



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

SÝROVÝ ANALOG S PŘÍDAVKEM RYBÍHO OLEJE

CHEESE ANALOGUE WITH THE ADDITION OF FISH OIL

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Alexandra Damborská

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1726/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Alexandra Damborská**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Sýrový analog s přídavkem rybího oleje

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - čerstvé sýry a analogy čerstvých sýrů – sensorická kvalita, těkavé (aromatické) látky, mastné kyseliny a jejich stanovení
 - rybí olej – složení, vlastnosti
2. Vyrobte modelový vzorek analogu čerstvého sýra s přídavkem rybího oleje.
3. Pomocí vybraných metod posuďte profil těkavých látek, volných a vázaných mastných kyselin použitého rybího oleje.
4. Pomocí vybraných metod posuďte antioxidační potenciál, profil těkavých látek, volných a vázaných mastných kyselin a celkovou sensorickou kvalitu vyrobeného analogu.
5. Srovnajte s kontrolním vzorkem bez přídavku oleje.

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2022:

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

Alexandra Damborská
studentka

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá změnou nutričních hodnot čerstvého sýru po přidavku rybího oleje. Předmětem zkoumání jsou mastné kyseliny, těkavé látky i senzorické vlastnosti. Rybí olej byl vybrán především díky obsahu zdraví prospěšných esenciálních omega-3 nenasycených mastných kyselin eikosapentaenové (EPA) a dokosahexaenové (DHA). Vzorky čerstvého sýru (standardu) a sýrových analogů čerstvého sýru s různými přídávky rybího oleje byly připraveny v prostorách FCH VUT v Brně. Ze vzorků byl extrahován tuk směsí rozpouštědel petroletheru a diethyletheru. Mastné kyseliny v tuku byly převedeny na methylestery kyselou esterifikací za přítomnosti bortri-fluoridu jako katalyzátoru. Methylestery byly rozpuštěny v isooktanu a stanoveny kvalitativně i kvantitativně pomocí metody GC-FID. S rostoucím přídávkem rybího oleje rostl dle očekávání obsah nenasycených mastných kyselin v analozích. Identifikace těkavých (aromatických) látek proběhla pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Celkově bylo v sýrech/analozích a rybím oleji zjištěno 30 těkavých (aromatických) sloučenin. Sýrové analogy s přídávky rybího oleje měly společný základ těkavých látek se standardem a obsahovaly i sloučeniny společné s rybím olejem. Procentuálním zastoupením jednotlivých skupin se sýrové analogy podobaly spíše kontrolnímu vzorku než rybímu oleji. Byla provedena senzorická analýza kontrolního vzorku se dvěma analogy s různým přídávkem rybího oleje, posuzovala se textura (tvrdost, rozpadavost), chuť (kyselost, hořkost, rybí chuť, příjemnost) a vůně (intenzita, příjemnost). Na konci byl zařazen i pořadový test, ze kterého jasně vyplynulo, že spotřebitelům rybí olej v analozích, jak s nižším, tak i s vyšším přídávkem výrazně vadil. Z výsledků vyplývá, že přídavek rybího oleje zvýšil obsah nenasycených mastných kyselin, a dokonce zařadil do spektra nenasycených mastných kyselin i zdraví prospěšné omega-3 mastné kyseliny (EPA a DHA). Z výsledků senzorické analýzy však vyplývá, že zvýšení nutriční hodnoty proběhlo na úkor senzorické kvality produktu, kdy naprostě většinu přídavek rybího oleje nevyhovoval.

Klíčová slova

Sýrové analogy, rybí olej, antioxidanty, aromatické látky, mastné kyseliny, SPME, GC-FID/MS

Abstract

This bachelorette thesis deals with the change in nutritional values of fresh cheese after the addition of fish oil. The subject of research is fatty acids, volatile substances and sensory properties. Fish oil was chosen mainly due to the content of healthy essential omega-3 unsaturated fatty acids eicosapentanoic (EPA) and docosahexanoic (DHA). Samples of fresh cheese (standard) and cheese analogues with various additions of fish oil were prepared on the premises of FCH VUT in Brno. Fat was extracted from the samples with a mixture of petrolether and diethylether solvents. The fatty acids in the fat were converted to methylesters by acid esterification in the presence of borontrifluoride as a catalyst. The methylesters were dissolved in isooctane and determined quantitatively by GC-FID. As the fish oil was added, the fatty acid content of the analogues increased as expected. Identification of volatile (aromatic) substances was performed using the HS-SPME-GC-MS method. A total of 30 volatile (aromatic) compounds were found in cheese/analogues and in fish oil. Cheese analogues with fish oil additions had a common volatile base with the standard and also contained compounds common to fish oil. As a percentage of each group, the cheese analogues resembled the control sample rather than the fish oil. A sensory analysis of a control sample with two analogues with different fish oil additions were performed. The evaluation was recorded in a sensory form with graphic scales and the texture (hardness, disintegration), taste (acidity, bitterness, fishy taste, pleasantness) and smell (intensity, pleasantness) were assessed. At the end, a serial test was included, which clearly showed that the fish oil in both analogues significantly bothered consumers. The results show that the addition of fish oil increased the content of unsaturated fatty acids including very healthy omega-3 fatty acids (EPA and DHA) in the spectrum of unsaturated fatty acids. However, the results of the sensory analysis show that the increase in nutritional value took place at the expense of the sensory quality of the product. The addition of fish oil did not suit the vast majority.

Key words

Cheese analogues, fish oil, antioxidants, aroma compounds, fatty acids, SPME, GC-FID/MS

DAMBORSKÁ, Alexandra. *Sýrový analog s přídavkem rybího oleje* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-27]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138888>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

Prohlášení

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

.....
podpis studenta

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. za odborné vedení, dále i za cenné rady, vstřícnost a trpělivost. Dále děkuji Ing. Michalovi Grossovi za všestrannou pomoc, ochotu, čas a trpělivost.

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část	9
2.1	Sýry.....	9
2.2	Mléko.....	9
2.2.1	Laktóza.....	10
2.2.2	Mléčné bílkoviny	10
2.2.3	Mléčný tuk	11
2.2.4	Minerální látky	12
2.2.5	Nebílkovinný dusík.....	13
2.3	Čerstvé sýry	13
2.3.1	Těkavé (aromatické) látky v čerstvých sýrech.....	14
2.3.2	Mastné kyseliny v čerstvých sýrech.....	14
2.3.3	Senzorická kvalita čerstvých sýrů.....	15
2.3.4	Sýrový analog	16
2.4	Výroba čerstvých sýrů	17
2.4.1	Kyselé srážení	17
2.4.2	Sladké srážení	17
2.4.3	Kombinované srážení.....	19
2.5	Rybí olej	19
2.6.1	Výroba rybího oleje	19
2.6.2	Vlastnosti rafinovaného rybího oleje	21
2.6.3	Oxidace a zachování stability oleje.....	22
2.7	Možnosti stanovení mastných kyselin a těkavých (aromatických) látek.....	23
2.7.1	Stanovení mastných kyselin v čerstvých sýrech.....	23
2.7.2	Stanovení těkavých (aromatických) látek v čerstvých sýrech	23
2.8	Senzorická analýza	25
2.8.1	Hodnotitelé.....	25
2.8.2	Podmínky sensorické analýzy.....	25
2.8.3	Příprava vzorku.....	26
2.8.4	Formulář.....	26
2.8.5	Typy hodnocení a testů	26

3	Experimentální část.....	28
3.1	Laboratorní vybavení a přístroje	28
3.1.1	Přístroje	28
3.1.2	Plyny	28
3.1.3	Laboratorní vybavení	28
3.1.4	Chemikálie	29
3.1.5	Suroviny pro výrobu sýrů/sýrových analogů	29
3.2	Analyzované vzorky.....	29
3.2.1	Postup výroby čerstvých sýrů (sýrových analogů)	30
3.3	Použité metody a postupy	31
3.3.1	Stanovení volných a vázaných mastných kyselin	31
3.3.2	Stanovení těkavých látek	38
3.3.3	Stanovení obsahu vody a sušiny	39
3.3.4	Senzorická analýza.....	39
4	Výsledky a diskuse.....	40
4.1	Obsah sušiny a tuku v sušině ve vzorcích	40
4.2	Volné a vázané mastné kyseliny ve vzorcích	42
4.2.1	Přehled identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů	42
4.2.2	Přehled identifikovaných mastných kyselin v rybím oleji.....	43
4.2.3	Srovnání obsahu vázaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů....	44
4.2.4	Srovnání obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů.....	47
4.3	Těkavé (aromatické) látky	49
4.3.1	Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích.....	51
4.3.2	Srovnání obsahu identifikovaných látek ve vzorcích	53
4.4	Senzorická analýza sýrů/analogů.....	55
4.4.1	Výsledky sensorického hodnocení pomocí grafické stupnice	55
4.4.2	Výsledky pořadového testu.....	59
5	Závěr	60
6	Seznam použitých zdrojů	61
7	Seznam použitých zkratk.....	65
8	Seznam příloh.....	66
9	Přílohy	67

1 Úvod

Sýr patří mezi nejoblíbenější a zároveň nejdůležitější potraviny v jídelníčku většiny obyvatel. Zvláštní podkategorií, které se bude věnovat tato práce, jsou čerstvé sýry. Čerstvý sýr je definován jako nezrající sýr, včetně nezrajících sýrů termizovaných. Při výrobě čerstvých sýrů se hojně využívá kombinace tepelného a kyselého srážení, díky čemuž mají sýry nakyslou chuť. Čerstvé sýry jsou velmi oblíbené už od nepaměti a můžeme se setkat se spoustou variant typických vždy pro danou oblast, např. tradiční čerstvý sýr v Mexiku – Queso Chihuahua.

Společnost se čím dál více zabývá otázkami moderní výživy. V nynější uspěchané době má spousta lidí problém se zdravě stravovat. Důsledkem nedostatečné kvality a rozmanitosti složení potravin mohou být nemoci všeho druhu. Lidé se proto snaží kombinovat potraviny tak, aby z nich dostali co nejvíce živin a důležitých látek.

Sýrový analog vzniká nahrazením části sýru nemléčnou složkou (olej, bylinky, zelenina, sója). Původním záměrem bylo snížení nákladů na výrobu, kdy byla část sýru nahrazena levnější surovinou. Časem se však začal kombinovat sýr i s kvalitními zdroji látek, které v čerstvém sýru chybí, čímž se sýrový analog stává bohatším zdrojem živin.

Účinky rybího oleje jsou neustále zkoumány. Jeho konzumace má kladný vliv na lidské zdraví. Obsahuje omega-3 polynenasycené mastné kyseliny eikosapentaenovou (EPA) a dokosahexaenovou (DHA), jež zabraňují vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Díky obsahu těchto polynenasycených mastných kyselin byl vybrán pro tuto bakalářskou práci právě rybí olej.

Cílem této bakalářské práce bylo vyrobit čerstvý sýr a dva sýrové analogy s různým přídatkem rybího oleje (5 ml a 10 ml). Dále tyto vzorky charakterizovat a zjistit, zda jsou analogy pro spotřebitele přijatelné.

2 Teoretická část

2.1 Sýry

Pojem sýr je velice široký a zahrnuje mnoho výrobků odlišného charakteru. Přesto mají sýry společný základ, a to je mléko. Platí, že pro kvalitní produkt jsou potřeba kvalitní suroviny. K získání nejlepšího a nejčerstvějšího mléka je potřeba věnovat pozornost v každém kroku od péče o dojnici až po metody zpracování a uchování nadojeného mléka. Mléko se zpracovává v mlékárnách více způsoby. Při výrobě sýrů lze využít mnoho metod zahrnujících různé mikroorganismy, fyzikální podmínky (např. teplota a tlak), koagulanty (kyseliny a syřidla) aj. V neposlední řadě se technologie výroby upravuje podle požadavků spotřebitele. Příkladem může být například termizace sýra, která upraví vlastnosti produktu a zároveň slouží jako konzervační zákrok, díky kterému se zvýší trvanlivost [1].

2.2 Mléko

Hlavní surovinou pro výrobu sýrů je mléko. Surové mléko je podle Codexu Alimentarius sekret mléčné žlázy zvířat produkujících mléko. Je to velmi složitý polydisperzní systém, který je tvořen vodou a pevnými složkami (tj. sušina mléka). Pevné složky tvoří laktóza a minerální látky v molekulární formě, mléčné bílkoviny ve stavu koloidní disperze a mléčný tuk ve formě emulze. Mléko obsahuje maximálně 87,3 % vody a zbylých 12,8 % připadá na minimální obsah sušiny. Podrobné složení sušiny mléka je vypsáno v tabulce č.1 [2].

Tabulka č. 1: Přesné procentuální složení sušiny mléka [2]

laktóza	4,6 – 4,9 %
mléčné bílkoviny	2,8 – 3,6 %
mléčný tuk	3,2 – 6,0 %
minerální látky	0,8 – 1,1 %
nebílkovinný dusík	0,02 – 0,03 %
močovina	2,5 – 5,0 mmol·l ⁻¹

Mléko je produktem mléčných žláz dojnic a je primárně určeno k výživě mláďat. Není tedy překvapením, že se složení mléka odvíjí od stravy dojnice. Úpravou a regulací množství živin ve stravě dojnice se ovlivňuje obsah živin ve výsledném produktu – mléce [1] [2].

Kromě důležitých živin pro výživu mláďat je mléko bohatým zdrojem vápníku. Dále mléko napomáhá k plnění důležitých funkcí v těle. Obsahuje imunoglobuliny a antimikrobiální látky, které plní obrannou funkci. Vyskytují se zde také enzymy potřebné k trávení a v neposlední řadě i hormony (růstové faktory) [1].

Produkce mléka dojnici je reakce na soubor změn v těle dojnice. Mléko se začne produkovat v mléčných žlázách po narození mláďete. Stádium laktace u krav trvá zhruba 300 dní a má mnoho fází. V jednotlivých fázích laktace se mění obsah živin v mléce. V prvotní fázi, hned po

narození mláděte, se vylučovaný sekret nazývá mlezivo. Mlezivo obsahuje vysokou koncentraci živin (hlavně tuků) potřebných v prvních dnech života, včetně proteinů imunoglobulinů zajišťujících imunitu. Tato prvotní fáze trvá 48–72 hodin. Po této fázi následuje několik týdnů, kdy se upravuje složení sekretu do podoby mléka. Následuje fáze nejvyšší produkce mléka s optimálním složením, taktéž se dá popsat jako stádium dosažení tzv. laktačního píku [1] [3].

2.2.1 Laktóza

Laktóza, jinak nazývaná mléčný cukr, je disacharid složený z jedné molekuly glukózy a jedné molekuly galaktózy. Její obsah v mléce různých druhů savců je velmi rozdílný. V kravském mléce je obsah laktózy oproti jiným savcům poměrně vysoký (6–7 %) [2].

Přítomnost laktózy dělá z mléka dobře fermentovatelné médium pomocí mnoha druhů mikroorganismů, označovaných souhrnně jako bakterie mléčného kvašení. Pomocí těchto bakterií dochází k hydrolýze laktózy na glukózu a galaktózu. Následuje anaerobní glykolýza, díky které se přemění glukóza na L (+) kyselinu mléčnou. Z 1 molekuly laktózy vznikají 4 molekuly kyseliny mléčné [2] [3].

Většina vlastností a účinků laktózy jsou pro nás žádoucí (zdroj energie, nasládlá chuť mléka, podporuje absorpci vápníku, nutná k fermentaci, zvyšuje nutriční hodnotu, podílí se na barvě a chuti výrobku atd.). Velkou nevýhodou může být intolerance na laktózu, která vzniká absencí enzymu laktázy (β -galaktosidázy), který tento disacharid štěpí [1].

2.2.2 Mléčné bílkoviny

Celkový obsah bílkovin (hrubé bílkoviny) zahrnuje kaseinové bílkoviny, syrovátkové bílkoviny a dusíkaté frakce nebílkovinného původu (volné aminokyseliny, kyselina močová, vitamíny B, kreatin, nukleotidy atd.) [2].

Za hlavní bílkoviny v mléce se považují kaseinové (2,5–2,7 % v sušině) a syrovátkové (0,75–0,85 % v sušině). Rozpustnost těchto dvou druhů se mění v závislosti na pH. Při okyselování mléka se při pH 4,6 dosáhne hodnoty isoelektrického bodu kaseinu, který se v tomto momentě při 20–40 °C vysráží, zatímco syrovátkové bílkoviny zůstávají v roztoku. Dle rychlosti okyselování vznikne buď tuhá sraženina nebo gelovitá sraženina [2] [3].

Kaseinová bílkovina je ve skutečnosti komplex 4 kaseinů známých jako α_{S1} -, α_{S2} -, β - a κ -kasein. Kaseiny α - a β - jsou hydrofobní bílkoviny a tvoří jádro kaseinových micel. Naopak κ -kasein tvoří vnější hydrofilní vrstvu micel díky vápenatým iontům, se kterými tvoří rozpustné soli. Micely jsou stabilizovány vápenatými můstky, fosforečnými ionty, disulfidickými a vodíkovými můstky. Micely jsou tvořeny z 94 % bílkovinami a z 6–8 % ionty Ca, Mg, fosfátů a citrátů. Tyto ionty se souhrnně označují jako CCP (koloidní kalcium fosfát). Podjednotkami micel jsou submicely. Po snížení pH na hodnotu isoelektrického bodu kaseinu (pH = 4,6) dojde i ke ztrátě vnějšího náboje a solvatačního vodního obalu, čímž dojde k vysrážení [2] [3].

2.2.3 Mléčný tuk

Mléčný tuk je další vysoce zastoupená složka mléka. Přirozeně se v mléce vyskytuje 3,2–6,0 % mléčného tuku. V syrovém mléce je mléčný tuk vždy ve formě emulze typu olej ve vodě, ale po vychlazení přechází do suspenze. Tukové kapénky jsou na povrchu chráněny dvojitou vrstvou, která se skládá z vnější hydrofobní (nepolární) vrstvy fosfolipidů a hydrofilní (polární) vrstvy orientované směrem do středu kapénky. Vevnitř kapénky jsou triacylglyceroly (dále jen TAG) a estery cholesterolu [2].

Tuková kapénka připomíná strukturou lipoprotein. Ve vodném prostředí mléčného séra je kapénka stabilizována pomocí membrány tukové kuličky, která udává charakteristické vlastnosti mléčného tuku. Membrána obsahuje 60 % veškerých fosfolipidů mléka. Fosfolipidy mají emulzifikační charakter, čímž se podílí na snížení povrchového napětí a tvorbě tukové emulze. Mezi hlavní fosfolipidy zde patří fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin a sfingomyelin v poměru 2:2:1. Další důležitou složkou membrány jsou steroly a estery sterolů. Najdeme zde například 80 % veškerého cholesterolu. Další složkou jsou proteiny. Na membránu je použito sice pouze 1 % celkových bílkovin mléka, což se jeví jako velmi malé množství. Pravdou je však, že jsou membrány tvořeny proteiny z 25 – 50 %. Mezi hlavní skupinu bílkovin patří enzymy (např. kataláza, lipáza a plasmin). Membrána obsahuje spousty dalších látek jako jsou glykosfingolipidy, monoacylglyceroly a diacylglyceroly (vznikají lipolýzou) a stopové množství těžkých kovů (převážně Cu a Fe). Porušení membrány vede ke spuštění indukované lipolýzy (hydrolytickému štěpení TAG) kdy vznikají monoacylglyceroly a diacylglyceroly. K poškození dochází už při manipulaci s mlékem (prudké čerpání, při transportu či při homogenizaci) [1].

2.2.3.1 Triacylglyceroly

Hlavní složkou mléčného tuku jsou TAG, které tvoří více než 95 % mléčného tuku. Tyto TAG vznikají esterifikací glycerolu třemi mastnými kyselinami [1].

2.2.3.2 Mastné kyseliny

Mléko obsahuje mastné kyseliny lišící se v délce uhlíkatého řetězce. V důsledku vysoké variability mastných kyselin je aroma mléčného tuku plnější. Tyto kyseliny obsahují 4 až 20 atomů uhlíku a pocházejí ze dvou zdrojů. Mastné kyseliny s délkou uhlíkatého řetězce 4:0 až 14:0 (výjimečně až 16:0) se syntetizují „de novo“¹ v mléčné žláze. Druhým zdrojem mastných kyselin jsou krevní lipidy pocházející ze stravy zvířat a řadíme sem kyseliny s 16:0, 18:0, 18:1 a 18:2 uhlíky [1] [3].

Dále se obsažené mastné kyseliny liší ve výskytu a počtu násobných vazeb. Při výskytu pouze jednoduchých vazeb se nazývají nasycené, kdežto mastné kyseliny obsahující ve struktuře i násobné vazby se nazývají nenasycené [3].

Počet dvojných vazeb udává konzistenci tuku. Rostlinné tuky jsou složeny převážně z nenasycených mastných kyselin, a proto jsou tekuté. Živočišné tuky se skládají z větší části

¹ Syntéza de novo = syntéza MK od úplného počátku

z nasycených mastných kyselin (70 %), tudíž je výsledná konzistence tuhá. Platí tedy, že s rostoucím počtem násobných vazeb klesá tuhost tuku [1].

Chemické vlastnosti mastných kyselin mají značný vliv na nutriční kvalitu mléka (tudíž i na zdravotní dopad) a mají vliv i na technologické vlastnosti. Od délky řetězce a počtu násobných vazeb se odvíjí např. teplota tání TAG. Tento údaj je důležitý při volbě skladovací teploty [3].

Mléko je bohaté na **nasycené mastné kyseliny**. Mléko přežvýkavců obsahuje vyšší množství mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem, které se do C10:0 považují za tzv. těžké mastné kyseliny. Mastné kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem jsou nositele chuti a aroma. V nejvyšších koncentracích se v mléce vyskytují kyseliny myristová, palmitová a stearová (C14:0, C16:0 a C18:0) [1].

Z řad **nenasycených kyselin** je nejvíce zastoupena kyselina olejová, která tvoří 17–25 % všech mastných kyselin. V nižších koncentracích zde nalezneme i kyselinu myristoolejovou (C14:1), palmitoolejovou (C16:1) a kyselinu vakcenovou (C18:1) [1].

Obsah **polynenasycených kyselin** je v mléce poměrně nízký. Hlavními zástupci jsou kyselina linolová (C18:2^{Δ9,12}) a kyselina α-linolenová (C18:3^{Δ9,12,15}, tzv. ALA). Koncentrace obou kyselin v mléce závisí na stravě dojnice a stoupá s rostoucím příjmem zelené píče [1]. Kyselina linolová patří mezi omega-6 mastné kyseliny a je jediná z této skupiny, kterou si tělo neumí samo syntetizovat (je esenciální). Kyselina α-linolenová je taktéž esenciální a řadí se k omega 3 nenasyčeným mastným kyselinám. Obě kyseliny se označují za vitamín F [4].

