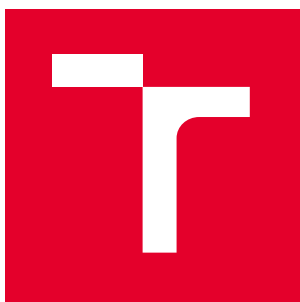




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

SLEDOVÁNÍ PROFILU MASTNÝCH KYSELIN V PAŠTIKÁCH

MONITORING OF THE FATTY ACID PROFILE OF PATES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Rebeka Martonová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1789/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Rebeka Martonová**
Studijní program: Chemie přírodních látek
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **doc. RNDr. Renata Mikulíková,
Ph.D.**

Název diplomové práce:

Sledování profilu mastných kyselin v paštikách

Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše (technologie výroby paštik, druhy paštik, nutriční význam paštik, stanovení obsahu mastných kyselin a vybraných nutričních hodnot v paštikách)
2. Výběr paštik
3. Výroba paštiky
4. Optimalizace metody GC a stanovení mastných kyselin v paštikách
5. Stanovení vybraných nutričních hodnot v paštikách
6. Vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

Bc. Rebeka Martonová
studentka

doc. RNDr. Renata Mikulíková,
Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Táto diplomová práca poskytuje informácie o nutričných hodnotách rôznych druhov mäsových paštét. Primárne je zameraná na stanovenie obsahu tuku a mastných kyselín pomocou plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačným detektorom. Teoretická časť sa zaoberá popisom mäsových paštét, primárne ich zložením. Taktiež sú tu charakterizované mastné kyseliny, spôsoby ich extrakcie a analýzy. Posledná kapitola v teoretickej časti sa venuje popisu metód použitých pre stanovenie sacharidov, hrubej bielkoviny a vody.

V experimentálnej časti bola analyzovaná štandardná, vyrobená paštéta a 20 paštét, ktoré boli kupované. Všetky obsahovali bravčové mäso a rôzne druhy pečene. V prvom kroku bola optimalizovaná doba záhrevu štandardnej paštéty pre bezpečnú inaktiváciu *Listeria monocytogenes*. Pre extrakciu lipidov bola zvolená metóda s prístrojom SOXTHERM a rozpúšťadlom hexán. Výťažnosť bola porovnávaná s tradičnou Soxhletovou extrakciou. Následne bola ešte porovnaná výťažnosť extrakcie prístrojom flexIKA do rozpúšťadla petroléter. Vyextrahovaný tuk bol následne analyzovaný plynovým chromatografom. Pomocou tejto analýzy bola získaná informácia o kvalitatívnom aj kvantitatívnom zastúpení mastných kyselín vo vzorkách. Všetky vzorky boli porovnávané so štandardnou, nami vyrobenou paštétou. Analýza sacharidov prebehla spektrofotometricky podľa Duboise. Výsledky boli porovnané s obsahom hrubej bielkoviny, ktorá bola stanovená Kjeldahlovou metódou.

Kľúčové slová: mäsové paštéty, extrakcia tukov, mastné kyseliny, bielkoviny, sacharidy

ABSTRACT

This thesis provides information on the nutritional values of different types of meat pates. It is primarily focused on the determination of fat and fatty acids content using gas chromatography with a flame ionization detector. The theoretical part focuses on the description of meat pates, primarily their composition. This part contains characterization of fatty acids, methods of their extraction and analysis. The last chapter in the theoretical part is dedicated to the description of the methods which are used to determine the content of carbohydrates, crude protein and water.

In the experimental part, a standard, manufactured pâté and 20 pates that were purchased were analyzed. All of them contained pork and different types of liver. In the first step, the heating time of the standard pate was optimized for the safe inactivation of *Listeria monocytogenes*. For the extraction of lipids was chosen method with the SOXTHERM extractor and hexane as solvent. The yield was compared with traditional Soxhlet extraction. Following, the yield of extraction with the flexIKA extraction and petroleum ether solvent was also compared. The extracted fat was analyzed by gas chromatography. With the help of this analysis, we obtained information about the qualitative and quantitative representation of fatty acids in the samples. All samples were compared with a standard pate made by us. Carbohydrate analysis was performed spectrophotometrically according to Dubois. The results were compared with the crude protein content, which was determined by the Kjeldahl method.

Key words: meat pate, fat extraction, fatty acids, proteins, carbohydrates

MARTONOVÁ, Rebeka. *Sledování profilu mastných kyselin v paštikách* [online]. Brno, 2023 [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148192>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Renata Mikulíková.

PREHLÁSENIE

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

podpis študenta

PodĎakovanie :

Týmto by som chcela poďakovať najmä svojej vedúcej diplomovej práce doc. RNDr. Renate Mikulíkovej Ph.D. za odborné vedenie práce, ochotu pri riešení problémov, cenné rady a trpezlivosť. Taktiež by som chcela poďakovať Ing. Martinovi Szotkowskiému Ph.D. za ochotu, pomoc a cenné pripomienky pri realizácii experimentálnej časti.

1	ÚVOD.....	8
2	TEORETICKÁ ČASŤ.....	9
2.1	MÄSOVÉ PAŠTÉTY.....	9
2.1.1	Vlastnosti mäsa	9
2.1.2	Oxidácia lipidov.....	10
2.1.3	Vitamíny.....	10
2.1.4	Minerály.....	10
2.1.5	Bravčové mäso	11
2.1.6	Mäsové paštéty.....	11
2.1.7	Suroviny pre výrobu mäsových paštét.....	11
2.2	ANALÝZA KVALITY MÄSOVÝCH VÝROBKOV	14
2.3	MASTNÉ KYSELINY	14
2.3.1	Nasýtené mastné kyseliny.....	14
2.3.2	Nenasýtené mastné kyseliny.....	15
2.3.3	Jednoduché lipidy	18
2.3.4	Zložené lipidy.....	20
2.3.5	Analýza mastných kyselín	21
2.4	SACHARIDY.....	26
2.4.1	Stanovenie obsahu sacharidov.....	26
2.4.2	Príprava vzorky.....	26
2.4.3	Stanovenie sacharidov podľa Duboise	26
2.5	BIELKOVINY	27
2.5.1	Mineralizácia	27
2.5.2	Kjeldahlova analýza.....	27
2.6	VODA.....	28
2.6.1	Stanovenie obsahu vody.....	28
3	CIEĽ PRÁCE.....	30
4	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	31
4.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIA	31
4.1.1	Chemikálie použité na extrakciu lipidov.....	31
4.1.2	Chemikálie pre GC analýzu	31
4.1.3	Chemikálie použité na stanovenie obsahu sacharidov	31
4.1.4	Chemikálie použité na stanovenie obsahu bielkovín	31
4.2	POUŽITÉ PRÍSTROJE	31
4.3	ANALYZOVANÉ VZORKY	32
4.4	VÝROBA MÄSOVEJ PAŠTÉTY	32
4.4.1	Príprava vzorky pre analýzu inaktivačného účinku záhrevu	32
4.4.2	Príprava paštéty pre ostatné analýzy.....	33
4.5	ANALÝZA PROFILU MASTNÝCH KYSELÍN V MÄSOVÝCH PAŠTÉTACH	33
4.5.1	Extrakcia tuku z mäsových paštét extraktorom SOXTHERM.....	33
4.5.2	Extrakcia tuku z mäsových paštét na extraktore fexIKA.....	34
4.5.3	Príprava vzoriek na plynovú chromatografiu.....	35
	(kyslá transesterifikácia).....	35
4.5.4	Príprava vzoriek na plynovú chromatografiu.....	35

(zásaditá transesterifikácia).....	35
4.5.5 Analýza vzoriek pomocou GC.....	35
4.6 STANOVENIE OBSAHU VODY	36
4.7 STANOVENIE OBSAHU SACHARIDOV.....	36
4.8 STANOVENIE OBSAHU DUSÍKA	36
5 VÝSLEDKY A DISKUSIA	38
5.1 STANOVENIE INAKTIVAČNEJ AKTIVITY TEPELNÉHO ZÁHREVVU	38
5.2 OBSAH VODY V PAŠTÉTACH.....	40
5.3 OBSAH SACHARIDOV V PAŠTÉTACH	41
5.4 OBSAH HRUBEJ BIELKOVINY V PAŠTÉTACH.....	42
5.5 EXTRAKCIA LIPIDOV	44
5.5.1 Extrakcia lipidov extraktorom SOXTHERM.....	44
5.5.2 Extrakcia lipidov extraktorom fexIKA	46
5.5.3 Soxhletova extrakcia	47
5.6 PLYNOVÁ CHROMATOGRÁFIA S KYSLOU TRANSESTERIFIKÁCIOU.....	47
5.6.1 Obsah polynenasýtených mastných kyselín	47
5.6.2 Zloženie polynenasýtených mastných kyselín	49
5.6.3 Zloženie mononenasýtených mastných kyselín	51
5.6.4 Zloženie nasýtených mastných kyselín	52
5.7 PLYNOVÁ CHROMATOGRÁFIA S ALKALICKOU TRANSESTERIFIKÁCIOU.....	54
6 ZÁVER.....	55
7 ZDROJE	56
8 ZOZNAM SKRATIEK	62
9 PRÍLOHY.....	63

1 Úvod

V spoločnosti vo veľkej miere rastie záujem o konzumáciu potravín, ktoré sú kvalitné a ponúkajú telu všetky nutrienty potrebné pre jeho správne fungovanie. Z toho dôvodu sa objavuje mnoho nových, moderných diét. Všetky majú spoločné to, že vylučujú určitú skupinu potravín a označujú ich za nezdravé. Spravidla sú to potraviny s vyšším obsahom sacharidov a tukov. Na rozlišovanie potravín podľa výživnej kvality, bolo zavedené nutričné skóre. Je to transparentný spôsob označovania potravín, ktorý poskytuje spotrebiteľovi rýchlu informáciu o výživovej hodnote potraviny.

Mäsové paštéty sú typické pre svoj vysoký obsah tukov a bielkovín. No práve kvôli lipidom patrí táto potravina medzi nepopulárne a málo konzumované. Propagácia tukov ako hlavnej príčiny nadváhy, až obezity, spôsobila vylúčenie potravín s ich obsahom z jedálnečka mnohých ľudí. V dnešnej dobe mäsové paštéty opäť nabierajú na popularite. Jedným z dôvodov je to, že výrobcovia začali používať na prípravu kvalitné suroviny a venujú ich príprave väčšiu pozornosť. Vďaka tomu začínajú byť paštéty vnímané ako delikatesa. Ďalším dôvodom je aj zvýšenie erudovanosti širokej verejnosti v oblasti tukov a mastných kyselín. Spotrebitelia lepšie chápu potrebu prijímania stravy s obsahom nenasýtených mastných kyselín.

Táto diplomová práca sa zberá určením kvality analyzovaných mäsových paštét pomocou stanovenia obsahu tuku a následne aj na základe pomeru nasýtených, nenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín. Pre túto analýzu sa bežne používa plynová chromatografia, ktorá je schopná po metylácii mastných kyselín, stanoviť ich zastúpenie aj obsah. Stanovenie obsahu mastných kyselín je veľmi častá metóda používaná na určenie kvality potraviny. Pri použití kvalitných surovín vzniká potravina so správnym pomerom lipidov, bielkovín a sacharidov. Takéto výrobky obsahujú aj široké zastúpenie vitamínov a minerálov, ktoré sú potrebné pre správne fungovanie tela.

2 Teoretická časť

2.1 Mäsové paštéty

Mäso patrí medzi hlavné potraviny našej výživy. Napriek tomu, že v dnešnej dobe sú preferované rôzne diéty a stravovacie návyky s nízkym, alebo žiadnym obsahom živočíšnych produktov, spotreba a dopyt po mäse sa stále zvyšuje spolu so zvyšujúcou sa životnou úrovňou spotrebiteľov. Je to hlavne vďaka menej vyspelým krajinám, kde spotreba mäsa stále rastie.

Mäso obsahuje veľké množstvo dobre stráviteľných a kvalitných bielkovín, v priemere až 20 %, ich obsah sa však líši v závislosti od druhu mäsa [1]. Mäso ktoré obsahuje viac tukov má menší obsah bielkovín. Vďaka bielkovinám a vitamínom je mäso nie len výživné ale aj veľmi sýtiace. Vďaka obsahu tuku je mäso kvalitným zdrojom energie. Tuky sú pre telo veľmi dôležité. Okrem ich základných funkcií, ako je napríklad ochrana vnútorných orgánov pred mechanickým poškodením, sú tuky potrebné aj pre spracovávanie v tukoch rozpustných vitamínov [2]. Tuky v mäse sú veľmi dôležité aj zo senzorického hľadiska, pretože zlepšujú jeho chuť ale aj krehkosť, mäkkosť a šťavnatosť. Nadmerný príjem tukov v potrave, ktorý je v dnešnej dobe bežný, spôsobuje nielen obezitu, ale aj rôzne civilizačné choroby (choroby cievneho systému a srdca, diabetes, onkologické ochorenia) [2].

2.1.1 Vlastnosti mäsa

2.1.1.1 Farba mäsa

Farba mäsa je pre spotrebiteľa veľmi dôležitým ukazovateľom, podľa ktorého posudzuje kvalitu mäsa. Hlavné delenie mäsa je na biele a červené mäso. Medzi červené mäsa patrí predovšetkým bravčové a hovädzie mäso a hlavnými zástupcami bieleho mäsa je hydinové a rybie mäso. Červenú farbu mäsa spôsobujú hemové farbivá, a to myoglobínom (svalové farbivo) a hemoglobínom (krvné farbivo), ktorých funkcia v tele je viazať kyslík. Behom porážky, počas vykrvenia sa krv z mäsa odstraňuje a v tele ostáva len myoglobín, ktorý sa veľmi ľahko oxiduje na vzduchu. Oxidácia spôsobuje zmenu farby mäsa. Okamžite po porážke má mäso silno červenú farbu pretože obsahuje aj neoxidovanú formu myoglobínu (deoxymyoglobín) [3]. Po 30 minútach na vzduchu dochádza k difúzii kyslíku do povrchových vrstiev mäsa a vzniká oxidovaná forma myoglobínu (oxymyoglobín), ktorý má jasne červenú farbu. Pri nevhodnom skladovaní mäsa s malým prístupom kyslíku dochádza k pomalej oxidácii a vzniká metmyoglobín a mäso získa šedozelenú farbu [1].

Pri tepelnom spracovaní mäsa sa myoglobín denaturuje a rozkladá, vďaka čomu vzniká šedohnedá farba, ktorá nie je žiaduca pri výrobe mäsových výrobkov. Z tohto dôvodu sa pri výrobe mäsových výrobkov pridávajú do zmesi dusitany, ktoré majú za úlohu zachovať výraznú červenú farbu aby bol výrobok atraktívny pre spotrebiteľa [4].

2.1.1.2 Väznosť mäsa

Väznosť je schopnosť mäsa viazať vodu. Voda tvorí približne 70% mäsa. Pri dobrej väznosti mäsa zostáva voda v mäse aj počas tepelného spracovania a zabezpečuje senzorickú vlastnosť šťavnatosť [4]. Pri výrobe mäsových výrobkov sa pridáva do zmesi voda a je dôležité aby bolo mäso schopné viazať aj túto pridanú vodu, ktorá tvorí textúru výrobkov. Väznosť mäsa sa mení

v závislosti na priebehu posmrtných zmien. Okamžite po porážke je väznosť vysoká a počas posmrtných zmien sa znižuje až kým dosiahne minimum. Následne počas zrenia sa väznosť zvyšuje [4].

Pri nesprávnom skladovaní mäsa je riziko vzniku myopatií, ktoré spôsobujú vady mäsa. Myopatické mäso má vyššie pH [5]. Tieto vady sú spôsobené nadmerným fyzickým alebo psychickým stresom zvierat. Vznikajú dva typy vadného mäsa a to PSE a DFD. PSE mäso je svetlé, mäkké a vodnaté. DFD mäso je tmavé tuhé a suché. Väznosť mäsa výrazne ovplyvňuje jeho pH. Najnižšia väznosť je okolo hodnoty pH 5, čo je izoelektrický bod svalových bielkovín, ktoré sa čiastočne vyzerajú a nie sú schopné viazať vodu [2].

2.1.2 Oxidácia lipidov

Oxidácia lipidov je jedným z hlavných faktorov ovplyvňujúcich kvalitu mäsa. Pri živých zvieratách dochádza k oxidačnému poškodeniu lipidov z dôvodu nerovnováhy medzi tvorbou reaktívnych foriem kyslíka a obrannými mechanizmami zvierat. Poškodenie lipidov môže byť zväčšené aj nesprávnym skladovaním, spracovávaním a varením mäsa. Stabilita lipidov je ovplyvnená viacerými faktormi, medzi základné patrí druh zvierat, typ svalu ale aj množstvo tukov v potrave zvierat [6].

2.1.3 Vitamíny

Mäso je veľmi dobrým zdrojom vitamínov. Obsah vitamínov v mäse je stály a nemení sa tak ako pri ovocí a zeleniny, v závislosti od kvality a zrelosti plodov. Vitamíny skupiny B sú bohato zastúpené v mäse. V bravčovom mäse je najviac zastúpený vitamín B1, ktorý je potrebný pre správne fungovanie srdca a nervového systému. Vitamín B12 a nachádza len v živočíšnych potravinách ako je mäso, mlieko a ryby. Najväčšie zastúpenie vitamínov sa nachádza vo vnútornostiach a hlavne v pečeni. Preto je potrebné a výhodné zaradiť ich do jedálneho lístka [7].

V mäse nájdeme taktiež skupinu vitamínov rozpustných v tuku ako napríklad A, D a E. Vitamín A sa nachádza v tuku, takže je prítomný v masnejších typoch mäsa. Je známy svojimi priaznivými účinkami na funkciu očí, no napomáha aj zdravému vzhľadu pleti a väčšej odolnosti voči infekciám. V červenom mäse sa nachádza aj vitamín D, ktorý je dôležitý pre metabolizmus vápnika. V mäse nájdeme aj malé množstvo vitamínu C, no jeho zastúpenie je vyššie vo vnútornostiach a hlavne v pečeni [8].

2.1.4 Minerály

Minerálne látky sa v mäse nachádzajú v iónovej forme, pretože sú rozpustené vo vode. Ich množstvo závisí od druhu a kvality mäsa. Hémové farbivá obsahujú veľké množstvo železa, čo znamená, že viac železa obsahuje červené mäso. Výhodou železa z hémového farbiva je jeho ľahká absorpcia, nachádza sa však iba v mäse a rybách. Nedostatok spôsobuje únavu a nesústredenosť [9].

Zinok, rovnako ako hémové železo, je ľahšie stráviteľný ako pochádza z mäsa. Napomáha zdravému vzhľadu kože, vlasov a nechtov. Podporuje taktiež imunitu a rýchle hojenie rán. V mäse sa nachádza aj selén ktorý sa z pôdy a cez potravu dostane do organizmu zvierat. Selén posilňuje imunitný systém a zlepšuje účinnosť štítnej žľazy [9].

2.1.5 Bravčové mäso

Najväčší objem mäsovej produkcie tvorí bravčové mäso, ktoré zastupuje približne polovicu celkového skonzumovaného mäsa [10]. V porovnaní s hovädzím mäsom obsahuje viac tuku, čo spôsobuje, že má vyššiu energetickú hodnotu a je ťažšie stráviteľné. Bolo vyšľachtených viacero plemien ošípaných s dvojitým osvalnením a vysokým podielom svaloviny. Pri týchto plemenách však bola zistená vysoká náchylnosť na stres, čo spôsobuje vznik vadného mäsa PSE [7]. Cieľom šľachtenia je produkcia jatočných ošípaných s nízkym obsahom tuku v mäse. Tieto snahy sa prejavili zvýšením obsahu bielkovín o 3,8% a znížením obsahu tuku o 14%. Na druhej strane množstvo tuku v svalovine má priaznivé podmienky na senzorické vlastnosti mäsa [11].

2.1.6 Mäsové paštéty

Paštéty patria medzi často konzumovaný mäsový produkt, ktorých základ tvorí pomleté mäso, pečenka a pridatý tuk. K tomuto základu sú pridané aditíva na zlepšenie organoleptických vlastností [12]. Vyhláška č.69/2016 Sb. o požiadavkách na mäso, mäsové výrobky, produkty rybolovu a akvakultúry a výrobky z nich, vajcia a výrobky z nich, definuje paštétu ako mäsový výrobok z mletého mäsa, ktorý je tepelne opracovaný a nemusí byť predávaný v technologickom obale. Pre tento výrobok je typická jeho roztierateľnosť [13].

Pri výrobe mäsových výrobkov sa mäso spracováva a pridávajú sa ďalšie prísady na zlepšenie senzorických alebo textúrnych vlastností. Jednotlivé postupy výroby značne ovplyvňujú vlastnosti konečného výrobku, z toho dôvodu sa technológie v tomto odvetví neustále menia a zlepšujú. Rovnako neustále narastá sortiment mäsových výrobkov [14]. Keďže v minulosti nebolo dlhodobé skladovanie mäsa možné, bolo nutné mäso čo najskôr po porážke spracovať aby sa predĺžila jeho životnosť. Paštéty, ale aj iné mäsové produkty boli na toto veľmi vhodné a preto sa stali populárnymi [15]. Ďalšou výhodou mäsových výrobkov bolo to, že pri ich výrobe bolo možné použiť menej kvalitné časti zvierat a bez zásadného ovplyvnenia organoleptických vlastností výsledného výrobku. Toto zabezpečilo, že v dobe nedostatku potravy bola využitá každá časť zvierat. Keďže v dnešnej dobe už netrpíme nedostatkom jedla, je bežným javom, že pri výrobe mäsových výrobkov sa používajú aj kvalitnejšie časti mäsa, vďaka čomu získavajú tieto výrobky a lepšie vlastnosti [15].

2.1.7 Suroviny pre výrobu mäsových paštét

Hlavnou zložkou mäsových výrobkov sú časti jatočných zvierat, no pridávajú sa aj rôzne ďalšie suroviny na zlepšenie senzorických vlastností, štruktúry a predĺženie trvanlivosti. Tieto suroviny rozdeľujeme na dve základné skupiny a to základné prísady a prísady povolené k používaniu. Medzi základné prísady patrí napríklad voda, soľ, korenie alebo bielkovinové prísady. Na ich použitie nie je potrebné povolenie a sú bežnou prísadou mäsových výrobkov. Na použitie prísad povolených k použitiu je potrebné povolenie ministerstva zdravotníctva, patria sem hlavne prídavné látky [16].

