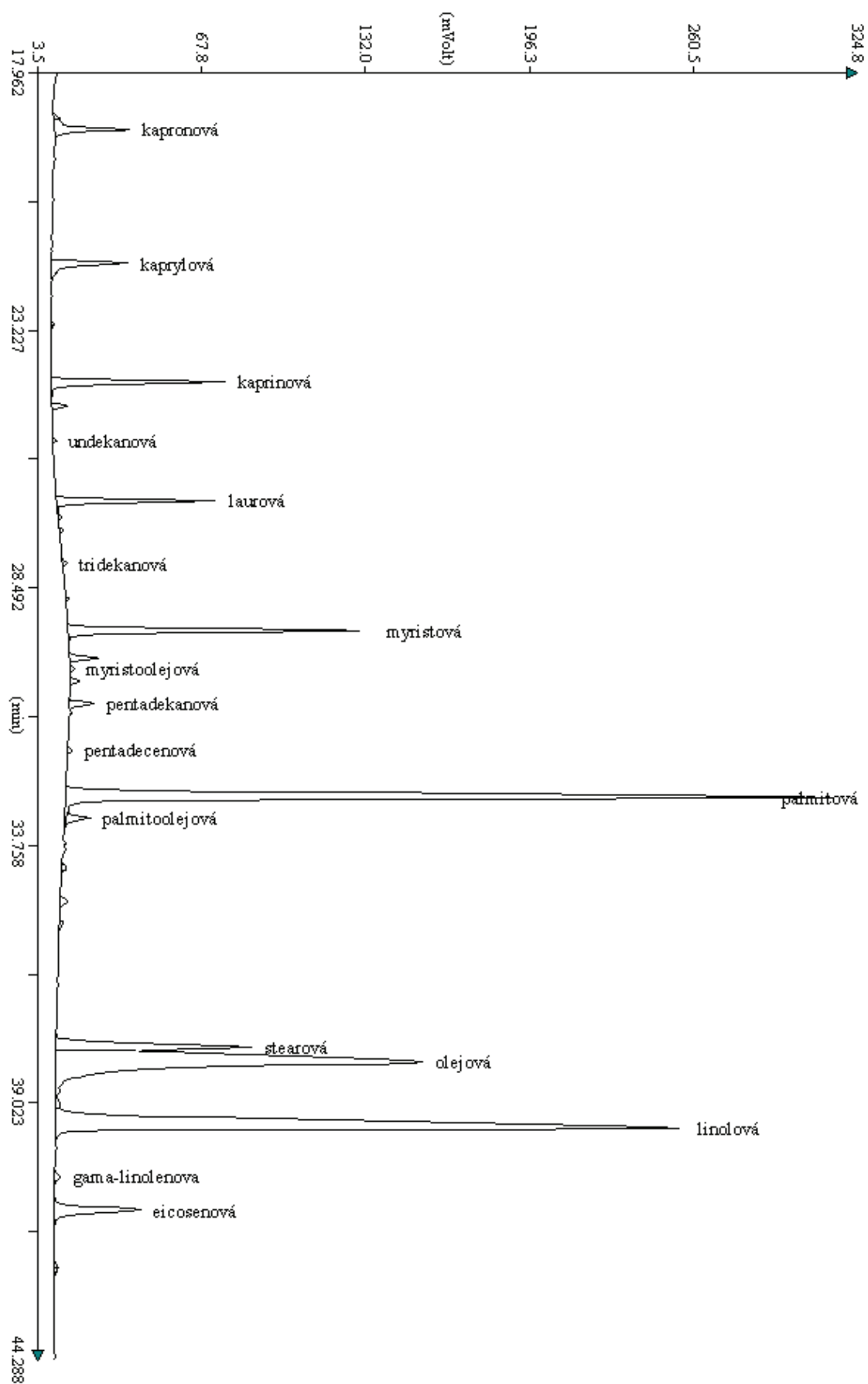
Příloha 8.3 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s máslem



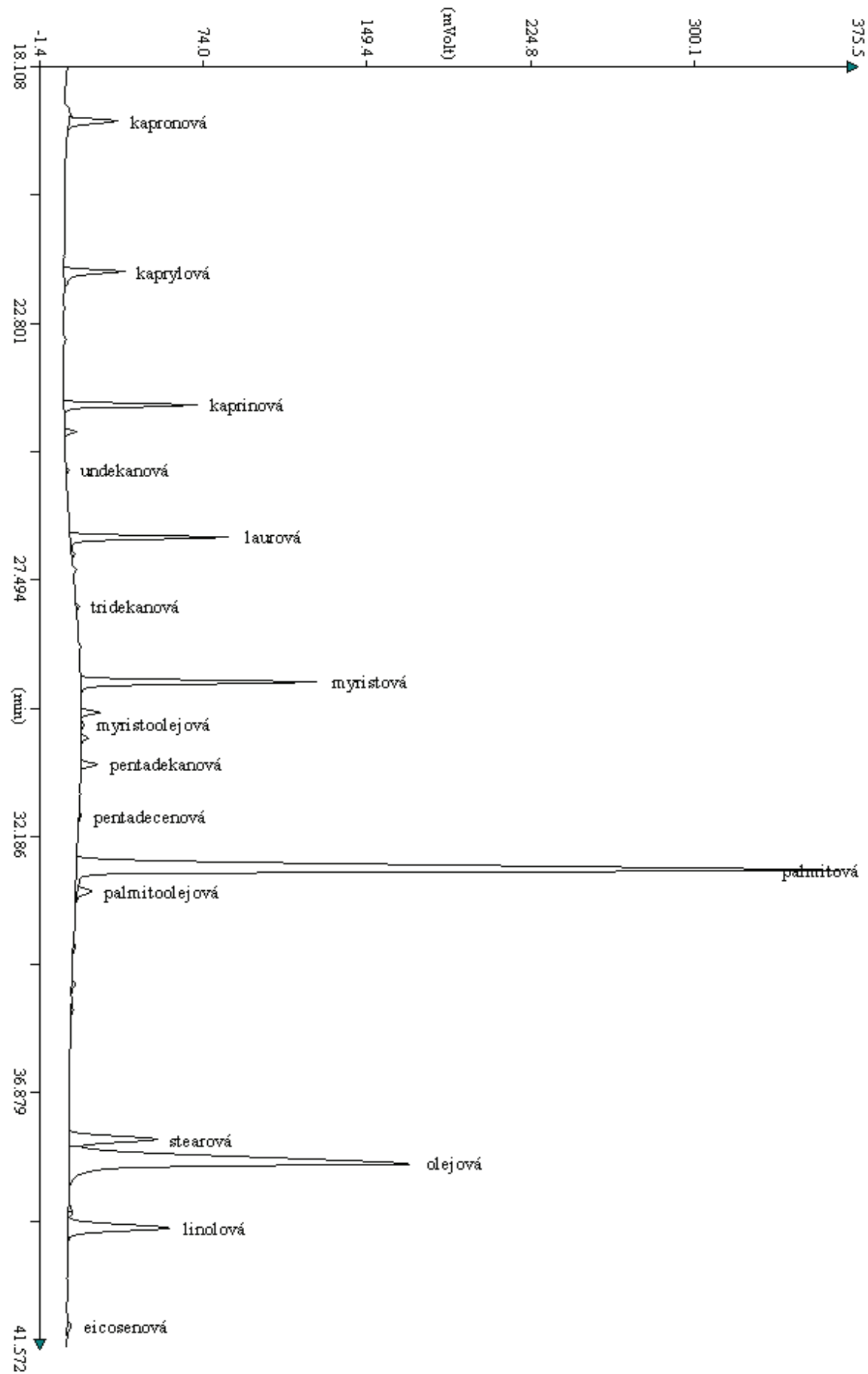