2.2.4 Minerální látky

V mléce je široká škála minerálních látek a solí. Některé se váží v kaseinových micelách, jiné jsou v mléčném séru v roztoku nebo v koloidní formě. Jak už bylo zmíněno v kapitole mléčných bílkovin (kapitola 2.2.2), minerální látky se v kaseinových micelách vyskytují ve formě CCP (koloidní kalcium fosfát). CCP obsahuje, jak už název napovídá, převážně vápník a fosfor a v malé míře i hořčík a citráty [2] [3].

Mnohé se váží i na organické molekuly přítomné v mléce. Hlavní kationty jsou draslík (K⁺), vápník (Ca²⁺), sodík (Na⁺) a hořčík (Mg²⁺). Mezi hlavní anionty řadíme fosfáty (PO₄³⁻), citráty (ve formě kys. citronové), chloridy (Cl⁻), hydrogenuhličitanu (HCO₃⁻) a sírany (SO₄²⁻) [3].

Tabulka č. 2: Minerální látky stanovené po zpopelnění 1 litru mléka [2]

množství popela	6,00–8,00 g	zinek	1,00–6,00 mg
draslík	1,45–1,50 g	křemík	0,87–2,27 mg
vápník	1,20–1,40 g	hliník	50,00–1000,00 µg
sodík	0,50 g	bor	100,00–400,00 µg
hořčík	0,10–0,13 g	železo	300,00 µg
fosfáty	2,10 g	brom	180,00–250,00 µg
citráty	2,00 g	měď	15,00–170,00 µg
chloridy	1,00 g	molybden	20,00–150,00 µg
hydrogenuhlčitany	0,20 g	jód	10,00–80,00 µg
sírany	0,10 g	mangan	12,00–25,00 µg
laktáty	0,02 g	kobalt	0,20–1,40 µg

Minerální látky se do mléka přenášejí z krve. Proces přestupu minerálních látek z krve do mléka není jednoduchý a probíhá v jiné míře pro různé minerály. Porovnáním minerálních látek v krevní plazmě a mléce bylo zjištěno, že v krevní plazmě převládá sodík a vápník, draslík a kyselina citronová jsou jen v malém množství. Naopak v mléce je majoritní draslík, vápník a kyselina fosforečná, ale sodíku je značně méně [2].

Obsah minerálních látek v mléce je jejich důležitým zdrojem pro mláďata (např. střevní stěnou snadno vstřebatelný vápník). Dále jsou potřebné pro chod stabilizačních acidobazických rovnováh v mléce potřebných ke stabilnímu pH mléka (hlavně K, Na a Ca) a k udržení osmotického tlaku (pomocí K, Na a laktózy) [2].

2.2.5 Nebílkovinný dusík

Řadíme sem dusíkaté sloučeniny, které zůstávají v roztoku (syrovátce) po vysrážení bílkovin mléka - volné aminokyseliny, kyselinu močovou, kreatin, nukleotidy, vitamíny skupiny B, amoniak, sulfokyanid, močovina atd. Obsah těchto látek je v mléce stabilní. Vychýlením z obvyklých hodnot se indikuje onemocnění dojnice [2].

2.3 Čerstvé sýry

Tato práce je zaměřena na výrobu sýrů čerstvých, proto jim bude věnována v následujících kapitolách hlavní pozornost. Vyhláška č. 274/2019 Sb. uvádí, že jako „čerstvý sýr“ lze označit nezrající sýr, včetně nezrajících sýrů termizovaných [5].

Sýr je z chemického hlediska emulze přímá neboli typu „olej ve vodě“ (O/V). Znamená to, že jako disperzní prostředí slouží polárnější kapalina (voda nebo vodný roztok). Jako „olej“ je brána nepolární fáze jakékoliv konzistence. Emulze je suspenze kapiček (větších než 0,1 µm) jedné nemísitelné tekutiny rozptýlené v jiné tekutině. Pro vytvoření emulze je potřeba, aby byl přítomen emulgátor. V případě sýrů a mléka slouží jako emulgátor mléčné fosfolipidy (lecithin) [6].

Čerstvé sýry se vyrábí kyselým nebo tzv. kombinovaným srážením. Mnohdy se jedná o sýry jemné až neutrální chuti. Typově sem řadíme žervé, tvarohové sýry, mozzarellu, brazilský sýr Minas, mexický Queso Chihuahua a mnoho dalších. Čerstvé sýry jsou jednoduché na přípravu, ale každá země, případně i každý region, má svůj vlastní tradiční postup a příchutě. Kromě příchutě (koření) se mohou čerstvé sýry lišit i v typu použitého mléka (kravské, kozí, buvolí, ovčí, velbloudí atd.) [7] [8].

2.3.1 Těkavé (aromatické) látky v čerstvých sýrech

Ve studii Gutiérrez-Peña a kol. [9] bylo nalezeno v čerstvém sýru 81 těkavých látek: 17 kyselin, 17 alkoholů, 16 ketonů, 7 aromatických složek, 8 esterů, 5 alifatických uhlovodíků, 2 sirné sloučeniny, 1 terpen, 3 aldehydy a 5 laktonů. Z toho byly nejobsáhlejší byly kyseliny (39,7 %) a následovaly alkoholy (29,7 %). U jiného sýru vyšel obsah alkoholů až na 48,0 % a obsah ketonů 33,2 %. Oba sýry obsahovaly malé množství arenů (1,2–3,0 %). V sýrech bylo také detekováno množství esterů a alifatických uhlovodíků (0,6–2,1 %). Sirná sloučenina byla identifikována pouze 1 ve velmi nízké koncentraci (0,06–0,15 %). Aldehydů a laktonů bylo odhaleno početně podobně jako procentuálně majoritních látek, ale kvantitou jich bylo velice málo (pouze 0,2–0,3 %). Nejhojnějšími kyselinami s krátkým uhlíkatým řetězcem byly kyselina octová a 3-methylbutanová. S naopak delším řetězcem byly identifikovány ve větší míře kyselina hexanová a oktanová. Z alkoholů byly naměřeny vysoké koncentrace 3-methyl-1-butanolu a 2-butanolu. Z ketonů byly ve významném množství detekovány 3-hydroxy-2-butanon a 2-butanon. Byly identifikovány i aromatické sloučeniny jako p-xylen, toluen a benzylalkohol. Dále byly nalezeny i estery (ethylacetát a ethylhexanoát), laktony (δ -oktalakton a δ -dekalakton). Identifikovanými aldehydy byly dekanal a 4-heptanal. Kromě jmenovaných hlavních skupin bylo detekováno i množství látek, které byly shrnuty do skupiny jiné látky (např. pentadekan, 2-ethylthioethanol a farnesol) [9].

2.3.2 Mastné kyseliny v čerstvých sýrech

Obsahem mastných kyselin v čerstvých sýrech se zabývali Moneeb a kol. [10]. Lidé si začali všimnout tuku v čerstvých sýrech, a to nejen z hlediska nutričního, ale i zdravotního. Je známo, že při vysokém příjmu kyseliny laurové C12:0, myristové 14:0 a palmitové C16:0 roste riziko kardiovaskulárních chorob. Všechny tyto 3 kyseliny se přirozeně vyskytují v mléce. Na druhou stranu mohou obsahovat mléčné výrobky nenasycené omega-3 a omega-6 mastné kyseliny, které mají kladný vliv na zdraví člověka i konkrétně na prevenci proti kardiovaskulárním chorobám. Složení čerstvého sýru ve větší míře závisí na složení použitého mléka, které je velice ovlivněno stravováním hospodářských zvířat. Zastoupení mastných kyselin se proto může lišit v sýrech vyrobených stejnou cestou, ale z jiného mléka. V této studii byly porovnány sýry vyrobené z mléka krav krmených na pastvině (P) a sýry vyrobené z mléka krav krmených monotravní směsí (MS). V čerstvém sýru z mléka krav P byl identifikován nižší obsah kyseliny laurové C12:0, myristové C14:0 a palmitové C16:0 než v sýru z mléka krav MS. Nejvíce zastoupená byla kyselina palmitová, která je běžně nejobsáhlejší složkou mléka i sýrů vyrobených z mléka savců. Bylo zjištěno, že suplementací stravy savců přísadkou mastných kyselin s dlouhým řetězcem se zvýší množství mastných kyselin s dlouhým řetězcem i v mléce. Kyselina stearová C18:0 nemá žádný vliv na hladinu cholesterolu LDL (lipoproteiny s vyšším

obsahem tuku než bílkovin) v plazmě. Bylo však zjištěno, že konzumací potravin s vysokým obsahem C18:0 byla snížena hladina celkového cholesterolu v krvi. U přežvýkavců se vyrábí trans mastné kyseliny biohydrogenací linolové (C18:2) a linolenové (C18:3) kyseliny v bachoru, a proto se tyto kyseliny mohou objevit v mléce a čerstvých sýrech. Hydrogenované tuky jsou však zdraví škodlivé a zvyšují obsah cholesterolu LDL v krvi. Byly taktéž detekovány polynenasycené mastné kyseliny s dlouhými uhlíkatými řetězci, které mohou být taktéž syntetizovány v těle hospodářských zvířat pomocí enzymu delta-6-desaturázy z linolové kyseliny (C18:2). Sýry vyrobené z mléka krav P, byly bohatší na omega-6 mastné kyseliny. Pro člověka jsou však kyseliny linolová (C18:2) a α -linolenová (C18:3) esenciální a musíme je přijímat v potravě. Výhodou těchto kyselin je, že mohou být v lidském těle konvertovány na zdraví prospěšné omega-3 a omega-6 mastné kyseliny desaturací a elongací. U sýrů z mléka krav P byl identifikován i vyšší obsah těchto polynenasycených mastných kyselin. Cílem je v dnešní době nahradit nezdravé nasycené mastné kyseliny (C12:0, C14:0 a C16:0) za zdravé polynenasycené mastné kyseliny [10].

2.3.3 Senzorická kvalita čerstvých sýrů

Senzorické vlastnosti sýru jsou nejdůležitějšími atributy při výběru spotřebitele. To, jak sýr vypadá, jak chutná, voní a celkově chutná je stěžejní pro prodej. Senzorické vlastnosti sýrů jsou rozděleny do tří základních kategorií, a to jsou vzhled, flavour a textura. Každý sýr má svůj specifický senzorický profil [11].

2.3.1.1 Vzhled

Pod pojmem vzhled se z velké části ukrývá barva potravin. Fyzikálně je barva směsí záření o různých vlnových délkách. Je to tedy část spektra viditelného záření, které je odraženo předmětem. Pozorovatel tento odraz posuzuje po zhlédnutí okem a jeho vyhodnocení ve zrakovém ústrojí. Barvu je možné popsat pomocí tří základních vlastností, které hodnotíme: odstín, jas a sytost. Pomocí odstínů od sebe rozlišujeme jednotlivé barvy. Jas udává vlastnost barvy na pomyslné stupnici tmavá až světlá (na stupnici je 0 = černá a 100 = bílá). Sytostí se pak rozumí, kde se barva pohybuje na stupnici mezi přechodem od neutrální šedé až po čistý odstín [12].

2.3.1.2 Flavour

Pojem flavour zahrnuje těkavé i netěkavé látky, které se ze sýra snadno uvolňují. Tyto uvolněné látky stimulují čichové a chuťové receptory hodnotitele. Obecně za flavour potravin považujeme její vůni a chuť. Působením flavourem dochází taktéž k chemické stimulaci, tzv. chemestézi, kdy jsou chemickými látkami drážděny kůže a sliznice. Před samotnou konzumací cítíme vůni (aroma), které stimuluje čichové buňky a má velký vliv na vnímání sýru jako celku. Toto aroma je z velké části tvořeno těkavými látkami, kterých mohou být v jednom výrobku až stovky a utváří celkový charakter sýru. Po vložení vzorku do úst jsou stimulovány chuťové buňky pomocí většinou netěkavých složek potravin. Tyto netěkavé složky mohou být například minerální látky (solí), různé kyseliny, bílkoviny a peptidy. Základní rozeznávané chutě jsou sladká, kyselá, slaná, hořká a „umami“. Dále se u sýrů mohou posuzovat další chutě, které mohou být žádoucí či nežádoucí, a to krémová, máslová, syrovátková, chuť po různých zapáchajících sloučeninách (amoniak, síra a diacetyl) [11].

2.3.1.3 Textura

Textura jsou všechny mechanické, geometrické a povrchové vlastnosti výrobku vnímatelné prostřednictvím mechanických, hmatových, případně zrakových a sluchových receptorů. Ke stanovení parametrů textury se používají hmatové receptory nejen dutiny ústní (včetně jazyku a zubů), ale i hmatové receptory rukou a prstů. Sledujeme tak chování vzorku a posuzujeme jeho vlastnosti. Mezi mechanické vlastnosti řadíme tvrdost, soudržnost (kohezi), žvýkatelnost, rozpadavost (gumovitost), viskozitu, pružnost a přilnavost (adhezi). Mezi geometrické vlastnosti patří zrnitost a uspořádání částic. Nejvýznamnější povrchovou vlastností je tučnost [12].

Tabulka č. 3: Základní texturní parametry a termíny pro jejich popis; druhotné parametry a jejich vztah k základním parametrům [12]

Základní parametry	Popisné termíny
tvrdost	měkký, pevný (tuhý), tvrdý
soudržnost	lámavost (lámavý, praskavý, křehký, křupavý, drobivý); žvýkatelnost (poddajný, žvýkatelný, houževnatý); gumovitost (krátký, moučnatý, pastovitý, gumovitý)
viskozita	tekutý, řídký, viskózní (hovorově hustý)
pružnost	plastický, tvárný, elastický, pružný
přilnavost	lepkavý přilnavý, lepivý
Druhotné parametry	Vztah k základním parametrům
lámavost (křehkost)	tvrdost a soudržnost (křehké výrobky – nízká soudržnost, tvrdost různá)
žvýkatelnost	tvrdost, soudržnost, pružnost
gumovitost	tvrdost a soudržnost u polotuhých potravin s nízkou tvrdostí

2.3.4 Sýrový analog

Sýrovým analogem označujeme produkt vyrobený podobným postupem jako sýr, ale oproti sýru obsahuje ještě náhražku za mléčné složky. Původně byly náhražky levnější než mléko, a tudíž šlo o snahu snížit cenu výrobku. V dnešní době už si lidé zakládají na kvalitním složení potravin a do sýrů se přidávají i dražší složky bohaté na vitaminy, nenasycené mastné kyseliny, minerály a spoustu dalších látek [13].

Nahrazení určitého podílu mléčných složek např. přidávkem bylinek vznikne sýr s nižším obsahem tuku i cholesterolu, což je žádoucí pro spotřebitele s nízkotučnou dietou. Naopak ale roste i poptávka po sýrech bohatších na nenasycené mastné kyseliny, proto se do sýrů přidávají oleje rostlinného i živočišného původu. Kromě zvýšení nutriční hodnoty výrobku se dá přidávkem oleje ovlivnit výsledná struktura výrobku [13].

2.4 Výroba čerstvých sýrů

Sýr se vyrábí už od nepaměti. Při výrobě sýra dochází ke koncentraci nutričně významných složek mléka a zároveň proběhne i částečná konzervace. Obměnami výrobního procesu můžeme dosáhnout nespočetného množství druhů sýra lišících se v konzistenci, barvě, vůni a chuti [14].

Sýry se vyrábí z mléka, jež je základní surovinou. Kvalita mléka určuje kvalitu výsledného výrobku. Pro získání mléka dostatečně vhodného na výrobu sýra je potřeba zajistit kvalitní prostředí a výživu samotných dojníc. Výživa přímo ovlivňuje nutriční složení mléka. [1] [3]

Kromě mléka je dalším důležitým faktorem i způsob srážení (koagulace) kaseinových bílkovin. Ty mohou být koagulovány kyselým, kombinovaným nebo sladkým srážením. Po vysrážení kaseinových bílkovin se vzniklá sýřenina dále zpracovává [14].

U čerstvých sýrů je typické, že se sýr ihned po výrobě dochutí, případně i zakonzervuje a bez zrání putuje na trh [14].

2.4.1 Kyselé srážení

Principem kyselého srážení, jež bylo aplikováno v této práci, je snížení pH mléka na izoelektrický bod kaseinu ($\text{pH} = 4,6$), čímž dojde k jeho vysrážení [15].

Při použití kyselého srážení se do mléka přidá kyselina, používají se organické kyseliny, ale i středně silné anorganické kyseliny. Mezi nejpoužívanější organické kyseliny se řadí kyselina octová, citronová, propionová a jablečná. Nejčastěji je to však kyselina mléčná produkovaná bakteriemi mléčného kvašení (BMK) [11].

Za anorganické kyseliny použitelné při výrobě se považují kyselina chlorovodíková a kyselina sírová [15].

Jednu z hlavních rolí hraje i teplota. Při isoelektrickém bodu kaseinu okolo $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se sráží všechny 4 frakce kaseinu ($\alpha_{\text{S1-}}$, $\alpha_{\text{S2-}}$, β - a κ -kasein), ale při teplotě pod $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ zůstávají více či méně v roztoku. Platí přímá úměra, kdy se zvýšením teploty se tvoří sraženina rychleji a je hrubší, při vyšších teplotách gumovitější. Nejvíce kaseinu se vysráží při $\text{pH} 4,2\text{--}4,6$ při teplotě $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ [16].

Do této skupiny sýrů patří průmyslový tvaroh a tvarohové čerstvé sýry [17].

2.4.2 Sladké srážení

Při sladkém srážení vzniká sraženina vzhledově identická, jako by vznikla kyselým srážením. Rozdíl je však v tom, že během sladkého srážení se nemění kyselost mléka a koagulace probíhá díky činnosti enzymů přítomných v syřidle [1].

Sýření probíhá ve výrobníku při teplotě $30\text{--}33\text{ }^{\circ}\text{C}$ a je dokončeno za 40–60 minut po přidání syřidla, promíchání a ustálení mléka. V důsledku destabilizace proteinů se vytvoří koagulum (= sýřenina) [17].

Všechna syřidla jsou proteolytické enzymy (proteázy) s optimem proteolýzy v kyselé oblasti pH. Vybírají se enzymy s malou substrátovou specifitou a s vysokou schopností koagulace sladkého mléka. Hlavním substrátem je κ -kasein, ostatní frakce kaseinu jsou přítomny během koagulace v téměř nezměřitelném množství. Původním základním syřidlem je chimozinové syřidlo získávané z žaludků sajících telat. Produkce sýrů však rostla a zdroje chimozinu začaly být nedostačující, proto se dnes často nahrazuje jinými proteázami živočišného a mikrobiálního původu (hovězí a vepřový pepsin) [16].

Samotné sladké srážení se při výrobě čerstvých sýrů prakticky nepoužívá, používá se v kombinaci se srážením kyselým [17].

Proces sladkého srážení se rozděluje do 3 fází: primární (enzymovou), sekundární (koagulační) a terciární [1].

2.4.2.1 Primární (enzymová) fáze

V primární fázi probíhá částečná proteolýza (enzymatické štěpení) peptidové vazby κ -kaseinu mezi 105. a 106. aminokyselinou (tedy mezi fenylalaninem a methionimem). κ -kasein je rozštěpen na dvě část: para- κ -kasein a glykomakropeptid (GMP). Para- κ -kasein má hydrofobní charakter a vysokou afinitu ke zbývajícím frakcím kaseinu. V přítomnosti vápenatých iontů se tudíž vysráží i se zbylými frakcemi kaseinu. GMP nevykazuje žádnou afinitu k ostatním frakcím kaseinu, je vysoce polární a rozpustný ve vodě a vápenatých roztocích. GMP i část vápenatých iontů přechází do syrovátky. Dochází ke ztrátě schopnosti stabilizace ostatních frakcí kaseinu pomocí κ -kaseinu, neboť v této fázi je hydrolyzováno už 80–90 % κ -kaseinu a jeho dvě frakce tuto schopnost již nemají. Zbývajících kaseiny (α_{S1} -, α_{S2} -, β -) však v primární fázi proteolýze nepodléhají [1] [16].

2.4.2.2 Sekundární (koagulační) fáze

Během sekundární fáze se v přítomnosti vápenatých iontů vysráží všechny frakce kaseinu. Proběhne proces flokulace (vyvločkování) a vznikne tak trojrozměrná struktura gelu. Para- κ -kasein je zde velmi významný, protože spojuje nově vzniklé micelární útvary. Pro průběh sekundární fáze jsou rozhodující vhodné podmínky pro průběh, a to je teplota alespoň 20 °C a dostatečná přítomnost volných vápenatých iontů. Vápenaté ionty snižují záporný náboj micel, čímž se zrychluje agregace destabilizovaných micel. Následuje synereze, což je smršťování gelu sýřeniny za současného vylučování syrovátky. Synereze a tudíž i uvolňování syrovátky je podpořeno zvýšením teploty až na 53 °C a krájením sýřeniny na sýrové zrno. Zároveň zvýšením koncentrace Ca^{2+} iontů a CCP se zrychluje koagulace v primární i sekundární fázi a zrychluje synerezi [1] [16].

2.4.2.3 Terciární fáze

V terciární fázi pokračuje proteolýza kaseinu působením zbytkového množství syřidlových enzymů v sýřenině. Tato fáze je vnímána jako negativní, protože během ní vznikají hořké peptidy a vznikají ztráty uvolněním rozpustných peptidů z kaseinu do syrovátky. Zbytkový obsah syřidla je proto potřeba minimalizovat a je možné jej ovlivnit správně volenou dávkou syřidla [16].

2.4.3 Kombinované srážení

Při výrobě kombinovaně srážených sýrů se používají syřidla a čisté mlékařské kultury (dále jen ČMK). Tyto ČMK se přidávají k mléku ve formě cca 1% zákysu nebo ve formě kultur k přímému zaočkování za stálého míchání 30–45 minut před sýřením. V mléce sice jsou před zpracováním mikroorganismy zajišťující mléčné kvašení, avšak ty jsou inaktivovány při pasteraci společně s patogenními zárodky. Z tohoto důvodu se posléze musí do mléka přidávat. Sladké srážení (přídavek syřidla) zde funguje jako doplněk srážení kyselého, pro zlepšení vlastností konečného produktu [17].