Mäso určené na výrobu sa získava z jatočných zvierat. Aj keď pri výrobe mäsových výrobkov, sú znížené nároky spotrebiteľa na kvalitu použitého mäsa, hygienické nároky ostávajú rovnaké. Mäso musí byť podrobené veterinárnej prehliadke. Pre výrobu sa často používa aj mechanicky separované mäso. Sú to zbytky mäsa, ktoré ostali na kosti po vykosení. Takto získané mäso sa často označuje aj ako mäsová pasta [16]. Jej použitie je veľmi výhodné z ekonomického hľadiska. Mechanicky separované mäso obsahuje minerály z kostí, ktoré zvyšujú pH mäsa a teda aj jeho väznosť. Nevýhodou takto spracovaného mäsa je jeho

náchylnosť na mikrobiálnu kontamináciu, ktorá je spôsobená vyšším pH, vyššou teplotou pri spracovaní, ale aj prítomnosťou železa, vápniku a krvi [16].

Voda má dôležitú úlohu v každej časti spracovania mäsových výrobkov. Je hlavnou zložkou diela, pretože umožňuje lepšie spracovanie diela a dodáva výrobku šťavnatosť. Ďalej sa voda využíva aj na umývanie zariadení v mäsovej výrobe. Používaná voda je prísne sledovaná a musí vyhovovať normám. Voda, ktorá nepresahuje predpísaný obsah minerálnych látok, neovplyvňuje organoleptické vlastnosti výrobku. Pridávanie studenej vody do diela, vo forme šupiniek ľadu, zabráňuje denaturácii bielkovín, vplyvom tepla z mlecích strojov [14].

Soľ a soliace zmesi sú dôležitými surovinami pri výrobe mäsových výrobkov. Množstvo soli pridanej do diela ovplyvňuje organoleptické vlastnosti končeného výrobku ako napríklad chuť, konzistenciu a v neposlednom rade trvanlivosť. Obsah soli v mäsových výrobkoch je kontrolovaný, pretože nadmerný príjem sodíku spôsobuje ochorenia ako napríklad vysoký krvný tlak. Soľ sa používa prevažne pri výrobkoch ktoré nemajú typickú ružovú farbu [17].

Dusitanové soliace zmesi slúžia ako stabilizátory farby a zabezpečujú výrobku ružovú farbu atraktívnu pre zákazníka. Využívajú sa teda hlavne pri druhoch mäsových výrobkov kde je toto zafarbenie typické [18]. Vzhľadom na ich vysokú toxicitu sú dusitanové zmesi prísne kontrolované a vyrábajú sa centrálné v laboratóriách. Pri kontrolách sa stanovuje obsah dusitanu a rovnomerné rozmiešanie [14].

Dusičnanové soliace zmesi nepodliehajú tak prísnyh kontrolám ako dusitanové a je možné ich vytvárať priamo v mäso-výrobnom závode. Sú tvorené zmiešaním soli s dusičnanom draselným alebo sodným [14]. V súčasnosti je snaha nahradiť ich dusitanovými soliacimi zmesami, pretože v kombinácii so žalúdočnými šťavami a látkami z potravy vytvárajú nitrosaminy, ktoré sú karcinogénne [14].

Medzi ochucujúce látky patria koreniny a bylinky, ktoré sú pridávané do diela na zlepšenie senzorických vlastností a štruktúry výrobku. Každá krajina či oblasť používa iné ochucujúce látky do mäsových výrobkov. Je to ovplyvnené tradíciou ale taktiež rastlinami pestovanými v tejto oblasti [17].

Bielkovinové prísady sú často pridávané do mäsových výrobkov pretože pozitívne ovplyvňujú výrobný proces aj konečný produkt. Jednou z hlavných výhod je, že sú lacnou náhradou mäsových bielkovín. V minulosti sa používali v dobách nedostatku mäsa, dnes sa využívajú na zníženie nákladov pri výrobe a teda aj zníženie ceny konečného produktu, ktorý je následne dostupný pre väčšiu skupinu spotrebiteľov [19].

Ďalšou výhodou bielkovinových prísad je ich nutričná hodnota, ktorá je posudzovaná na základe prítomných aminokyselín. Živočíšne bielkoviny majú spravidla vysokú nutričnú hodnotu. Patrí sem napríklad bielkovina z vajec alebo krvi. Často sa používa bielkovina z mlieka, no je snaha nahradiť ju iným druhom bielkoviny, pretože mlieko obsahuje laktózu, ktorá pri vysokých teplotách podlieha Maillardovej reakcii, čo spôsobuje vznik pachutí neatraktívnych pre spotrebiteľa. Keďže rastlinné bielkoviny majú nižšiu nutričnú hodnotu, hlavne kvôli nízkemu obsahu esenciálnych aminokyselín, je výhodné kombinovať viacero rastlinných bielkovín naraz. Často sa používa kombinácia pšenice a sóji [19].

Bielkovinové prísady napomáhajú aj zlepšeniu štruktúrnych, senzorických a technologických vlastností. Ak má dielo nevhodný pomer tukov a bielkovín dochádza k narušeniu spojky, čo sa prejavuje tzv. skrátením diela. Na vylepšenie pomeru sa pridávajú bielkovinové prísady. Využívajú sa bielkoviny rozpustné v soľných roztokoch, ktoré pôsobením tepla tvoria pevný gél. Pri nadmernom použití bielkovinových prísad dochádza k zmene farby a typická mäsová chuť sa mení na strukovinovú [19].

Sacharidové prísady sa pridávajú do diela pretože zlepšujú väznosť mäsa a taktiež viazanie tukov. Najčastejšie sa používa pšeničná hrubá múka, pretože je lacná a dostupná. Zemiakový a kukuričný škrob sa pridáva do jemných mletých výrobkov (párky) a mäsových konzerv. Na zjemnenie chuti sa používa cukor. Pridáva sa hlavne do trvanlivých salám a šuniek [17].

2.2 Analýza kvality mäsových výrobkov

Falšovanie potravín nie je novodobým problémom. Prípady falšovania, ako napríklad náhrada vysoko kvalitných surových materiálov s lacnejšími alternatívami, boli zaznamenané už v antických časoch. Niektoré neslávne prípady falšovania spôsobili vážne zdravotné problémy, ako napríklad náhrada korenín oxidom olovnatým alebo v poslednej dobe, pridávanie nemrznúcej zmesi do vína a kontaminácia olivového oleja [20]. Aj z tohto dôvodu, záujem zákazníkov o kvalitné a zdravé potraviny značne vzrástol, čo vyvolalo vyššiu potrebu analýzy kvality a pravosti ingrediencií v potravinách.

V prípade falšovania mäsových produktov, ide najčastejšie o použitie lacnejších častí mäsa z rovnakého alebo odlišného druhu zvierat, vnútorností alebo lacnejších rastlinných proteínov. Často dochádza aj k úprave konzistencie paštety pridaním polysacharidov, ktoré na seba viažu vodu, ako napríklad škrob [20].

2.3 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny, ako súčasť lipidov, predstavujú základné stavebné jednotky živých organizmov. Sú to karboxylové kyseliny s uhlíkovým reťazcom tvoreným 2 až 36 atómami uhlíka [21]. Podľa obsahu dvojitej väzby ich delíme na nasýtené a nenasýtené mastné kyseliny. Typické sú lineárne reťazce s párnym počtom uhlíkových jednotiek, čo je spôsobené tým, že pri syntéze mastných kyselín dochádza k pridávaniu dvojuhlíkatých acetylových jednotiek k reťazcu. U väčšiny živočíchov a rastlín dominujú mastné kyseliny s 16 a 18 uhlíkovým reťazcom, ako napríklad kyselina stearová, palmitová, linolová a olejová [21]. Pre niektoré mikroorganizmy je typické, že obsahujú aj mastné kyseliny s viac ako 80 atómami uhlíka.

Mastné kyseliny, či už samostatné alebo ako súčasť komplexných lipidov, hrajú niekoľko kľúčových úloh v metabolizme. Vo forme triglyceridov sú hlavným metabolickým palivom (slúžia ako zásobáreň a transport energie) [21]. Takto môžu byť skladované v neobmedzenom množstve. Ako súčasť fosfolipidov sú esenciálnou zložkou všetkých membrán a regulátory génov. Ako súčasť komplexných lipidov sú mastné kyseliny dôležité pre termálnu a elektrickú izoláciu a taktiež pre mechanickú ochranu [22].

Mastné kyseliny predstavujú 30 až 35 % z celkového energetického príjmu z potravín u ľudí v rozvinutých krajinách [22]. Ich najčastejším zdrojom sú rastlinné oleje, mliečne výrobky a v neposlednom rade mäsové výrobky. Medzi najbežnejšie sa vyskytujúce mastné kyseliny v mäse patrí kyselina palmitová, olejová a palmitoolejová [22].

2.3.1 Nasýtené mastné kyseliny

Pre nasýtené mastné kyseliny je typickým lineárny reťazec so 14, 16 alebo 18 atómami uhlíka, v prírode boli nájdené v esterifikovanej forme všetky párne aj nepárne homológy s 2 až 36 atómami uhlíka [23].

Mastné kyseliny môžeme pomenovať systematickým názvom, no častejšie je používanie triviálnych pomenovaní. Veľmi známa je kyselina hexadekánová, ktorá je častejšie uvádzaná ako kyselina palmitová. Na pomenovanie rovnakej kyseliny môžeme použiť aj skrátenú formu, ktorá vyjadruje len počet uhlíkových atómov. Pri kyseliny palmitovej by to bolo „C16“ alebo „C16:0“, kedy prvé číslo vyjadruje počet uhlíkov v reťazci a druhé číslo vyjadruje počet dvojitéch väzieb [23].

Potraviny s vysokým obsahom nasýtených mastných kyselín v potrave zvyšuje riziko kardiovaskulárnych ochorení. Pre živočíšne tuky je veľmi typický vysoký obsah nasýtených mastných kyselín, no nachádzajú sa aj v rastlinných olejoch. Najvyšší obsah týchto kyselín je v kokosovom a palmovom oleji [23].

2.3.2 Nenasýtené mastné kyseliny

Mononenasýtené mastné kyseliny obsahujú jednu dvojitú väzbu, ktorá sa môže nachádzať v rôznych polohách. Najčastejšie majú takéto mastné kyseliny 16 až 22 uhlíkov v reťazci a dvojitá väzba sa nachádza v *cis* konfigurácii [22]. Poloha tejto väzby je vyjadrená v systematickom názve kyseliny. Medzi najznámejšie mononenasýtené mastné kyseliny patrí kyselina *cis*-9-oktadekánová, známejšia pod názvom kyselina olejová [22]. Zoznam ďalších známych mononenasýtených mastných kyselín je zobrazený v Tabuľke 1.

Rastlinné a živočíšne tuky často obsahujú mononenasýtené mastné kyseliny s podobnými koncovými štruktúrami, ale s rôznymi dĺžkami reťazca. Tieto vznikajú zo spoločného prekursora *beta*-oxidáciou alebo predlžovaním reťazca [22]

Mastné kyseliny, ktoré majú *trans* konformáciu dvojitej väzby sa vyskytujú v prírode vzácné. Bežnejšie sú vytvárané v priemysle pri hydrogenácii tukov a olejov, sú teda prítomné v margarínoch. Medzi známe *trans*-izoméry mastných kyselín patrí *trans*-11-oktadecénová kyselina, nazývaná tiež vakcenová kyselina. Vzniká pri biodehydrogenácii v bachore, odkiaľ putuje do tkanív prežúvavcov a prostredníctvom mliečnych výrobkov a mäsa aj do tkanív ľudí [24].

Cis-izoméry mastných kyselín, ktoré majú menej ako 18 atómov uhlíka v reťazci, sa topia už pri izbovej teplote, na rozdiel od toho, *trans*-izoméry majú vyššie teploty topenia. Nenasýtené mastné kyseliny sú náchylnejšie na oxidáciu, čo je spôsobené prítomnosťou dvojitej väzby [24].

Tabuľka 1 Zoznam niektorých z najznámejších mononenasýtených mastných kyselín

Monoénové mastné kyseliny

<i>Systematický názov</i>	<i>Triviálny názov</i>	<i>Skrátená formulácia</i>
<i>cis</i> -tetradec-9-énová	myristoolejová	14:1(n-5)
<i>cis</i> -hexadec-9-énová	palmitoolejová	16:1(n-7)
<i>cis</i> -oktadec-6-énová	petroselová	18:1(n-12)
<i>cis</i> -oktadec-9-énová	olejová	18:1(n-9)
<i>cis</i> -oktadec-11-énová	<i>cis</i> -vakcínová	18:1(n-7)
<i>trans</i> -oktadec-9-énová	elaidová	–
<i>trans</i> -oktadec-11-énová	vakcínová	–
<i>cis</i> -ikos-9-énová	gadelejová	20:1(n-11)
<i>cis</i> -ikos-11-énová	gondová	20:1(n-9)
<i>cis</i> -dokos-13-énová	eruková	22:1(n-9)
<i>cis</i> -tetrakos-15-énová	nervová	24:1(n-9)

Pri **polynenasýtených mastných kyselinách** sa prvá dvojité väzba nachádza väčšinou medzi tretím a štvrtým uhlíkom od ω uhlíku. Dvojité väzby nie sú konjugované. Mastné kyseliny produkované rastlinami a phytoplanktónom, sú esenciálne pre všetky vyššie formy organizmov, vrátane cicavcov a rýb. Pre živočíšne mastné kyseliny je typické, že obsahujú jednu až šesť dvojitých väzieb, zatiaľ čo pri riasach je bežných päť dvojitých väzieb. Oproti tomu mikrobiálne mastné kyseliny, len zriedka obsahujú viac ako jednu dvojitú väzbu a pri vyšších rastlinách sa stretávame najviac s tromi dvojitými väzbami [22]. Zoznam najznámejších polynenasýtených mastných kyselín je zobrazený v Tabuľke 2.

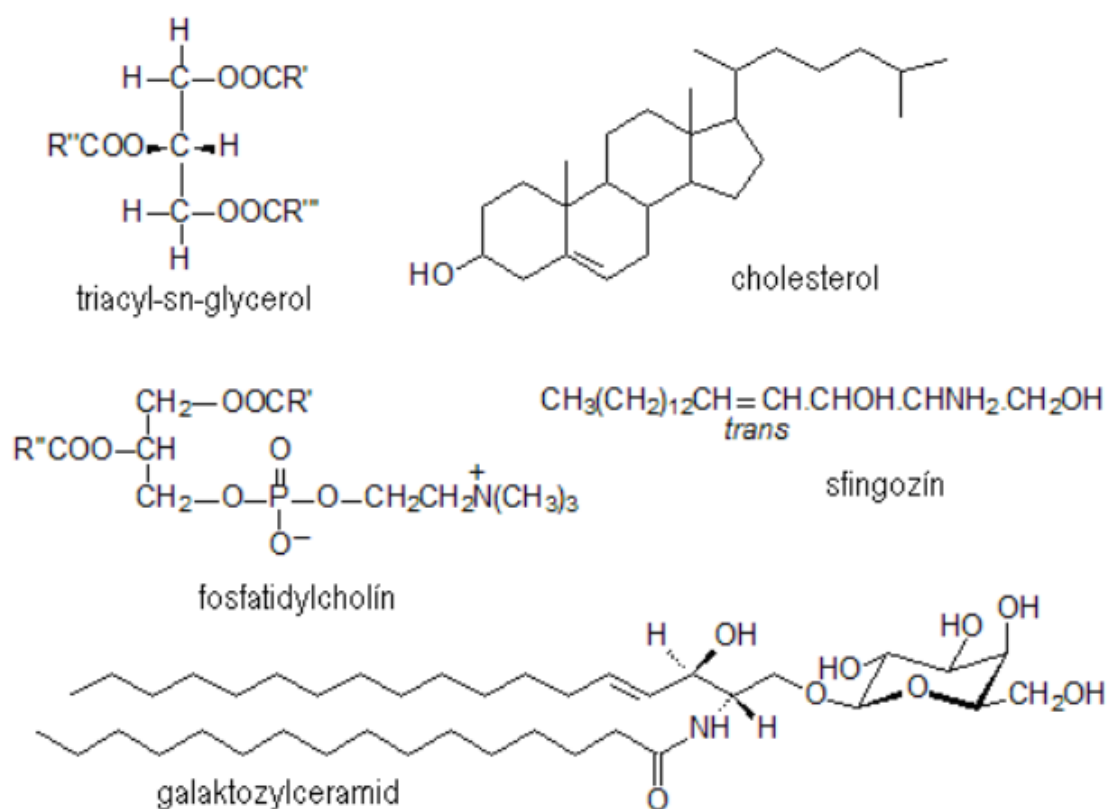
Jednou z najrozšírenejších polynenasýtených mastných kyselín je kyselina linolová. Patrí medzi esenciálne mastné kyseliny, pretože nie je syntetizovaná v živočíšnych tkanivách. Zabezpečuje zdravý vývoj, rast a reprodukciu [24]. Kyselina linolová slúži ako prekursor mastných kyselín, ktoré sú tvorené predlžovaním jej reťazca alebo desaturáciou, zatiaľ čo terminálna štruktúra ostáva zachovaná. Enzýmy zvierat sú totižto schopné len vložiť novú väzbu medzi už existujúcu karboxylovú skupinu a dvojitú väzbu [25].

Náhrada nasýtených mastných kyselín s mononenasýtenými a polynenasýtenými mastnými kyselinami (hlavne ω -6) znižuje koncentráciu celkového a LDL cholesterolu [26].

Tabuľka 2 zoznam najznámejších polynenasýtených mastných kyselín

<i>Systematický názov</i>	<i>Triviálny názov</i>	<i>Skrátená formulácia</i>
<i>cis, cis</i> -oktadeka-9,12-diénová	Linolová	18:2(n-6)
<i>all-cis</i> -oktadeka-6,9,12-triénová	γ -linolenová	18:3(n-6)
<i>all-cis</i> -ikosa-8,11,14-triénová	dihomo- γ -linolenová	20:3(n-6)
<i>all-cis</i> -ikosa-5,8,11,14-tetraénová	Arachidonová	20:4(n-6)
<i>all-cis</i> -oktadeka-9,12,15-triénová	α -linolenová	18:3(n-3)
<i>all-cis</i> -dokosa-7,10,13,16,19-pentaénová	Klupanodonová	22:5(n-3)
<i>all-cis</i> -dokosa-4,7,10,13,16,19-hexaénová	Cervonová	20:6(n-3)

V prírode sa vo veľkej rozmanitosti nachádzajú aj **mastné kyseliny s rozvetveným reťazcom**. Najčastejšie predstavujú minoritné zložky, no pri baktériách, plne nahrádzajú nenasýtené mastné kyseliny. Vetvenie najčastejšie obsahuje jednu metylovú skupinu. Pri biosyntéze, je ako primárna molekula (k predĺženiu reťazca) využívaná kyselina 2-metylpropánová alebo 2-metylbutánová. Ak je na predlžovanie reťazca využívaný methmalonyl-koenzým A, nie malonyl-koenzým A, nájdeme v reťazci viacero metylových vetiev [25]. Štruktúra niektorých mastných kyselín s rozvetveným reťazcom je zobrazená na Obrázku 1.



Obrázok 2 Štruktúra niektorých lipidických tried (84)

Veľká časť komerčne významných olejov a tukov, rastlinného alebo živočíšneho pôvodu, sú takmer výlučne tvorené jednoduchými lipidmi. V živočíšnych tukoch, ktoré pochádzajú z tukového tkaniva, ovplyvňuje zastúpenie mastných kyselín strava a obsah mastných kyselín v strave. Aj napriek tomu je pre živočíšne tuky typický vysoký obsah C16 a C18 mastných kyselín. V rastlinných olejoch, najmä v olejoch zo semien, prevládajú zvyčajne C18 nenasýtené mastné kyseliny. Rybie triacylglyceroli sú typické vysokým obsahom C20 a C22 polynenasýtených mastných kyselín, čím sa líšia od ostatných zdrojov lipidov [27].

V semenných a hubových lipidoch boli nájdené triacylglycerli s obsahom hydroxy mastných kyselín. Táto skupina sa môže následne esterifikovať na ďalšie mastné kyseliny. Takto vzniká skupina lipidov nazývaná estolidy [27].

Diacylglyceroli a monoacylglyceroly obsahujú dva resp. jeden mól mastných kyselín na mól glycerolu [38]. Môžeme ich nájsť aj pod názvom „parciálne glyceridy“. Zvyčajne sú v tkanivách obsiahnuté len v stopových množstvách. Sú využívané na reguláciu životne dôležitých procesov v živočíšnych bunkách, generáciu medzibunkových signálov k enzymatickej hydrolýze fosfatidylinositolov [28]. Pri zvýšenej teplote, v prítomnosti rozpúšťadiel alebo protonizačného činidla, môže dochádzať k presúvaniu acylovej skupiny.

Z tohto dôvodu je nutné dodržať prísne postupy pri izolácii týchto mastných kyselín pre ďalšiu analýzu [28].

Alkyldiacylglyceroly a neutrálne plazmalogény. Viaceré glyceolipidy, najmä živočíšneho a mikrobiálneho pôvodu, obsahujú alifatické zvyšky, ktoré sú spojené éterovou väzbou s glycerolom. Alkyldiacylglyceroly obsahujú alkylový reťazec spojený éterovou väzbou s glycerolom v polohe 1 [29]. Bežné mastné kyseliny esterifikujú zvyšné polohy (2 a 3). Alkylové skupiny majú zvyčajne reťazec so 16, 18 alebo 20 atómami uhlíka, s nenasýtenými väzbami. Alkylétery môžu byť u morských živočíchov hlavnou skupinou lipidov. V živočíšnych tkanivách sa nachádzajú v malých množstvách [29].

Neutrálne plazmogény sú príbuzné alkyldiacylglycerolom. V oboch skupinách je alkylový reťazec spojený s glycerolom v polohe 1 vinyl éterovou väzbou. Dvojitá väzba je v konfigurácii *cis*. Tieto zlúčeniny sa nachádzajú len v niektorých živočíšnych tkanivách, a to v stopových množstvách. Neutrálne plazmogény majú bežne mononenasýtené reťazce dlhé 16 alebo 18 atómov uhlíka [30].

Cholesterol a jeho estery. Cholesterol patrí medzi steroidy s tetracyklickým kruhom. Pre udržanie fluidity membrány je podstatné to, že molekula obsahuje dvojitú väzbu a hydroxylovú skupinu. Existujú však aj esterifikované formy. Ich transesterifikácia alebo hydrolýza je oveľa pomalšia [31]. V rastlinných tkanivách prevládajú steroly ako napríklad stigmasterol alebo ergosterol, no cholesterol je obsiahnutý len v stopových množstvách [30].