Příloha 8.4 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s mléčným tukem



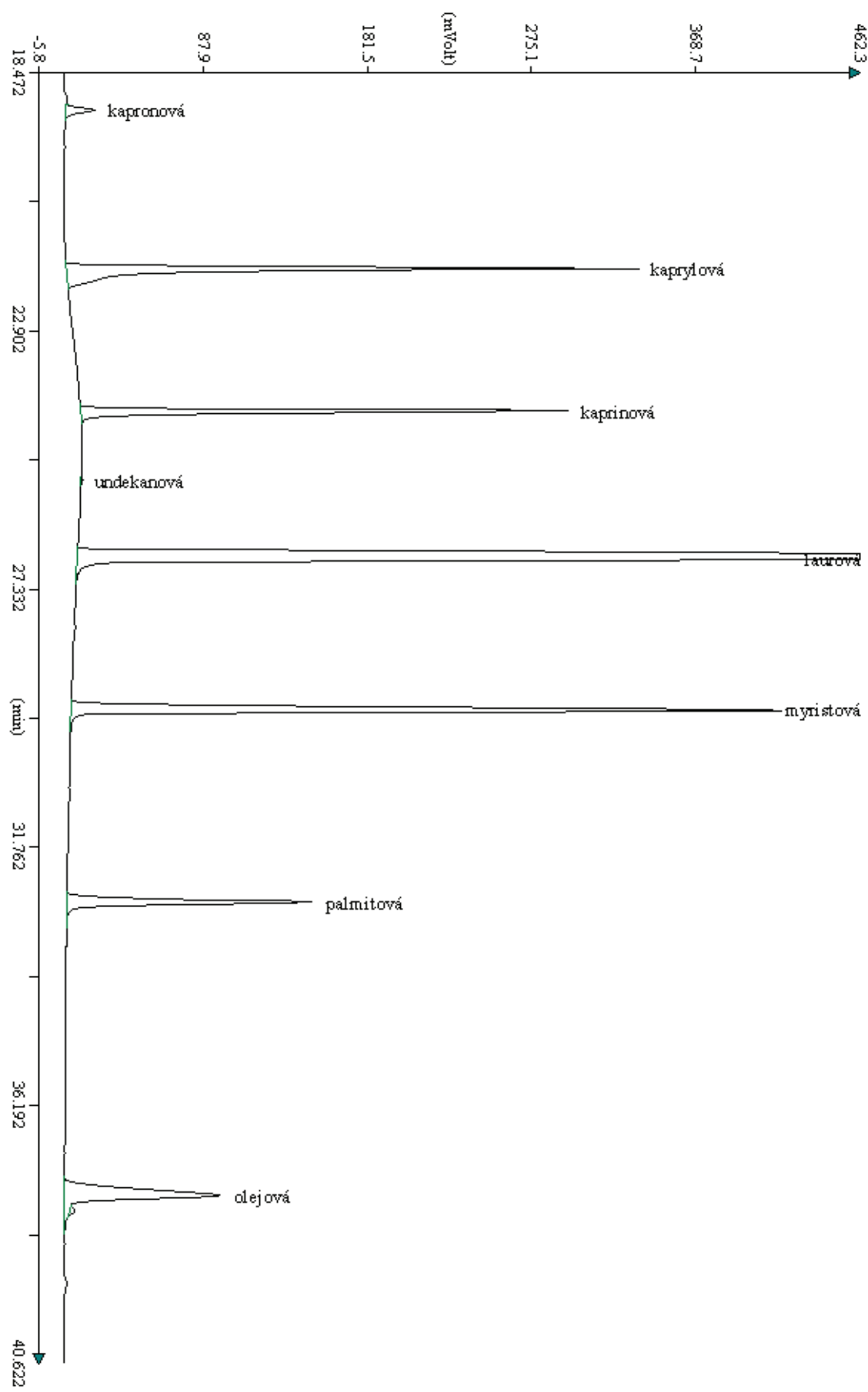