2.5 Rybí olej

Rybí olej neboli rybí tuk se získává z tučných ryb a z jater netučných ryb. Běžně používané jsou syrové sardinky, ančovičky, sledi, makrely, lososi a tuňáci a tresčí játra. Dostupný je i olej ze žraločích jater. Rybí tuk určený k lidské spotřebě musí vyhovovat hygienickým předpisům. Rozdíl mezi rybím olejem a ostatními oleji je hlavně v obsahu unikátní a široké škály mastných kyselin. Je to skvělý zdroj polynenasycených mastných kyselin, hlavně omega-3 mastných kyselin s dlouhými řetězci, taktéž nazývané n-3 mastné kyseliny. Množství a rozmanitost mastných kyselin v rybím oleji se odvíjí od druhu ryby. Dále záleží na životním stádiu ryby, na místě, kde byla vylovena, na teplotě oceánu, dostupnosti potravy atd. [18].

Hlavní esenciální omega-3 nenasyčené mastné kyseliny: α -linolenová (ALA), eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA), jsou v poslední době značně sledovány. Kyselina α -linolenová je prekurzorem pro EPA i DHA. Epidemiologické a dietetické studie naznačují, že konzumace omega-3 polynenasycených mastných kyselin má pozitivní dopad na zdraví člověka. Mezi pozorované účinky se řadí protirakovinná aktivita, protizánětlivé účinky, snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění, prevence osteoporózy a neurologických poruch (např. deprese, poruchy pozornosti, hyperaktivita a demence) [19].

2.6.1 Výroba rybího oleje

Rybí olej se získává mnohdy jako vedlejší produkt výroby rybí moučky. Pro výrobu se používají buď celé syrové ryby, nebo zbytky syrových ryb ze zpracovatelského průmyslu. Složení a oxidační stav surového rybího oleje závisí na složení a oxidačním stavu suroviny. Výroba zahrnuje tři fáze: extrakce oleje ze suroviny, separace surového oleje a rafinace oleje [18].

2.6.1.1 Extrakce oleje

Vše začíná dovezením suroviny (ryb a odřezků) na místo zpracování. Častokrát probíhá výroba ve stejné budově jako výroba zpracovatelského průmyslu, aby nedocházelo ke zbytečnému prodloužení manipulace s odřezky. Surový materiál musí být zpracován do 36 hodin od ulovení. Ryby a odřezky se umístí do speciálních nádob tvořících uzavřený systém, ve kterých se suroviny dusí párou při teplotě 90–95 °C přibližně 10–20 minut. Během tohoto procesu dochází k denaturaci bílkovin a narušení buněčných membrán, čímž se uvolňuje vázaná voda a olej [18].

2.6.1.2 Separace oleje

Celý uvařený obsah nádoby se přemístí do šroubového lisu, díky kterému se oddělí kapalná fáze (složená z vody, rozpuštěných surovin a oleje) od pevné fáze (zbývající koláč z lisování, který obsahuje z 60–80 % bezolejový suchý podíl používaný dále při výrobě rybí moučky). Oddělení jednotlivých složek kapalně fáze probíhá na základě jejich odlišné hmotnosti několika centrifugacemi. Před začátkem centrifugace se kapalná fáze zahřeje opět na teplotu 90–95 °C. Dále se nerozpuštěné pevné částice oddělí dekantací v horizontální odstředivce a jsou přidány ke koláči z lisování. Olejová a vodná fáze se přelijí do vertikální odstředivky odkud surový rybí olej putuje přímo do uskladňovacích nádrží [18].

2.6.1.3 Rafinace oleje

Surový rybí olej je transportován do rafinérie k dalšímu zpracování. Při přejímce oleje je olej ihned zanalyzován ještě před vpuštěním do skladovacích nádrží. Rafinace se provádí s cílem odstranit z oleje nežádoucí složky nevhodné pro spotřebitele i pro proces dalšího zpracování. Během rafinace se musí postupovat opatrně, aby nedošlo k poškození složek rybiho oleje. Surový olej obsahuje množství látek, které vyváří nežádoucí chuť, vůni a barvu, jako například zbytky bílkovin, vody, pigmentů, volných mastných kyselin, fosfolipidů o produkty oxidace lipidů. Rafinace se provádí chemickými metodami jako jsou usazování a odslizení, odkyselování, bělení, deodorizace, přidavek antioxidantů [18].

Usazováním se odstraní případné zbytky vody, bílkovin a fosfolipidů. Odslizení může a nemusí být do výroby zahrnuto. Používají se vodné roztoky buď kyselin, nebo solí při teplotě 30–100 °C k odstranění jak rozpustných, tak i nerozpustných nečistot. Typicky se používá kyselina fosforečná nebo citronová. Olej se oddělí centrifugací [18].

Odkyselování se provádí vodným alkalickým roztokem k odstranění volných mastných kyselin a snižuje se tím i kyselost oleje. Použití zásad však může zanechat rezidua v oleji, a proto existují i alternativní metody využívající superkritických tekutin (tekutin, jejichž teplota a tlak jsou nad kritickým bodem) s membránovými a enzymatickými procesy [18].

Odkyselený olej se následně zahřeje na 80–85 °C a smíchá se s aktivním uhlím. Tímto krokem se odstraní zbytky mýdel, stopových množství kovů, sloučenin síry, nejstabilnější pigmenty a produkty rozkladu pigmentů. Aktivní uhlí odstraňuje taktéž organické kontaminanty (dioxiny, furany a polychlorované bifenyly). Během tohoto kroku se převádí také hydroperoxydy na příslušné aldehydy, ketony a další produkty [18].

Nakonec se provádí deodorizace, aby se odstranily volné mastné kyseliny, aldehydy a ketony, které stojí za nepříjemným pachem a chutí. Nabízí se metoda stripování² za vysokých teplot (190–210 °C) a nízkého tlaku (2–5 hPa) stripovacím plynem. Problémem je však vysoká teplota, kdy omega-3 mastné kyseliny vystavené teplotám nad 180 °C mohou tvořit polymery, izomery a cyklické monomery a jiné nežádoucí sloučeniny. Alternativní metoda je vakuová destilace parou při nízkých teplotách a následná separace v koloně se silikagelem. Použitelná je i adsorpce na pryskyřice [18].

² Stripování je proces, kterým jsou z kapaliny odváděny proudícím plynem těkavé látky.

2.6.2 Vlastnosti rafinovaného rybího oleje

Znalost vlastností rafinovaného oleje je velmi důležitá, protože z těchto informací se odvíjí cena a míra možného použití. Rybí tuk je hlavním zdrojem polynenasycených mastných kyselin (PUFA), obzvláště omega-3 PUFA jako jsou kyseliny eikosapentaenová (EPA) a dokosaheptaenová (DHA), které mají protizánětlivé účinky a chrání tkáň díky svým metabolitům (např. eikosanoidům), které patří k signalizačním molekulám a ovlivňují nejen záněty, ale i svalové stahy, srážení krve či vnímání bolesti. Bylo taktéž prokázáno, že omega-3 mastné kyseliny podporují rozvoj mozku a sítnice a snižují riziko kardiovaskulárních chorob a rakoviny. Jelikož jsou ale omega-3 mastné kyseliny esenciální, je potřeba je přijímat v potravě. Hojně se vyskytují právě v mořských plodech, rybách a výrobcích bohatých na rybí olej. Problémem získaného surového rybího oleje je obsah spousty nečistot, těžkých kovů a závadných organických látek. Konzumací surového oleje by mohlo dojít až k narušení reprodukčního a endokrinního systému člověka. Je proto nutné rybí olej rafinovat (čistit), abychom získali produkt určité kvality (viz předchozí kapitola 2.6.1.3), která splňuje podmínky Codex Alimentarius Committee [18] [20].

Ve studii Zhang a kol. [20] bylo analyzováno složení surového i rafinovaného rybího oleje metodou GC-FID po převedení oleje na methylestery mastných kyselin, stejně jako v této bakalářské práci. Bylo taktéž stanoveno číslo kyselosti, jodové číslo a peroxidové číslo. U surového oleje vyšlo číslo kyselosti mnohonásobně vyšší než u rafinovaného oleje. Peroxidové číslo surového oleje více než dvojnásobně převyšovalo hodnotu rafinovaného oleje. Naopak jodové číslo bylo větší u rafinovaného oleje než u surového. Číselné hodnoty jsou shrnuty v tabulce č. 4 [20].

Tabulka č. 4: Čísla kyselosti, peroxidové a jodové pro surový a rafinovaný rybí olej [20]

Číslo	Surový rybí olej	Rafinovaný rybí olej
kyselosti [mg KOH · g ⁻¹ tuku]	5,52 ± 0,12	0,29 ± 0,11
peroxidové [meq · kg ⁻¹]	1,73 ± 0,51	0,76 ± 0,25
jodové [g I · 100 g ⁻¹ tuku]	200,78 ± 24,98	210,80 ± 8,52

Rozdíly v kvalitě surového a rafinovaného oleje jsou obrovské. Kromě vyššího obsahu kyslíku byly v surovém rybím oleji detekovány polychlorované bifenyly (32,30 μg · kg⁻¹), kdežto v rafinovaném oleji nebyly detekovány. Dále byl v surovém oleji identifikován arsen (1,00 μg · kg⁻¹), ale v rafinovaném oleji nebyl žádný detekován. Na druhou stranu nebyl v ani jednom oleji identifikován žádný dichlorodifenyltrichlorethan (DDT), olovo ani rtuť [20].

Obsah mastných kyselin byl u rafinovaného oleje ve všech případech nižší oproti surovému oleji. Mezi majoritní detekované nenasycené mastné kyseliny patřily: kyselina palmitová, kyselina myristová a kyselina palmitová. Celková koncentrace všech nasycených mastných kyselin byla v surovém oleji (21,03 ± 1,21) g · 100 g⁻¹ a v rafinovaném oleji (19,73 ± 1,06) g · 100 g⁻¹. Mezi majoritní mononenasyčené mastné kyseliny se řadily u obou olejů kyseliny olejová a palmitoolejová. Celková koncentrace všech mononenasyčených mastných kyselin byla v surovém oleji (17,01 ± 0,62) g · 100 g⁻¹ a v rafinovaném oleji

(16,21 ± 0,40) g · 100 g⁻¹. Bylo identifikováno značné množství polynenasycených mastných kyselin, z nichž majoritní omega-3 kyseliny byly dokosaheptaenová (DHA) a eikosapentaenová (EPA) a majoritní omega-6 mastná kyselina byla linolová. Celková koncentrace všech polynenasycených mastných kyselin byla v surovém oleji (29,77 ± 2,02) g · 100 g⁻¹ a v rafinovaném oleji (27,41 ± 1,01) g · 100 g⁻¹, z toho byla koncentrace omega-3 mastných kyselin v surovém oleji (26,56 ± 1,18) g · 100 g⁻¹ a v rafinovaném oleji (24,57 ± 0,78) g · 100 g⁻¹ [20].

2.6.3 Oxidace a zachování stability oleje

Povědomí o kladných zdravotních dopadech omega-3 nenasycených mastných kyselin se zvyšuje a roste poptávka po potravinách a nápojích obohacených o EPA a DHA. Nicméně omega-3 polynenasycené mastné kyseliny jsou velmi náchylné k oxidaci i k silnému zápachu. Tento zápach má pak vliv na celý flavour (vnímání chuti a vůně). To jsou hlavní nevýhody potravin obsahujících rybí olej. Tyto problémy s oxidací lze překonat pomocí technologie zvané mikroenkapsulace, kdy jsou kapičky oleje potaženy látkou, která zabrání přístupu vzduchu, a tudíž zabrání i oxidaci. Pro dosažení ještě lepších výsledků se přidávají i antioxidanty [21].

Hojně využívanými metodami potahu kapiček oleje jsou např. sprejové sušení a fluidace. K potažení kapiček oleje se používá základní směs, která se skládá z funkční složky (tvořící emulzi a následně i potahový film) a ze sypké složky. Jako sypkou složku je vhodné použít sacharidy s nízkou molekulovou hmotností, které snižují propustnost kyslíku, a tím zvyšují stabilitu obalovaného oleje. Zajímavější je jiný způsob mikroenkapsulace, a to je obalování kapiček oleje želatinou z ryb, kaseináty a dextriny. V dnešní době lze použít i další mléčné bílkoviny, gumy rostlinného původu a modifikované škroby. Byla dokonce patentována metoda použití arabské gumy přímo na mikroenkapsulaci esterifikovaných polynenasycených mastných kyselin. Prvním krokem při mikroenkapsulaci je příprava emulze na obalení kapiček zpravidla smícháním všech sypkých složek s vodnou fází. V závislosti na metodě se směs aplikuje na olejové kapičky [22].

2.6.3.1 Mikroenkapsulace sprejovým sušením

Sprejové sušení emulze vzduchem nemá v mikroenkapsulaci rybího oleje pro lidskou spotřebu uplatnění, protože při sušení vzduchem dochází k autooxidaci tuků. Produktů autooxidace je sice pouze malé množství, ale i tato tenká vrstva má za důsledek neakceptovatelnou pachut'. Řešením může být sušení inertním vzduchem. Nedávno bylo však zjištěno, že větší vliv na autooxidaci lipidů během sprejového sušení má kyslík přítomný v základní směsi než ve vzduchu [22].

2.6.3.2 Mikroenkapsulace pomocí technik využívajících proteiny a biopolymery

Při této metodě dochází ke gelovatění za použití emulze z želatiny a cukru. Kapičky této emulze jsou zachytávány ve škrobu, aby se jím obalily a následně jsou zahřívány, aby se vytvořila tužší želatinová konzistence. Částičky této želatiny se usuší vzduchem a pomocí fluidace se aplikují na kapičky oleje ve třech vrstvách [22].

2.7 Možnosti stanovení mastných kyselin a těkavých (aromatických) látek

2.7.1 Stanovení mastných kyselin v čerstvých sýrech

Vhodnou metodou pro stanovení MK v čerstvých sýrech je plynová chromatografie s plamenově-ionizační detekcí GC-FID (Gas Chromatography-Flame Ionization Detector), a to díky vysoké citlivosti této metody. Kvalitativní stanovení bylo uskutečněno porovnáním retenčních časů píků se standardy. Kvantitativní stanovení proběhlo výpočtem koncentrací MK pomocí ploch píků. Tato metoda stanovení MK byla použita i ve studii publikované roku 2011 [9].

Plynová chromatografie je separační metoda, kterou se dělí a stanovují plyny, kapaliny i pevné látky s bodem varu do cca 400 °C. Základním procesem je rozdělení koncentrace analytu mezi stacionární a mobilní fázi na základě adsorpce a rozpouštění, kdy je rozdělení jevů rovnovážné [23].

Plynová chromatografie využívá plyn jako mobilní fázi, která se pohybuje díky tlakovému spádu. Stacionární fáze je zpravidla uspořádána v koloně. U náplňových kolon bývá stacionární fáze většinou pevná látka (silikagel, oxid hlinitý, aktivní uhlí atd.), výjimkou však není ani vysokovroucí kapalina nanesená v tenké vrstvě na vnitřní stěnu křemenné kapiláry [24].

Vzorek se nastříkne přes septum do nástřikové komory (tzv. injektoru), která už byla vyhřátá buď před nástřikem, nebo se vyhřeje až po nástřiku. Zahříváním se začnou vypařovat těkavé látky, které putují pomocí proudu nosného plynu do kolony. Jako nosný plyn se používá inertní plyn, který s jednotlivými látkami nereaguje (např. dusík, vodík a helium). Těkavé látky se při průchodu kolonou částečně adsorbují na stacionární fázi a prochází svou specifickou rychlostí pro každou látku. Tato rychlost je dána tzv. distribuční konstantou K_D dané složky, což je poměr jejich koncentrací ve stacionární a mobilní fázi. Látky vychází postupně z kolony od látek s nejnižší K_D až nakonec po látky s nejvyšší K_D a putují k detektoru [24].

Plamenově-ionizační detektor (FID) detekuje látky obsahující vazbu uhlík-vodík (C-H), tudíž se používá pro detekci organických látek. FID obsahuje plamínek hořícího vodíku (H_2 je palivo), do kterého proudí oxidovadlo ve formě vzduchu. Organické látky přicházející z kolony se štěpí teplem plamínku na radikály $-CH\cdot$ a pomocí vzduchu se oxidují na ionty CHO^+ . Detektor obsahuje dvě elektrody, které měří proud na základě vodivosti vzniklých iontů. K iontům se přivádí ještě pomocný plyn (dusík), který zvyšuje detekovaný proud mezi elektrodami. S rostoucím počtem uhlíkových atomů v molekule roste odezva. S rostoucím počtem heteroatomů však odezva klesá. FID neposkytuje odezvu na permanentní plyny (O_2 , N_2 , H_2 a CO) [25].

2.7.2 Stanovení těkavých (aromatických) látek v čerstvých sýrech

Ke stanovení těkavých (aromatických) látek byla použita analytická metoda HS-SPME-GC-MS (Headspace-Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry).

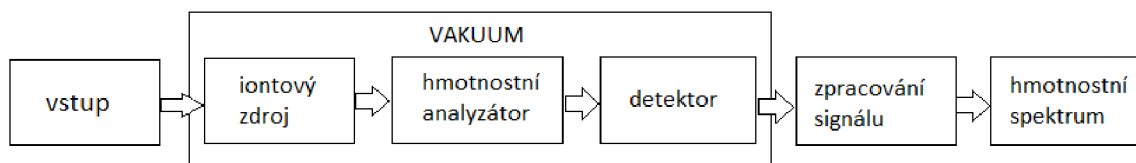
Část HS-SPME pojmenovává mikroextrakci plynného vzorku pevnou fází. Mikroextrakce v tomto případě probíhá na sorpčním křemenném vlákně s modifikovaným povrchem. Toto

vlákno slouží jako stacionární fáze, je dlouhé cca 1 cm a má průměr zhruba 1 mm. Podle materiálu, ze kterého je vlákno vyrobeno, dochází buď k adsorpci (navázání látky na povrch) nebo absorpci (navázání látky dovnitř) analytu. Vlákno je ponecháno v kontaktu s plynem tak dlouho, než se ustanoví rovnováha mezi vzorkem (plynem) a sorpčním materiálem. Pro sorpci polárních látek se používá materiál polárního charakteru a pro nepolární látky zase materiál nepolárního charakteru. Použití je rychlé, jednoduché a účinné. Hlavní výhodou je, že není potřeba použít žádné rozpouštědlo. Vlákno se vsune do zásobní nádoby s plynným vzorkem, který se sorbuje na křemenné vlákno. Po sorpci se vlákno přesune do injektoru, kde dojde k desorpci teplem (u GC) případně desorpci rozpouštědlem (u LC) [26].

Plynová chromatografie (GC) byla popsána již v kapitole 2.7.1. V případě stanovení těkavých látek se však využívá jiného druhu detekce, a tím je hmotnostní spektrometrie.

Hmotnostní spektrometrie je metoda určování hmotností atomů, molekul a jejich částí po jejich převedení na různě nabitě ionty ionizací v plynné fázi. Tyto ionty se dále rozlišují pomocí poměru hmotnosti a náboje (m/z) a také pomocí relativních intenzit jednotlivých iontů. Hmotnost analyzovaného iontu se vyjadřuje v jednotkách u, přičemž platí, že 1 u se rovná hmotnosti 1/12 nuklidu ^{12}C [25].

Hmotnostní spektrometr se skládá ze vstupu, iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru, detektoru a zařízení pro zpracování signálu a jeho převedení na hmotnostní spektrum [23].



Obrázek č. 1: Schéma hmotnostního spektrometru

K převedení neutrálních atomů/molekul na ionty je potřeba dodat energii. Když je tato energie mnohonásobně větší než energie potřebná ke vzniku iontu, tak dochází k fragmentaci iontu a mluvíme o tzv. tvrdé ionizační technice. Naopak při malém přebytku energie po ionizaci nedochází k fragmentaci molekul, což se nazývá měkká ionizační technika. Ionizace může proběhnout více metodami – pomocí elektronu, chemickou ionizací nebo sprejovými technikami. Po vzniku iontů v části iontového zdroje putují nabitě částice do hmotnostního analyzátoru, kde dochází k rozlišení iontů na základě poměru hmotnosti a náboje (m/z). Mezi používané typy analyzátorů patří magnetický hmotnostní analyzátor, kvadrupólový analyzátor, iontová past a průletový analyzátor TOF (Time of Flight). Detekce může proběhnout dvěma způsoby, a to buď přímo měřením elektrického proudu vzniklého přímým dopadem iontů (přímé detektory), nebo využitím násobení elektronů vzniklých po dopadu iontů (násobičové detektory). Výběr detektoru záleží na aplikaci, ve většině komerčních přístrojů se používají násobičové detektory [23].

2.8 Senzorická analýza

Senzorická analýza potravin využívá k hodnocení vzorků všech 5 lidských smyslů – chuť, čich, hmat, zrak a sluch. Cílem hodnocení potravin je ve většině případů optimalizace výroby. Zajímají nás organoleptické vlastnosti potravin. Pro správném provedení sensorické analýzy je potřeba brát v potaz fyziologii každého člověka – ne všichni jsme stejně vyvinutí a nemáme stejně citlivé smysly. Dále je důležité propojení s psychologií, kdy myšlení ovlivňuje vnímání.

Jak už bylo naznačeno, lidé mají odlišnou citlivost, a proto je zřejmé, že se budou v hodnocení stejného výrobku různými lidmi vyskytovat odchylky. Tyto odchylky jsou způsobeny subjektivním hodnocením neškolených hodnotitelů. Lidé s citlivějšími smysly si však mohou smysly vytrénovat a stát se profesionály, kteří jsou při hodnocení co nejvíce objektivní. Pro maximalizaci objektivnosti hodnocení je potřeba dodržovat pevně daná pravidla.