2.3.4 Zložené lipidy

Glycerolfosfolipidy. Základná štruktúra glycerolfosfolipidov je molekula kyseliny fosfatidovej, táto je tvorená glycerolom, ktorý je esterifikovaný molekulou H_3PO_4 . Na zvyšné polohy glycerolu sú naviazané molekuly mastných kyselín. Do tejto skupiny patrí aj lecitín (1,2-diacyl-*sn*-glycerol-3-fosforylcholín), ktorý je najhojnejšie sa vyskytujúcou zložkou lipidov v rastlinných membránach. Jednotlivé skupiny fosfolipidov sa od seba odlišujú zložením mastných kyselín, ktoré závisí od ich funkcie. Glycerolfosfolipidy obsiahnuté v pečeni sú typické dlhými reťazcami s polynenasýtenými väzbami. I keď pri pozorovaní zloženia mastných kyselín môžeme vidieť určitú podobnosť, pri porovnaní rovnakých lipidov z rôznych tkanív, pozorujeme odlišnosť hodnôt [30].

Glyceroglykolipidy. Typické pre glykolipidy je, že obsahujú aspoň jeden monosacharid. Tieto sacharidy sú viazané na lipidickú časť mono- alebo diacylglycerolu. Zaujímavou vlastnosťou glykolipidov je ich rozpustnosť v acetóne, čo je využívané pri izolácii pre chromatografiu [31]. Monogalaktozyldiacylglycerol je prítomný v mozgu a v nervových tkanivách pri niektorých druhoch zvierat. Veľké množstvo glyceroglykolipidov sa nachádza aj v pľúcach a v tráviacom trakte. Významným glykolipidom pre rastliny je sulfochinovozyldiacylglycerol, ktorý je nazývaný aj „rastlinný sulfolipid“. Obsahuje zvyšok kyseliny sulfónovej viazanej na sacharidovú skupinu [30].

Sfingolipidy sa skladajú z báz a dlhých reťazcov alifatických amínov, ktoré majú 12 až 22 atómov uhlíka. Bežný je obsah *trans*- dvojitej väzby a hydroxylových skupín (2 až 3) [32]. Dvojitá väzba alifatických reťazcov môžu byť v konfigurácii *trans* aj *cis* [30].

2.3.5 Analýza mastných kyselín

Analýza mastných kyselín zvyčajne vyžaduje úvodnú extrakciu samotných lipidov z metrixu vzorky. Ďalším krokom je derivatizácia transesterifikáciou, ktorá je potrebná na vytvorenie prchavých metylesterov mastných kyselín [33]. Vytvorenie prchavých esterov je nevyhnutné pri analýze pomocou plynového chromatografu (preferovaná technika pri analýze mastných kyselín) [34].

2.3.5.1 Extrakcia lipidov

Extrakcia lipidov je hlavným krokom, ktorý potrebujeme pre ďalšiu analýzu lipidov. Často je to však najkomplikovanejší a hlavne najzdĺhavejší krok celej analýzy. Najbežnejšie používaná je extrakcia do organického rozpúšťadla. Tu sa využíva základná vlastnosť lipidov a to je nerozpustnosť vo vode a polárnych rozpúšťadlách, no naopak dobrá rozpustnosť v organických rozpúšťadlách. Výber správneho rozpúšťadla je kľúčový pre správne fungovanie extrakcie. Ovplyvňuje to dobu a stupeň extrakcie, ale taktiež celkové finančné náklady. Výber správneho rozpúšťadla, samozrejme ovplyvňuje pôvod analyzovanej vzorky, druh organizmu ale aj zloženie lipidov [35].

Ako môžeme vidieť v Tabuľke 3, je bežné, že na extrakciu lipidov z rôznych druhov buniek sa používa zmes polárneho a nepolárneho rozpúšťadla. Je to spôsobené tým, že lipidy sa nachádzajú za cytoplazmatickou membránou, ktorá je tvorená fosfolipidovou dvojvrstvou. Fosfolipidy majú polárnu aj nepolárnu časť [35]. Pri extrakcii musí rozpúšťadlo prejsť cytoplazmatickú membránu, na čo je potrebné polárne rozpúšťadlo, pretože polárna časť fosfolipidov je orientovaná do vonkajšieho prostredia. Na druhej strane membrány už polárne rozpúšťadlo len veľmi slabo rozpúšťa neutrálne lipidy. Omnoho lepšiu afinitu majú lipidy k nepolárnemu rozpúšťadlu, ktoré zvyšuje selektivitu aj účinnosť reakcie [35].

Tabuľka 3 Zmesi rozpúšťadiel používaných na extrakciu lipidov

Klasifikácia	Rozpúšťadlo	Výskyt
Rastlinné zdroje lipidov	Dietyléter	Sója [93]
	Etanol/benzene (1:4, w/w)	Sója [94]
	Hexán/Metanol (1:1, w/w)	Tkanivá listov [95]
	Hexán	Ryžové otruby, grepové semená [63]
	Hexán/Acetón (30:70, w/w)	Jablčné semená [96]
Živočíšne zdroje lipidov	Metanol/Chloroform (1:2, w/w), Hexán/Izopropanol (2:3, w/w)	Tkanivo [97, 98]
	Chloroform/izobutanol, Chloroform/izopropanol	Erytrocyty [99]
	Metanol/Dichlórmetán (1:2, w/w)	Plazma [100]
	Chloroform/Metanol (2:1, w/w), Acetón	Aortálne tkanivo [101]
Mikroorganizmy	Dimetylsulfoxid	Červené kvasinky [102]
	Propán-2-ol/Benzén/Voda (2:2:1, w/w)	<i>Stephanurus dentatus</i> [103]
	Chloroform/Metanol (1:1, w/w), bezvodý etanol (90%)	Mikroriasy [104]
	Metanol/Chloroform (2:1, w/w)	<i>Nannochloris oculata</i> [98]

Populárnym roztokom na extrakciu bola dlhé roky zmes chloroformu a metanolu. Zmes bola používaná na extrakciu lipidov zo semienok sóje ale aj z mikrorias [36]. Najskôr bola zmes miešaná v pomere 1:1, no neskôr bol tento pomer menený. V práci Prabakarana a Ravindrana [37] bola táto metóda extrakcie vylepšená a pomer chloroform:metanol bol upravený na 2:1. Vďaka tomuto bola dosiahnutá vyššia výťažnosť pri extrakcii lipidov z *Chlorella sp.*

Vysoká toxicita chloroformu, však znamenala vyššie riziko pre zamestnancov a vyššie náklady na ich ochranu. Z toho dôvodu bolo potrebné hľadať nové rozpúšťadlo s nižšou mierou toxicity. Túto podmienku spĺňa hexán. Navyše vďaka jeho vlastnostiam môže byť po destilácii regenerovaný a opätovne použitý, čo je veľmi výhodné z ekonomického hľadiska. Hexán sa stal veľmi populárnym organickým rozpúšťadlom a trvá to dodnes [38].

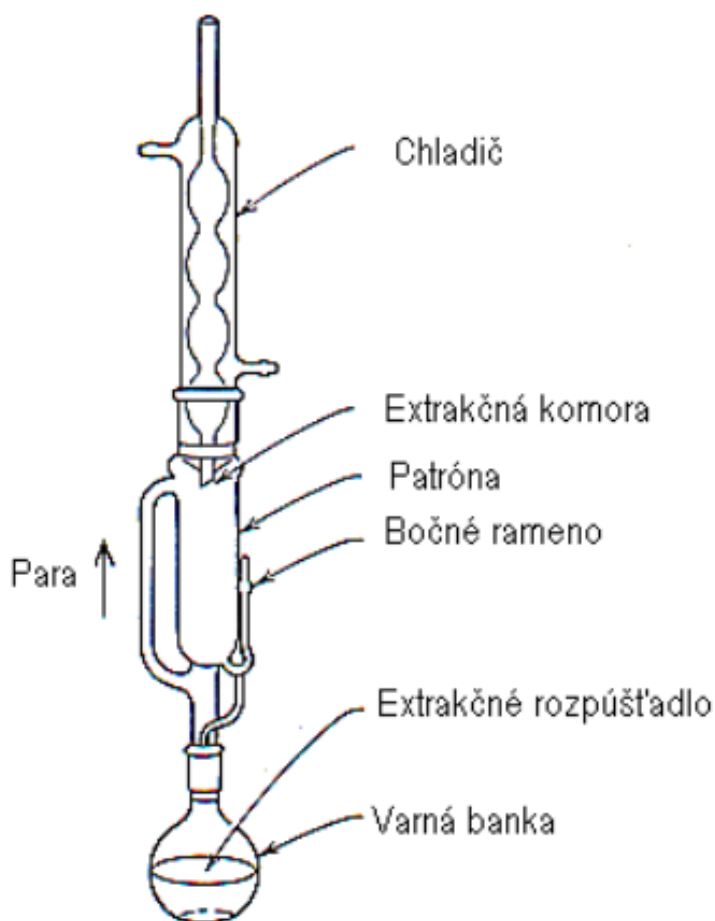
Ako polárne rozpúšťadlo v zmesi s hexánom sa často využíva etanol. Hlavnou výhodou je rovnako ako pri hexáne jeho nízka toxicita [39]. Zmes hexánu a etanolu je preukázateľne účinnejšia ako zmes chloroformu s metanolom. Pri porovnaní bolo zistené, že pri použití etanolu s hexánom bolo použité až 10krát menej rozpúšťadla na spracovanie rovnakého množstva biomasy [40].

2.3.5.2 Soxhletova extrakcia

Na extrakciu lipidov existuje mnoho metód a každá sa používa v inom odvetví (napr. potravinárska produkcia, farmaceutická, priemyselná,...). Soxhletova extrakcia však patrí medzi najrozšírenejšie. V praxi je považovaná za štandardnú metódu a pri vývoji nových metód sa používa na porovnanie výsledkov [35]. Franz von Soxhlet vynášiel túto metódu v roku 1879 keď sa snažil extrahovať tuk z mlieka [41]. Metóda bola výnimočná pretože dokázala separovať jednotlivé zlúčeniny z vysokomolekulárneho materiálu, ale taktiež z ostatných zlúčenín, ktoré by spôsobili interferenciu.

Na obrázku 3 vidíme, že základom Soxhletovho extraktora je varná banka, v ktorej sa nachádza rozpúšťadlo, extrakčná komora, kde sa nachádza analyt a patróna s bočným ramenom, odkiaľ preteká rozpúšťadlo z extrakčnej komory späť do varnej banky. V neposlednom rade je súčasťou aparatury aj chladič a výhrevné hniezdo [42].

Celú extrakciu je možné rozdeliť do troch krokov: extrakcia, premývanie a zakoncentrovanie. Analýza začína zahrievaním rozpúšťadla v banke, pary stúpajú do chladiča cez bočné rameno, kde nastáva ich kondenzácia a rozpúšťadlo klesá do extrakčnej komory. Komora sa 8 až 10 minút napúšťa rozpúšťadlom a dochádza k extrakcii lipidov zo vzorky. Po naplnení komory pretečie rozpúšťadlo s vyextrahovanými lipidmi späť do varnej banky a celý proces sa opakuje. Po ukončení extrakcie rozdelíme vyextrahované lipidy od rozpúšťadla destiláciou [42].



Obrázok 3 Schéma aparatury pre Soxhletovu extrakciu (84).

Soxhletova extrakcia je populárna predovšetkým vďaka svojej širokej využiteľnosti. Veľkou výhodou je aj to, že vzorka prichádza do kontaktu vždy s čistým rozpúšťadlom, čo znižuje náklady metódy a aj náročnosť. Nevýhodou, však je veľká časová náročnosť metódy. Od doby extrakcie závisí účinnosť metódy. Boerom a jeho kolektív porovnávali účinnosť metódy pri extrakcii švábov po 3 a po 6 hodinách. Dlhšia extrakcia preukázala lepšiu výťažnosť metódy [43].

2.3.5.3 Kyslá a alkalická transesterifikácia

Transesterifikácia je definovaná ako alkoholýza triglyceridov. Ide teda o reakciu s alkoholmi, najbežnejšie sa používa metanol a etanol. Dochádza tu k príprave alkylesteroz masných kyselín zo zmesi triglyceridov a masných kyselín. Vytvára sa esterová fáza, ktorá obsahuje alkylestery masných kyselín a glycerínová fáza, ktorá obsahuje masné kyseliny. Masné kyseliny sú z glycerínovej fáze separované a esterifikované príslušným alkoholom [43].

Pri transesterifikácii sa používajú bázičné (alkalické hydroxidy, oxidy, uhličitany, anexy), ale aj kyslé katalyzátory (minerálne kyseliny, fluorid boritý, katexy). Výber katalyzátoru je ovplyvnený vlastnosťami analyzovanej látky, je potrebné aby vytvorili homogénnu zmes. Najbežnejšie používaný katalyzátor je hydroxid sodný alebo draselný. Kyslo katalyzovaná transesterifikácia vyžaduje vyššie reakčné teploty, tlak a je aj finančne náročnejšia [43].

Transesterifikácia s alkalickým katalyzátorom sa uskutočňuje bez použitia rozpúšťadla. Reakcia začína s dvoj-fázovým systémom triglyceridu a alkoholu. Priebehom reakcie a vznikom esterov sa postupne tvorí homogénna fáza, ktorá sa následne vznikom glycerínu opäť rozpadne na dve fáze [43].

2.3.5.4 Plynová chromatografia

Moderná plynová chromatografia bola vyvinutá v roku 1952 a stala sa jednou z najpoužívanějších a najdôležitejších techník analytickej chémie. GC je druh chromatografie využívaný na separáciu zlúčenín, ktoré môžu byť odparené bez rozkladu. Medzi najbežnejšie využitia tejto metódy patrí testovanie čistoty látky, alebo separácia jednotlivých zložiek vzorky [44].

Plynová chromatografia separuje zložky analytu nastrekutím plynnej vzorky do mobilnej fázy (nosný plyn), ktorá prechádza cez stacionárnu fázu. Mobilná fáza je inertný, nereaktívny plyn, najčastejšie hélium, argón alebo vodík. Stacionárna fáza je tvorená mikroskopickou vrstvou viskózne tekutiny, na povrchu pevných častíc na inertnom tuhom nosiči. Toto sa nachádza v kolone, čo je sklenená alebo kovová rúrka [44].

Na odparenie vzorky je potrebné nastreknúť analyt do nástrekovvej komory, čo je vyhrievaný blok. Vzorka vo forme pár je unášaná nosným plynom cez kolonu napustenú stacionárnu fázou. V kolone prebieha opakovaná sorbcia a desorpcia analytu medzi stacionárnou a mobilnou fázou. Jednotlivé zložky vzorky putujú kolonou samostatne, rozdielne dlhú dobu, v závislosti na distribučnej konštante. Látky vychádzajú z kolony v poradí rastúcich hodnôt distribučnej konstanty a vstupujú na kolonu [65]. Detektor indikuje koncentráciu látok a výsledkom je grafický záznam, chromatogram, ktorý zobrazuje závislosť signálu detektoru na čase [45].

Počet vyseparovaných látok zo vzorky predstavuje počet elučných kriviek, nazývaných píky, v chromatograme. Pík má tvar Gaussovej distribúcie a je určený svojou výškou, šírkou a retenčným časom. Retenčný čas udáva dobu priechodu látky kolonou. Poloha píku nám prezrádza identitu separovanej látky. Z plochy píku sme schopný vypočítať množstvo látky vo vzorke [45].

Plynová chromatografia je široko používaná pri analýzach potravín. Aplikácia analýz je kvalitatívna aj kvantitatívna a analyzuje zloženie potraviny, obsah prírodných produktov, pridané aditíva, zvýrazňovače chuti a vône, taktiež aj kontaminanty, ako napríklad pesticídy, veterinárne lieky, látky znečisťujúce životné prostredie a obalové materiály [46].

2.4 Sacharidy

Sacharidy sú organické látky, ktorých molekuly sa skladajú z atómov kyslíku, uhlíku a vodíku. Sú definované ako polyhydroxyketóny alebo polyhydroxyaldehydy [47]. Najjednoduchšími sacharidmi sú monosacharidy, ktoré sú zároveň aj stavebnými jednotkami zložitejších sacharidov.

Sacharidy majú v tele veľké množstvo funkcií. V bunkách zastávajú stavebnú a ochrannú funkciu. Tvoria zásobné látky, sú zložkami nukleotidov a iných účinných látok (antibiotiká, koenzýmy). No pre organizmus sú veľmi dôležité ako zdroj energie. Z 1 g cukru získa telo až 4 kcal [48]. V prípade nedostatku sacharidov v tele, nastáva úbytok svalovej hmoty aj tukového tkaniva. V našej oblasti je bežnejšia nadmerná konzumácia sacharidov, ktorá spôsobuje nadváha a zvyšuje riziko cukrovky. Zatiaľ čo živočíchy musia prijímať sacharidy v potrave, rastliny a autotrofné organizmy si ich vyrábajú v procese fotosyntézy [47].

2.4.1 Stanovenie obsahu sacharidov

Stanovenie obsahu sacharidov patrí medzi veľmi časté analýzy potravín, pretože nám podáva informáciu a pôvode a kvalite potraviny [47]. Metódy stanovujúce obsah sacharidov sú založené na ich základných vlastnostiach. Základné a najstaršie metódy využívajú na stanovenie optickú aktivitu sacharidov, kedy dochádza k stáčeniu roviny polarizácie svetla pomocou chirálneho uhlíka. Časť disacharidov má redukujúce vlastnosti, pretože majú voľnú ketónovú alebo aldehydovú funkčnú skupinu. Táto vlastnosť sa využíva na redukciu roztokov, ktoré následne zmenia farbu a tým potvrdia prítomnosť tohto druhu sacharidov. V praxi sa však stretávame s tým, že vzorka obsahuje viac druhov sacharidov, živín (tuky, bielkoviny...) alebo farbív, ktoré môžu spôsobovať chybu merania. Z toho dôvodu je potrebné používať laboratórne postupy vyvinuté špeciálne pre daný druh suroviny [49].

2.4.2 Príprava vzorky

Pri príprave vzorky pre analýzu je potrebné rozlišovať jej pôvod. Pokiaľ analyzujeme vzorku s vysokou koncentráciou sacharidov (napr. cukrovarnícke výrobky) nie je potrebné vzorku špeciálne upravovať [50]. Vzorky obsahujúce bielkoviny alebo tuky, potrebujú zložitejšiu prípravu pred analýzou, pretože pre analýzu je potrebné získať číry roztok. Extrakcia najčastejšie prebieha do vody. Etanol sa používa ak je potrebné odstrániť v etanole rozpustné sacharidy alebo zastaviť štiepenie škrobu [51]. Pri extrakcii z potraviny s vysokým obsahom tuku, je nutné zahriať vzorku na teplotu topenia tukov. V opačnom prípade by sa mohlo stať, že sacharidy ostanú uzavreté v tukovom obale. K odstráneniu bielkovín sa používajú číriace roztoky, ktoré zrážajú nie len bielkoviny ale aj polysacharidy a polyfenoly. Požíva sa octan olovnatý alebo Carrezovo čírenie [51].

2.4.3 Stanovenie sacharidov podľa Duboise

Duboisova metóda stanovenia sacharidov stanovuje neutrálne sacharidy, takzvané „pravé“ cukry. Pri analýze dochádza k dehydratácii cukrov pomocou koncentrovanej kyseliny sírovej.

Vzniknutý furfural kondenzuje s fenolom za vzniku farebných kondenzačných produktov. Farebné roztoky sú stanovované spektrofotometricky [52].

2.5 Bielkoviny

Obsah proteínov aj zloženie aminokyselín sa v potravinách značne líši. V sušine môžu vzorky obsahovať 0 až 100 % bielkovín. Najväčší obsah proteínov majú potraviny živočíšneho pôvodu. Z rastlinných potravín sú dobrým zdrojom proteínov hlavne strukoviny (hrach, fazuľa, šošovica) a olejniny (sója, arašidy, mak, orechy). Nízky obsah bielkovín má ovocie a zelenina [47].

Bielkoviny je možné stanovovať buď v zmesi s inými látkami potraviny alebo samostatné v čistých preparátoch. Pri analýze s čistými preparátmi je možné získať presné hodnoty obsahu proteínov vo vzorke. Výsledkom je obsah takzvanej „čistej bielkoviny“. Táto hodnota neobsahuje nízkomolekulárne dusíkaté látky, ktoré sa nachádzajú vo vzorke. V praxi je však bežnejšia analýza vzoriek bielkovín v zmesi s inými látkami. Sú populárne, pretože sú rýchle, spoľahlivé a majú dobrú reprodukovateľnosť. Analýzou je možné získať informáciu o obsahu „hrubej bielkoviny“ vo vzorke. V tejto hodnote sú zahrnuté aj dusíkaté látky nebielkovinovej povahy. Tieto metódy sú vhodné pre získanie prvotnej informácie o obsahu bielkovín v potravine [53].

2.5.1 Mineralizácia

Časovo limitujúci krok pri stanovení celkových proteínov pomocou Kjeldahlovej metódy je mineralizácia vzorky. Normy ČSN uvádzajú čas potrebný na mineralizáciu vzoriek z mäsa a mäsových výrobkov 4 až 6 hodín [54]. Čas mineralizácie je možné ovplyvniť použitím katalyzátoru, ten uľahčuje a urýchľuje konverziu dusíka na amoniak. Najbežnejšie sa používajú katalyzátory, ktoré obsahujú meď, selén, ortuť ale niekedy aj titán a zirkón. Najefektívnejším katalyzátorom je oxid ortuťnatý [54]. Množstvo použitej koncentrovanej kyseliny sírovej je potrebné prispôbiť charakteru analyzovanej potraviny. Aby bola mineralizácia úspešná je potrebné použiť 8,1 g kyseliny na 1 g bielkovín. Mineralizácia prebieha pri vysokých teplotách (360 až 420 °C) [54].

2.5.2 Kjeldahlova analýza

Kjeldahlova metóda je široko používaná a stále je štandardnou metódou pre porovnanie, oproti ostatným moderným metódam. Vo všeobecnosti je táto metóda vysoko presná s nízkym variačným intervalom, preto sa stala hlavnou metódou pre stanovenie proteínov v potravinách. Nevýhodou metódy je to že používa koncentrovanú kyselinu sírovú, čo môže predstavovať nebezpečenstvo pri práci, a metóda je časovo náročná, pretože je potrebné vzorku najskôr zmineralizovať [55].

Dusíkaté látky prítomné vo vzorke sú počas mineralizácie prevedené na amónne ióny (síran amónny), za prítomnosti katalyzátoru a kyseliny sírovej. Ióny sú zalkalizované a dochádza k uvoľneniu amoniaku. Amoniak je destilovaný vodnou parou a zachytávaný do kyseliny sírovej, ktorá je v nadbytku. V tomto kroku vzniká síran amónny. Následne je titračne

stanovený obsah nezreagovanej kyseliny sírovej, čo spätne, po prepočítaní, dáva informáciu o obsahu dusíka vo vzorke. Pomocou príslušného faktoru, ktorý je daný pre každú potravinu, je celkový obsah dusíku prepočítaný na obsah hrubej bielkoviny [55].