Příloha 8.5 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu se slunečnicovým olejem



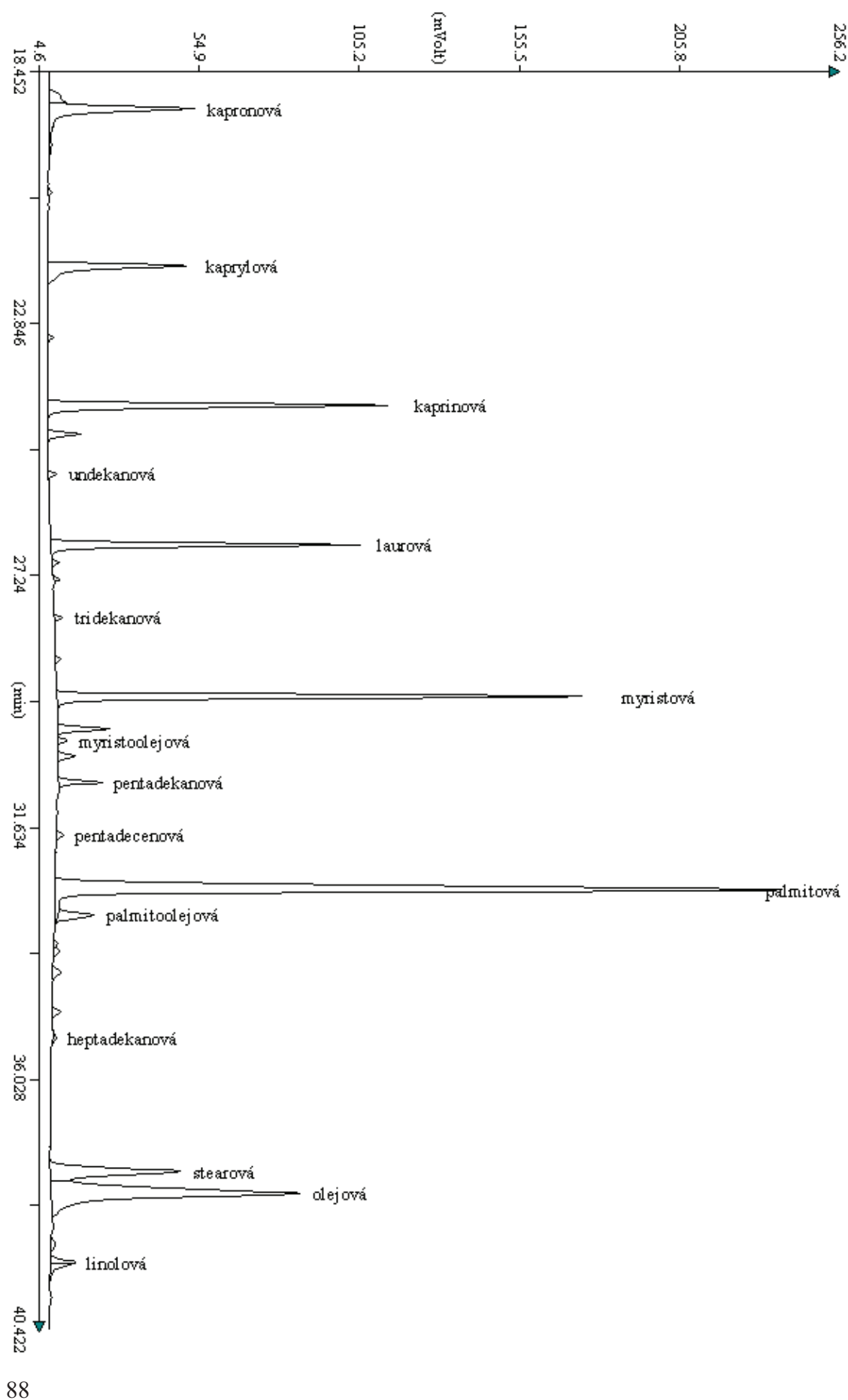