2.8.1 Hodnotitelé

Jako první a zároveň nejdůležitější částí jsou právě již zmiňovaní hodnotitelé. Hodnotitel (asesor) je osoba, která sensoricky hodnotí (posuzuje). Pro skupinu hodnotitelů se používají označení jako „sensorická komise“ a „panel“. Hodnotitelé se dělí podle kvalifikační úrovně na spotřebitele, hodnotitele (školeného hodnotitele) a znalce (experta). Spotřebitel je nejnižší kvalifikační úroveň, protože je úplně bez výcviku. Hodnotitel už má nějaké znalosti, které může ještě dále rozvinout školením a stane se z něj školený hodnotitel. Nejvyšší kvalitu hodnocení poskytnou znalci (experti), kteří mají patřičné vzdělání v oblasti sensorické analýzy i bohaté zkušenosti. Při výběru kvalifikační úrovně hodnotitelů je vždy potřeba zvážit, co od sensorické analýzy očekáváme. Platí, že čím nižší je kvalifikační úroveň, tím více hodnotitelů je potřeba. U spotřebitelů jsou to desítky, hodnotitelů stačí 10–15 a expertů je potřeba nejméně (cca 5). Pohlaví osob neovlivňuje hodnocení, ale věk ano. V mládí jsou smysly nejostřejší a zhoršují se s přibývajícím věkem. Pro hodnocení se však většinou vybírají osoby starší 15 let z důvodu vyspělosti a zodpovědnosti při hodnocení. Výjimkou je např. hodnocení výrobků pro děti (sladkosti, výživa atd.). Největší vrchol mívají hodnotitelé ve věku 20–40 let, kdy jsou smysly stále bystré a tomu nabyli hodnotitelé mnoha zkušeností. Po dosažení věku 60 let už je hodnocení značně horší a lidé starší 70 let už zpravidla nemohou hodnotit vůbec [12].

Hodnotitelé musí být zodpovědní a musí dodržovat jisté návyky. Hodinu před hodnocením nesmí kouřit, jíst ostrá jídla a nepožívat alkohol. V den hodnocení nesmí používat voňavé kosmetické prostředky. Při hodnocení se musí chovat tiše a nesmí rušit ostatní. Při hodnocení je důležité být co nejvíce objektivní, zároveň musí být psychicky a fyzicky způsobilí [12].

2.8.2 Podmínky sensorické analýzy

Další důležitou a nedílnou částí jsou podmínky, ve kterých se hodnotí. Podmínky zahrnují místnost i způsob, jak nakládat se vzorky. Sensorická analýza probíhá v sensorické laboratoři, kde jsou stále, kontrolovatelné podmínky s minimem rušivých vlivů, jak říká norma ČSN ISO 8589. Norma taktéž zahrnuje přesně co musí a může laboratoř obsahovat. Zahrnuje i způsob, jak nakládat se vzorky – příprava vzorků, skladování vzorků, přesné postupy.

Místnost musí být čistá, zařízená ve světlých barvách (nejčastěji bílá), bez pachů, bez výzdob a s mléčnými skly v oknech. Světlo je velmi důležitý faktor. Zajišťuje se pomocí zářivek se svítivostí odpovídající záření tělesa o $T = 6\ 500\ K$, což odpovídá dennímu světlu v poledne při zatažené obloze. V případě, kdy se hodnotí primárně chuť a vůně, se používají barevná světla. Vyloučí se tak pocit z barvy výrobku [12].

2.8.3 Příprava vzorku

Důležitá je příprava vzorku. Ta by měla probíhat v bezprostřední blízkosti laboratoře, nejlépe v místnosti, kde jsou prostory pro skladování vzorků, ohřev či chlazení vzorků a mytí nádobí. Důležité je podávat vzorek všem hodnotitelům ohřátý na stejnou teplotu, aby bylo dosaženo stejných podmínek pro hodnotitele. Používá se nádobí v neutrálních barvách a z materiálu nezachytávajícího pachy (porcelán, sklo atd.). Ke značení vzorků se používají tři až čtyřmístné číselné kódy bez písmen. Kódy musí být náhodné, aby nebylo hodnotitelovo rozhodnutí ovlivněno. Například není vhodné označovat vzorky 001, 002 a 003, protože tato čísla působí již jako seřazení. Vhodnými kódy jsou například 863, 459 a 671. Vzorky musí být taktéž vybaleny z původního obalu, protože spotřebitel může poznat jím preferovanou nebo naopak neoblíbenou značku, což taktéž ovlivní hodnocení [12].

Hodnotitelé musí mít pravidelné přestávky, protože, ač se to nemusí zdát, je to fyzicky i psychicky náročná práce. Při únavě dochází k otupení smyslů a hodnocení není dostatečně přesné. Zároveň jsou potřeba i přestávky, aby si odpočinuly i smysly, které si po určité době zvykají na pachy, chutě, barvy atd. [12].

2.8.4 Formulář

Stejně jako hodnotitel samotný je naprosto stěžejní formulář pro sensorické hodnocení. Pro získání informací, které potřebujeme, je nutné správně formulář sestavit a ptát se na správné otázky. Formulář má záhlaví, kde hodnotitel vyplní bližší údaje o sobě a dozví se případně informace o vzorcích. Dále následují úkoly pro hodnotitele. Ty musí být definovány jasně, stručně a výstižně, aby hodnotitel plně pochopil, jak má formulář vyplnit. Ve formulářích mohou být použity různé druhy hodnocení od jednoduché otázky, před grafické znázornění, vyplnění tabulky až po seřazení vzorků [12].

2.8.5 Typy hodnocení a testů

Hodnocení může být intenzitní (hodnotíme, jak moc něco cítíme) a hedonické (zda nám to chutná nebo nechutná). Metod sensorické analýzy je mnoho, ale základní skupiny jsou dvě. V rozlišovacích zkouškách se určuje rozdíl mezi vzorky, kdežto v deskriptivních (popisných) zkouškách jde o popis vzorků. U rozdílových zkoušek bývají většinou podávány dva až tři vzorky. Párová zkouška určí, zda je mezi dvěma vzorky rozdíl (odpověď ano/ne). Může být i párová porovnávací zkouška a určuje se, který vzorek je lepší/intenzivnější atd. Zkouška duo-trio (dvojárový test) zahrnuje tři vzorku, z nichž jeden je popsán jako standard a pár vzorků (jeden totožný se standardem, druhý jiný). U trojúhelníkové zkoušky je situace podobná s rozdílem, že vzorky nejsou popsány – není určen standard [12].

Pořadová zkouška (ČSN ISO 8587) je velmi oblíbená a jednoduchá. Hodnotitel má za úkol seřadit vzorky podle příjemnosti nebo intenzity dané vlastnosti. Tato zkouška je sice oblíbená, ale bohužel neukazuje velikost rozdílu mezi vzorky. Velmi oblíbené je i hodnocení pomocí stupnic. Stupnice je kontinuum, rozdělené do po sobě jdoucích hodnot. Slouží k vyjádření úrovně sensorické vlastnosti (znaku). Stupnic existuje velké množství druhů. Základní rozdělení je na stupnice nominální, ordinální, intervalové a poměrové. Dále mohou být grafické, číselné, popisné či kombinace všech. Zároveň mohou být jednapolární a dvojpolarní [12].

3 Experimentální část

V experimentální části byly vyrobeny a analyzovány analogy čerstvých sýrů s přidavkem rybího oleje. Vyrobené vzorky byly charakterizovány z hlediska profilu mastných kyselin, těkavých (aromatických) látek a sensorické kvality.

3.1 Laboratorní vybavení a přístroje

3.1.1 Přístroje

- Plynový chromatograf Trace 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní detektor ISQ LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Plynový chromatograf Trace GC (ThermoQuest S.p.A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB-WAX (30 m x 0,32 mm x 0,5 µm)
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Spektrofotometr (Helios Gamma & Delta Spectronic Unicam, USA)
- Analytické digitální váhy (HELAGO, GR-202-EC, Itálie)
- Počítač PC, Intel Pentium Processor
- Vakuová rotační odparka (KIKA WERKE, Německo)
- Vodní lázeň Julabo TW 2. (Německo)
- Sušárna Memmert ULM 400
- Centrifuga Hettich EBA 21 (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Německo)
- Lednice
- Exsikátor

3.1.2 Plyny

- Hélium 4.8, v tlakové láhvi s redukčním ventilem (SIAD, ČR)
- Dusík 5.0, v tlakové láhvi s redukčním ventilem a kovovou membránou (SIAD, ČR)
- Vodík 5.5, v tlakové láhvi s redukčním ventilem (SIAD, ČR)
- Vzduch 5.0, v tlakové láhvi s redukčním ventilem pro kyslík (SIAD, ČR)

3.1.3 Laboratorní vybavení

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA
- Vialky s objemem 10 ml, 4 ml a 1 ml
- Běžné laboratorní sklo, stojany a jiné pomůcky
- Nádobí potřebné pro výrobu sýrových analogů
- Automatické pipety Discovery 10–100 µl

3.1.4 Chemikálie

- Etanol 96 %, PENTA, ČR
- Metanol 99,5 %, Lach-Ner, ČR
- Dietyl ether p.a., Lach-Ner, ČR
- Petrolether p.a., Lach-Ner, ČR
- Hexan p.a., Lach-Ner, ČR
- Hydroxid sodný p.a., Lach-Ner, ČR
- Isooktan p.a., Lach-Ner, ČR
- Kyselina chlorovodíková p.a., PENTA, ČR
- BF₃ (14% roztok methanolu), p.a., Sigma-Aldrich, Německo
- Směsný standard methylesterů MK SupelcoTM 37 Component FAME Mix, Sigma-Aldrich, Německo
- Peroxodisíran draselný, Lach-Ner, ČR
- Síran sodný bezvodý p.a., Lach-Ner, ČR
- Chlorid sodný p.a., Lach-Ner, ČR

3.1.5 Suroviny pro výrobu sýrů/sýrových analogů

- Plnotučné mléko pasterizované, 3,5 % tuku
- Ocet lihový, 8%
- Kuchyňská sůl
- Rybí olej, Mollers Omega 3 Natur olej, ČR

3.2 Analyzované vzorky

Vzorky použité pro analýzu byly připraveny z běžně dostupných surovin v laboratorních podmínkách na Fakultě chemické VUT v Brně. Postup výroby byl vybrán na základě předchozích zkušeností studentů z předešlých let. Celý postup výroby je popsán v kapitole 3.2.1).

Byly vyrobeny a analyzovány 3 vzorky: čerstvý sýr bez přídavku oleje (0A), považovaný za standard, a dva analogy s přídavkem rybího oleje (5 ml (5B) a 10 ml (10C)).

Vzorky byly po vyrobení uchovávány v lednici až do doby analýz (max. po dobu 24 hodin).

Zároveň byl analyzován rybí olej (RO) použitý pro výrobu analogů (viz obrázek č. 2), zakoupený v běžné tržní síti.



Obrázek č.2: Analyzovaný rybí olej a jeho složení

3.2.1 Postup výroby čerstvých sýrů (sýrových analogů)

V hrnci byl zahříván 1 litr plnotučného mléka za průběžného míchání až na teplotu 92 °C. Po dosažení této teploty bylo přidáno 25 ml 8% lihového octa a hrnec byl odstaven z plotny. Vznikající sraženina byla promíchána a ponechána 30 minut v přikrytém hrnci, aby se vysrážel veškerý kasein. Po vysrážení byla sraženina oddělena od syrovátky scezením přes kovové síto. Sraženina byla v sítu ponechána ještě 5 minut, aby odkapalo co nejvíce syrovátky. Následně byla sraženina smíchána s 3,5 g soli. Při výrobě čerstvého sýra (standard) byla sýřenina přemístěna do formy na výrobu sýra vystlané plátkem. Forma byla uzavřena i s pružinou zajišťující stlačení sýra, vyšší odtok syrovátky, a tudíž i pevnější konzistenci výsledného produktu. Sýr byl lisován první 2 hodiny při laboratorní teplotě a následně byl lisován ještě 22 hodin při teplotě 5 °C. V případě výroby analogů s přídavkem rybího oleje bylo při promíchávání soli přidáno 5 ml/10 ml rybího oleje a sýřenina byla zpracována stejně, jako při výrobě standardu.

Sýr byl po 24 hodinách lisování vyjmut z formy a z plátkem. Ihned byl servírován při senzorké analýze, kdy každý hodnotitel dostal od každého vzorku 10 g. Současně byly naváženy vždy 2 g sýru do skleněné vialky k analýze těkavých látek. Vzápětí byl navážen vždy 1 g sýru do skleněné zkumavky k extrakci mastných kyselin.



Obrázek č.3: Vysrážená syřenina se syrovátkou (vlevo) a hotový čerstvý sýr (vpravo)

3.3 Použité metody a postupy

3.3.1 Stanovení volných a vázaných mastných kyselin

Pro stanovení volných a vázaných mastných kyselin byly extrahovány lipidy ze sýrů dle normy ČSN EN ISO 1735:2005. Rybí olej byl analyzován přímo. Po převedení na metylestery byla využita analytická metoda GC-FID pro identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin.

3.3.1.1 Extrakce lipidů ze vzorků sýrů

Extrakce proběhla za laboratorních podmínek na FCH VUT v Brně a byla uskutečněna dle normy ČSN EN ISO 1735:2005.

Princip:

Netukové složky sýru se rozpustí kyselinou chlorovodíkovou a uvolněný tuk se kvantitativně vytřepe pomocí rozpouštědel diethyletheru a petroletheru. Rozpouštědla se odpaří na vakuové rotační odparce a výtěžek se zváží.

Přístroje a pomůcky:

Špachtle, nůž, zkumavky se zátkami, dělicí nálevka hruškovitá, odměrný válec 10 ml, destilační baňky s kulatým dnem 50 ml, vodní lázeň, pipeta 5 ml, analytické váhy, vakuová rotační odparka

Chemikálie

Kyselina chlorovodíková 35 % p.a., ethanol 96 % obj. p.a., diethylether p.a., petroether p.a.

Postup:

Sýr byl upraven pomocí špachtle a struhadla na drobné části. Do zkumavky byl navážen 1 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Dále bylo do zkumavky bylo přidáno 5 ml kyseliny chlorovodíkové a zkumavka se směsí byla dána do vodní lázně vyhřáté na 80 °C až do úplného

rozpuštění sýru. Po rozpuštění byla směs ochlazena ve zkumavce pod tekoucí vodou na laboratorní teplotu.

Pomocí 5 ml ethanolu byla směs kvantitativně převedena do dělicí nálevky. Ke směsi bylo přidáno 9 ml diethyletheru a směs byla protřepána. Ihned po protřepání bylo přidáno 9 ml petroletheru a směs byla intenzivně protřepávána po dobu 1–2 minut. Dělicí nálevka byla po protřepání ponechána stát v klidu po dobu 30 minut, než došlo k oddělení fází.

Po oddělení fází byla horní fáze (rozpuštědla s prvním extraktem) odebrána pipetou do čisté, suché a zvážené destilační baňky s kulatým dnem.

Po první extrakci byly provedeny ještě další dvě extrakce s polovičním množstvím rozpuštědel (vždy 4,5 ml diethyletheru a 4,5 ml petroletheru). Druhý a třetí extrakt byly pipetou převedeny do stejné destilační baňky jako první extrakt.

Destilační baňka se všemi třemi extrakty byla umístěna na vakuovou rotační odparku a rozpuštědla byla odpařena při teplotě 40 °C.

Množství tuku bylo stanoveno gravimetricky. Vyextrahovaný tuk byl zvážen na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Od zvážené hmotnosti byla odečtena hmotnost destilační baňky.

Výpočty:

Procentuální obsah tuku (w_{tuk}) byl vypočten podle vzorce:

$$w_{\text{tuk}} = \frac{m_{\text{tuk}} \cdot 100 \%}{m_{\text{sýr}}} \quad (3.1)$$

m_{tuk}	hmotnost vyextrahovaného tuku [g]
$m_{\text{sýr}}$	navážka vzorku sýra [g]

Procentuální obsah tuku v sušině (w_{tvs}) byl vypočten podle vzorce:

$$w_{\text{tvs}} = \frac{w_{\text{tuk}} \cdot 100 \%}{w_{\text{sušina}}} \quad (3.2)$$

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

3.3.1.2 Příprava methylesterů MK – kyselá esterifikace s BF_3 jako katalyzátorem (TAG)

Princip:

Nejprve jsou glyceroly transmethylovány za bazické katalýzy methanolickým roztokem hydroxidu sodného na methylestery. Během tohoto kroku jsou volné mastné kyseliny (VMK) převedeny na soli. Ve druhém kroku dochází k převedení solí mastných kyselin (MK) na methylestery (MeMK) za kyselé katalýzy komplexem bortrifluorid-methanol.

Přístroje a pomůcky:

Destilační baňka s kulatým dnem (50 ml), topné hnízdo, zpětný chladič, pipeta 5ml a 10 ml, automatická pipeta 100–1000 μl , odměrný válec 50 ml, skleněná vialka 2ml a 4 ml

Chemikálie:

Methanolický roztok NaOH ($c = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$), methanolický roztok BF_3 10%, isooktan p.a., nasycený vodný roztok NaCl, bezvodý Na_2SO_4 p.a.

Postup:

Do destilační baňky s vyextrahovaným tukem byly přidány 4 ml methanolického roztoku hydroxidu sodného a varný kamínek. V případě oleje bylo do destilační baňky naváženo 100 mg tuku. Baňka byla upevněna do aparatury skládající se z laboratorního stojanu, topného hnízda a svorek. K aparatuře byl připojen zpětný chladič. Směs byla vařena po dobu 10 minut, dokud nevymizely kapičky tuku. Během varu bylo mícháno destilační baňkou každých 30 vteřin, aby se nevytvořil na stěně baňky kroužek pevného hydroxidu sodného.

Po 10 minutách varu bylo do vroucí směsi vpraveno 5 ml methanolického roztoku bortrifluoridu přes zpětný chladič a směs byla vařena 20 minut. Následně byly do směsi přidány 3 ml isooktanu přes zpětný chladič. Ihned po přidávku isooktanu byl zastaven var a destilační baňka byla vyjmuta z aparatury.

Bezprostředně po vytažení baňky z aparatury do ní bylo přilito 20 ml nasyceného roztoku chloridu sodného, baňka byla zazátkována a její obsah protřepán po dobu 15 vteřin. Po protřepání byl obsah baňky dolit nasyceným roztokem chloridu sodného tak, aby hladina dosáhla do zúženého hrdla.

Po 5 minutách došlo k úplnému oddělení vrstev. Následně byly z horní isooktanové vrstvy odpipetovány 2 ml automatickou pipetou do 4ml vialky. Pro odstranění případně se vyskytující vodné fáze bylo přidáno malé množství bezvodého síranu sodného. Z takto připraveného vzorku pak byl pipetován 1 ml pro analýzu na GC-FID.

3.3.1.3 Příprava methylesterů MK – kyselá esterifikace s BF₃ jako katalyzátorem (VMK)

Princip:

Esterifikace volných mastných kyselin probíhá zahříváním v přebytku bezvodého methanolu v přítomnosti bortrifluoridu jako katalyzátoru.

Pomůcky a přístroje:

Destilační baňka s kulatým dnem (50 ml), topné hnízdo, zpětný chladič, pipeta 5 ml a 10 ml, skleněné vialky 2 ml a 4 ml

Chemikálie:

Methanolický roztok BF₃ 10%, isooktan p.a., nasycený vodný roztok NaCl, bezvodý Na₂SO₄ p.a.

Postup:

Do destilační baňky s vyextrahovaným tukem bylo vpraveno 5 ml methanolického roztoku bortrifluoridu a varný kamínek. V případě oleje bylo do destilační baňky naváženo 100 mg tuku. Baňka byla upevněna do aparatury skládající se z laboratorního stojanu, topného hnízda a svorek. K aparatuře byl připojen zpětný chladič. Obsah byl přiveden k varu, který byl udržován přesně 3 minuty. Ihned bylo přes zpětný chladič přidáno 3 ml isooktanu. Var byl zastaven a baňka byla vyjmuta z aparatury.

Bezprostředně po vytažení baňky z aparatury do ní bylo přilito 20 ml nasyceného roztoku chloridu sodného, baňka byla zazátkována a její obsah protřepán po dobu 15 vteřin. Po protřepání byl obsah baňky dolit nasyceným roztokem chloridu sodného tak, aby hladina dosáhla do zúženého hrdla.

Po 5 minutách došlo k úplnému oddělení vrstev. Následně byly z horní isooktanové vrstvy odpipetovány 2 ml automatickou pipetou do 4ml vialky. Pro odstranění případně se vyskytující vodné fáze bylo přidáno malé množství bezvodého síranu sodného. Z takto připraveného vzorku pak byl pipetován 1 ml pro analýzu na GC-FID.