2.6 Voda

Obsah vody v potravinách sa zásadne líši. Je to spôsobené hlavne odlišným pôvodom a chemickým zložením potravín (rastlinné pletivá a živočíšne tkanivá). Vyskytuje sa v rôznych formách v závislosti na hydrofóbných a hydrofilných interakciách. Tieto formy značne ovplyvňujú akou silou je voda v potravine držaná [47].

Voľná voda je typická tým, že si zachováva svoje fyzikálne vlastnosti (teplota varu a topenia, hustota). Môže slúžiť ako rozpúšťadlo pre kryštalizujúce látky, alebo ako disperzné činidlo. Často je táto voda absorbovaná makromolekulárnymi látkami (škrob, celulóza, proteíny). V tomto prípade je voda viazaná na povrchu molekúl slabými nekovalentnými interakciami. Voľnú vodu je možné z potraviny odstrániť veľmi jednoducho, napríklad vysušením [47].

Fyzikálne viazaná voda je v potravinách silne viazaná v uzavretých membránach buniek, alebo je súčasťou proteínov. Tieto väzby spôsobujú zmenu fyzikálnych vlastností fyzikálne viazanej vody od voľnej vody [47].

Chemicky viazaná voda sa nachádza v potravine vo forme hydrátov, napríklad monohydrát laktózy alebo dekahydrát síranu sodného. Táto voda má v porovnaní s voľnou, alebo fyzikálne viazanou vodou omnoho silnejšie väzby, čo spôsobuje zmenu fyzikálnych a chemických vlastností. Chemicky viazaná voda sa nachádza napríklad v kryštáloch cukru a spolu s fyzikálne viazanou vodou je ich odstraňovanie náročné a zdĺhavé [47].

Voda v potravinách ovplyvňuje veľké množstvo organoleptických vlastností výrobku, ako napríklad textúru, konzistenciu, chuť alebo vzhľad. Obsah vody ovplyvňuje aj výskyt mikroorganizmov. Ideálne prostredie pre ich rast pri aktivite vody $a_w = 0,93$. Preto je bežné, pre zvýšenie trvanlivosti znižovať aktivitu vody napríklad sušením alebo údením [47]

2.6.1 Stanovenie obsahu vody

Pre stanovenie obsahu vody v potravinách existuje veľké množstvo metód. Výber tej správnej analýzy závisí na presnosti, ktorú je potrebné získať, objeme vzorky ale aj finančných možnostiach. Základné delenie metód je na priame a nepriame. Pri priamych metódach je stanovovaný obsah vody a pri nepriamych obsah sušiny [56].

Oblíbenou a jednoduchou metódou na stanovenie obsahu vody v potravinách je termogravimetrická metóda. Princípom je meranie zmeny hmotnosti vzorky v priebehu sušenia. Ide teda o nepriamu metódu. Analýza je jednoduchá pretože nepotrebuje žiadne rozpúšťadlá ani chemikálie, je rýchla a nenáročná. Nevýhodou je, že hmotnostný úbytok nie je spôsobený len odparením vody ale aj prchavých látok. Ďalším problémom je, že zo vzorky sa neodparí silne viazaná voda. Kvôli tomu vznikajú pri meraní odchýlky [56].

3 Cieľ práce

Cieľom práce bolo sledovanie profilu mastných kyselín v mäsových paštétach. V rámci práce boli vypracované nasledovné úlohy:

- Literárna rešerš zameraná na mäsové paštéty (ich zloženie, výroba, nutričný význam a analýza)
- Optimalizácia receptúry a výroba paštéty
- Výber paštét
- Optimalizácia metódy GC a stanovenie mastných kyselín v paštétach
- Stanovenie obsahu sacharidov, bielkovín a vody v paštétach
- Vyhodnotenie výsledkov

4 Experimentálna časť

4.1 Použité chemikália

4.1.1 Chemikálie použité na extrakciu lipidov

Hexán 95%, p.a., Penta (ČR)

Hexán pre HPLC, VWR Chemicals (FR)

Hydroxid sodný, Lach-Ner s.r.o. (ČR)

Kyselina sírová 95%, p.a., Penta (ČR)

Metanol p.a., Lach-Ner s.r.o. (ČR)

Petroléter, Lach-Ner, s.r.o. (ČR)

4.1.2 Chemikálie pre GC analýzu

Hexán pre HPLC, Sigma-Aldrich (SRN)

Transesterifikačná zmes

Hydroxid sodný, Lach-Ner s.r.o. (ČR)

Kyselina sírová 95%, p.a., Penta (ČR)

Metanol p.a., Lach-Ner s.r.o. (ČR)

Petroléter, Lach-Ner, s.r.o. (ČR)

4.1.3 Chemikálie použité na stanovenie obsahu sacharidov

Kyselina sírová 95%, p.a., Penta (ČR)

Fenol, p.a., Penta (ČR)

4.1.4 Chemikálie použité na stanovenie obsahu bielkovín

Hydroxid sodný, Lach-Ner s.r.o. (ČR)

Kyselina sírová 95%, p.a., Penta (ČR)

Weinerbergov katalyzátor (90 g síran sodný, 7 g síran ortuťnatý,
1,5 g síran meďnatý, selén), VWR Chemicals (BEL)

4.2 Použité prístroje

Analytické váhy, Boeco (SRN)

Automatický destilačný systém VAPODEST, C.Gerhardt GmbH & Co. (DE)

Blokový digestor KJELDATHERM, C.Gerhardt GmbH & Co. (DE)

Centrifúga U-32R, Boeco (DE)

Exikátor Simax (ČR)

Extraktor fexIKA drive-in control, IKA (DE)

Extraktor SOXTHERM, C.Gerhardt GmbH & Co. (DE)

Kuchynský mlynček ETA (CZ)

Lyofilizátor Labconco FreeZone 4.5 Freeze Dryer (USA)

Plynový chromatograf, TRACE GC ThermoQuest Italia S.p.A (IT)

Spektrofotometer

Sušiareň

Termoblok VWR (ČR)
Kuchynský kutr Thermomix Vorwerk (SRN)
Vakuová rotačná odparka, KIKA – WERKER-RVO6-ML (DE)
Vykuřovací hnízdo LTHS 500
Zavarovací hrniec BIELMEIER (SRN)

4.3 Analyzované vzorky

V experimentálnej časti tejto diplomovej práce boli analyzované mäsové paštéty, vyrobené z bravčového mäsa a bravčovej alebo hydinovej pečienky. Cieľom bolo získať širokú škálu paštét rozličného zloženia a kvality. Aby sme toto zabezpečili, paštéty boli nakupované vo viacerých obchodných reťazcoch a dbali sme na to, aby paštéty pochádzali z rozličných cenových kategórií. Zároveň boli vyberané paštéty, ktoré sú bežne dostupné, a teda bežne kupované zákazníkmi.

Pre porovnanie s kupovanými paštétami bola vyrobená aj takzvaná štandardná paštéta. Táto bola pripravená z bravčového bôčiku, pleca a bravčovej pečienky podľa receptu v bode 4.7.

4.4 Výroba mäsovej paštéty

4.4.1 Príprava vzorky pre analýzu inaktivačného účinku záhrevu

Na výrobu mäsovej paštéty bolo použitých 375 g bravčového pleca, 263 g bravčovej pečienky, 113 g bravčového bôčiku bez kosti, 100 ml vody, 10 g soli a 1,9 g mletého čierneho korenia.

V prvom kroku bola odstránená koža z bravčového bôčiku a bravčové plece spolu s pečienkou boli odblanené. Takto pripravené mäso bolo navážené a pomleté na kuchynskom mlynčeku. Dielo bolo následne kutrované v kuchynskom kutri po dobu 5 minút pri rôznych otáčkach. Počas toho bola k dielu pridaná soľ, korenie a voda. Takto pripravené dielo bolo rozdelené do sklenených zaváracích pohárov spolu s registračným teplomerom. Vzorky boli varené v zavarovacom hrnci pri teplote 80°C. Na určenie inaktivačného účinku záhrevu bola každá vzorka varená inú dobu. Vzorka č.1 bola varená 60 minút, č.2 90 minút a posledná vzorka č.3 bola varená po dobu 120 minút. Po ukončení varenia a vychladnutí vzoriek bol vybratý registračný teplomer a pomocou programu QiTerm boli zanalyzované nazbierané dáta.

4.4.2 Príprava paštéty pre ostatné analýzy

Na výrobu mäsovej paštéty bolo použitých 375 g bravčového pleca, 263 g bravčovej pečienky, 113 g bravčového bôčiku bez kosti, 100 ml vody, 10 g soli a 1,9 g mletého čierneho korenia.

V prvom kroku bola odstránená koža z bravčového bôčiku a bravčové plece spolu s pečienkou boli odblanené. Takto pripravené mäso bolo navážené a pomleté na kuchynskom mlynčeku. Dielo bolo následne kutrované v kuchynskom kutri po dobu 5 minút pri rôznych otáčkach. Počas toho bola k dielu pridaná soľ, korenie a voda. Takto pripravené dielo bolo rozdelené do sklenených zaváracích pohárov. Vzorky boli varené zavarovacím hrnci pri teplote 80°C po dobu 90 minút. Po ukončení varenia boli vzorky vychladené pri laboratórnej teplote a uskladnené v chladničke pri teplote 8 °C pre ďalšiu analýzu. Hotové paštéty sú zobrazené na Obrázku 4.



Obrázok 4 vzorky paštéty pripravené na ďalšiu analýzu (foto. R.Martonová)

4.5 Analýza profilu mastných kyselín v mäsových paštétach

Extrakcia tuku z mäsových paštét Soxhletovou extrakciou Do papierovej patróny bolo navážených 1,98 g vyrobenej paštéty. Následne bola zostavená aparátúra pre Soxhletovu extrakciu do ktorej bola vložená patróna, spolu so vzorkou. Do destilačnej banky bolo pridaných 150 ml hexánu. Po zapnutí vyhrievacieho hniezda a spustení prítoku vody do chladiča bola začatá extrakcia tuku, ktorá trvala 4 hodiny. Po ukončení extrakcie bol hexán z destilačnej banky vydestilovaný. Tuk, vyextrahovaný do destilačnej banky, bol vysušený v sušiarňi pri 105 °C po dobu 1 hodiny. Po vychladnutí v exikátore bola banka spolu s tukom zvážená.

4.5.1 Extrakcia tuku z mäsových paštét extraktorom SOXTHERM

Do papierovej patróny bolo navážených 1,3-1,6 g vzorky mäsovej paštéty. Následne bola patróna aj so vzorkou vložená do extrakčnej sklenenej patróny a bolo pridaných 150 ml hexánu.

Takto pripravené vzorky boli vložené do extraktoru SOXTHERM a bol zapnutý extrakčný program. Doba extrakcie bola optimalizovaná použitím dvoch extrakčných programov. Programy extrakcie mali rozdielnu dobu extrakcie a to 3 a 4 hodiny. Na Obrázku 2 je zobrazený priebeh extrakcie vzoriek.

Po dokončení programu sa vyextrahovaný tuk nachádzal v hexáne ktorý bol odparený na vákuovej odparke. Vzorka bola následne sušená v sušiarňi po dobu 1 h pri teplote 105 °C. Takto vysušený tuk bol vychladený v exikátore a zvážený.



Obrázok 5 extrakcia tuku zo vzoriek v extraktore SOXTHERM (foto. R.Martonová)

4.5.2 Extrakcia tuku z mäsových paštét na extraktore fexIKA

Bolo navážených 1,47 až 1,58 g mäsovej paštéty a vzorka bola zabalená do filtračného papiera, ktorý bol vložený do extraktoru fexIKA, spolu s dopredu vysušenou a zváženou bankou (30 min pri 105 °C, chladenie v exikátore), do ktorej bolo odmeraných 60 ml petroléteri. Po zostavení extrakčnej aparatúry bola vzorka automaticky extrahovaná v 8 cykloch (75 °C/10 min, chladenie na 25 °C) po dobu 2 hodín.

Po extrakcii bolo rozpúšťadlo odparené na vákuovej rotačnej odparke pri 45 °C. Následne bola banka s vyextrahovaným tukom sušená 2 hodiny pri 105 °C v sušiarňi. Po ochladení v exikátore bola banka zvážená.

4.5.3 Príprava vzoriek na plynovú chromatografiu

(kyslá transesterifikácia)

Do krimpovacej vialky s objemom 2 ml bolo navážených 13-25 mg vyextrahovaného tuku a pridaných 1,8 ml transesterifikačnej zmesi. Vialka bola uzatvorená a vložená do termobloku, kde bola inkubovaná 2 hodiny pri teplote 85°C. Následne bola vialka ochladená na laboratórnu teplotu (25°C). Do vialky s objemom 5 ml bol kvantitatívne prevedený obsah skúmavky a následne bolo pridaných 0,5 ml 0,5 M hydroxidu sodného, 1 ml hexánu pre HPLC. Uzavretá vialka bola trepaná na vortexe po dobu 10 minút. Trepaním sa oddelila organická fáza, z ktorej bolo odobratých 0,1 ml do 2 ml do vialky a pridaných 0,9 ml hexánu pre HPLC. Následne bola vzorka analyzovaná plynovou chromatografiou.

4.5.4 Príprava vzoriek na plynovú chromatografiu

(zásaditá transesterifikácia)

Do skúmavky so zábrusom bolo vložených 50 až 70 mg tuku. Pomocou pipety boli pridané 4 ml isooktánu. Skúmavka bola uzavretá a pretrepaná, vďaka čomu došlo k rozpusteniu vzorky. Do skúmavky bolo pridaných 200 µl metanolickeho roztoku KOH. Zmes bola trepaná 30 sekúnd. Po vyčerení roztoku bol pridaný 1 g hydrogénsíranu draselného a zmes bola opäť intenzívne pretrepaná po dobu 15 sekúnd. Po usadení solí bola do 2 ml vialky odobratá horná izooktánová vrstva, ktorá bola priamo použitá na GC.

4.5.5 Analýza vzoriek pomocou GC

Vzorky boli analyzované plynovým chromatografom TRACE 1300 TM s plameňovým ionizačným detektorom. Bola použitá kolona Zebron GC FAME s rozmermi 30 m 0,25 mm a 0,2 µm. Ako nosný plyn bol použitý vodík s prietokom 0,5 ml/min. V Tabuľke 4 je uvedený teplotný program analýzy. V Tabuľke 5 sú zobrazené podmienky analýzy. Získané dáta spracované pomocou programu Chromeleon boli prevedené do Excelu a vyhodnotené.

Tabuľka 4 Teplotný program pre analýzu lipidov pomocou GC

	Retenčný čas	Gradient (°C/min)	Teplota (°C)	Zadržanie (min)
1	0,000	Štart	-	-
2	1,000	0,0	80,0	1,0
3	5,000	15,0	140,0	0,0
4	21,667	3,0	190,0	0,0
5	25,667	25,0	260,0	1,0
6	25,467	Stop	-	-

Tabuľka 5 podmienky stanovenia vzorky pomocou plynovej chromatografie

Plynový chromatograf:	Trace 1310
Kolona:	Kapilárna kolona SLB-5MS (30 m x 0,25 mm; I.D. 0,25 mm)
Nosný plyn:	hélium (čistota 5.5); prietok 1,2 ml/ min
Teplotný program:	50 °C (2 min), nárast 5 °C/min. do 200 °C (15 min);
Teplota injektoru:	250 °C; SSL: 3,0 min
Detektor MS:	TSQ 9000; scan mode: full scan m/z 40 - 450
Teplota detektoru:	200 °C
Teplota transfer line:	200 °C
HS-SPME:	hmotnosť vzorky: 1g
	teplota vzorky: 60 °C,
	čas kondicionácie vzorky: 10 min,
	čas extrakcie: 20 min,
	čas desorpcie vlákna v injektore GC: 3 min
	čas kondicionácie vlákna 5 min pri 260 °C

4.6 Stanovenie obsahu vody

Do Eppendorfových skúmaviek bolo navážených 0,8 až 1,2 g mäsových paštét. Takto pripravené vzorky boli zamrazené a následne lyofilizované. Z rozdielu hmotností mokrej východiskovej vzorky a hmotnosti sušiny po lyofilizácii bol stanovení obsah vody v paštétach.

4.7 Stanovenie obsahu sacharidov

Z lyofilizovaných paštét bolo odobratých 0,18 až 0,23 g vzorky do centrifugačných skúmaviek. Vzorka bola rozdrvená na prášok a bolo pridaných 10 ml vody. Takto pripravená suspenzia bola trepaná na trepačkách po dobu 24 hodín. Následne bola suspenzia centrifugovaná 10 minút pri 4500 ot/min. Roztok bol zliaty do sklenenej skúmavky. Bol napipetovaný 1 ml pripraveného roztoku a bol pridaný 1 ml 5 % fenolu a 5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej. Zmes bola pretrepaná a po 30 minútach bola zmeraná absorbanca pri 490 nm.

4.8 Stanovenie obsahu dusíka

Do mineralizačných trubíc bolo navážených 0,4 až 0,8 g paštét. Ku každej vzorke bolo pridaných 10 ml koncentrovanej kyseliny sírovej a 2 g Weiningerovho katalyzátoru. Trubice boli vložené do mineralizátoru a boli mineralizované 3 hodiny.



Obrázok 6 destilácia vzorky v destilačnom prístroji VAPODEST (foto. R.Martonová)

Do mineralizačnej trubice boli pridané 3 kvapky fenolftaleínu a trubica bola pripojená k destilačnému prístroju. Do titračnej banky bolo pridaných 25 ml kyseliny sírovej a taktiež bola vložená do destilačného prístroja. Následne bol v destilačnom prístroji VAPODEST nastavený program „meat“ a začala sa destilácia, ktorá trvala 4 minúty. Na Obrázku 6 je zobrazená destilácia vzorky v destilačnom prístroji. Do titračnej banky boli pridané 3 kvapky Tashirovho indikátora a roztok bol titrovaný hydroxidom sodným do zeleného zafarbenia. Zo spotreby hydroxidu sodného pri titracii bol vypočítaný obsah dusíka a ten bol následne prepočítaný na obsah hrubej bielkoviny vo vzorke.

5 Výsledky a diskusia

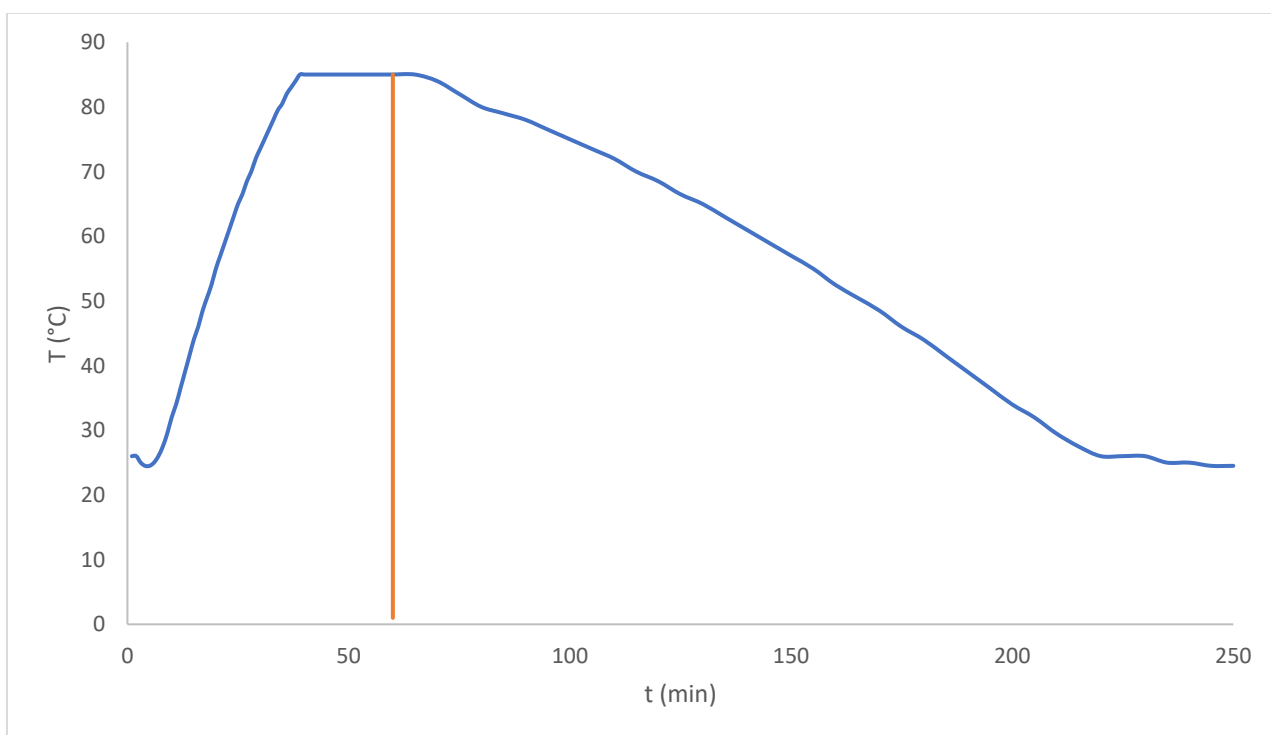
5.1 Stanovenie inaktivačnej aktivity tepelného záhrevu

Na zhodnotenie inaktivačnej aktivity tepelného záhrevu bola zvolená *Listeria Monocytogenes*, pretože sa často vyskytuje v mäse a ostatných málo kyslých potravinách. Pri analýze bola použitá pripravovaná štandardná paštéta.

Na zhodnotenie inaktivačného účinku listerie boli využité inaktivačné parametre [30,31]: $t_{ref} = 72\text{ }^{\circ}\text{C}$, z (teplotná citlivosť) $= 7,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Hodnoty F boli vypočítané ako suma letálneho podielu L . Doba záhrevu bola 60, 90 a 120 minút a priebeh jednotlivých záhrevov je zobrazuje Obrázok 7, Obrázok 8 a Obrázok 9.