Příloha 8.6 Chromatogram methylesterů MK sýrového analogu s palmovým tukem



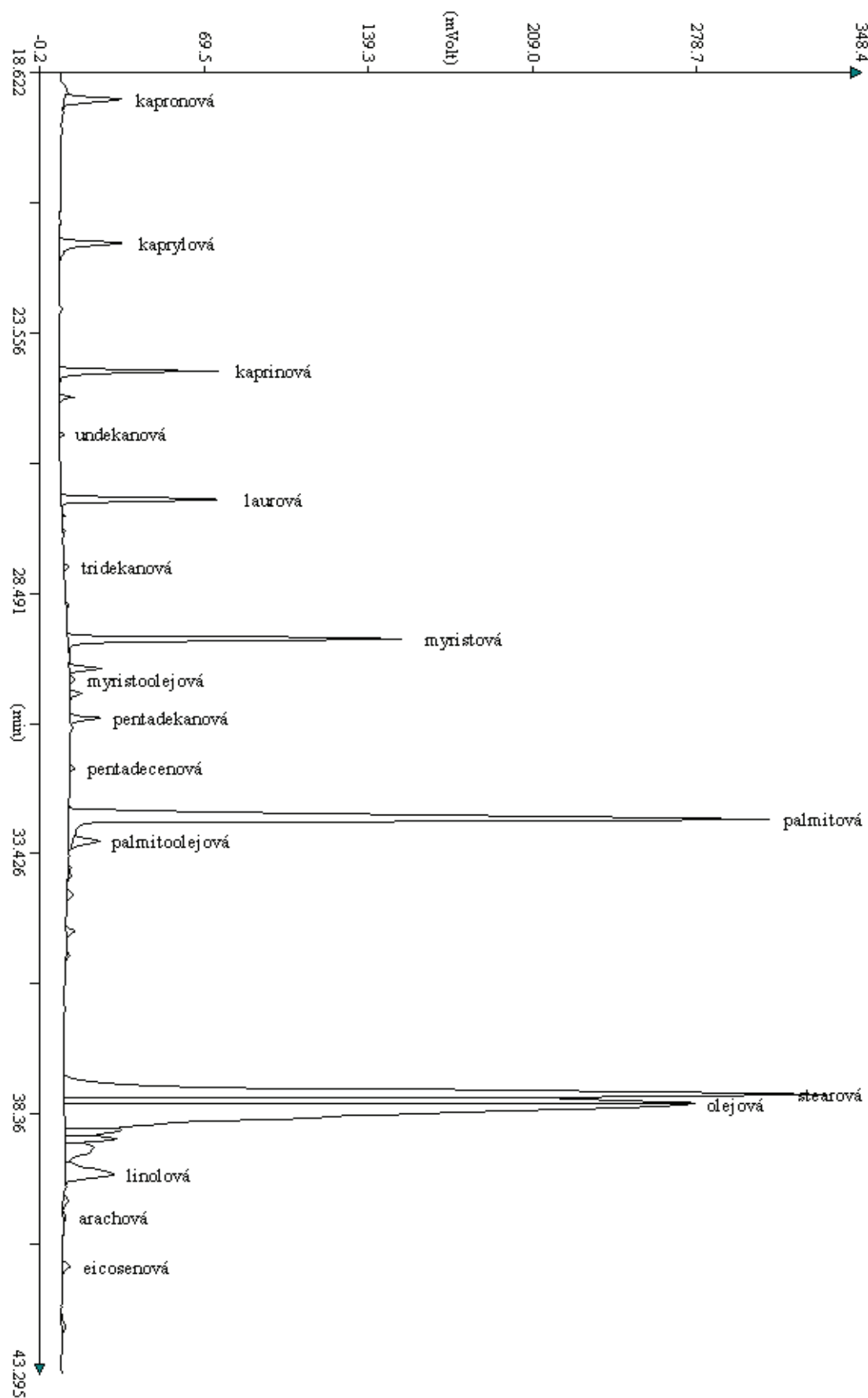
Příloha 8.7 Chromatogram methylesterů MK kokosového tuku