Koncentrace methylesteru MK (c_{MeMK}) v extraktu (ve vialce) po vypočítání podle vzorce:

$$c_{\text{MeMK}} = \frac{c_s \cdot P_{\text{MeMK}}}{P_s} \quad (3.3)$$

c_{MeMK}	koncentrace MeMK v extraktu [$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$]
P_{MeMK}	plocha píku MeMK v extraktu [$\text{mV}\cdot\text{s}$]
c_s	koncentrace standardu [$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$]
P_s	plocha píku standardu [$\text{mV}\cdot\text{s}$]

Výpočet koncentrace MK přepočtem z koncentrace methylesteru MK:

$$c_{MK} = \frac{c_{MeMK} \cdot Mr_{MK}}{Mr_{MeMK}} \quad (3.4)$$

c_{MK}	koncentrace MK v extraktu [$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$]
c_{MeMK}	koncentrace MeMK v extraktu [$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$]
Mr_{MK}	molární hmotnost MK [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]
Mr_{MeMK}	molární hmotnost MeMK [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]

Potřebné parametry standardů – koncentrace, plochy píků a Mr standardů jsou uvedeny v tabulce č. 5

Tabulka č. 5: Standardy použité pro identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin v modelových vzorcích sýrů/analogů

Název MK	Zkrácený zápis MK	T _R [min]	c _s [mg · ml ⁻¹]	P _s [mV · s]	Mr _{MeMK} [g · mol ⁻¹]	Mr _{MK} [g · mol ⁻¹]
kyselina kapronová	C6:0	5,33	0,4	24816103	130,187	116,160
kyselina kaprylová	C8:0	6,50	0,4	23945147	158,241	144,214
kyselina kaprinová	C10:0	7,61	0,4	24768160	186,295	172,268
kyselina laurová	C12:0	8,88	0,4	23847200	214,349	200,322
kyselina tridekanová	C13:0	9,65	0,2	10843620	228,376	214,349
kyselina myristová	C14:0	10,57	0,4	19750867	242,403	228,376
kyselina myristolejová	C14:1 ^{Δ9}	10,96	0,2	10132703	240,387	226,360
kyselina pentadekanová	C15:0	11,64	0,2	8900266	256,430	242,403
kyselina palmitová	C16:0	12,94	0,6	24202520	270,457	256,43
kyselina palmitolejová	C16:1 ^{Δ9}	13,32	0,2	8184814	268,441	254,414
kyselina heptadekanová	C17:0	14,39	0,2	7185718	284,484	270,457
kyselina stearová	C18:0	16,09	0,4	13172497	298,511	284,484
kyselina olejová	C18:1 ^{Δ9}	16,49	0,4	20584343	296,495	282,468
kyselina linolová	C18:2 ^{Δ9,12}	17,32	0,2	13376777	294,479	280,452
kyselina α-linolenová	C18:3 ^{Δ9,12,15}	18,62	0,2	6215424	292,463	278,436
kyselina arachová	C20:0	20,29	0,4	11990880	326,565	312,358
kyselina eikosapentaenová	C20:5	27,06	0,2	11172675	316,477	302,451
kyselina eruková	C22:1 ^{Δ13}	27,99	0,2	3818453	352,603	338,576
kyselina cis-4,7,10,13,16,19-dokosaheptaenová	C22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	39,97	0,2	4166824	342,523	328,496

T_R – retenční čas MeMK, c_s – koncentrace standardů MeMK, P_s – plocha standardů MeMK, Mr_{MeMK} – molekulová hmotnost MeMK, Mr_{MK} – molekulová hmotnost MK

Výpočet množství v původním objemu v baňce:

$$m_{\text{MK}} = c_{\text{MK}} \cdot V \quad (3.5)$$

m_{MK}	celková hmotnost MK v baňce [mg]
c_{MK}	koncentrace MK v extraktu [$\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$]
V	objem isooktanu (3 ml) [ml]

Výpočet koncentrace MK v sýru:

$$c_{\text{sýr}} = \frac{m_{\text{MK}}}{m_{\text{sýr}}} \quad (3.6)$$

$c_{\text{sýr}}$	koncentrace MK v sýru [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$]
m_{MK}	celková hmotnost MK v baňce [mg]
$m_{\text{sýr}}$	navážka vzorku sýru [g]

Výpočet koncentrace MK v tuku:

$$c_{\text{tuk}} = \frac{m_{\text{MK}}}{m_{\text{tuk}}} \quad (3.7)$$

c_{tuk}	koncentrace MK v tuku [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$]
m_{MK}	celková hmotnost MK v baňce [mg]
m_{tuk}	hmotnost vyextrahovaného tuku ze vzorku (navážka vzorku oleje) [g]

3.3.1.4 Podmínky stanovení MeMK

- Plynový chromatograf TRACE™ GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A, Itálie) s plamenově-ionizačním detektorem
- Kapilární kolona:
 - o DB-WAX s vysoce polární stacionární fází (PEG); (30 m × 0,32 mm × 0,5 μm)
- Teplota injektoru: 250 °C
- Dávkování:
 - o splitless (ventil uzavřen 1 minutu)
 - o split flow 10 ml/min
- Dávkovaný objem vzorku: 1 μl
- Nosný plyn: dusík
 - o průtok nosného plynu: 1 ml · min⁻¹
- Detektor:
 - o plamenově-ionizační
 - o teplota 250 °C
 - o průtok vzduchu: 350 ml · min⁻¹
 - o průtok vodíku: 35 ml · min⁻¹
 - o make-up dusíku: 30 ml · min⁻¹

- PTGC:
 - 50 °C 1 min.
 - vzestupný gradient 25 °C · min⁻¹ do 200 °C s výdrží 0 min
 - vzestupný gradient 3 °C · min⁻¹ do 230 °C se zdržením 30 min
 - celková doba analýzy: 47 minut

3.3.2 Stanovení těkavých látek

K identifikaci a kvantifikaci těkavých látek ve vzorcích sýrů a oleje byla použita analytická metoda HS-SPME-GC-MS.

Postup:

Připravené vzorky nebyly nijak upravovány před měřením. Do vialky byly naváženy 2 g nastrohaného sýru, v případě rybího oleje byly odměřeny 2 ml. Vialka byla uzavřena magnetickým uzávěrem a byla umístěna do autosampleru plynového chromatografu.

3.3.2.1 Podmínky HS-SPME-GC-MS analýzy

Podmínky SPME extrakce:

- Doba inkubace (temperování): 10 min
- Doba extrakce: 20 min
- Teplota agitátoru (teplota extrakce a inkubace): 40 °C
- Agitátor zapnutý: 5 s
- Agitátor vypnutý: 60 s
- Množství vzorku: 2 g
- Hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm

Podmínky GC-MS analýzy:

- Kapilární kolona ZB-Wax (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm)
- Teplota injektoru (desorpce): 240 °C
- Doba desorpce: 20 min
- Dávkování: splitless, ventil uzavřený 10 min
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru: 40 mm
- Nosný plyn: helium
 - Průtok 1 ml · min⁻¹
- Teplotní program:
 - 40 °C s výdrží 2 min
 - Vzestupný gradient 3 °C/min do 110 °C s výdrží 10 min
 - Vzestupný gradient 3 °C/min do 200 °C s výdrží 0 min
 - Celková doba analýzy: 65 min
- Hmotnostní detektor v módu EI
 - Energie ionizačních elektronů 70 eV
 - Teplota iontového zdroje: 200 °C
 - Skenovací rozsah m/z: 30–370 amu
 - Rychlost skenování: 0,2 s

3.3.3 Stanovení obsahu vody a sušiny

Použité vybavení:

Sušárna (teplota 105 ± 2 °C), analytické váhy, hliníkové misky s víčky, exsikátor, vyžiháný mořský písek, skleněné tyčinky, špachtle

Postup:

Do vysušených a zvážených misek s 15 g mořského písku bylo naváženo 1,5 – 2 g sýru s přesností na 0,0001 g a obsahy byly promíchány skleněnými tyčinkami. Sušení probíhalo 3 hodiny při teplotě 105 °C. V časových intervalech po 30 minutách byly obsahy misek promíchávány. Po 3 hodinách sušení byly misky ponechány k vychladnutí v exsikátoru a zváženy. Následně byly misky vráceny do sušárny a proces chlazení a vážení byl opakován každých 30 minut až do dosažení konstantní hmotnosti.

Výpočty:

$$w_{\text{voda}} = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m_1 - m_0} \quad (3.8)$$

w_{voda}	obsah vody [%]
m_0	hmotnost misky s pískem a tyčinkou [g]
m_1	hmotnost misky s pískem, tyčinkou a navážkou (před sušením) [g]
m_2	hmotnost misky s pískem, tyčinkou a navážkou (po sušení) [g]

$$w_{\text{sušina}} = 100 - w_{\text{voda}} \quad (3.9)$$

$w_{\text{sušina}}$	obsah sušiny [%]
---------------------	------------------

3.3.4 Senzorická analýza

Pro senzorickou analýzu bylo vybráno 15 dobrovolných neškolených hodnotitelů („spotřebitelů“), kteří vyplněním formuláře posuzovali texturu, chuť, vůni, a nakonec i celkovou přijatelnost. Byli vybráni neškolení hodnotitelé, kteří hodnotí subjektivně a hedonicky, protože cílovou skupinou jsou právě spotřebitelé.

Panel hodnotitelů byl tvořen z 9 žen (z toho 1 kuřačka a zbytek nekuřačky) a z 6 mužů (všichni nekuřáci). Pro hodnocení byly použity grafické stupnice o délce 10 cm. Na levé straně byla vždy nejnižší intenzita, příjemnost, měkkost a rozpadavost. Na pravé straně byla naopak největší intenzita, příjemnost, tvrdost a rozpadavost.

Senzorické hodnocení proběhlo 24 hodin po vyrobení vzorků. Hodnotitelé byli studenti z FCH VUT v Brně a zastupovali funkci neškolených hodnotitelů.

Na senzorické analýze byla servírována 1 sada vzorků. Od každého vzorku (bez oleje, s 5 ml oleje a s 10 ml oleje) bylo naváženo 10 g.

4 Výsledky a diskuse

Tato práce navazuje na předchozí výzkumy na FCH VUT v Brně a je zaměřena na výrobu analogů čerstvého sýra s přídavkem rybího oleje. Současně se podobným tématem na FCH VUT zaobíralo více lidí, ale šlo o přídavky jiných olejů/extraktů. Byly vyrobeny a analyzovány 3 vzorky: bez přídavku oleje (standard), s přídavkem 5 ml a s přídavkem 10 ml rybího oleje. Postup výroby je v kapitole 3.2.1.

Nejvhodnější postup výroby čerstvého sýra kyselým srážením (jednoduchý přídavek komerčního octa) byl vybrán na základě předchozích zkušeností. Pomocí vybraných metod, ověřených a optimalizovaných na analýzu čerstvých sýrů, byl posouzen profil těkavých látek a mastných kyselin. Na závěr byla provedena senzorická analýza.

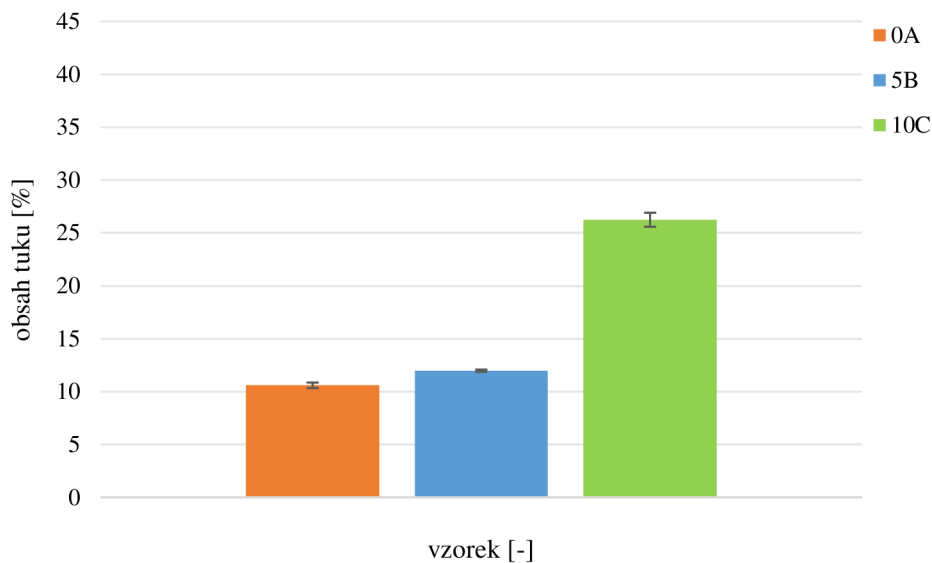
Cílem přídavku rybího oleje bylo posoudit, zda bude produkt senzoricky atraktivní pro spotřebitele. Předmětem výzkumu je i zvýšení nutriční hodnoty výsledného analogu. Rybí olej obsahuje důležité nenasycené mastné kyseliny, především omega 3 mastné kyseliny EPA a DHA, které se přirozeně moc nevyskytují ve zdrojích potravy obyvatel v České republice. Záměrem je zakomponovat tyto velmi zdravé prospěšné mastné kyseliny do jídelníčku obyvatel ČR, kteří sýry hojně konzumují.

4.1 Obsah sušiny a tuku v sušině ve vzorcích

Tuk byl ze vzorků sýrů/analogů vyextrahován třepáním pomocí rozpouštědel petroletheru a diethyletheru dle normy ČSN EN ISO 1735. Obsah tuku ve vzorcích byl vypočítán podle vzorce 3.1 a výsledky jsou vyjádřeny v hmotnostních procentech. Odchytky byly vypočítány z průměrných hodnot pomocí rozptylu.

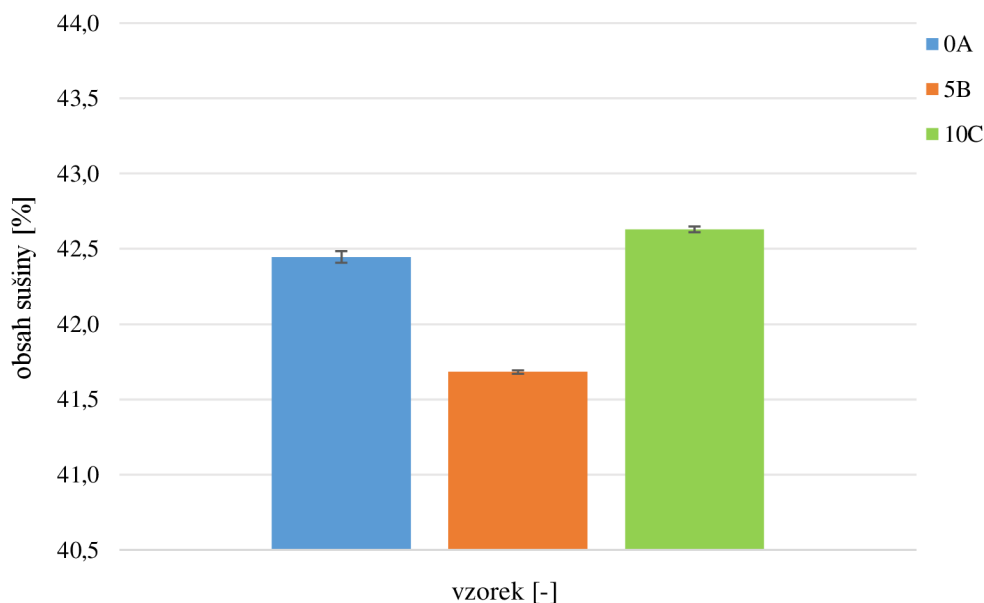
Byly posuzovány 3 vzorky sýrů/analogů (viz kapitola 3.2), čerstvý sýr bez přídavku rybího oleje (0A), sýrový analog s přídavkem 5 ml rybího oleje (5B) a sýrový analog s přídavkem 10 ml rybího oleje (10C). Sýrové analogy byly vyrobeny ze stejného sýrového základu, liší se pouze přídavkem oleje.

Graf na obrázku č. 4 naznačuje, že nejvyšší obsah tuku byl podle očekávání ve vzorku 10C, který obsahoval $26,2 \pm 0,7$ %. Naopak nejnižší obsah tuku měl vzorek 0A s obsahem $10,6 \pm 0,3$ %. Sýrový analog 5B obsahoval $12,0 \pm 0,1$ % tuku.



Obrázek č. 4: Obsah tuku v sýrech/analozích [% hm.]; značení vzorků viz kapitola 3.2

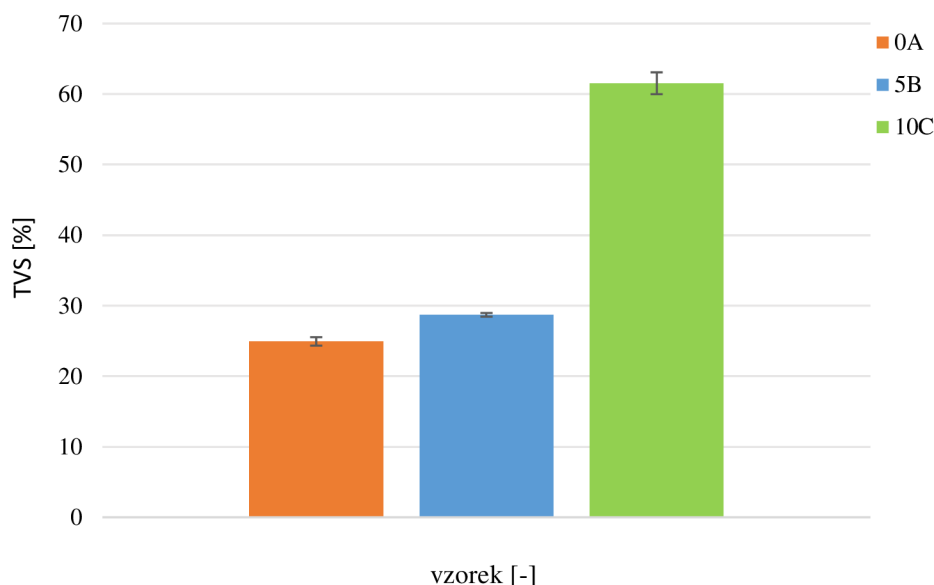
Následně byl stanoven obsah sušiny dle normy ČSN EN ISO 5534. Z grafu na obrázku č. 5 vyplývá, že nejvyšší obsah sušiny měl vzorek 10C s obsahem $42,6 \pm 0,1$ % hm. sušiny. Nejmenší obsah sušiny měl vzorek 5B, který obsahoval $41,7 \pm 0,2$ % hm. sušiny. Vzorek 0A obsahoval $42,5 \pm 0,1$ % hm. sušiny. Podle obsahu sušiny lze všechny sýry zařadit do kategorie sýrů měkkých, rozdíly mezi vzorky jsou pravděpodobně způsobeny nestandardností výroby vzorků.



Obrázek č. 5: Obsah sušiny v sýrech/analozích [% hm.]; značení vzorků viz kapitola 3.2

Dále byl vypočítán obsah tuku v sušině (TVS) vyjádřený v % hm. Nejvyšší TVS měl vzorek 10C s obsahem $61,5 \pm 1,6$ % hm. Nejnižší TVS byl stanoven u vzorku 0A, který měl $24,9 \pm 0,6$ % hm. Vzorek 5B měl $28,7 \pm 0,3$ % hm. Standardní vzorek lze zařadit do kategorie

sýrů polotučných, přidavek oleje samozřejmě zvýšil TVS analogů, vzorek s vyšším přidavkem oleje (10 ml) patří dokonce do kategorie vysokotučný „sýr“.



Obrázek č. 6: Obsah tuku v sušinė sýrů/analogů [% hm.]; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.2 Volné a vázané mastné kyseliny ve vzorcích

Tuky byly extrahovány ze vzorků vytřepáním směsí rozpouštědel petroletheru a diethyletheru. VMK a vázané MK byly získány esterifikací MK pomocí bortrifluoridu jako katalyzátoru a analyzovány pomocí metody GC-FID.

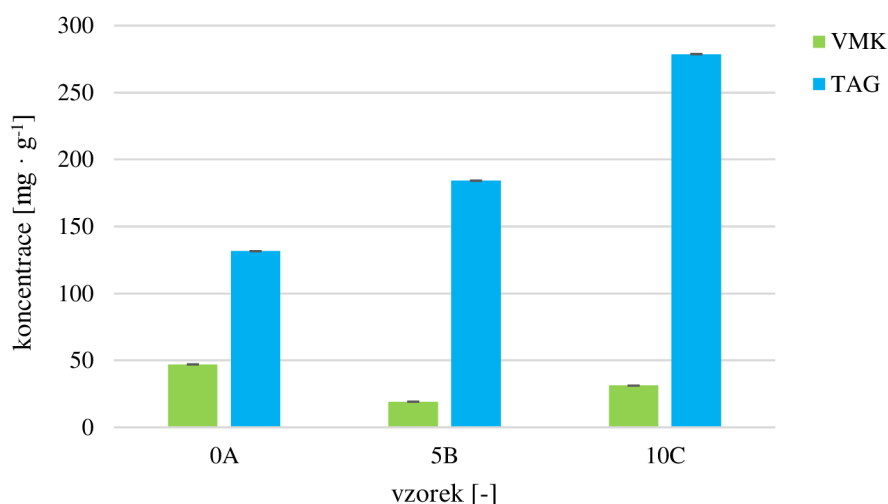
MK byly identifikovány srovnáním retenčních časů MEMK s retenčními časy standardů (standarty jsou v tabulce č. 5). MK byly kvantifikovány na základě ploch píků standardů.

4.2.1 Přehled identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů

Ve vzorku čerstvého sýru bez přidavku oleje (dále jen jako 0A) bylo identifikováno 16 vázaných mastných kyselin (TAG) a 16 volných mastných kyselin (VMK). V analogích s přidavkem 5 ml oleje (dále už jen 5B) a 10 ml oleje (dále už jen 10C) bylo identifikováno 19 TAG a 19 VMK, stejně jako v rybím oleji (dále už jen RO). Identifikované vázané a VMK jsou uvedeny v tabulkách č. 7 a 9 v mg MK na 1 g sýru/analogu. Tyto koncentrace jsou vztaženy k celkovému složení sýrů/analogů. Ukázky chromatogramů jsou v příloze 2–5.

Z chromatogramů je patrné, že se ve vzorku pravděpodobně nacházely i jiné mastné kyseliny, ale ty nebylo možno identifikovat, protože nebyly k dispozici příslušné standarty.

Graf na obrázku č. 7 znázorňuje porovnání obsahu VMK a vázaných MK v jednotlivých vzorcích. Obsah vázaných MK ve vzorcích se mírně zvyšoval v souvislosti s vyšším obsahem tuku (vyšším přidavkem RO) ve vzorcích. Obsah VMK ve vzorcích byl proměnlivý, překvapivě nejvyšší u standardu, přestože RO, vzhledem k vyššímu obsahu nenasycených MK, je považován spíše za méně stabilní.

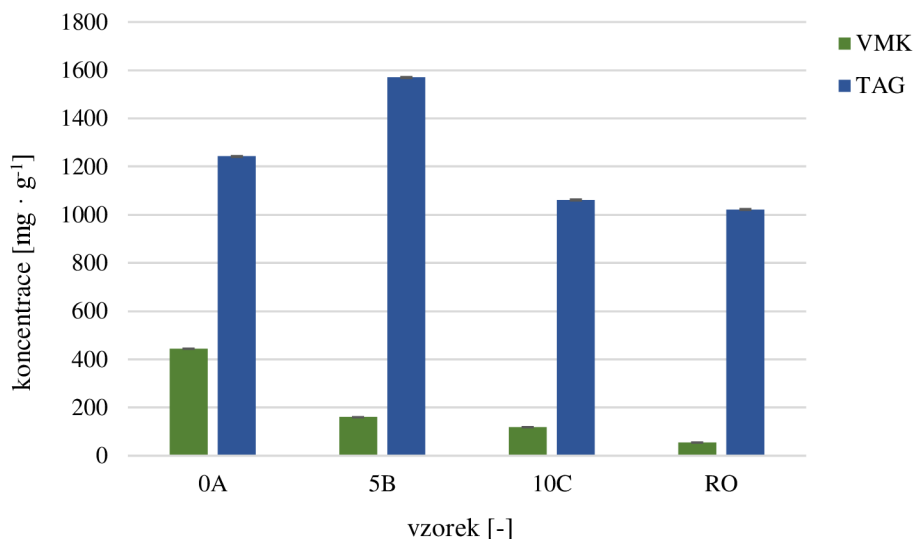


Obrázek č. 7: Celkový obsah volných a vázaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.2.2 Přehled identifikovaných mastných kyselin v rybím oleji

Vzorek rybího oleje (RO) byl taktéž podroben esterifikaci s bortrifluoridem jako katalyzátorem. Pro srovnání se sýry/analogy byly koncentrace MK vyjádřeny v tomto případě na gram tuku.