- Inaktivačný účinok pri dobe záhrevu 60 minút

$$F_{60} = \int_0^{\tau} L(t(\tau)) d\tau = \int_0^{\tau} 10 \cdot \frac{t - t_{ref}}{z} d\tau = \sum L = \sum 10 \cdot \frac{t - t_{ref}}{z}$$
$$F_{60} = \sum 10 \cdot \frac{t - 72}{7,5} = 828,98 \text{ min}$$

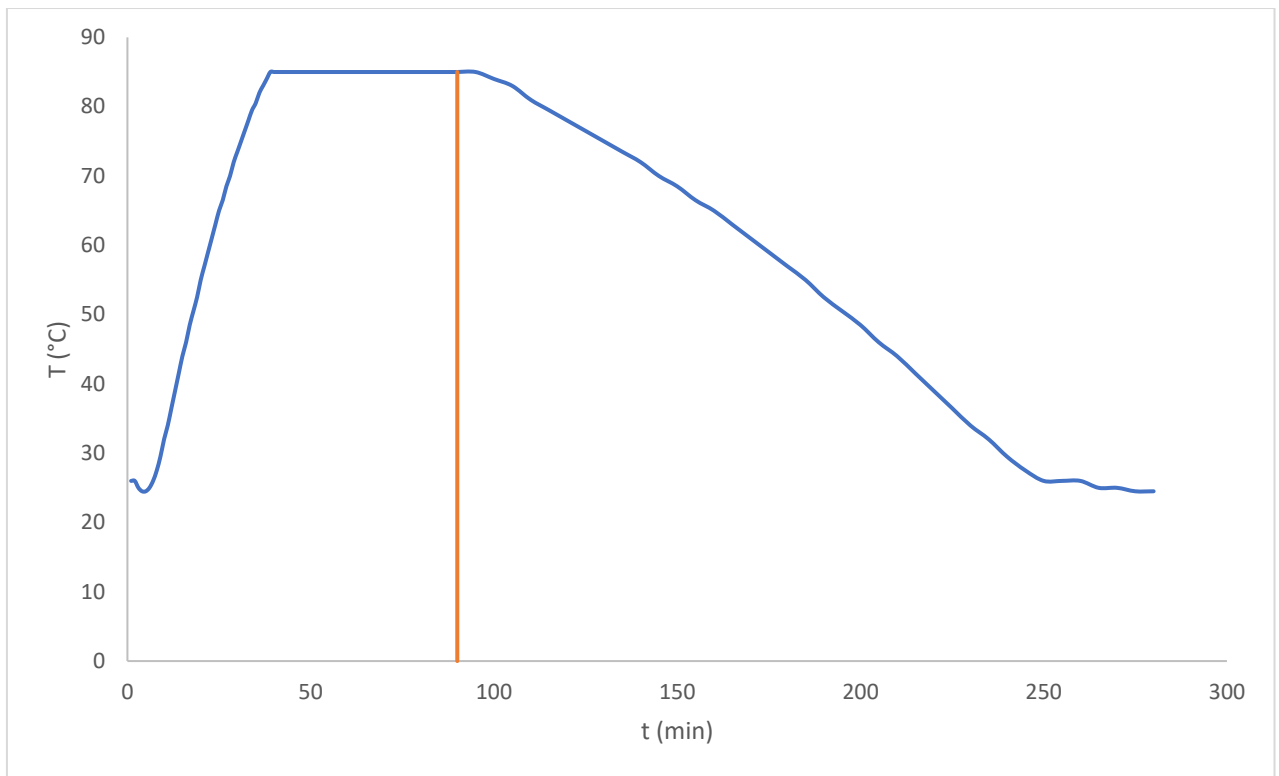


Obrázok 7 Graf tepelného záhrevu paštéty 60 minút

- Inaktivačný účinok pri dobe zázehvu 90 minút

$$F_{90} = \int_0^{\tau} L(t(\tau)) d\tau = \int_0^{\tau} 10 \cdot \frac{t - t_{ref}}{z} d\tau = \sum L = \sum 10 \cdot \frac{t - t_{ref}}{z}$$

$$F_{90} = \sum 10 \cdot \frac{t - 72}{7,5} = 11\,428,16 \text{ min}$$

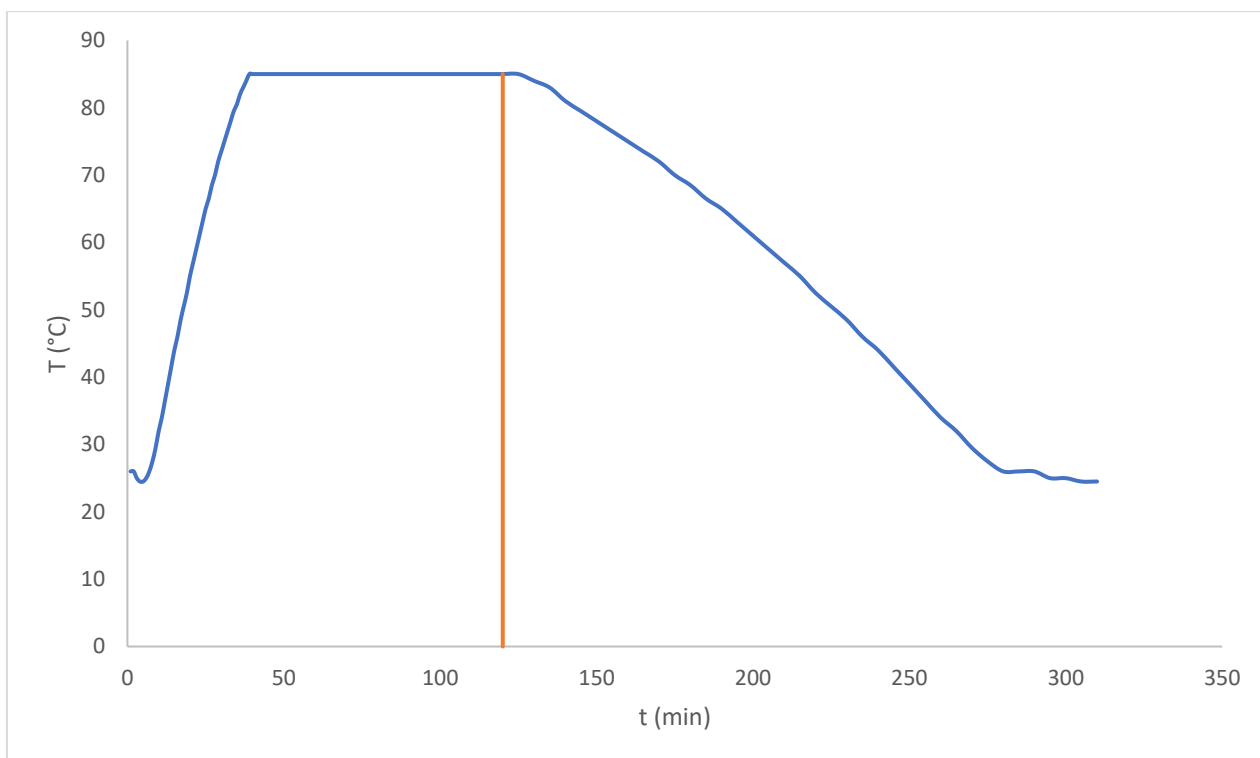


Obrázok 8 Graf tepelného zázehvu paštéty 90 minút

- Inaktivačný účinok pri dobe zázehvu 120 minút

$$F_{120} = \int_0^{\tau} L(t(\tau)) d\tau = \int_0^{\tau} 10 \cdot \frac{t - t_{ref}}{z} d\tau = \sum L = \sum 10 \cdot \frac{t - t_{ref}}{z}$$

$$F_{120} = \sum 10 \cdot \frac{t - 72}{7,5} = 20\,708,21 \text{ min}$$

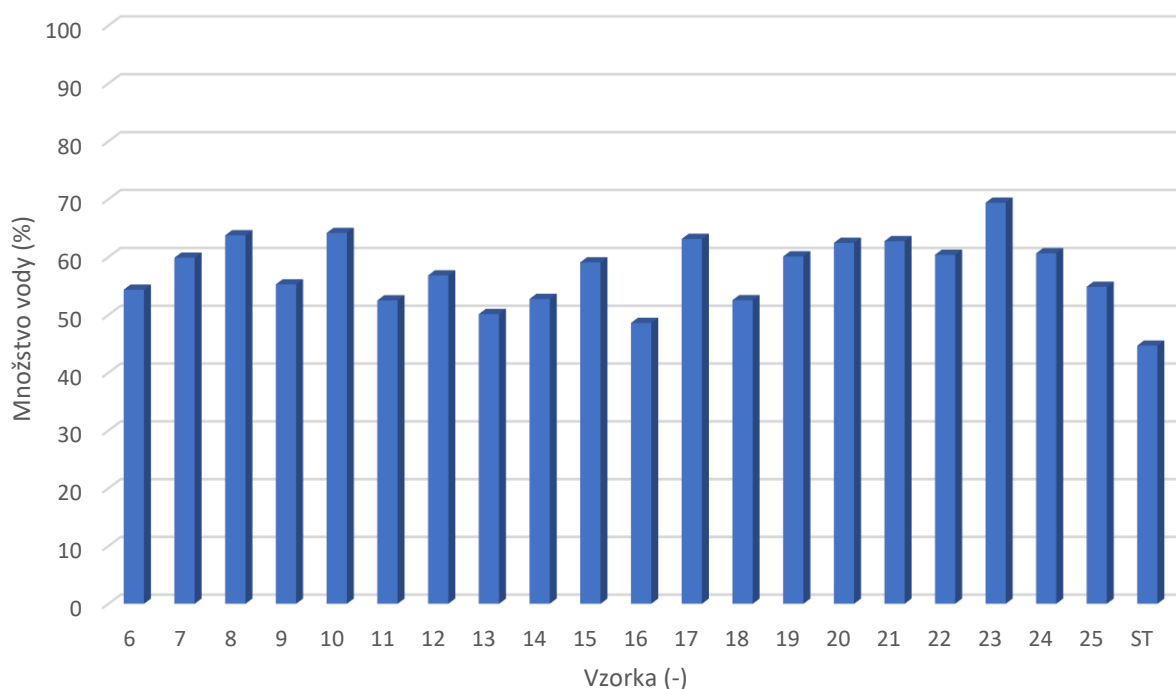


Obrázok 9 Graf tepelného zohrevu paštéty 120 minút

Potrebná doba zohrevu všetkých častí potraviny pre bezpečnú inaktiváciu *Listeria monocytogenes* je 10 minút pri 72 °C [60]. Z výpočtov vyplýva, že u pri všetkých vzorkách došlo k tepelnej inaktivácii a paštéty boli vhodné na konzumáciu.

5.2 Obsah vody v paštétach

Obsah vody bol stanovený lyofilizáciou. Výsledky merania sú zobrazené na Obrázku 10. Z výsledkov vidíme, že obsah vody vo všetkých vzorkách sa pohybuje okolo 50 % hmotnosti paštéty. Najnižší obsah vody má nami pripravovaná „štandardná“ paštéta. Voda pochádza prevažne z mäsa použitého na prípravu paštéty. Maximálny obsah vody v bravčovom mase je až 70 % [57]. Veľká časť vody sa nachádza vo svalovej štruktúre a svalových bunkách. Pri rigor mortis (posmrtná stuhnutosť) sa priestor pre vodu v myofibrilách znižuje a tekutina môže byť vytlačená z extramyofibrilárnych priestorov [58]. Voda je pridávaná priamo do diela pri výrobe na zlepšenie väznosti mäsa a konzistencie konečného výrobku [4]

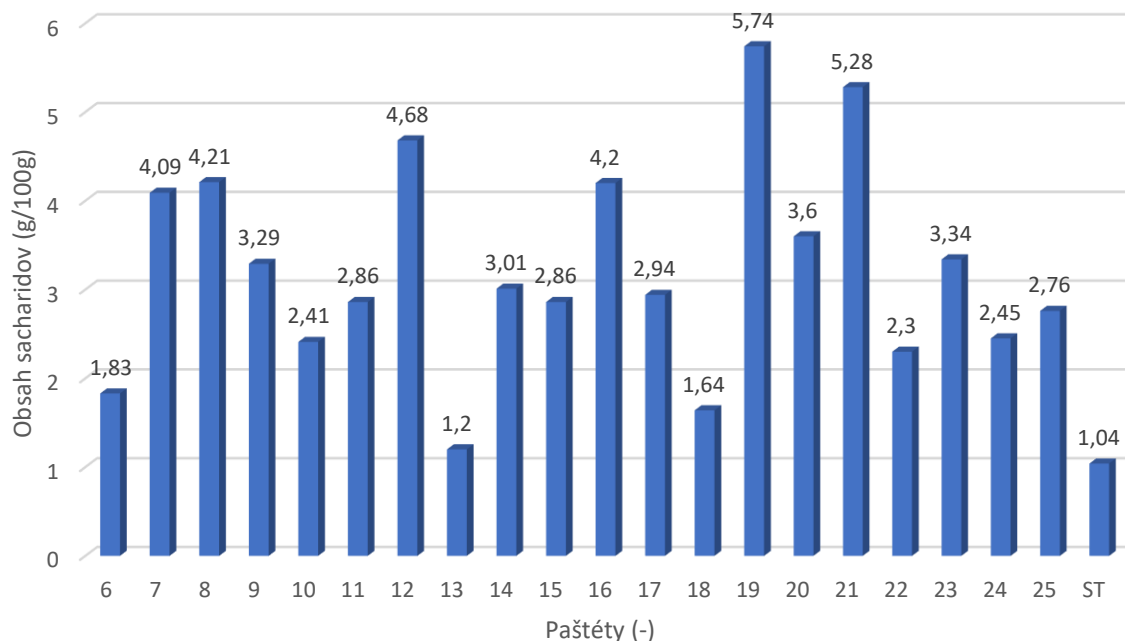


Obrázok 10 Graf zobrazujúci obsah vody vo vzorkách paštét

Pre paštéty s vyšším obsahom vody je typické, že obsahujú škrob, ktorý sa využíva na zlepšenie konzistencie a zvýšenie hmotnosti výsledného diela. Škrob môže byť použitý aj na zlepšenie senzorických a organoleptických vlastností paštét, ktoré majú nižší obsah tuku. Aj keď sú v dnešnej dobe potraviny so zníženým obsahom tuku populárne, takéto paštéty majú neprijemnú chuť a gumenú a suchú textúru. Výsledkom je taktiež neviazaná voda v systéme. Tento problém vyriešia látky, ktoré viažu a zadržiavajú vodu, ako napríklad škrob, sójová múka alebo vláknina [58].

5.3 Obsah sacharidov v paštétach

Obsah sacharidov bol analyzovaný spektrofotometricky podľa Deboise. Táto metóda stanovuje celkový obsah sacharidov vo vzorke. Na Obrázku 11 je graf zobrazujúci obsah sacharidov v jednotlivých vzorkách. Vidíme, že koncentrácie sú veľmi odlišné. To je spôsobené rozdielnym zložením a prípravou paštét. Najvyššia koncentrácia sacharidov bola nameraná vo vzorke č.19 (5,74 g/100g). Toto je spôsobené vysokým obsahom zemiakového škrobu v paštéte, ktorý sa v zložení uvádzanom na etikete objavuje až trikrát. Druhá v poradí je vzorka č.21, ktorej obsah sacharidov je 5,28 g/100g. Táto paštéta obsahuje pšeničnú krupicu, pšeničnú múku, maltodextrín a sušenú zeleninu. Všetky tieto prísady sú vysokým zdrojom sacharidov. Vyšší obsah sacharidov napomáha zlepšiť konzistenciu mäsových výrobkov, tým že na seba naviaže vodu [58].



Obrázok 11 Graf zobrazujúci obsah sacharidov v paštétach (g/100g)

Najnižšia koncentrácia sacharidov bola nameraná pri štandardnej paštéte. Toto bolo očakávané, pretože na výrobu neboli použité žiadne prídavné látky obsahujúce sacharidy. Všetky sacharidy pochádzajú z mäsa. Vzorka č. 13 má podobne nízky obsah sacharidov ako štandardná paštéta. V zložení uvádzanom na etikete sa neobjavujú žiadne polysacharidové látky, čo znamená, že sacharidy pochádzajú primárne z mäsa použitého na výrobu, rovnako ako pri štandardnej paštéte.

5.4 Obsah hrubej bielkoviny v paštétach

V prvom kroku analýzy bol stanovený celkový obsah dusíka z mineralizovaných vzoriek Kjeldahlovou analýzou. Na získanie presných výsledkov bolo potrebné štandardizovať hydroxid sodný a kyselinu sírovú, ktoré boli používané na titráciu. Následne bol zo spotreby hydroxidu sodného vypočítaný celkový obsah dusíka vo vzorke podľa Rovnice 1a.

$$w_N = \frac{2 \cdot \left(c_{H_2SO_4} \cdot V_{H_2SO_4} - \frac{c_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{2} \right) \cdot M_N}{m_{nav}} \quad (1a)$$

$$w_N = \frac{2 \cdot \left(0,0530 \cdot 0,025 - \frac{0,10002 \cdot 0,0153}{2} \right) \cdot 14,00674}{0,8742} = 0,01794$$

= 2,05 %

(1b)

$$HB = w_N \cdot 6,20 = 2,05 \cdot 6,20 = 12,72 \% \quad (2)$$

Výsledok bol následne prepočítaný na obsah hrubej bielkoviny. Na prepočet bol použitý koeficient 6,25 [59]. Prepočet obsahu dusíka na hrubú bielkovinu bol vypočítaný podľa Rovnice 2. V Tabuľke 6 vidíme výsledný obsah hrubej bielkoviny, porovnaný s obsahom bielkovín uvedeným na etikete paštét. Obsah hrubej bielkoviny je značne vyšší, pretože táto metóda stanovuje celkový obsah dusíka, ktorý nie je viazaný len v aminokyselinách. Tento dusík pochádza z anorganických látok ako napríklad z dusitanou, dusičnanou alebo amónnych solí. Môže mať aj organický pôvod z purínových a pyrimidínových báz alebo dusíkatých farbív. Výrobca na etikete uvádza obsah čistej bielkoviny [60].

Tabuľka 6 Výsledky merania obsahu hrubej bielkoviny vo vzorke porovnaná s obsahom čistej bielkoviny

Vzorka	Hrubá bielkovina (g/100 g)	Čistá bielkovina (g/100g)
6	12,83	11,00
7	11,30	8,40
8	10,89	8,30
9	20,17	10,00
10	17,16	7,5
11	20,30	13,0
12	11,67	9,4
13	17,06	8,0
14	23,84	14,0
15	18,75	11,0
16	19,24	12,0
17	23,86	10,0
18	13,94	14,1
19	8,83	7,1
20	17,54	8,3
21	12,90	8,0
22	9,73	8,5
23	17,26	8,9
24	14,61	8,9
25	21,68	14,0
ST	19,27	

Výsledky majú široké rozpätie, od 8,83 až po 23,84 g hrubých bielkovín na 100 g paštéty. Minimálny obsah bielkovín v mäsovej paštéte je 8 % [61]. Túto podmienku spĺňajú všetky vzorky. Štandardná paštéta obsahuje 19,27 % hrubej bielkoviny. Výsledky stanovujú aj dusík, ktorý pochádza z dusitanu sodného. Táto látka sa využíva na zlepšenie chuti, stabilizáciu typickej mäsovej farby, predlžuje životnosť produktu a zabráňuje oxidácii lipidov. Pri výrobe mäsových výrobkov je kľúčovým komponentom na vytvorenie správnej konzistencie výrobku. Na etiketách môže byť dusitan sodný označený kódom E250 [60].

Najvyšší obsah bielkovín bol nameraný pri paštétach typu pečťový syr (tehla). Do tejto kategórie patria vzorky číslo 11, 14 a 15. Sú považované za kvalitnejší typ paštét a obsahujú veľké množstvo bravčovej pečene. Vzorka číslo 25 obsahovala až 21,68 %, čo bolo opäť

spôsobené vysokým zastúpením bravčovej pečene, no do tejto vzorky boli pridané aj bravčové bielkovinové koncentráty. Z výsledkov je možné pozorovať, že najväčší rozdiel medzi čistou a hrubou bielkovinou bol zaznamenaný pri paštétach z lacnejšej cenovej kategórie. Toto môže naznačovať použitie menej kvalitného mäsa, kvôli čomu museli byť pridávané do výrobku látky na zlepšenie konzistencie a chuti nebielkovinovej povahy. Najbežnejšie sa využíva vláknina, sójová múka alebo škrob [58]. Pri vzorke číslo 19, ktorá obsahuje zo všetkých analyzovaných paštét najvyššiu koncentráciu sacharidov, bol nameraný najnižší obsah hrubej bielkoviny. Toto naznačuje, že spomínané polysacharidové prísady boli použité na vylepšenie väznosti a konzistencie diela. Rovnaký trend môžeme pozorovať aj pri vzorkách číslo 7, 8 a 21.

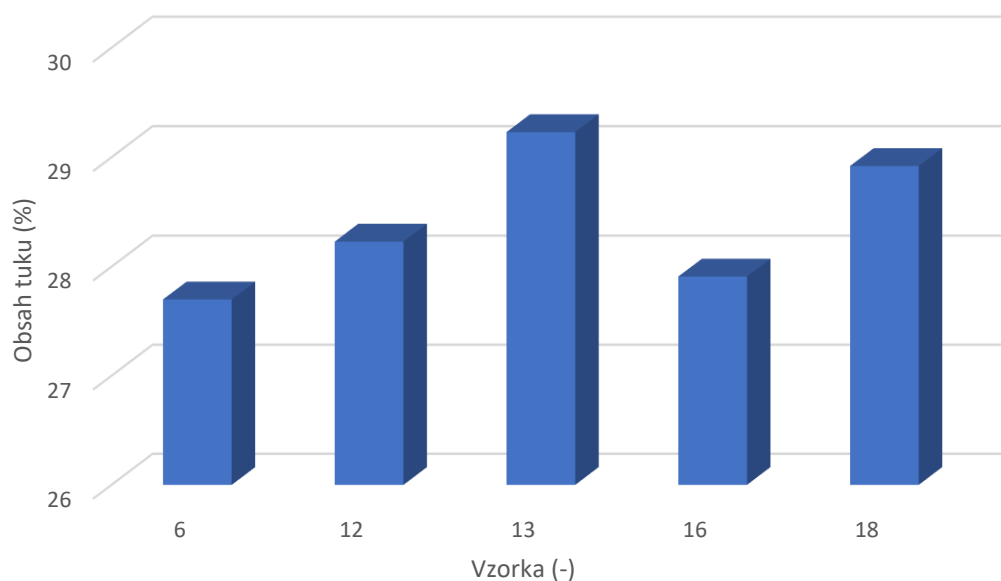
Ako je uvedené v nariadení Európskeho parlamentu a rady (EU) č. 1169/2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, nie je možné, aby potraviny mali vždy presne rovnaké nutričné hodnoty, aké sú uvádzané na etikete. Toto je spôsobené prirodzenými odchýlkami v počiatočných surovinách, ale aj zmenami pri skladovaní. Je však dôležité aby odchýlky nameraných hodnôt neboli natoľko veľké, že by uvádzali spotrebiteľa do omylu.