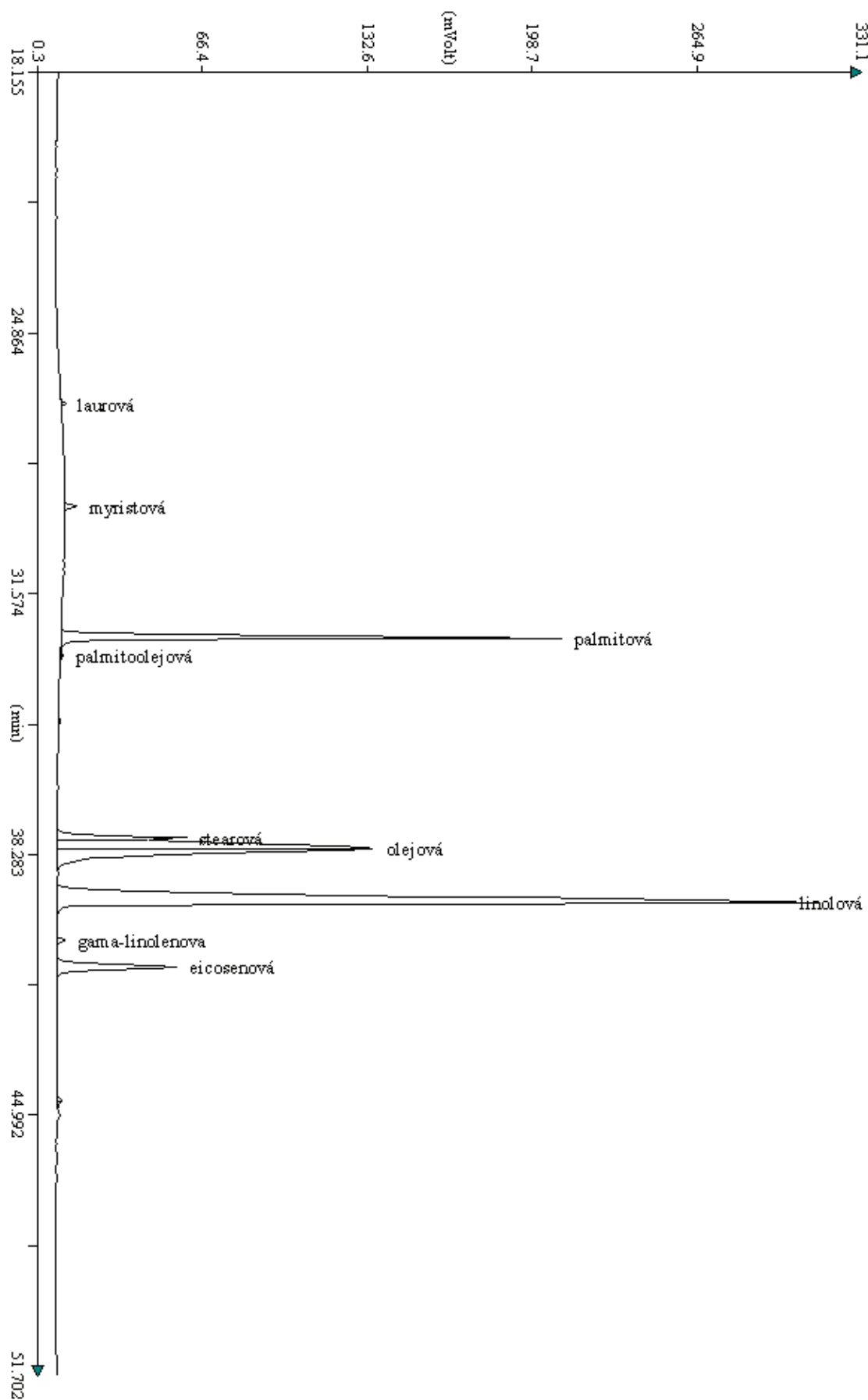
Příloha 8.8 Chromatogram methylesterů MK másla



Příloha 8.9 Chromatogram methylesterů MK mléčného tuku



Příloha 8.10 Chromatogram methylesterů MK slunečnicového oleje



Příloha 8.11 Chromatogram methylesterů MK palmového tuku