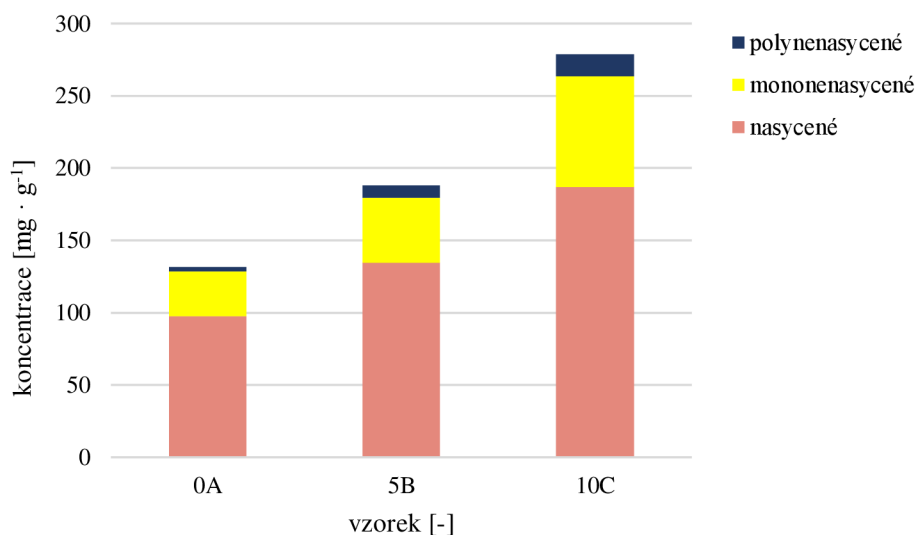
Obrázek č. 8 s grafem zobrazuje opět celkový obsah volných a vázaných MK ve vzorcích. Pravděpodobně díky zmíněné nestandardnosti se obsah vázaných MK ve vzorcích mírně liší, opět je zajímavý vysoký obsah VMK ve standardu, snižoval se s přibývajícím obsahem RO a nejnižší byl u samotného RO. Z toho je možné usuzovat, že lipolýza je otázkou spíše sýrového základu, tj. mléčného tuku; použitý RO byl čerstvý, kvalitní a díky poměrně malému přidavku neměl na lipolýzu výrazný vliv.



Obrázek č. 8: Celkový obsah volných a vázaných mastných kyselin v extrahovaném tuku/rybím oleji; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.2.3 Srovnání obsahu vázaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů

Graf na obrázku č.9 vyjadřuje obsah nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) vázaných mastných kyselin. Jak již bylo uvedeno dříve (viz obrázek č. 7) celkový obsah MK se zvyšoval s přidavkem RO.



Obrázek č. 9: Porovnání obsahu vázaných mastných kyselin dle jejich nasycenosti; značení vzorků viz kapitola 3.2

Mléčný tuk jako tuk živočišný obsahuje převahu nasycených MK, např. dle studie Gutiérrez-Peña a kol. [9] byl tuk z čerstvého sýru tvořen ze 71,1 % nasycenými (SFA), z 22,2 %

mononenasycenými (MUFA) a 6,7 % polynenasycenými MK [9]; zatímco RO je bohatý na nenasycené MK [19]. Tomu odpovídají i naše výsledky (viz obrázek č. 9 a tabulka č. 6).

Tabulka č.6: Procentuální zastoupení SFA, MUFA a PUFA ve vzorcích (vázané MK); značení vzorků viz kapitola 3.2

	TAG		
	SFA [%]	MUFA [%]	PUFA [%]
0A	74,2	23,6	2,2
5B	72,1	23,3	4,6
10C	67,0	27,5	5,4

Počet identifikovaných MK ve vzorcích se lišil, ve vzorku 0A bylo identifikováno pouze 16 MK, v analozích 19 MK. Přehled všech vázaných MK je v tabulce č. 7 a v grafech na obrázcích č. 10 a 11. Hodnoty byly vypočteny jako průměr ze dvou měření ($n = 2$). Byly přidány i směrodatné odchylky (SD).

Na grafu z obrázku č. 10 je znázorněno složení majoritních MK a na grafu z obrázku č. 11 je znázorněno složení minoritních MK ve vzorcích.

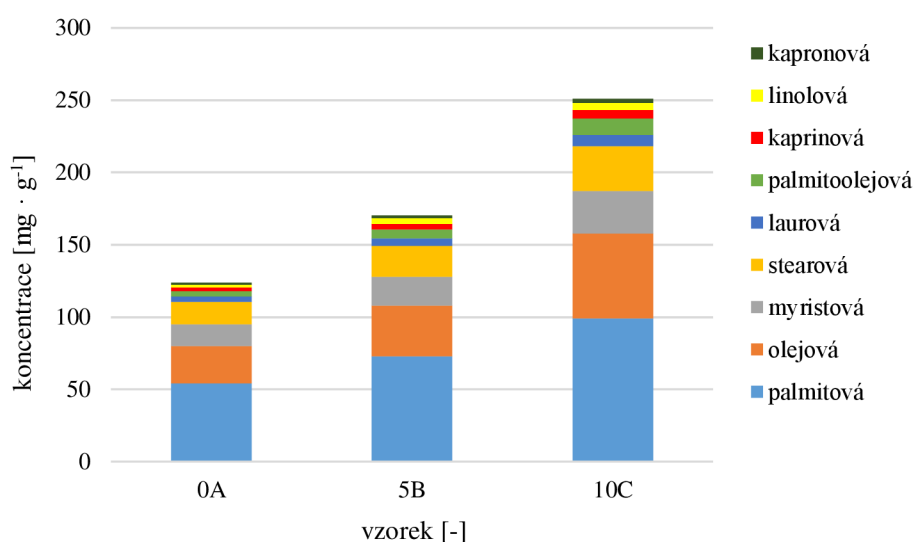
Tabulka č. 7: Obsah vázaných mastných kyselin v sýrech/analozích [$(\cdot 10^1)$ mg \cdot g⁻¹ \pm SD]; značení vzorků viz kapitola 3.2

Mastná kyselina	0A	5B	10C
kapronová	12,27 \pm 0,92	18,39 \pm 0,35	29,91 \pm 0,66
kaprylová	9,48 \pm 0,52	13,98 \pm 0,25	23,05 \pm 0,40
kaprinová	26,61 \pm 0,31	37,07 \pm 0,43	58,89 \pm 0,63
laurová	37,47 \pm 2,14	50,78 \pm 1,98	75,84 \pm 0,15
tridekanová	2,47 \pm 0,04	3,20 \pm 0,11	4,65 \pm 0,03
myristová	148,86 \pm 9,32	199,71 \pm 10,98	294,77 \pm 4,23
myristoolejová	15,28 \pm 1,39	19,63 \pm 2,19	23,35 \pm 0,26
pentadekanová	25,61 \pm 0,60	32,94 \pm 0,43	50,12 \pm 1,35
palmitová	539,30 \pm 33,33	730,15 \pm 11,22	989,77 \pm 18,37
palmitoolejová	33,99 \pm 0,30	62,40 \pm 4,68	115,41 \pm 2,27
heptadekanová	12,30 \pm 0,41	14,42 \pm 1,57	18,63 \pm 0,59
stearová	156,23 \pm 29,20	213,10 \pm 11,91	309,42 \pm 4,50
olejová	261,40 \pm 3,49	349,82 \pm 9,59	588,61 \pm 9,41
linolová	20,41 \pm 2,55	40,02 \pm 3,95	49,31 \pm 0,47
α -linolenová	8,58 \pm 0,40	12,65 \pm 0,26	22,31 \pm 0,56
arachová	4,82 \pm 0,31	32,32 \pm 0,95	13,95 \pm 0,10
eikosapentaenová	nd.	11,01 \pm 0,19	25,26 \pm 1,38
eruková	nd.	15,64 \pm 0,12	39,35 \pm 4,55
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosaheptaenová	nd.	22,37 \pm 2,17	54,94 \pm 2,27

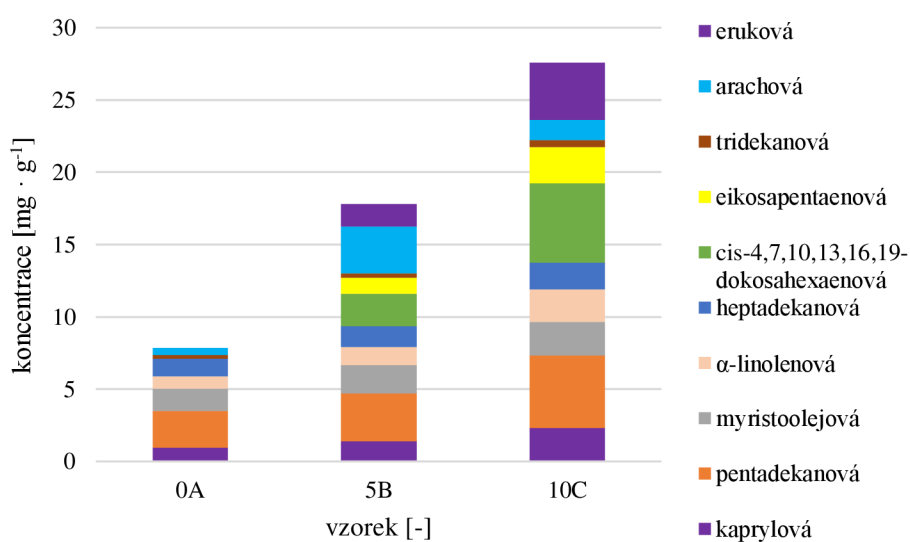
nd. – nebylo detekováno

V souladu se studií Gutiérrez-Peña a kol. [9] u všech vzorků převažovaly kyseliny palmitová, olejová, stearová a myristová.

Analogy obsahovaly oproti standardu žádoucí omega-3 mastné kyseliny EPA a DHA, a vyšší obsah α -linolenové kyseliny (ALA), charakteristické pro RO, a jejich obsah s vyšším přidavkem RO rostl.



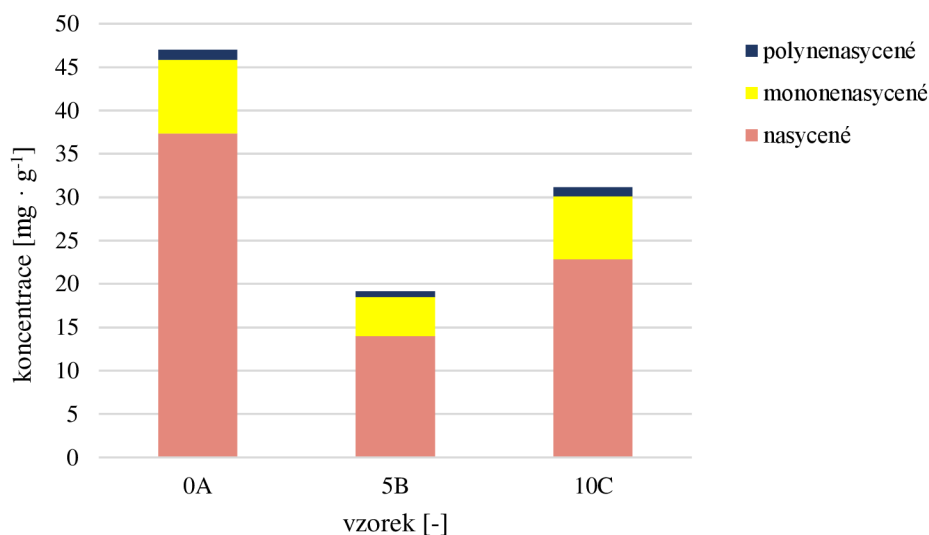
Obrázek č. 10: Obsah majoritně zastoupených vázaných mastných kyselin ve vzorcích; značení vzorků viz kapitola 3.2



Obrázek č.11: Obsah minoritně zastoupených vázaných mastných kyselin ve vzorcích; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.2.4 Srovnání obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů

Graf na obrázku č.12 vyjadřuje obsah SFA, MUFA a PUFA v případě VMK. Jejich zastoupení bylo obdobné, jako v případě vázaných MK. Procentuální zastoupení SFA, MUFA a PUFA je znázorněno v tabulce č. 8. Nejvíce zastoupenými VMK byly kyseliny palmitová, olejová, myristová a stearová, což jsou nasycené mastné kyseliny.



Obrázek č. 12: Porovnání obsahu volných mastných kyselin dle jejich nasycenosti; značení vzorků viz kapitola 3.2

Tabulka č. 8: Procentuální zastoupení SFA, MUFA a PUFA ve vzorcích (VMK)

	VMK		
	SFA [%]	MUFA [%]	PUFA [%]
0A	79,5	18,0	2,5
5B	72,9	23,5	3,6
10C	73,4	23,2	3,5

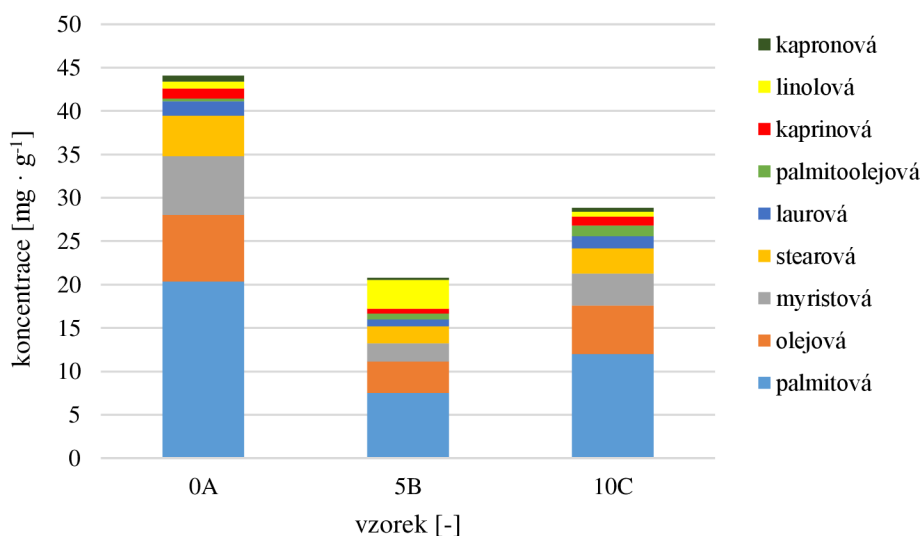
Počet identifikovaných MK ve vzorcích se lišil, ve vzorku 0A bylo identifikováno pouze 16 MK, v analogích 5B a 10C bylo identifikováno 19 MK. Přehled všech vázaných MK je v tabulce č. 9 a v grafech na obrázcích č. 13 a 14. Hodnoty byly vypočteny jako průměr ze dvou měření (n = 2). Byly přidány i směrodatné odchylky (SD).

Na grafu z obrázku č. 13 je znázorněno složení majoritních MK a na grafu z obrázku č. 14 je znázorněno složení minoritních MK ve vzorcích.

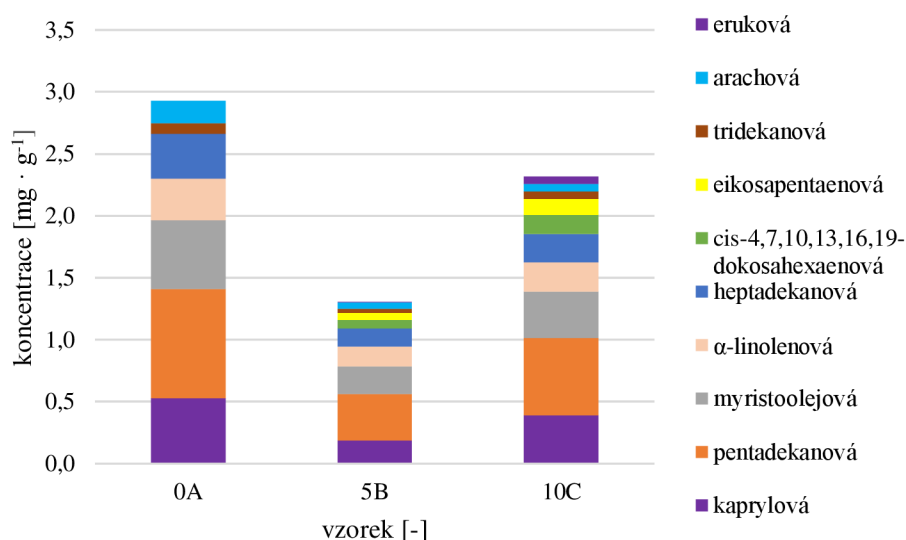
Tabulka č.9: Obsah volných mastných kyselin v sýrech/analozích [$(\cdot 10^1)$ mg \cdot g $^{-1}$ \pm SD]; značení vzorků viz kapitola 3.2

Mastná kyselina	0A	5B	10C
kapronová	6,46 \pm 0,39	2,30 \pm 0,00	4,70 \pm 0,00
kaprylová	5,27 \pm 0,27	1,87 \pm 0,02	3,88 \pm 0,03
kaprinová	11,61 \pm 1,23	5,42 \pm 0,05	10,29 \pm 0,07
laurová	17,06 \pm 1,59	7,96 \pm 0,05	14,22 \pm 0,11
tridekanová	0,89 \pm 0,03	0,37 \pm 0,02	0,62 \pm 0,01
myristová	67,42 \pm 1,96	21,26 \pm 1,93	37,11 \pm 0,24
myristoolejová	5,56 \pm 0,15	2,24 \pm 0,00	3,76 \pm 0,05
pentadekanová	8,84 \pm 0,28	3,75 \pm 0,01	6,25 \pm 0,02
palmitová	203,81 \pm 7,41	74,97 \pm 2,12	119,95 \pm 1,11
palmitoolejová	2,57 \pm 0,04	6,67 \pm 0,01	11,95 \pm 0,02
heptadekanová	3,58 \pm 0,28	1,47 \pm 0,01	2,29 \pm 0,05
stearová	46,86 \pm 1,95	19,85 \pm 0,27	28,82 \pm 0,82
olejová	76,48 \pm 3,05	36,13 \pm 3,72	55,93 \pm 1,56
linolová	8,40 \pm 0,67	4,04 \pm 0,06	5,58 \pm 0,15
α -linolenová	3,35 \pm 0,28	1,59 \pm 0,02	2,35 \pm 0,07
arachová	1,82 \pm 0,17	0,52 \pm 0,02	0,58 \pm 0,01
eikosapentaenová	nd.	0,56 \pm 0,03	1,28 \pm 0,09
eruková	nd.	0,05 \pm 0,00	0,62 \pm 0,09
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová	nd.	0,66 \pm 0,02	1,54 \pm 0,10

nd. – nebylo detekováno



Obrázek č. 13: Obsah majoritně zastoupených volných mastných kyselin ve vzorcích; značení vzorků viz kapitola 3.2



Obrázek č. 14: Obsah minoritně zastoupených volných mastných kyselin ve vzorcích; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.3 Těkavé (aromatické) látky

Těkavé (aromatické) látky byly stanoveny metodou HS-SPME-GC-MS a byly identifikovány pomocí srovnání hmotnostních spekter s knihovnou spekter.

Celkem bylo ve všech vzorcích sýrů/analogů a rybím oleji analyzováno 30 sloučenin, z toho 7 aldehydů, 7 kyselin, 4 alkoholy, 3 ketony, 3 terpeny, 2 ethery, 2 sírné sloučeniny, 1 amid a 1 ester.

Přehled identifikovaných sloučenin je v tabulce č. 10. Vzhledem k problémům s instrumentální technikou, měření bylo provedeno pouze jednou, proto nelze spočítat odchylku.

V kontrolním vzorku (0A) bylo identifikováno 16 aromatických sloučenin, z toho 4 aldehydy, 3 kyseliny, 2 alkoholy, 2 ketony, 2 terpeny, 2 sírné sloučeniny a 1 amid.

V sýrovém analogu s přidavkem 5 ml rybího oleje (5B) bylo identifikováno 23 sloučenin, z toho 5 aldehydů, 5 kyselin, 3 terpeny, 2 alkoholy, 2 ethery, 2 ketony, 2 sírné sloučeniny, 1 amid a 1 ester.

V sýrovém analogu s přidavkem 10 ml rybího oleje (10C) byl identifikován stejný počet i stejné látky jako u analogu 5B, pouze v odlišném množství (znázorněno na obrázku č. 15).

V samotném rybím oleji (RO) bylo identifikováno 17 těkavých látek, z toho 6 aldehydů, 5 kyselin, 2 alkoholy, 2 terpeny, 1 ether a 1 keton.