5.5 Extrakcia lipidov

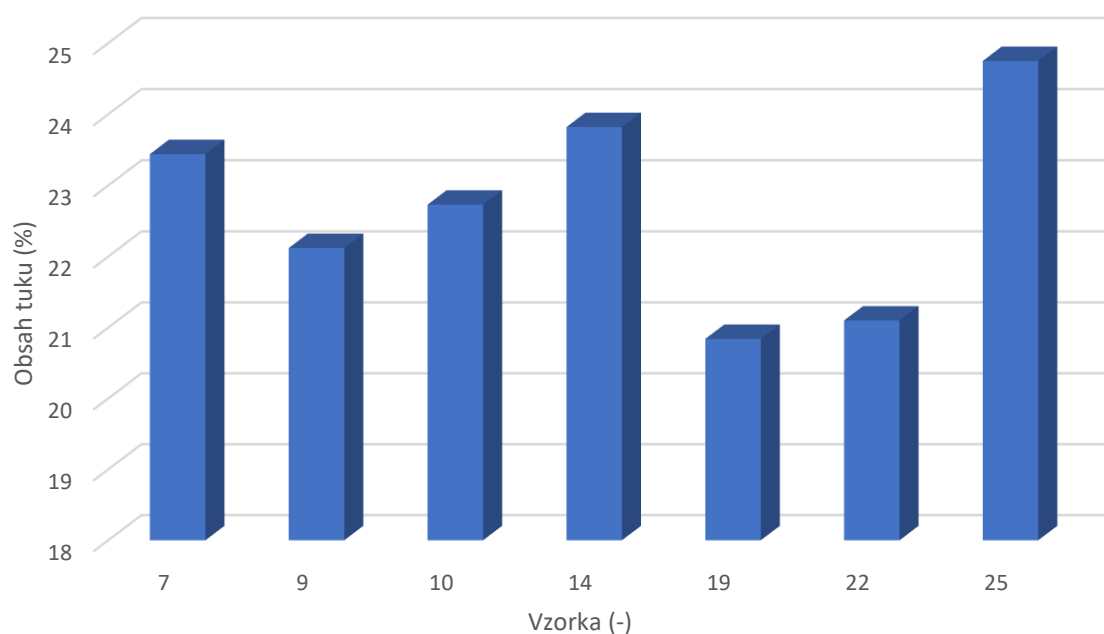
5.5.1 Extrakcia lipidov extraktorom SOXTHERM

Lipidy z mäsových paštét boli extrahované do hexánu pomocou extraktoru SOXTHERM. Hexán bol od vyextrahovaných tukov vydestilovaný a následne bol extrakt vysušený a zvážený. Na Obrázku 12, 13 a 14 vidíme grafy zobrazujúce percentuálny obsah tuku vo vzorkách. Na Obrázku 12 sú zobrazené vzorky s najvyšším obsahom tuku. Vzorka č.13 obsahuje 29,23 % tuku, čo je najvyššia hodnota, zo všetkých analyzovaných paštét. Za ňou nasleduje vzorka č.18 s obsahom tuku 28,92 %. Na tretom mieste sa nachádza vzorka č.12 s obsahom tuku 28,23 %.

Tieto vzorky majú spoločné to, že obsahujú bravčovú masť, zapísanú na etikete na prvom mieste. Vzorka č.13 obsahuje kačaciu a kuraciu pečeň, zvyšné dve vzorky obsahujú bravčovú pečeň. Kačacia pečeň spolu s husacou obsahujú najväčšie množstvo tuku. Pri kačacej to je až 7,2 % tuku, oproti tomu bravčová pečeň obsahuje 4,8 % tuku [62]. Aj z tohto dôvodu majú paštéty vyrobené s kačacou pečeňou vyšší obsah tuku. Paštéty č. 19 a 22 majú nižší obsah tuku aj keď obal uvádza, že obsahujú husaciu a kačaciu pečeň. Vzorka č. 19 obsahuje 20,84 % tuku a vzorka č. 22 obsahuje 21,10 % tuku. Nižší obsah tuku je spôsobený tým, že hydínové pečene sú doplnené aj bravčovou pečeňou. Konkrétne, pri vzorke č. 19 je na etikete uvedený obsah kačacej pečene 10 %. Podľa Vyhlášky č.83/2016 z.z. Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky o mäsových výrobkoch, je možné pre mäsový výrobok použiť označenie „pečeňový“ v prípade, ak bolo na jeho výrobu použitých aspoň 15 % hmotnosti pečene jatočného zvieratá z mäsového diela. Vyhláška však neupresňuje, koľko hmotnostných percent pečene daného zvieratá musí mäsový výrobok obsahovať, aby toto zvieratá mohlo byť uvádzané v názve.



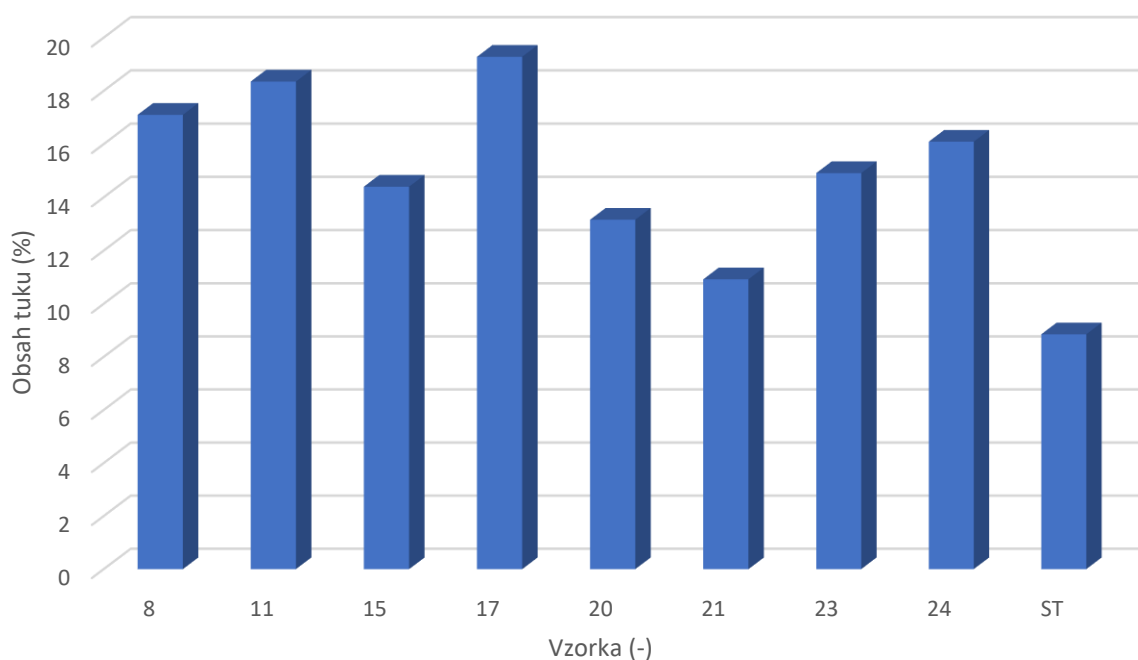
Obrázok 12 Graf zobrazujúci vzorky s najvyšším obsahom tuku



Obrázok 13 Graf zobrazujúci analyzované vzorky a ich obsah tuku

Najnižší obsah tuku bol nameraný pri štandardnej paštéte. Toto bolo očakávané, pretože pri výrobe neboli do diela pridávané žiadne látky s vysokým obsahom tuku, ako napríklad smotana alebo bravčová masť. Celkový tuk v tejto paštéte pochádza z mäsa použitého na výrobu. Pri vzorke č. 21 bol nameraný obsah tuku 10,92 %. Na etikete tejto paštéty je na prvom mieste pri zložení uvedená voda, čo znamená, že výrobok obsahuje zo všetkých surovín

najviac vody. Paštéta ďalej obsahuje krupicu z pšenice tvrdej, pšeničnú múku, kukuričný bielkovinový hydrolyzát a sójovú bielkovinu. Ak boli pri výrobe použité nekvalitné suroviny, nevznikne v diela správny pomer tukov a bielkovín a výrobok nezíska potrebnú väznosť. Ako už bolo spomínané v kapitole 2.1.7., rastlinné bielkoviny a sacharidové prísady sa pridávajú do diela na zlepšenie organoleptických vlastností paštéty, predovšetkým konzistencie [17][19]. Viažu sa s vodou a vytvárajú potrebnú konzistenciu. Výrobok obsahuje aj maltodextrín, ktorý sa používa v potravinách ako zahusťovadlo.



Obrázok 14 Graf zobrazujúci vzorky s najnižším obsahom tuku

5.5.2 Extrakcia lipidov extraktorom fexIKA

Vzorky štandardnej mäsovej paštéty boli extrahované do petroléru. V Tabuľke 7 sú zobrazené výsledky extrakcie. Analýza prebehla pre štyri vzorky paštéty a bol stanovený priemerný obsah tuku na 5,19 %. Množstvo vyextrahovaného tuku je nižšie v porovnaní s extrakciou do hexánu. Z Tabuľky 8 vidíme, že pri extrakcii do hexánu bolo vyextrahovaných v priemere až 8,88 % tuku z paštéty. Z toho vyplýva, že hexán je účinnejšie extrakčné činidlo pre mäsové paštéty.

Tabuľka 7 Výsledky extrakcie tuku z mäsových paštét do petroléru

Vzorka	Obsah tuku vo vzorke (%)
1	5,56
2	5,15
3	5,05
4	5,01

Naopak metóda extrakcie do petroléru vykazuje vysoký stupeň extrakcie pri extrahovaní zo semien. Napríklad pri extrakcii lipidov zo semienok granátového jablka bol petroléter účinnejším rozpúšťadlom ako hexán, dietyléter, acetón alebo etylacetát [63]. Metóda extrakcie lipidov do petroléru je štandardizovaná pre jačmeň a slad.

5.5.3 Soxhletova extrakcia

Pomocou Soxhletovej extrakcie bol vyextrahovaný tuk z mäsových paštét. Extrakcia prebiehala 4 hodiny a tuk bol extrahovaný do hexánu, aby bola zabezpečená porovnateľnosť s extrakciou v extraktore SOX THERM. Podľa postupu popísanom v bode 4.8.1 bol extrahovaný tuk zo štandardnej, nami vyrobenej paštéty. Množstvo vyextrahovaného tuku bolo porovnané s extrakciou v prístroji SOX THERM. Výsledky sú zapísané v Tabuľke 8.

Tabuľka 8 porovnanie výťažnosti Soxhletovej extrakcie s extrakciou pomocou prístroja SOX THERM

Vzorka	Soxhletova extrakcia (%)	Extraktor SOX THERM (%)
1	7,66	8,87
2	7,48	8,90

Z výsledkov vidíme, že výťažnosť Soxhletovej extrakcie je porovnateľná s modernými analýzami. Metóda Soxhletovej extrakcie je náročná na čas a pre extrakciu mäsa a mäsových výrobkov je štandardizovaná na 6 hodín extrakcie [64].

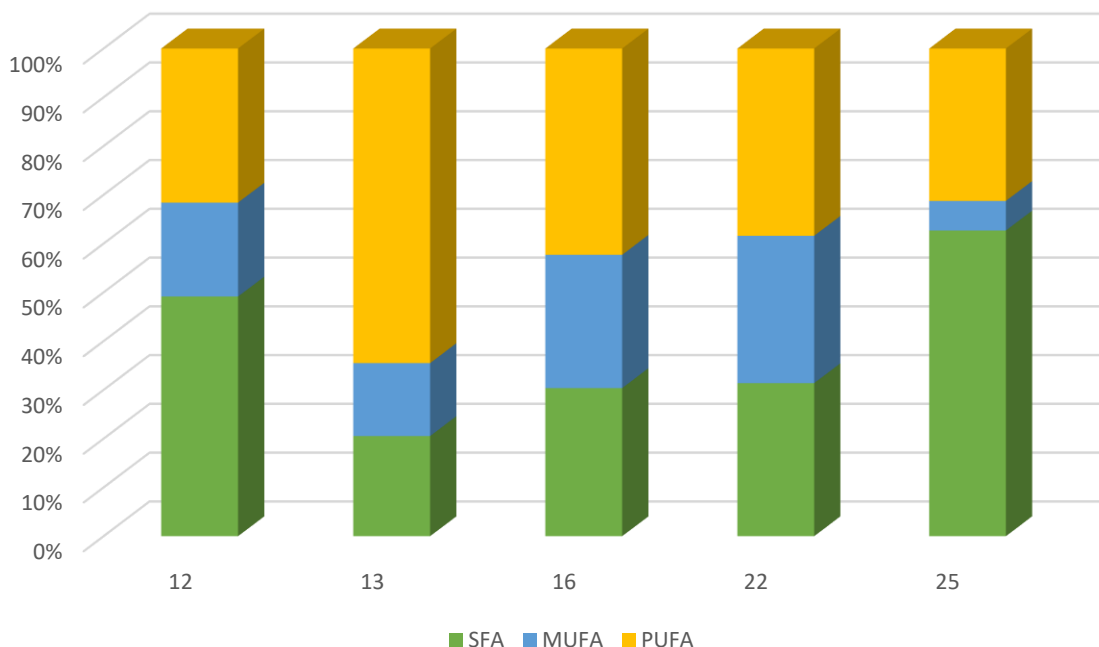
5.6 Plynová chromatografia s kyslou transesterifikáciou

Vzorky boli transesterifikované kyslou cestu a následne boli analyzované plynovou chromatografiou s plameňovým ionizačným detektorom. Analýza poskytla informácie o zastúpení jednotlivých mastných kyselín

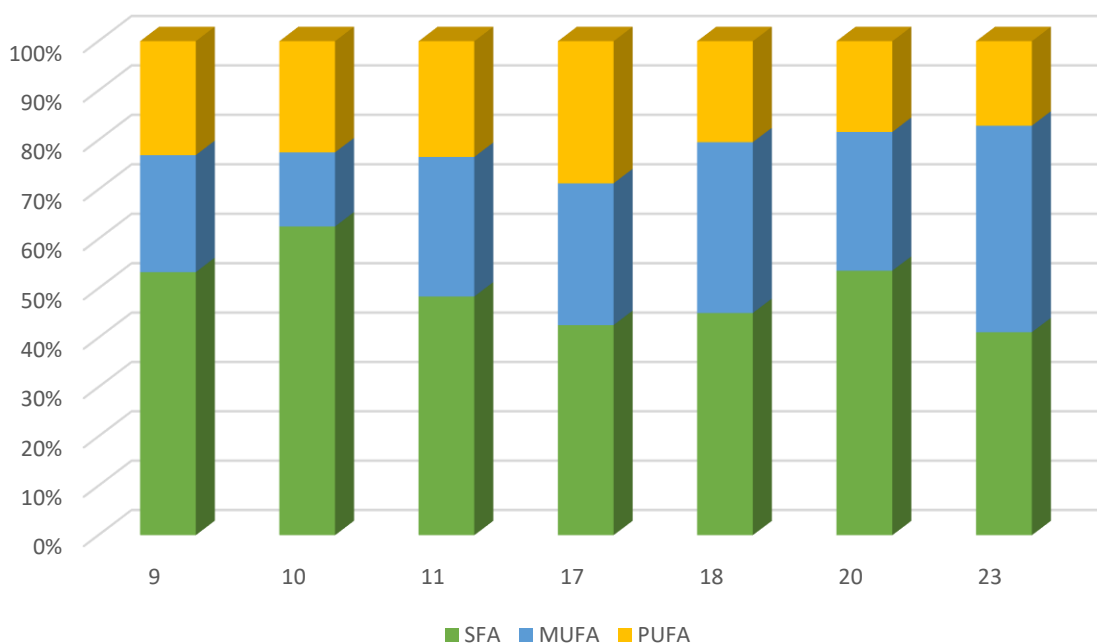
5.6.1 Obsah polynenasýtených mastných kyselín

Pomocou plynovej chromatografie bolo určené zastúpenie nasýtených, mononenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín vo vzorkách. Na Obrázku 15 sú zobrazené vzorky s najvyšším obsahom polynenasýtených mastných kyselín. Je možné tvrdiť, že rovnaké vzorky sa vyskytovali aj na Obrázku 11, ktorý zobrazoval vzorky s najvyšším obsahom tuku. Vzorka č. 13, ktorá obsahuje zo všetkých vzoriek najviac tuku, má najväčšie zastúpenie polynenasýtených mastných kyselín (63,86 %). Tieto pochádzajú z hydínových pečení použitých pri výrobe, ktoré slúžia ako kvalitný zdroj polynenasýtených mastných kyselín [64]. Podobne vysokým zdrojom PUFA je aj vzorka č. 22, ktorá obsahuje 10 % husacej pečene. Vzorka č. 25 je zaujímavá vysokým obsahom nasýtených mastných kyselín (62,68 %) a obsahom mononenasýtených mastných kyselín len 6,07 %. Toto je spôsobené vyšším obsahom bravčového mäsa v paštéte, pre ktoré je typický vyšší obsah SFA. Polynenasýtené mastné kyseliny pochádzajú z vysokého obsahu bravčovej pečene v paštéte.

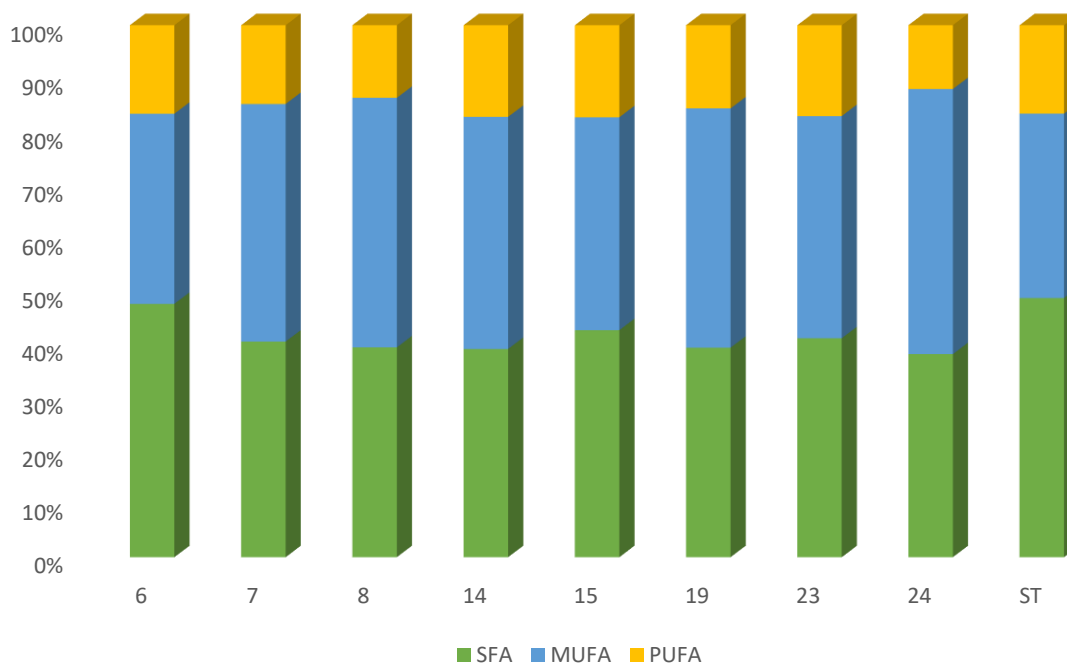
V dnešnej dobe je snaha zvýšiť kvalitu bravčového mäsa úpravou stravy jatočných zvierat. Táto snaha je motivovaná predovšetkým tým, že mäso je hlavným zdrojom SFA. Nadmerná konzumácia nasýtených mastných kyselín je spojená s ochoreniami kardiovaskulárneho systému a rakoviny [65].



Obrázok 15 Graf zobrazujúci vzorky s najvyšším obsahom PUFA



Obrázok 16 Graf zobrazujúci zastúpenie nasýtených, nenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín vo vzorkách

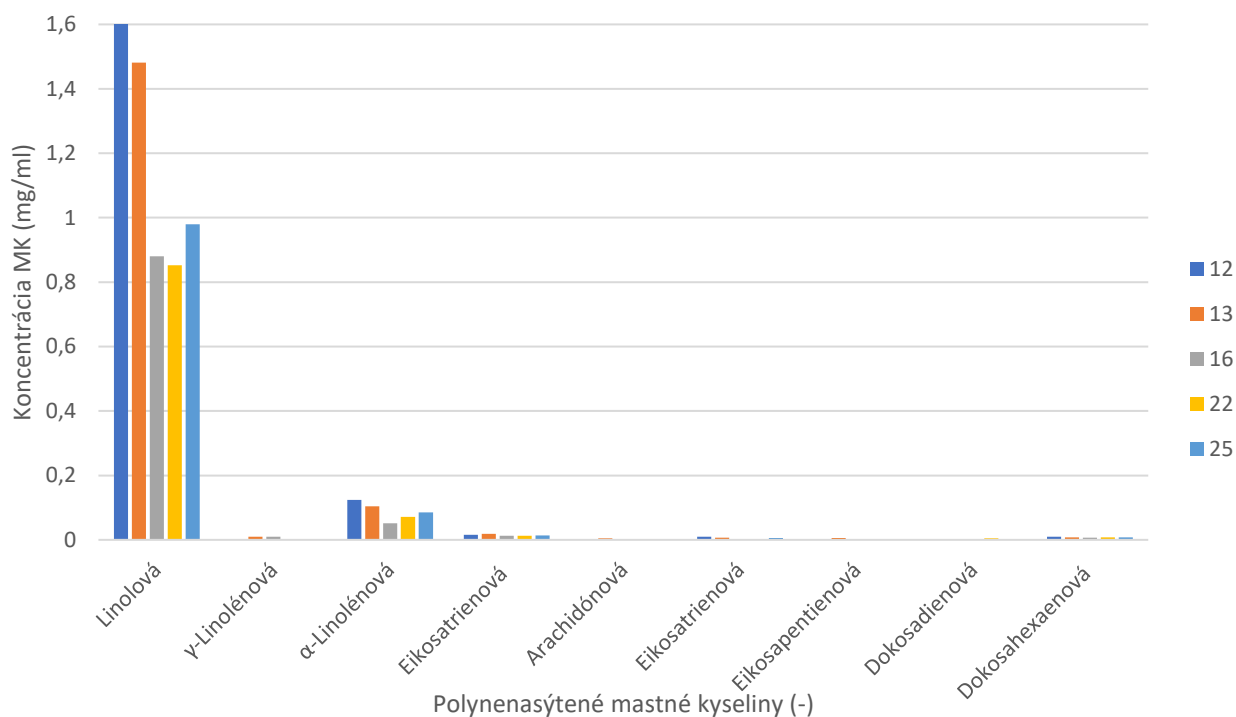


Obrázok 17 Graf zobrazujúci vzorky s najnižším obsahom PUFA

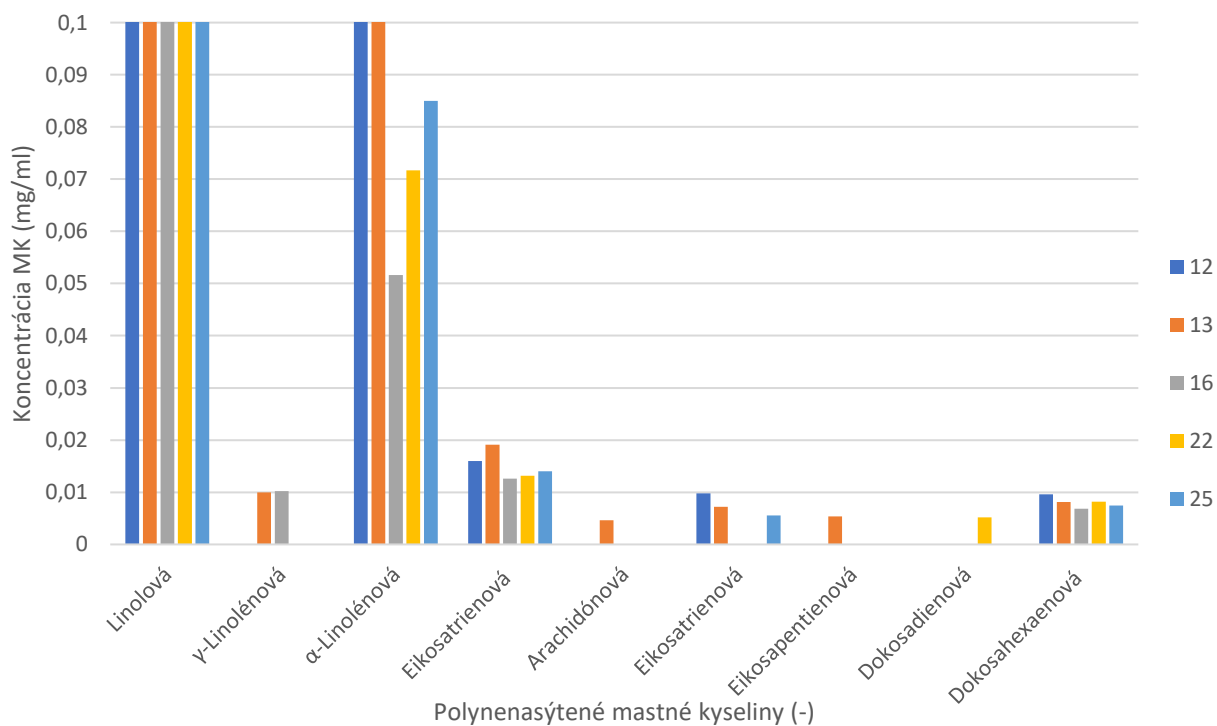
Na Obrázku 17 sú zobrazené vzorky s najmenším obsahom PUFA. Z grafu vidíme, že vzorky majú spoločný pomerne vysoký obsah mononenasýtených mastných kyselín. V tejto skupine vzoriek sa nachádza aj nami vyrobená, štandardná paštéta. Mastné kyseliny v tejto vzorke pochádzajú z použitého mäsa. Ostatné suroviny na prípravu neobsahovali tuk. Na výrobu bolo použité bravčové mäso, čo zvyšuje obsah nasýtených mastných kyselín [65]. Vzorka č.19 na obale uvádza, že je vyrábaná s kačacou pečenou. Jej obsah v paštéte je 10 %. Ako prvá surovina zloženia je na etikete uvádzaná bravčová masť. Toto ovplyvnilo zloženie mastných kyselín a zvýšilo obsah satureovaných mastných kyselín. Najmenší obsah PUFA bol nameraný pri paštéte č. 24 a to 12,0 %. Toto je spôsobené nižším obsahom bravčovej pečene (23 %) v porovnaní s ostatnými vzorkami. Paštéty č. 7 a č. 8 sú vyrobené rovnakým výrobcom a aj ich zloženie je veľmi podobné. Toto vidíme aj na zložení ich mastných kyselín. Vzorka č. 7, ktorá je označená ako lahôdková a obsahuje väčšie množstvo bravčového mäsa. Toto sa odráža na vyššom obsahu SFA a PUFA. Ako môžeme vidieť vzorky č. 14 a č. 15 majú veľmi podobné zastúpenie mastných kyselín. Paštéty nie sú vyrobené rovnakým výrobcom, no jedná sa o rovnaký druh paštéty a to pečňový syr.

5.6.2 Zloženie polynenasýtených mastných kyselín

Na Obrázku 18 je zobrazené zastúpenie polynenasýtených mastných kyselín vo vzorkách s ich najväčším obsahom. Pre lepšiu prehľadnosť bol tento graf priblížený, čo je zobrazené na Obrázku 18.1. Presný obsah všetkých polynenasýtených mastných kyselín vo všetkých vzorkách je zobrazených v Tabuľke 11 v kapitole Prílohy.



Obrázok 18 Graf zobrazujúci koncentráciu jednotlivých polynenasýtených mastných kyselín vo vzorkách s najvyšším obsahom PUFA



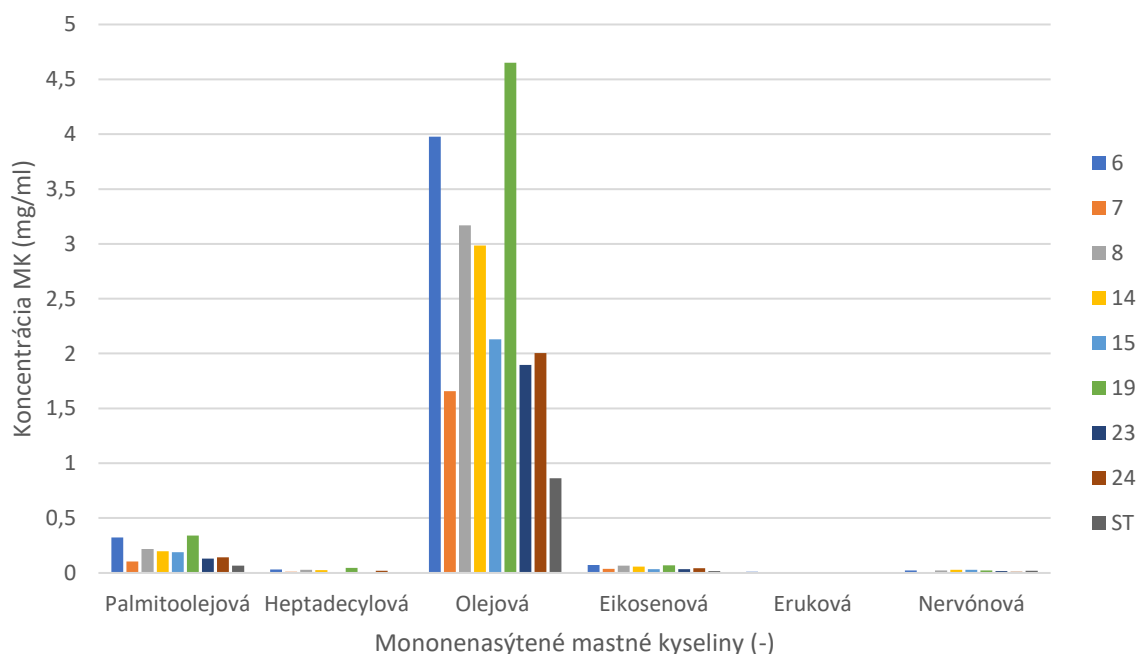
Obrázok 18.1 Priblíženie grafu na Obrázku 18

Z grafu na Obrázku 18 vidíme, že kyselina linolová je najviac zastúpenou polynenasýtenou masťou kyselinou pri všetkých vzorkách. Táto kyselina sa vo vysokých koncentráciách nachádza v bravčovom mäse, kam sa dostáva zo stravy jatočných zvierat, založenej na obilninách s vysokým obsahom C18:2 [65]. Kyselina linolová je pre človeka esenciálnou masťou kyselinou. Je zastúpená vo veľkom množstve v bežne konzumovaných potravinách, takže jej nedostatok nie je bežný. Táto kyselina predstavuje až 6 % energetického príjmu bežného človeka. Aj keď sa jedná o esenciálnu kyselinu, nie je známy odporúčaný denný príjem [66]. Kyselina linolová slúži ako prekurzor pre syntézu kyseliny arachidónovej a z nej odvodených eikosanidov. Zastúpenie týchto kyselín vo vzorkách je pomerne malé, no je potrebné si všimnúť, že sa nevyskytujú vo všetkých vzorkách, na rozdiel od kyseliny linolovej. Vyskytujú sa vo vzorke č. 13. Ako bolo spomínané v kapitole 5.6.1. táto pašteta obsahuje najväčšie zastúpenie PUFA zo všetkých analyzovaných paštét.

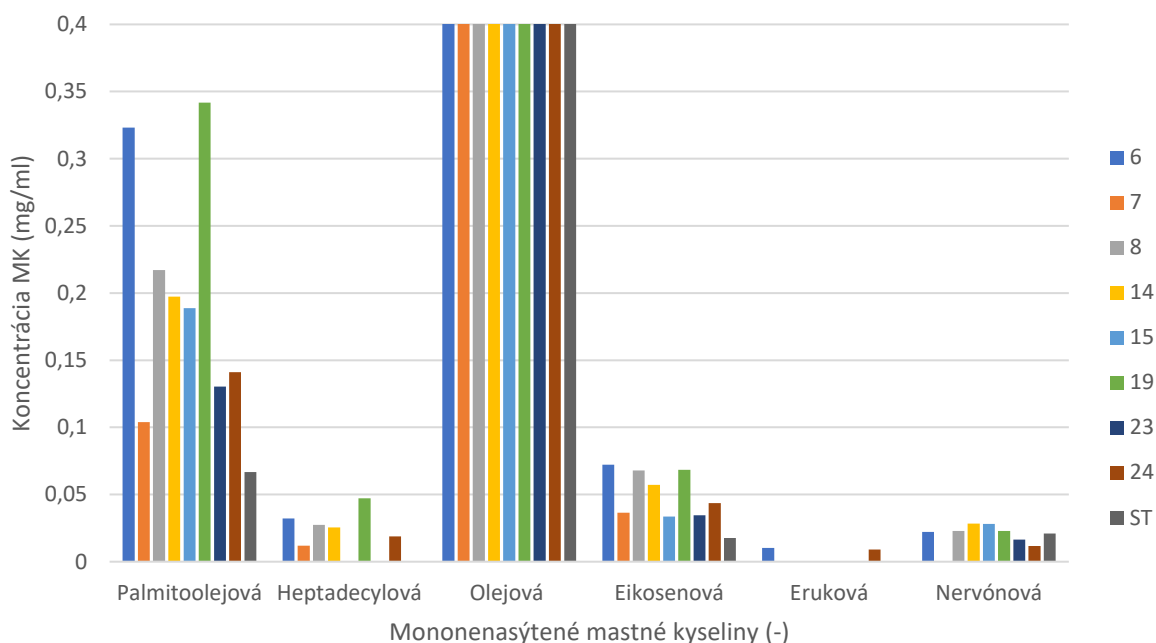
Druhou najviac zastúpenou masťou kyselinou je kyselina α -linolénová. Je to esenciálna masť kyselina, ktorá sa v tele využíva na syntézu dlhých polynenasýtených mastných kyselín, ako napríklad kyselina eikosapenténová a dokosaheksaénová [67]. Zastúpenie kyseliny α -linolénovej je najvyššie vo vzorkách č.12 a č.13 (vzorky s najvyšším obsahom PUFA).

5.6.3 Zloženie mononenasýtených mastných kyselín

Na Obrázku 19 je zobrazená koncentrácia mononenasýtených mastných kyselín, vo vzorkách s ich najvyšším zastúpením. Pre lepšiu prehľadnosť bol graf priblížený, čo je zobrazené na Obrázku 19.1. Presný obsah všetkých mononenasýtených mastných kyselín vo všetkých vzorkách je zobrazený v Tabuľke 10 v kapitole Prílohy.



Obrázok 19 Graf zobrazujúci zastúpenie jednotlivých mononenasýtených mastných kyselín vo vzorkách s ich najväčšou koncentráciou



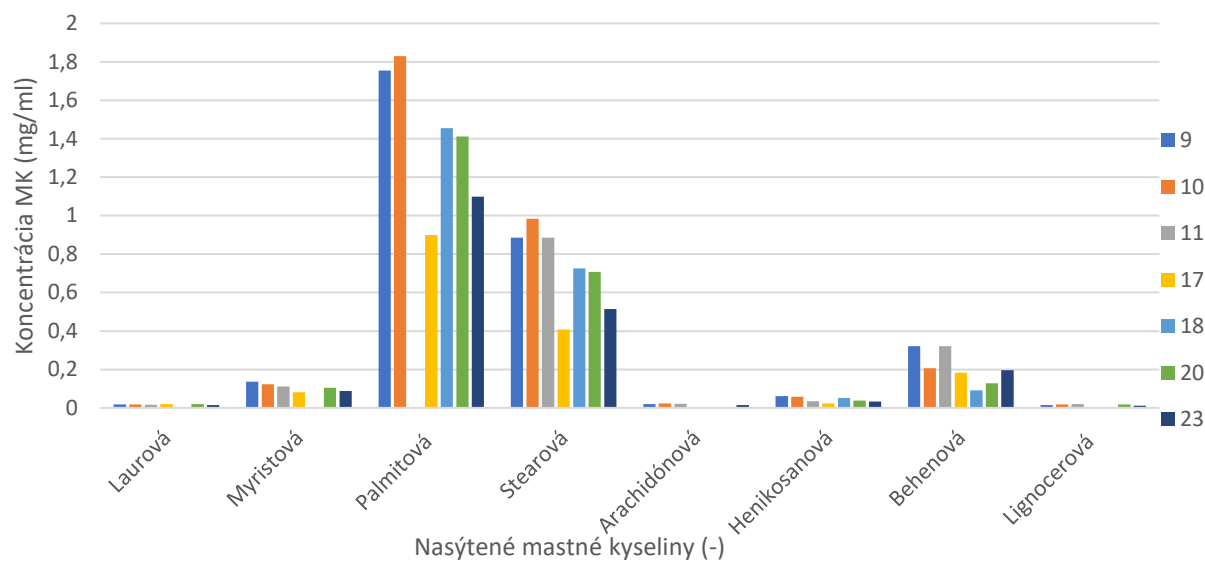
Obrázok 19.1 priblíženie grafu na Obrázku 19

Z grafu na Obrázku 19 vidíme, že kyselina olejová je najviac zastúpenou mononenasýtenou mastnou kyselinou vo všetkých vzorkách. Táto kyselina môže byť vyrobená v tele, no veľmi bežne sa vyskytuje aj v potravinách, živočíšneho aj rastlinného pôvodu. Napomáha znižovaniu cholesterolu a predchádzaniu srdcových chorôb. Kyselina olejová je najrozšírenejšou mastnou kyselinou [68]. Druhá mononenasýtená mastná kyselina s najvyššou koncentráciou vo vzorkách je kyselina palmitoolejová. Je to jedna z najrozšírenejších mastných kyselín v tkanivách (najmä v tukovom tkanive a v pečeni). Môže byť syntetizovaná v tele, vtedy prevažuje *cis* konformácia. V konformácii *trans* sa získava z potravín, hlavne z tuku prežúvavcov [69].

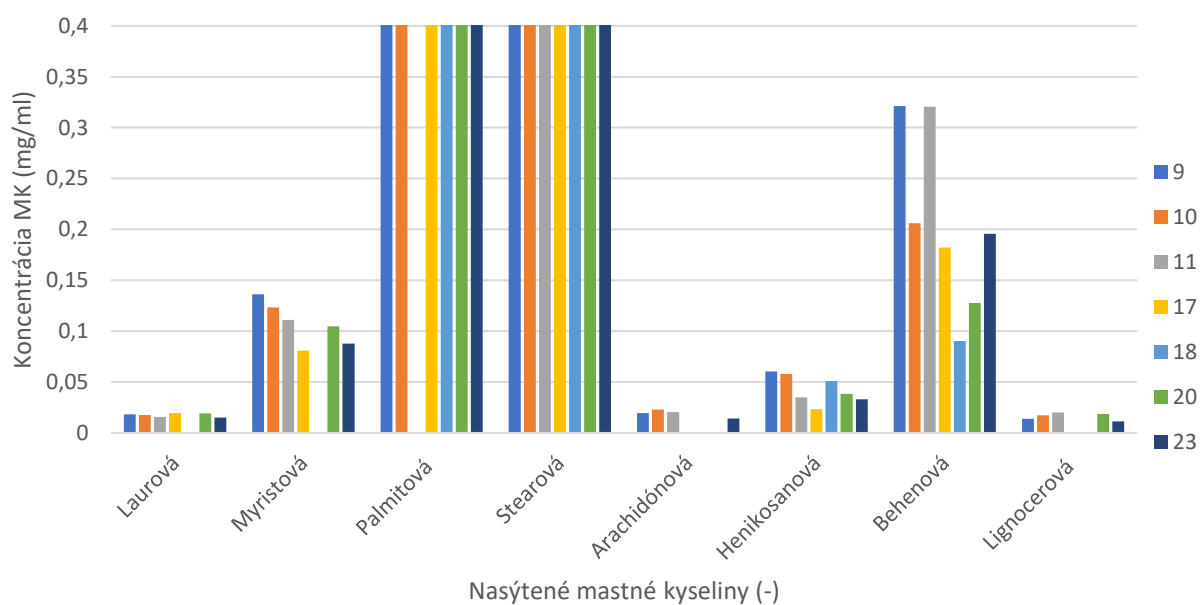
5.6.4 Zloženie nasýtených mastných kyselín

Na Obrázku 20 je zobrazená koncentrácia nasýtených mastných kyselín, vo vzorkách s ich najvyšším zastúpením. Pre lepšiu prehľadnosť bol graf priblížený, čo je zobrazené na Obrázku 20.1. Presný obsah všetkých nasýtených mastných kyselín vo všetkých vzorkách je zobrazený v Tabuľke 9 v kapitole Prílohy.

Z grafu vidíme, že najviac zastúpená nasýtená mastná kyselina je kyselina palmitová a následne kyselina stearová. Obidve kyseliny, ako nasýtené mastné kyseliny, predstavujú risk kardiovaskulárnych ochorení pre ich konzumenta. Kyselina palmitová sa vyskytuje v živočíšnych tkanivách, kde tvorí 20 až 30 %, nachádza sa aj v mliečnom tuku (tvorí 26 %). Pri jej vysokom obsahu v strave zvyšuje koncentráciu cholesterolu a rýchlosť vzniku LDL cholesterolu. Rovnako ako kyselina palmitová, aj kyselina stearová sa nachádza v živočíšnych tukoch a vo veľkej miere aj v mliečnom tuku. Aj keď patrí medzi nasýtené mastné kyseliny, je schopná znižovať koaguláciu krvi, čo je typické pre nenasýtené mastné kyseliny. Takisto znižuje koncentráciu cholesterolu pomocou zníženia črevnej absorpcie [70].



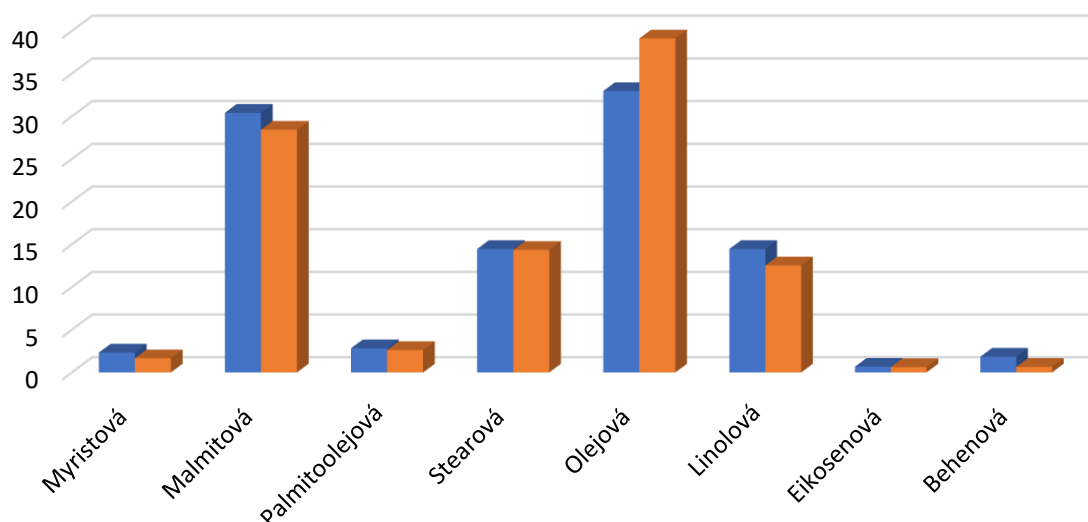
Obrázok 20 Graf zobrazujúci zastúpenie nasýtených mastných kyselín vo vzorkách s ich najvyšším obsahom



Obrázok 20.1 Príbliženie grafu na Obrázku 20

5.7 Plynová chromatografia s alkalickou transesterifikáciou

Vzorky štandardnej paštéty boli transesterifikované alkalickou a kyslou cestou, ktoré boli popísané v bode 4.5.4 a 4.5.5. Podmienky plynovej chromatografie boli následne pre všetky vzorky rovnaké, aby sme zabezpečili opakovateľnosť. V grafe na Obrázku 21 je zobrazené porovnanie obsahu mastných kyselín vo vzorkách s kyslou a alkalickou transesterifikáciou.



Obrázok 21 Porovnanie obsahu mastných kyselín transesterifikovaných kyslou (modrá) a alkalickou (pomarančová) cestou

Z grafu vidíme, že výsledky oboch analýz sú porovnateľné. Najväčšie rozdiely v stanovení sú pri kyseline olejovej (kyslá 32,96 %, alkalická 39,12 %), palmitovej (kyslá 30,42 %, zásaditá 28,43 %) a linolovej (kyslá 14,47 %, 12,54 %). Naopak najmenší rozdiel vo výsledkoch analýzy vidíme pri kyseline stearovej (kyslá 14,47 %, zásaditá 14,35 %).

6 Záver

Táto diplomová práca je zameraná na sledovanie profilu mastných kyselín v bežne dostupných mäsových paštétach. Analýzou bol stanovený celkový obsah tukov, zloženie mastných kyselín (pomer PUFA, MUFA a SFA), obsah hrubej bielkoviny, sacharidov a celkový obsah vody. Pri extrakcii lipidov z paštét boli porovnané dva extrakčné prístroje (SOXTHERM, flexIKA) a dve rozpúšťadlá (hexán, petroléter). Extrakcia prístrojom flexIKA s petroléterom ako rozpúšťadlom vykázala nižší stupeň extrakcie oproti extrakcii do hexánu prístrojom SOXTHERM. Ďalej bol porovnaný stupeň extrakcie Soxhletovej metódy s prístrojom SOXTHERM. Výsledky oboch metód boli porovnateľné. Obsah tuku vo vzorkách paštét sa značne líšil. Najnižší obsah tuk bol nameraný pri štandardnej paštéte a to 8,85 %. Vzorky s obsahom hydínovej pečene mali vyšší obsah tuku. Toto platilo aj pre obsah polynenasýtených mastných kyselín. Najvyšší obsah PUFA mala paštéta vyrobená z kačacou pečťou, ktorej tuk obsahoval až 63 % polynenasýtených mastných kyselín. Táto paštéta mala aj najvyšší obsah celkového tuku (29,23 %). Najkoncentrovanejšia polynenasýtená masťná kyselina, vo všetkých vzorkách, bola kyselina linolová. Pri mononenasýtených mastných kyselinách mala najvyššiu koncentráciu kyselina olejová a z nasýtených mastných kyselín to bola kyselina palmitová. Masťné kyseliny boli analyzované pomocou plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačným detektorom. Pri transesterifikácii boli porovnané dve metódy a to kyslá a alkalická transesterifikácia. Výsledky oboch postupov boli porovnateľné.