Tabulka č. 10: Těkavé aromatické látky identifikované ve vzorcích sýrů/analogů a rybím oleji; značení vzorků viz kapitola 3.2

sloučenina	skupina	T _R [min]	0A	5B	10C	RO	Ref.
Z-5-okten-1-ol	alkohol	4,35				i	[27]
2-hydroxypropanamid (laktamid)	amid	4,80	i	i	i		[28]
E-2-butenal (krotonaldehyd)	aldehyd	7,68				i	
hexanal	aldehyd	9,03	i	i	i	i	[27]
1-penten-3-ol	alkohol	12,09				i	[27]
4-methyl-2-hexanon	keton	12,92	i	i	i		
heptanal	aldehyd	13,06		i	i	i	[29]
D-limonen	terpen	13,41	i	i	i	i	
1,8-cineol (eukalyptol)	ether	13,70		i	i	i	
oktanal	aldehyd	17,47	i	i	i	i	[28]
dimethyltrisulfid	sírná sloučenina	21,45	i	i	i		[28]
2-nonanon	keton	21,72	i	i	i		[28]
nonanal	aldehyd	21,94	i	i	i	i	[27]
E,E-2,4-heptadienal	aldehyd	25,07				i	[30]
kyselina octová (ethanová)	kyselina	26,06	i	i	i	i	[31]
dekanal	aldehyd	26,36	i	i	i		[28]
3,5-oktadien-2-on	keton	27,47				i	[30]
1,5-dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrát	ester	28,98		i	i		
kyselina propionová (propanová)	kyselina	29,65				i	[31]
kyselina 4-hydroxybutanová	kyselina	34,28				i	
levomenthol	alkohol	35,05	i	i	i		
kyselina máselná (butanová)	kyselina	36,06	i	i	i		[28]
anethol	ether	37,49		i	i		[32]
cis-verbenol	alkohol	38,15	i	i	i		
L- α -terpineol	terpen	39,35		i	i		
citral	terpen	41,45	i	i	i	i	
kyselina hexanová	kyselina	48,38	i	i	i	i	[28]
dimethylsulfon	sírná sloučenina	50,17	i	i	i		[31]
kyselina oktanová	kyselina	56,66		i	i	i	[27]
kyselina kaprinová (dekanová)	kyselina	63,63		i	i		[28]

i – identifikováno, T_R – retenční čas

4.3.1 Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích

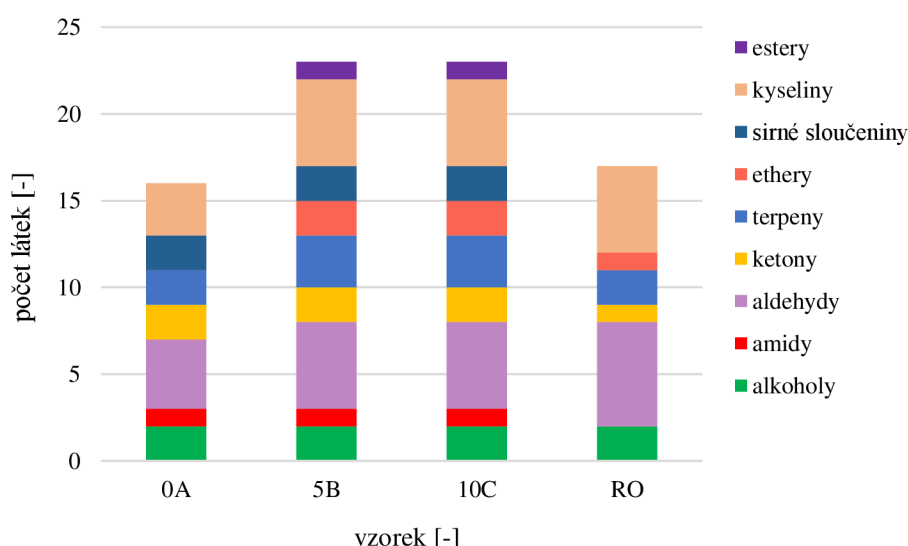
V tabulce č. 10 a na grafu z obrázku č. 15 je srovnání celkového počtu identifikovaných látek v sýrech/analozích a rybím oleji. Látky byly rozděleny na základě chemických skupin. Z tabulky i grafu vyplývá, že nejvíce aromatických látek bylo identifikováno v sýrových analozích s 5 ml rybího oleje (5B) a 10 ml rybího oleje (10C). V samotném rybím oleji byla zjištěna přítomnost pouze 17 sloučenin a nejméně aromatických látek bylo identifikováno v kontrolním vzorku (0A) s počtem 16 sloučenin. Z obrázku č. 15 plyne, že mají sýrové analogy společnou většinu látek, až na ethery a estery. Část etherů mají analogy 5B a 10C pravděpodobně z rybího oleje a estery mohly vzniknout reakcí alkoholů a karboxylových kyselin při přidavku rybího oleje do analogu, tedy esterifikací.

Mezi aromatické látky identifikované ve všech 3 sýrech/analozích patřily: laktamid, hexanal, 4-methyl-2-hexanon, D-limonen, oktanal, dimethyltrisulfid, 2-nonanon, nonanal, kyselina octová, dekanal, levomenthol, kyselina máselná, cis-verbenol, citral, kyselina hexanová a dimethylsulfon.

V rybím oleji byly identifikovány i aromatické látky, které nebyly nalezeny v žádném sýru/analogu, a to jsou: Z-5-okten-1-ol, krotonaldehyd, 1-penten-3-ol, E,E-2,4-heptadienal, 3,5-oktadien-2-on, kyselina propionová a kyselina 4-hydroxybutanová.

Aromatické látky, které měly sýry/analogy s přidavkem oleje (5B a 10C) společné s rybím olejem, jsou: heptanal, eukalyptol a kyselina oktanová.

Mezi sloučeniny, které byly nalezeny ve všech 4 vzorcích patří: hexanal, D-limonen, oktanal, nonanal, kyselina octová, citral a kyselina hexanová.



Obrázek č. 15: Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích a rybím oleji; značení vzorků viz kapitola 3.2

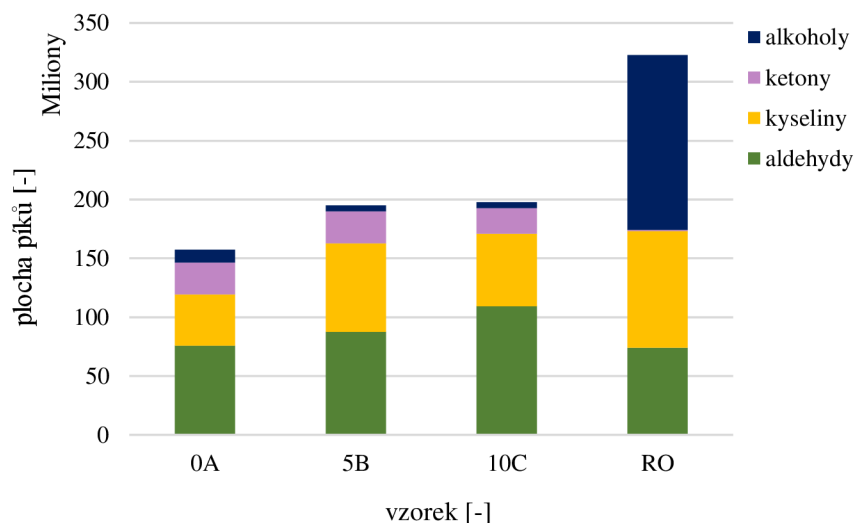
Tabulka č. 11: Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích; značení vzorků viz kapitola 3.2

Typ sloučeniny	0A	5B	10C	RO
aldehydy	4	5	5	6
kyseliny	3	5	5	5
terpeny	2	3	3	2
alkoholy	2	2	2	2
ketony	2	2	2	1
sírné sloučeniny	2	2	2	0
ethery	0	2	2	1
amidy	1	1	1	0
estery	0	1	1	0

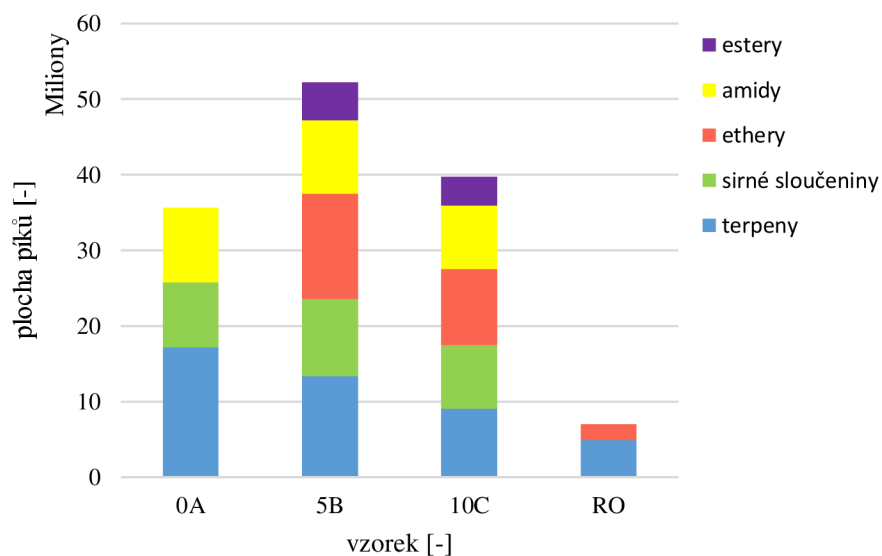
4.3.2 Srovnání obsahu identifikovaných látek ve vzorcích

Obsahy identifikovaných aromatických látek byly vyjádřeny pomocí ploch jednotlivých píků získaných z chromatogramů. Z grafů na obrázcích č. 16 a 17 je zobrazeno srovnání obsahů majoritních a minoritních látek, které byly rozděleny do chemických skupin, vyjádřených jako plochy píků. Na obrázcích číslo 18 a 19 je srovnání vyjádřeno v procentech.

Přídavkem rybiho oleje byly sýry/analogy 5B a 10C obohaceny o těkavé látky obsažené v rybím oleji. Na grafech z obrázků č. 17 a 19 je vidět, že byly analogy 5B a 10C obohaceny o ethery, které v kontrolním vzorku 0A chybí, ale v rybím oleji se nachází. Nejméně aromatických látek bylo identifikováno v kontrolním vzorku 0A, který obsahoval nejméně těkavých látek, ale zato nejvíce terpenů. Naopak nejvíce těkavých látek obsahoval samotný rybí olej, jehož hlavní složkou byly alkoholy. Z grafů č. 17 a 19 i tabulky č. 10 vyplývá, že sýry/analogy obsahovaly alespoň malé množství sirných sloučenin, kdežto rybí olej žádné sirné sloučeniny neobsahoval.

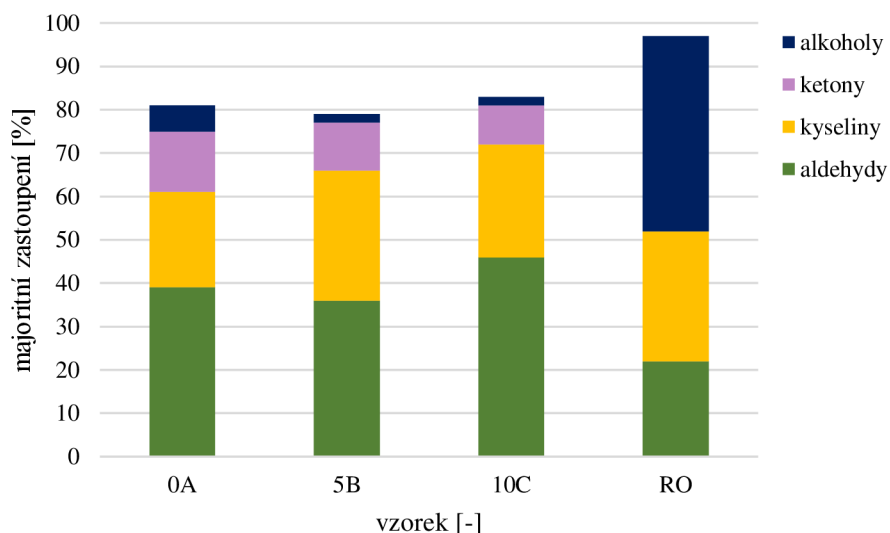


Obrázek č. 16: Celkový obsah majoritních těkavých látek; značení vzorků viz kapitola 3.2



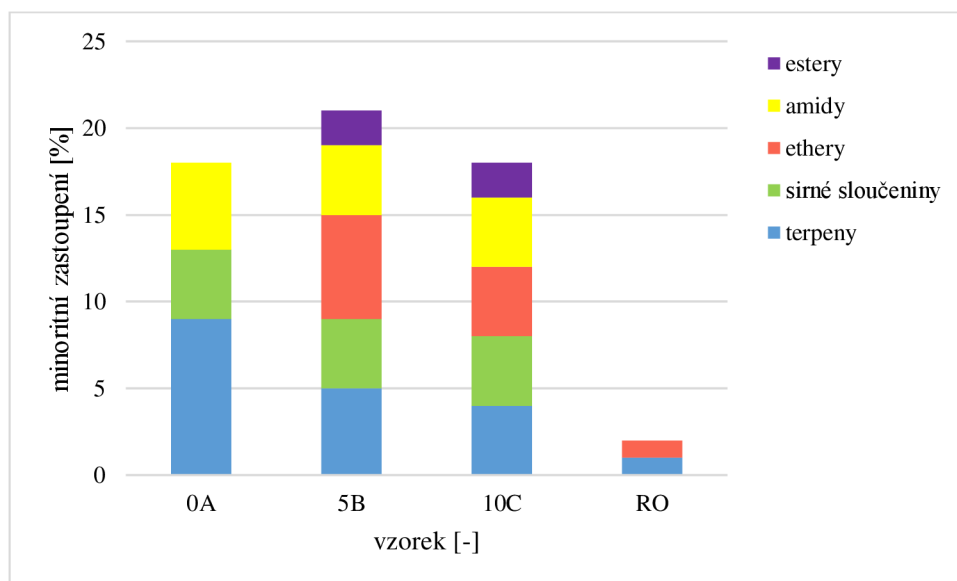
Obrázek č. 17: Celkový obsah identifikovaných minoritních látek; značení vzorků viz kapitola 3.2

Z grafu na obrázku č. 18 je patrné, že procentuálně byly v sýrech/analozích zastoupeny aldehydy, kdežto u rybího oleje byly nejvíce zastoupeny alkoholy. V analozích s přidavkem oleje 5B a 10C bylo podobné procentuální zastoupení kyselin jako v rybím oleji, zato u kontrolního vzorku 0A bylo kyselin ze všech vzorků nejméně.



Obrázek č. 18: Procentuální zastoupení majoritních těkavých látek; značení vzorků viz kapitola 3.2

Z grafu na obrázku č. 19 vyplývá, že nejvíce terpenů obsahoval kontrolní vzorek 0A a nejméně terpenů obsahoval rybí olej. Procentuální zastoupení sírných sloučenin u vzorků sýrů/analogů bylo podobné až na analog 10C, kde bylo sírných sloučenin trochu méně. Zajímavý je výskyt esterů u analogů s přidavkem oleje 5B a 10C, které nebyly identifikovány v kontrolním vzorku ani v rybím oleji. Vznikla proto asi esterifikací po smísení karboxylových kyselin a alkoholů při zamíchání oleje.



Obrázek č. 19: Procentuální zastoupení minoritních těkavých látek; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.4 Senzorická analýza sýrů/analogů

Vzhledem k nepříliš příjemné chuti a vůni RO byla provedena senzorická analýza za účelem zjistit, zda jsou analogy s přidavkem rybího oleje senzoricky přijatelné v porovnání s čerstvým sýrem bez přidavku oleje. Analýzy se účastnilo 15 dobrovolných hodnotitelů (studentů FCH).

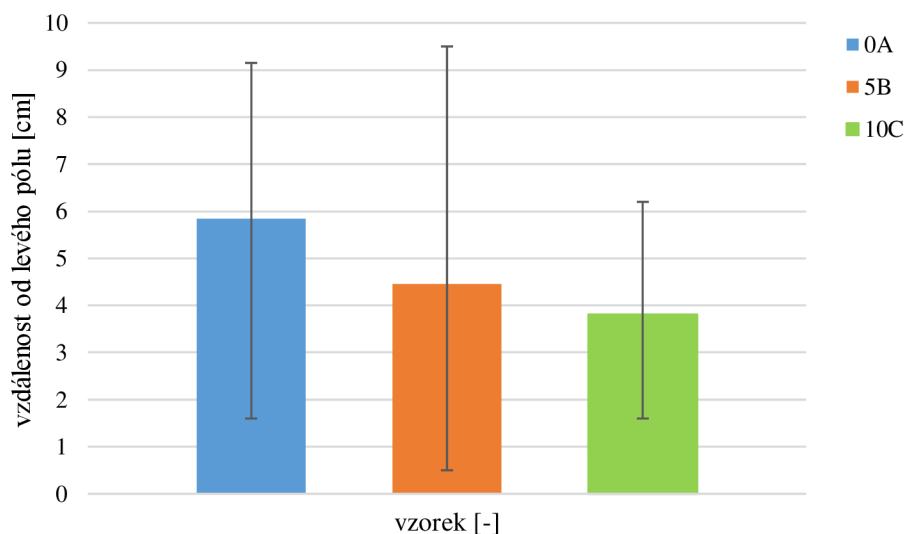
Hodnocena byla textura, chuť (její příjemnost i intenzita), vůně (taktéž její příjemnost i intenzita), a nakonec byl proveden pořadový test celkové přijatelnosti vzorků (nejhorší → nejlepší).

Hodnotitelé zaznamenávali výsledky na grafickou stupnici (10 cm). Formulář pro senzorickou analýzu je uveden na konci práce jako příloha C.

4.4.1 Výsledky senzorického hodnocení pomocí grafické stupnice

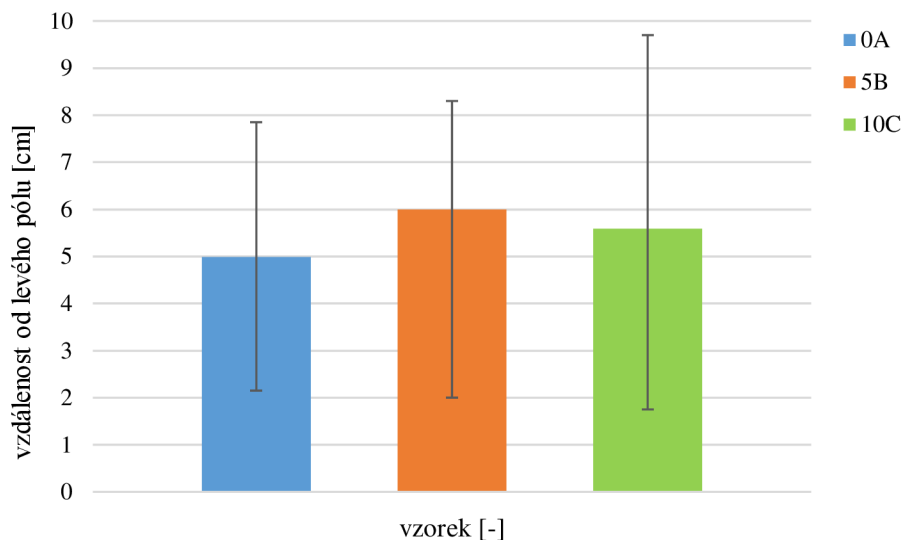
Data byla získána měřením vzdálenosti od levého okraje stupnice (v cm), výsledky jsou vyjádřena jako průměr hodnocení všech hodnotitelů (n = 15).

Graf na obrázku č. 20 porovnává jednotlivé sýry/analogy na základě jejich textury, konkrétně měkkosti/tvrdomosti. Z grafu vyplývá, že nejtvrďší vzorek byl 0A, středně tvrdý byl vzorek 5B a nejměkčí byl vzorek 10C. Je známo, že vyšší obsah tuku (TVS) v sýrech obecně souvisí s měkčí texturou, přidavek RO tedy přispěl k měkčí textuře analogu.



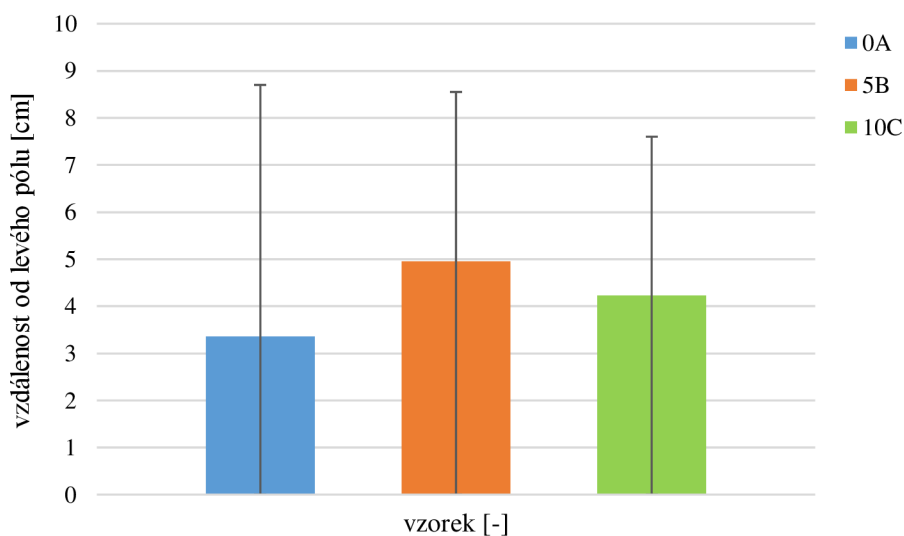
Obrázek č. 20: Graf znázorňující porovnání hodnocení textury (nejměkčí – nejtvrďší) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Další porovnání znaku textury, již je rozpadavost/nerozpadavost, zobrazuje graf na obrázku č. 21. Celistvost textury souvisí s obsahem sušiny i TVS sýrů, z grafu lze říci, že překvapivě v tomto parametru nebyly mezi vzorky výrazné rozdíly, všechny lze označit jako málo/středně rozpadavé.



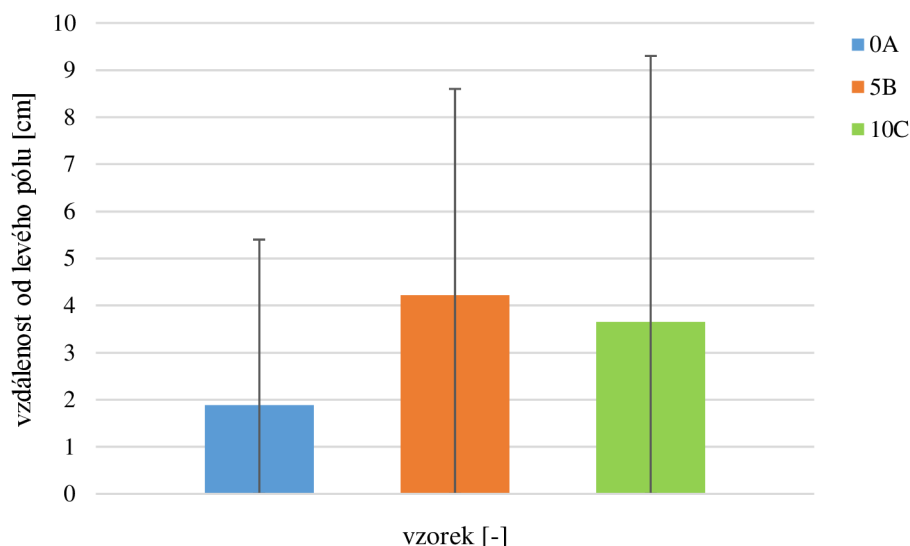
Obrázek č. 21: Graf znázorňující porovnání hodnocení textury (vůbec se nerozpadá – velmi se rozpadá) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Porovnáním chuti, v tomto případě mírou kyselosti, se zabývá graf z obrázku č.22, kdy nejkyselější byl analog 5B, středně kyselý 10C a nejméně kyselý 0A. Tady by bylo možné spíše očekávat, že nejkyselější bude standard a přídavek RO kyselost utlumí; zjištěný opačný trend pravděpodobně souvisí se zmíněnou nestandardností výroby.