Obsah dusíka bol analyzovaný Kjeldahlovou metódou a následne bol prepočítaný na obsah hrubej bielkoviny. Rozdiely medzi nami stanovenou hrubou bielkovinou a obsahom čistej bielkoviny, uvádzanej na etikete, bol značný. Analyzované paštéty obsahovali 8,83 až po 23,84 g hrubej bielkoviny na 100 g výrobku. Najvyšší obsah bielkovín bol nameraný pri paštétach typu pečťový syr (tehla). Obsah sacharidov bol stanovený spektrofotometicky podľa Duboise. Najvyššia koncentrácia sacharidov bola nameraná pri vzorkách, ktoré obsahovali polysacharidové prísady. Pre tieto paštéty bola zároveň nameraná najmenšia koncentrácia hrubej bielkoviny. Toto bolo najviac viditeľné pri vzorke č. 19. Najbežnejšie bol používaný zemiakový škrob, pšeničná múka a maltodextrín. V týchto paštétach bol nameraný aj vyšší obsah vody. Polysacharidy sa viažu na vodu a vytvárajú žiadanú konzistenciu výrobku. Obsah vody bol stanovený lyofilizáciou. Najväčšia časť stanovenej vody pochádzala z mäsa, zvyšok bol pridaný do diela pri výrobe.

Z výsledkov tejto práce vyplýva, že paštéty patria medzi potraviny s vysokým obsahom bielkovín a tukov. Zloženie tukov závisí od druhu paštéty. Vo všeobecnosti je možné tvrdiť, že paštéty vyrobené s pečťou, hlavne s hydínovou pečťou, majú vysoký obsah polynenasýtených mastných kyselín. Sacharidy nie sú pre tento druh mäsového výrobku typické a vyskytujú sa len v malých koncentráciách.

7 Zdroje

- [1] ZHANG, Wangang, Shan XIAO a Dong U. AHN. Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2013, **53**(11), 1191-1201 [cit. 2023-05-04]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2011.577540
- [2] PARADA, Humberto, Susan E. STECK, Patrick T. BRADSHAW, et al. Grilled, Barbecued, and Smoked Meat Intake and Survival Following Breast Cancer. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. 2017, **109**(6) [cit. 2023-05-04]. ISSN 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djw299
- [3] SUMAN, Surendranath P. a Poulson JOSEPH. Myoglobin Chemistry and Meat Color. *Annual Review of Food Science and Technology* [online]. 2013, **4**(1), 79-99 [cit. 2023-05-04]. ISSN 1941-1413. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-food-030212-182623
- [4] FLORES, Mónica a Fidel TOLDRÁ. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products - Invited review. *Meat Science* [online]. 2021, **171** [cit. 2023-05-04]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2020.108272
- [5] INGR, Ivo, Radomír BOŽEK a Miroslav JŮZL. Myopathy of slaughter chickens. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* [online]. 2014, **54**(5), 49-56 [cit. 2023-05-04]. ISSN 12118516. Dostupné z: doi:10.11118/actaun200654050049
- [6] MORRISSEY, P.A., P.J.A. SHEEHY, K. GALVIN, J.P. KERRY a D.J. BUCKLEY. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science* [online]. 1998, **49**, S73-S86 [cit. 2020-11-17]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/S0309-1740(98)90039-0
- [7] JŮZL, Miroslav a Šárka NEDOMOVÁ. Jakost živočišných produktů: (skriptum). Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 978-80-7509-205-2.
- [8] ČERMÁK, Bohuslav. Výživa člověka. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2002. ISSN 80-7040-576-7.
- [9] MORRISSEY, P.A., P.J.A. SHEEHY, K. GALVIN, J.P. KERRY a D.J. BUCKLEY. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science* [online]. 1998, **49**, S73-S86 [cit. 2020-11-17]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/S0309-1740(98)90039-0
- [10] KRAJČOVÁ, Jitka. *Zbožíznalství*. Vyd. 3. Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, 2005. ISBN 80-86578-51-8.
- [11] Stupka, R., a kol.: Effect of weight and sex on intramuscular fat amounts in relation to the formation of selected carcass cuts in pigs. *Czech Journal of Animal Science*, 2008, vol. 53, nb. 12, pp. 506-514. ISSN 1212-1819.
- [12] OKUSKHANOV, Eleonora, Bahytkul ASSENOVA, Maksim REBEZOV, Zhanibek YESSIMBEKO, Botagoz KULUSHTAYE, Oksana ZININA a Marilyn STUART. Mineral Composition of Deer Meat Pate. *Pakistan Journal of Nutrition* [online]. 2016, **15**(3), 217-222 [cit. 2023-05-04]. ISSN 16805194. Dostupné z: doi:10.3923/pjn.2016.217.222

[13] Vyhláška č. 69/2016 Sb., O požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. Zákony pro lidi.cz [online]. Ročník 2016 [cit. 2023-11-04]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-69>

[14] STEINHAUSER, Ladislav. *Hygienu a technologie masa*. Brno: LAST, 1995. ISBN 80-900-2604-4.

[15] INGR, Ivo. *Produkce a zpracování masa*. Vyd. 2., nezměn. V Brně: Mendelova univerzita, 2011. ISBN 978-80-7375-510-2.

[16] Bender, A.: Meat and meat products in human nutrition in developing countries. 1992, ISBN 92-5-10314

[17] PIPEK, Petr. *Technologie masa II*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 1998. ISBN 80-7192-283-8.

[18] CENCE, Karine, Marilia Jordana Dequi VENDRUSCOLO, Leonardo Meirelles DA SILVA, Rosicler COLET, Alexander JUNGES, Clarice STEFFENS, Jamile ZENI a Eunice VALDUGA. Development of dry-cured pork sausage with sodium nitrite and nitrate microencapsulates: Physicochemical properties, mathematical modeling, sensory, and microbiological analysis. *Food Chemistry Advances* [online]. 2023, 2 [cit. 2023-04-27]. ISSN 2772753X. Dostupné z: doi:10.1016/j.focha.2023.100216

[19] PIPEK, Petr. *Technologie masa*. Praha: Karmelitánské nakladatelství, 1998. ISBN 80-719-2283-8.

[20] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-03-8.

[21] ŽÁK, Aleš a Jaroslav MACÁŠEK. *Ateroskleróza: nové pohledy*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3052-3.

[22] WALL, Rebecca, R Paul ROSS, Gerald F FITZGERALD a Catherine STANTON. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Reviews* [online]. 2010, 68(5), 280-289 [cit. 2023-05-04]. ISSN 00296643. Dostupné z: doi:10.1111/j.1753-4887.2010.00287.x

[23] BARRERA, Nelson P., Min ZHOU a Carol V. ROBINSON. The role of lipids in defining membrane protein interactions: insights from mass spectrometry. *Trends in Cell Biology* [online]. 2013, 23(1), 1-8 [cit. 2023-05-04]. ISSN 09628924. Dostupné z: doi:10.1016/j.tcb.2012.08.007

[24] CHRISTIE, W.W. *Gas chromatography and lipids: Fatty acids and lipids*. 3. Scotland, 1989. ISBN 0-9514171-0-X.

[25] SMITH, C.R. Occurrence of unusual fatty acids in plants. *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids* [online]. 1971, 11, 137-177 [cit. 2023-05-04]. ISSN 00796832. Dostupné z: doi:10.1016/0079-6832(71)90005-X

- [26] MÜLLER, Hanne, Bente KIRKHUS a Jan I. PEDERSEN. Serum cholesterol predictive equations with special emphasis on Trans and saturated fatty acids. An analysis from designed controlled studies. *Lipids*. 2001, **36**(8), 783-791. ISSN 0024-4201. Dostupné z: doi:10.1007/s11745-001-0785-6
- [27] HARWOOD, John L. a Nicholas J. RUSSELL. Introduction. In: HARWOOD, John L. a Nicholas J. RUSSELL. *Lipids in Plants and Microbes* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1984, 1984, s. 1-6 [cit. 2023-05-04]. ISBN 978-0-04-574022-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-011-5989-0_1
- [28] HOKIN, L E a M R HOKIN. Biological Transport. *Annual Review of Biochemistry* [online]. 1963, **32**(1), 553-578 [cit. 2023-05-04]. ISSN 0066-4154. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.bi.32.070163.003005
- [29] MANGOLD, Helmut K. (ed.). *Ether lipids: biochemical and biomedical aspects*. Elsevier, 2012.
- [30] ČEŘOVSKÝ, Miroslav. Listerie, listerióza a výroba potravin. Potraviny info [online]. 1. 7. 2009 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: https://www.potravinyinfo.cz/33/listerie-listerioza-avyroba-potravin-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EtI668NLI3LvQhURLhM160xZwRYsMFH_3w/
- [31] SIEGENTHALER, Paul-André; MURATA, Norio (ed.). *Lipids in photosynthesis: structure, function and genetics*. Springer Science & Business Media, 2006.
- [32] HIRABAYASHI, Yoshio; IGARASHI, Yasuyuki; MERRILL, AH Jr (ed.). *Sphingolipid biology*. Springer Science & Business Media, 2007.
- [33] CRUZ-HERNANDEZ, Cristina, Zeyuan DENG, Jianqiang ZHOU, et al. Methods for Analysis of Conjugated Linoleic Acids and trans-18: 1 Isomers in Dairy Fats by Using a Combination of Gas Chromatography, Silver-Ion Thin-Layer Chromatography/Gas Chromatography, and Silver-Ion Liquid Chromatography. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 2004, **87**(2), 545-562. ISSN 1060-3271. Dostupné z: doi:10.1093/jaoac/87.2.545
- [34] FINA, Angelica, Steven MASCREZ, Marco BECCARIA, Chiara DE LUCA, Juan ASPROMONTE, Chiara CORDERO a Giorgia PURCARO. A high throughput method for fatty acid profiling using simultaneous microwave-assisted extraction and derivatization followed by reversed fill/flush flow modulation comprehensive multidimensional gas chromatography. *Advances in Sample Preparation* [online]. 2022, **4** [cit. 2022-11-02]. ISSN 27725820. Dostupné z: doi:10.1016/j.sampre.2022.100039
- [35] SHIN, Jae-Min, et al. Comparison of different methods to quantify fat classes in bakery products. *Food chemistry*, 2013, 136.2: 703-709.
- [36] SHENG, Jie; VANNELA, Raveender; RITTMANN, Bruce E. Evaluation of methods to extract and quantify lipids from *Synechocystis* PCC 6803. *Bioresource technology*, 2011, 102.2: 1697-1703.
- [37] PRABAKARAN, Pandian; RAVINDRAN, A. David. A comparative study on effective cell disruption methods for lipid extraction from microalgae. *Letters in applied microbiology*, 2011, 53.2: 150-154.

- [38] MERCER, Paula; ARMENTA, Roberto E. Developments in oil extraction from microalgae. *European journal of lipid science and technology*, 2011, 113.5: 539-547.
- [39] RAMLUCKAN, Krishan; MOODLEY, Kandasamy G.; BUX, Faizal. An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. *Fuel*, 2014, 116: 103-108.
- [40] FAJARDO, Antonio Ramírez, et al. Lipid extraction from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2007, 109.2: 120-126..
- [41] ZHANG, Lingyan, et al. A High Oil Corn and Its Biorefining Model for Biofuel Production. In: *2009 Reno, Nevada, June 21-June 24, 2009*. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. p. 1.
- [42] MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. Comparative study on total lipid determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and modified Bligh & Dyer extraction methods. *Journal of food composition and analysis*, 2001, 14.1: 93-100.
- [43] DE BOER, Jacob. Chlorobiphenyls in bound and non-bound lipids of fishes; comparison of different extraction methods. *Chemosphere*, 1988, 17.9: 1803-1810.
- [44] BARTLE, Keith D. a Peter MYERS. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2002, **21**(9-10), 547-557 [cit. 2023-04-22]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(02)00806-3
- [45] Plynová chromatografie [online]. In: ZACHAŘ, Pavel a David SÝKORA. VŠCHT [cit. 2023-04-03]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>
- [46] LEHOTAY, Steven J.; HAJŠLOVÁ, Jana. Application of gas chromatography in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2002, 21.9-10: 686-697.
- [47] HOLEČEK, Milan. *Regulace metabolismu základních živin u člověka*. Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2016.
- [48] SAULO, Aurora A. Sugars and sweeteners in foods. 2005.
- [49] GOODMAN, Barbara E. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Advances in physiology education*, 2010, 34.2: 44-53.
- [50] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 202 s. : il. ISBN 978-80-7375-036-7
- [51] STUPÁK, Michal. *Metody odběru a analýzy potravin pro sledování kontaminace surovin a cereálních výrobků ošetřených insekticidními aerosoly: certifikovaná metodika*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2014. ISBN 978-80-7080-905-1.
- [52] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-7080-586-2.
- [53] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-86494-02-0.

- [54] *Bulletin potravinárskeho výskumu: Rýchli postup mineralizácie pri stanovení celkového dusíka Kjeldahlovou metódou*. 21. Bratislava: Výskumný ústav potravinársky, 1982, 43-47. ISSN 0231-9950.
- [55] MIHALJEV, Željko A., et al. Comparison of the Kjeldahl method, Dumas method and NIR method for total nitrogen determination in meat and meat products. *gas*, 2015, 2.7.
- [56] JANÍČEK, Gustav; ŠANDERA, Karel; HAMPL, Bohuš. *Rukověť potravinářské analytiky: vysokoškolská učebnice*. Státní nakl. technické literatury, 1962.
- [57] DUTRA, Monalisa P., et al. Technological and quality characteristics of cooked ham-type pâté elaborated with sheep meat. *Small Ruminant Research*, 2013, 115.1-3: 56-61.
- [58] REZLER, Ryszard, Mirosława KRZYWDZIŃSKA-BARTKOWIAK a Michał PIĄTEK. The influence of the substitution of fat with modified starch on the quality of pork liver pâtés. *LWT* [online]. 2021, 135 [cit. 2023-04-20]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2020.110264
- [59] SALO-VÄÄNÄNEN, Pirjo P. a Pekka E. KOIVISTOINEN. Determination of protein in foods: comparison of net protein and crude protein ($N \times 6.25$) values. *Food Chemistry* [online]. 1996, 57(1), 27-31 [cit. 2023-04-20]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/0308-8146(96)00157-4
- [60] COULTATE, T. P. *Food: the chemistry of its components*. 6th Edition. Cambridge: Royal Society of Chemistry, [2016]. ISBN 978-184-9738-804.
- [61] DUTRA, Monalisa P., et al. Technological and quality characteristics of cooked ham-type pâté elaborated with sheep meat. *Small Ruminant Research*, 2013, 115.1-3: 56-61.
- [62] *Cholesterol v potravinách: Nebezpečie tuku a index cholesterolu a saturovaného tuku* [online]. 13 [cit. 2023-05-01]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/fsps/podzim2012/bp1113/cholesterol_v_potravinach.pdf
- [63] REVILLA, Elisa, et al. Nutraceutical composition, antioxidant activity and hypocholesterolemic effect of a water-soluble enzymatic extract from rice bran. *Food Research International*, 2009, 42.3: 387-393.
- [64] *BioTechnology in animal husbandry: New perspectives and challenges of sustainable livestock production* [online]. 4. Belegarde: Zemun, 2011 [cit. 2023-05-02]. ISSN 2217-7140.
- [65] WOOD, J.D, R.I RICHARDSON, G.R NUTE, A.V FISHER, M.M CAMPO, E KASAPIDOU, P.R SHEARD a M ENSER. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science* [online]. 2004, 66(1), 21-32 [cit. 2023-05-02]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/S0309-1740(03)00022-6
- [66] WHELAN, Jay a Kevin FRITSCHÉ. Linoleic Acid. *Advances in Nutrition* [online]. 2013, 4(3), 311-312 [cit. 2023-05-03]. ISSN 21618313. Dostupné z: doi:10.3945/an.113.003772
- [67] BURDGE, G.C. Metabolism of α -linolenic acid in humans. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* [online]. 2006, 75(3), 161-168 [cit. 2023-05-03]. ISSN 09523278. Dostupné z: doi:10.1016/j.plefa.2006.05.013

[68] KARACOR, Kayihan a Meryem CAM. Effects of oleic acid. *Medical Science and Discovery* [online]. 2015, **2**(1), 125-32 [cit. 2023-05-03]. ISSN 2148-6832. Dostupné z: doi:10.17546/msd.25609

[69] FRIGOLET, María E a Ruth GUTIÉRREZ-AGUILAR. The Role of the Novel Lipokine Palmitoleic Acid in Health and Disease. *Advances in Nutrition* [online]. 2017, **8**(1), 173S-181S [cit. 2023-05-03]. ISSN 21618313. Dostupné z: doi:10.3945/an.115.011130

[70] POKORNÝ, J. *Nasycené mastné kyseliny v tucích: Nepůsobí všechny stejně: Výživa a potraviny* [online]. 2006, **61**(4), 91-92 [cit. 2023-05-03].

8 Zoznam skratiek

GC	Plynová chromatografia
MUFA	Mononenasýtené mastné kyseliny
SFA	Nasýtené mastné kyseliny
PUFA	Polynenasýtené mastné kyseliny

9 Prílohy

Tabuľka 9 Zoznam nenasýtených mastných kyselín vo vzorkách (mg/ml)

		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	ST
C6:0	Kaprónová	0,017						0,012	0,021													
C8:0	Kaprylová	0,016				0,011		0,011	0,018	0,016	0,019	0,010										
C10:0	Kaprinová	0,037		0,018	0,020	0,018	0,017	0,021	0,041	0,024	0,031	0,014	0,000	0,000	0,037	0,019		0,012	0,016	0,013		0,015
C12:0	Laurová	0,044		0,019	0,018	0,018	0,016	0,032	0,054	0,027	0,031	0,017	0,019	0,000	0,044	0,019		0,026	0,015	0,000		0,015
C14:0	Myristová	0,221	0,068	0,119	0,136	0,123	0,111	0,142	0,000	0,138	0,130	0,085	0,081	0,000	0,243	0,105		0,138	0,088	0,081	0,094	
C15:0	Pentadecylová	0,014		0,012		0,012		0,010		0,013	0,016	0,009									0,008	
C16:0	Palmitová	2,230	0,953	1,621	1,754	1,829		1,547		1,570	1,247		0,899	1,456	2,863	1,411	0,110		1,099	1,010	1,031	0,586
C18:0	Stearová	1,095	0,514	0,879	0,886	0,984	0,886	0,775		0,737	0,514		0,408	0,726	1,017	0,708	0,008		0,514	0,479	0,443	0,447
C20:0	Arachidónová	0,024	0,010		0,019	0,023	0,021	0,017	0,023		0,018	0,015					1,477	0,023	0,014			
C21:0	Henikosanová	0,047	0,017	0,033	0,061	0,058	0,035	0,053	0,071	0,044	0,032	0,029	0,023	0,051	0,047	0,038	0,711	0,060	0,033	0,023	0,029	0,017
C22:0	Behenová	0,187	0,109	0,232	0,321	0,206	0,320	0,141	0,185	0,353	0,473	0,152	0,182	0,090	0,175	0,128	0,016	0,185	0,196	0,095	0,164	0,340
C23:0	Trikosanová					0,008	0,009		0,007	0,012	0,014	0,005					0,038	0,006	0,007		0,006	0,008
C24:0	Lignocerová	0,015		0,018	0,014	0,017	0,020	0,011	0,013	0,019		0,014				0,019	0,111	0,013	0,011	0,013	0,012	

Tabuľka 10 Zoznam mononenasýtených mastných kyselín vo vzorkách (mg/ml)

		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	ST
C14:1	Myristolejová	0,014																				
C16:1	Palmitolejová	0,323	0,104	0,217	0,231	0,247	0,198	0,176	0,283	0,197	0,189	0,161	0,120	0,178	0,342	0,176		0,170	0,130	0,141	0,134	0,067
C17:1	Heptadecyllová	0,032	0,012	0,027	0,027	0,034	0,018	0,018		0,025		0,013	0,017	0,041	0,047		0,202			0,019		
C18:1c	Olejová	3,978	1,658	3,170	1,575	0,894				2,985	2,131	0,000	1,579	2,569	4,651	2,724			1,898	2,003		0,862
C20:1	eikosenová	0,072	0,037	0,068	0,068	0,076	0,056	0,057	0,073	0,057	0,034	0,039	0,028	0,069	0,068	0,065		0,101	0,035	0,044	0,026	0,018
C22:1	Eruková	0,010			0,009	0,010		0,007	0,008							0,013				0,009		
C24:1	Nervónová	0,022		0,023	0,027	0,025	0,027	0,015	0,023	0,028	0,028	0,016	0,015	0,030	0,023	0,017	0,063	0,021	0,016	0,012	0,012	0,021

Tabuľka 11 Zoznam polynenasýtených mastných kyselín vo vzorkách (mg/ml)

		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	ST
C18:2t	Linoleilidová																0,008			0,008		
C18:2c	Linolová	1,163	0,560	0,892	1,336	1,080	0,781	1,097	1,556	1,181	1,026	0,982	0,524	0,761	1,606	0,700	0,778	1,054	0,784	0,463	0,818	0,446
C18:3d6	γ-Linolénová	0,008				0,008	0,008		0,010			0,010					0,006					
C18:3d3	α-Linolénová	0,102	0,040	0,077	0,089	0,081	0,070	0,081	0,110	0,085	0,087	0,057	0,039	0,082	0,150	0,065	0,064	0,084	0,075	0,053	0,071	0,028
C20:3d6	Eikosatrienová	0,016				0,018	0,021	0,013	0,021	0,020	0,022	0,013	0,012		0,020	0,013		0,015	0,012	0,008	0,000	0,015
C20:4	Arachidónová					0,005			0,005								0,011					0,007
C20:3d3	Eikosatrienová	0,016	0,005	0,008		0,014		0,008						0,029	0,024						0,006	
C20:5	Eikosapentienová						0,007		0,005								0,012					
C22:6	Dokosahexaenová	0,009		0,015	0,013	0,010	0,012	0,008	0,009	0,016	0,018	0,006	0,012		0,013	0,008	0,000	0,009	0,010	0,005		0,012