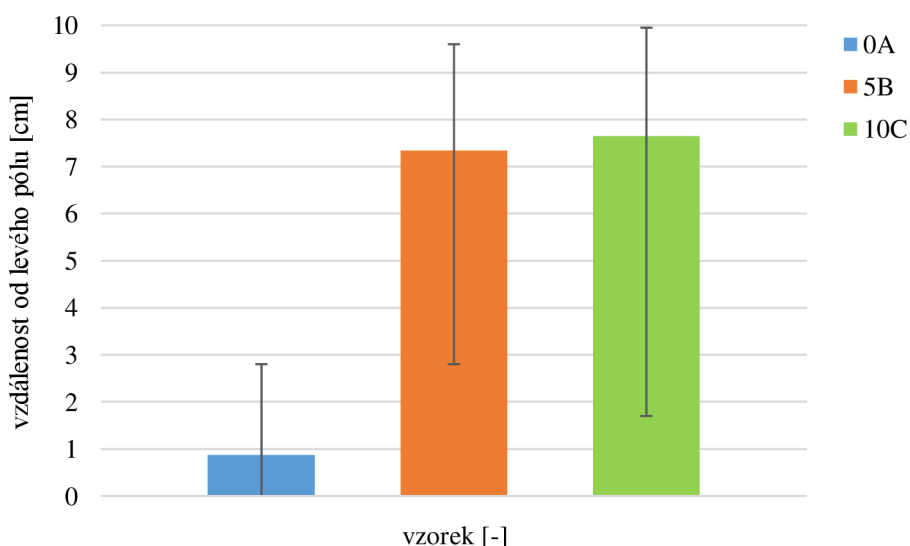
Obrázek č. 22: Graf znázorňující porovnání hodnocení chuti (nejméně kyselý – nejvíce kyselý) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Graf z obrázku č. 23 porovnává hořkost vzorků. V tomto případě jsou výsledky v souladu s očekáváním, přídavek RO mírně zvyšoval hořkost vzorků; nejvíce hořký byl analog 5B. Nejméně hořký byl naopak sýr 0A a střední příčku zaujal vzorek 10C. Nicméně všechny vzorky byly vnímány celkově jako málo hořké.



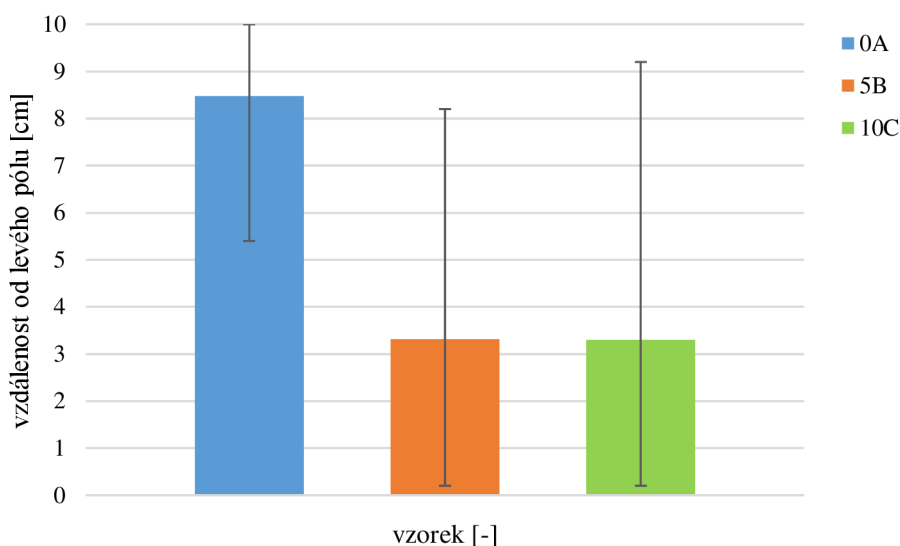
Obrázek č. 23: Graf znázorňující porovnání hodnocení chuti (nejméně hořký – nejvíce hořký) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Jednou ze stěžejních pozorovaných vlastností byla rybí chuť porovnávaná na obrázku č. 24; také v tomto případě jsou výsledky v souladu s očekáváním, přídavek RO výrazně zvýšil rybí chuť; u standardu nebyla vnímána prakticky vůbec (resp. i přes absenci rybího oleje byla vnímána mírně), u analogů výrazně, překvapivě množství přidaného oleje nemělo velký vliv, oba analogy byly hodnoceny prakticky stejně.



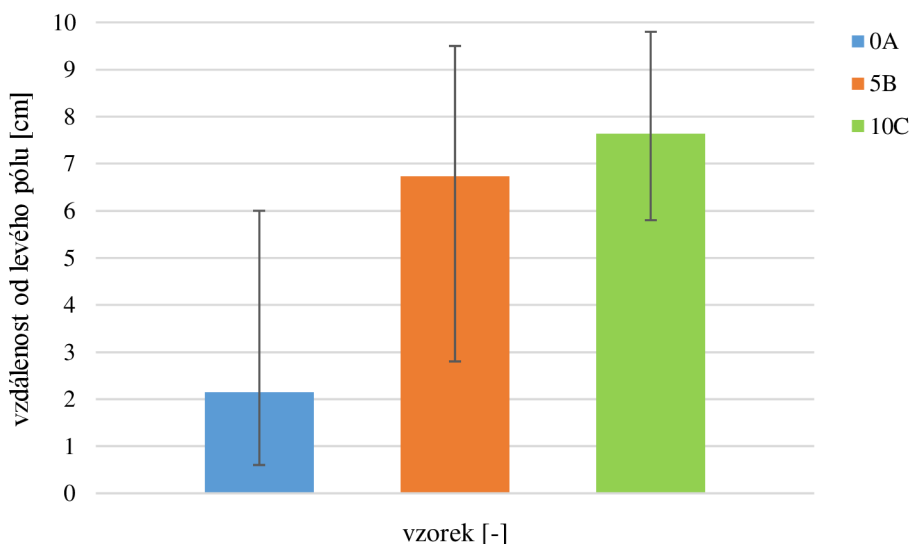
Obrázek č. 24: Graf znázorňující porovnání hodnocení chuti (nejméně rybí – nejvíce rybí) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Graf na obrázku č. 25 porovnává chuť podle nepříjemnosti/příjemnosti. Jako nejvíce chuťově příjemný vzorek byl 0A. Analogy 5B a 10C byly vyhodnoceny téměř stejně jako spíše nepříjemné.



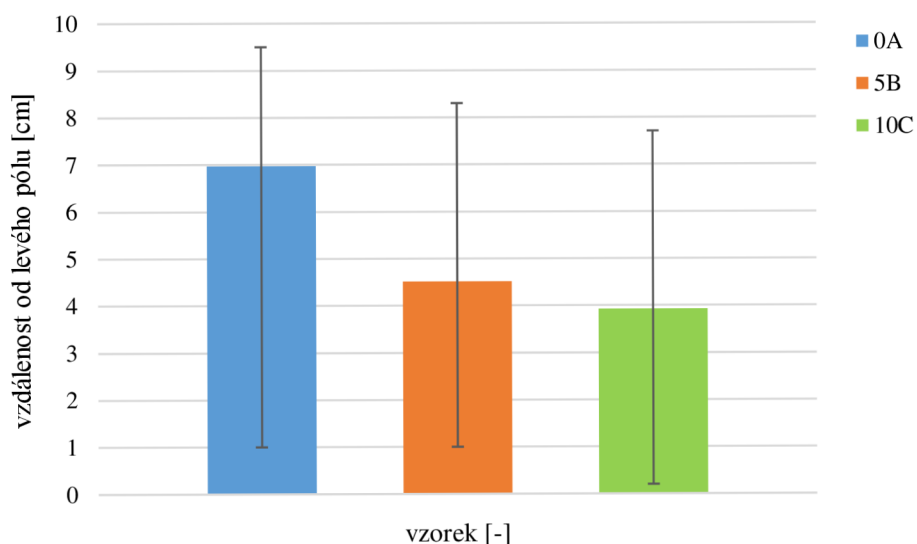
Obrázek č.25: Graf znázorňující porovnání hodnocení chuti (nejméně příjemná – nejvíce příjemná) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Hodnocení intenzity vůně je shrnuto v grafu na obrázku č. 26. Nejvíce intenzivně voněl vzorek 10C. Analog 5B byl hodnocen jako také velmi intenzivně vonící. Nejmenší intenzitu vůně vykazoval sýr 0A.



Obrázek č. 26: Graf znázorňující porovnání hodnocení vůně (nejméně intenzivní – nejvíce intenzivní) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

Celková příjemnost vůně byla porovnána pomocí grafu na obrázku č. 27, kdy nejpříjemněji voněl vzorek 0A. Vzorek 10C voněl nejméně příjemně, ale vzorek 5B na tom byl jen o trochu lépe. Obecně voněly analogy spíše nepříjemně.

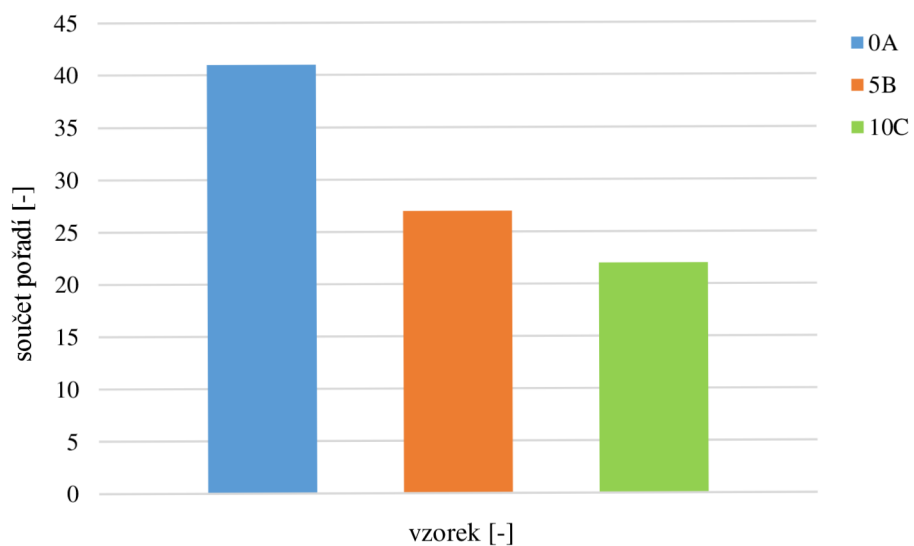


Obrázek č. 27: Graf znázorňující porovnání hodnocení vůně (nejméně příjemná – nejvíce příjemná) vzorků sýrů/analogů; značení vzorků viz kapitola 3.2

4.4.2 Výsledky pořadového testu

Na závěr byli hodnotitelé požádáni, aby vzorky seřadili podle celkové přijatelnosti (nejhorší → nejlepší vzorek). Výsledky jsou vyjádřeny jako součet pořadí.

Dle obrázku č. 28 je patrné, že jako nejlepší vzorek byl zvolen standard 0A. Nejhorším vzorkem se stal analog 10C a jako střední byl vzorek 5B.



Obrázek č. 28: Graf znázorňující výsledky pořadového testu (nejhorší → nejlepší vzorek); značení vzorků viz kapitola 3.2

5 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo vyrobit vzorky čerstvého sýru a dvou sýrových analogů s různými přídávky rybího oleje – 5 ml a 10 ml. Dále tyto vzorky zanalyzovat včetně samotného rybího oleje, zjistit zastoupení vázaných i volných mastných kyselin a výskyt těkavých látek. Nakonec bylo cílem provést senzoryckou analýzu sýru i analogů s účelem zjistit, zda jsou analogy pro spotřebitele přijatelné.

V kontrolním vzorku bez přídatku oleje bylo identifikováno 16 volných i vázaných mastných kyselin. V sýrových analozích s přídatky rybího oleje (5 a 10 ml) i v samotném rybím oleji bylo identifikováno 19 volných i vázaných mastných kyselin. Už z rozdílu počtu mastných kyselin v kontrolním vzorku a v sýrových analozích lze vydedukovat, že rybí olej má vliv na obsah mastných kyselin. Zjištěné obsahy tuku v sušině u všech sýrových vzorků potvrzují, že kontrolní vzorek bez oleje měl nejnižší obsah tuku a s přídatkem rybího oleje rostl obsah tuku v analozích. Ze všech identifikovaných mastných kyselin v sýru a zích převažovaly nasycené mastné kyseliny jak u vázaných, tak u volných. S přídatkem rybího oleje rostl obsah vázaných mastných kyselin – čím větší přídatek oleje, tím více mastných kyselin. Obsah volných mastných kyselin byl oproti očekávání nejvyšší u standardu.

Majoritními vázanými i volnými mastným kyselinami byly kyselina palmitová, olejová, myristová a stearová.

Analogy obsahovaly oproti standardu žádoucí nenasycené omega-3 kyseliny EPA, DHA a ALA, jejich obsah rostl s přídatkem oleje.

Ve vzorcích bylo celkově zjištěno 30 těkavých (aromatických) látek, z toho 7 aldehydů, 7 kyselin, 4 alkoholy, 3 ketony, 3 terpeny, 2 ethery, 2 sírné sloučeniny, 1 amid a 1 ester. Početně bylo nejvíce těkavých (aromatických) látek identifikováno v obou sýrových analozích s přídatky 5 a 10 ml oleje (23 látek), protože obsahovaly aromatické látky z čerstvého sýru i z rybího oleje. Podle ploch píků bylo však nejvíce aromatických látek obsaženo v samotném rybím oleji. Nejméně aromatických (těkavých) látek měl kontrolní vzorek sýru bez přídatku oleje. Skupinově převažovaly v sýrových vzorcích aldehydy a kyseliny. U rybího oleje převažovaly alkoholy a kyseliny.

Pomocí senzorycké analýzy byl nejlépe ohodnocen vzorek bez přídatku oleje ve všech kategoriích i v pořadovém testu. Z výsledku taktéž vyplývá, že rozdíly mezi analogy nejsou příliš markantní, jejich rybí chuť vnímali spotřebitelé podobně. Dle pořadového testu byl však nejhůře hodnocen analog s větším přídatkem oleje. Sýrové analogy s přídatkem rybího oleje spotřebitelům spíše nechutnaly.

Z důvodu nepopulární vůně a chuti rybího oleje jsou sýrové analogy s jeho přídatkem pro spotřebitele nepřijatelné. Je proto potřeba hledat jinou variantu, jak zvýšit příjem omega-3 nenasycených mastných kyselin eikosapentaenové a dokosahexaenové v potravě.

6 Seznam použitých zdrojů

- [1] NAVRÁTILOVÁ, Pavlína, Michaela KRÁLOVÁ (DRAČKOVÁ), Bohumíra JANŠTOVÁ, Hana PŘIDALOVÁ, Šárka CUPÁKOVÁ a Lenka VORLOVÁ. *Hygiena produkce mléka*. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická fakulta Brno, 2012. ISBN 978-80-7305-625-4.
- [2] ZADRAŽIL, Karel. *Mlékařství: (přednášky)*. Praha: ISV, 2002. Živočišná výroba (Česká zemědělská univerzita). ISBN 80-866-4215-1.
- [3] GRIFFITHS, Mansel W. *Improving the safety and quality of milk: Volume 1: Milk production and processing*. 1. Coventry, West Midlands, UK: Woodhead Publishing Limited, 2010. ISBN 978-1-84569-438-8.
- [4] Vitamín F: funkce, účinky a potraviny s vysokým obsahem. In: *Staymedik* [online]. -: -, 2019 [cit. 2022-05-17]. Dostupné z: <https://staymedik.cz/clanky/vitamin-f/>
- [5] *Vyhláška č.247/2019 Sb.: Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje*. 1. Praha: Wolters Kluwer, 2019.
- [6] MANDAL, Ajay, Abhijit SAMANTA, Achinta BERA a Keka OJHA. Characterization of Oil–Water Emulsion and Its Use in Enhanced Oil Recovery. *Industrial & engineering chemistry research* [online]. WASHINGTON: American Chemical Society, 2010, **49**(24), 12756-12761 [cit. 2022-04-15]. ISSN 0888-5885. Dostupné z: doi:10.1021/ie101589x
- [7] VAN HEKKEN, DIANE L, MICHAEL H TUNICK, PEGGY M TOMASULA, FRANCISCO J MOLINA CORRAL a ALFONSO A GARDEA. Mexican Queso Chihuahua: rheology of fresh cheese. *International journal of dairy technology* [online]. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2007, **60**(1), 5-12 [cit. 2022-04-05]. ISSN 1364-727X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-0307.2007.00291.x
- [8] DE BARROS, Cássia Pereira, Amauri ROSENTHAL, Eduardo Henrique Miranda WALTER a Rosires DELIZA. Consumers' attitude and opinion towards different types of fresh cheese: An exploratory study. *Ciência e tecnologia de alimentos* [online]. CAMPINAS: SOC BRASILEIRA CIENCIA TECNOLOGIA ALIMENTOS, 2016, **36**(3), 448-455 [cit. 2022-04-05]. ISSN 0101-2061. Dostupné z: doi:10.1590/1678-457X.00616
- [9] GUTIÉRREZ-PEÑA, Rosario, Carmen AVILÉS, Hortensia GALÁN-SOLDEVILLA, Oliva POLVILLO, Pilar Ruiz PÉREZ-CACHO, José Luis GUZMÁN, Alberto HORCADA a Manuel DELGADO-PERTÍÑEZ. Physicochemical composition, antioxidant status, fatty acid profile, and volatile compounds of milk and fresh and ripened

- ewes' cheese from a sustainable part-time grazing system. *Foods* [online]. Switzerland: MDPI AG, 2021, **10**(1), 80 [cit. 2022-05-18]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods10010080
- [10] MONEEB, Asmaa H. M., C.F. AGUILAR-PÉREZ, A.J. AYALA-BURGOS, F.J. SOLORIO-SANCHEZ a J.C. KU-VERA. Fatty acids profile of fresh cheese produced in an intensive silvopastoral system in the tropics. *Tropical and subtropical agroecosystems* [online]. Universidad Autónoma de Yucatán, 2019, **22**(3), 631-637 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: file:///C:/Users/Sa%C5%A1enka/Downloads/2679-12951-1-PB.pdf
- [11] COGAN, Timothy M, Timothy P GUINEE, Paul L. H MCSWEENEY a Patrick F FOX. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 2. Amsterdam: Elsevier: Academic Press, 2004. ISBN 9780122636530.
- [12] JEŽEK, František a Alena SALÁKOVÁ. *Senzorická analýza potravin*. Brno, 2012. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.
- [13] BACHMANN, Hans-peter. Cheese analogues: a review. *International dairy journal* [online]. OXFORD: Elsevier Ltd, 2001, **11**(4), 505-515 [cit. 2022-04-01]. ISSN 0958-6946. Dostupné z: doi:10.1016/S0958-6946(01)00073-5
- [14] PAPADEMAS, Photis a Thomas BINTSIS. *Global Cheesemaking Technology*. 1. Newark: John Wiley & Sons, Incorporated, 2017. ISBN 9781119046158. Dostupné z: doi:10.1002/9781119046165
- [15] HADAŠOVÁ, Klára. *Domácí mlékař: Jak přijít vlastním přičiněním k mléčným produktům*. 1. Průhonice: Lukáš Hadaš - Analfabet, 2014. ISBN 978-80-905790-0-2.
- [16] FORMAN, Ladislav, Vladimír HUŠEK, Milada PLOCKOVÁ, Jana SNÁŠELOVÁ a Jarmila ŠTÍPKOVÁ. *Mlékárenská technologie II*. 1. Praha: VŠCHT Praha, 1994. ISBN 80-7080-214-6.
- [17] JANŠTOVÁ, Bohumíra a Pavlína NAVRÁTILOVÁ. *PRODUKCE MLÉKA A TECHNOLOGIE MLÉČNÝCH VÝROBKŮ*. 1. Brno: VFU Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-712-1.
- [18] VÅGSHOLM, Ivar. Scientific Opinion on Fish Oil for Human Consumption. Food Hygiene, including Rancidity. *EFSA Journal* [online]. 2010, **8**(10), 1-48 [cit. 2022-04-26]. ISSN 1831-4732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2010.1874
- [19] RIEDIGER, Natalie D., Rgia A. OTHMAN, Miyoung SUH a Mohammed H. MOGHADASIAN. A Systemic Review of the Roles of n-3 Fatty Acids in Health and Disease. *Journal of the American Dietetic Association* [online]. CHICAGO: Elsevier Inc, 2009, **109**(4), 668-679 [cit. 2022-04-28]. ISSN 0002-8223. Dostupné z: doi:10.1016/j.jada.2008.12.022

- [20] ZHANG, Xuebing, Liu LIN, Zhuaxia CHEN, Jing ZHANG, Xichang WANG a Ningping TAO. Characterization of refined fish oil from small fish in Mauritania. *Aquaculture and fisheries* [online]. 2020, **7**(4), 1-8 [cit. 2022-05-25]. ISSN 2096-1758. Dostupné z: doi:10.1016/j.aaf.2020.11.003
- [21] GARG, M.L, L.G WOOD, H SINGH a P.J MOUGHAN. Means of Delivering Recommended Levels of Long Chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Human Diets. *Journal of food science* [online]. MS 20060097 Submitted 2/13/2006, Accepted 3/17/2006. Malden, USA: Blackwell Publishing Inc, 2006, **71**(5), 66-71 [cit. 2022-04-28]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00033.x
- [22] DRUSCH, Stephan a Saverio MANNINO. Patent-based review on industrial approaches for the microencapsulation of oils rich in polyunsaturated fatty acids. *Trends in food science & technology* [online]. LONDON: Elsevier Ltd, 2009, **20**(6), 237-244 [cit. 2022-04-28]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2009.03.007
- [23] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [24] MCNAIR, Harold M, James M MILLER a Frank A SETTLE. *Basic Gas Chromatography*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470480106>. Hoboken: John Wiley & Sons, Incorporated, 2009. ISBN 0470439548.
- [25] *Analytická chemie*. 1. Praha: VŠCHT Praha, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [26] POUSTKA, Jan. Mikroextrakce tuhou fází. In: *Web.vscht.cz* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2018 [cit. 2022-05-24]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-2%20SPME_SBSE_MEPS-JP2018.pdf
- [27] SONG, Gongshuai, Zhiyuan DAI, Qing SHEN, Xi PENG a Mengna ZHANG. Analysis of the Changes in Volatile Compound and Fatty Acid Profiles of Fish Oil in Chemical Refining Process. *European journal of lipid science and technology* [online]. HOBOKEN: WILEY, 2018, **120**(2), 1700219- [cit. 2022-05-27]. ISSN 1438-7697. Dostupné z: doi:10.1002/ejlt.201700219
- [28] IANNI, Andrea, Francesca BENNATO, Camillo MARTINO, Lisa GROTTA a Giuseppe MARTINO. Volatile flavor compounds in cheese as affected by ruminant diet. *Molecules (Basel, Switzerland)* [online]. Switzerland: MDPI AG, 2020, **25**(3), 461 [cit. 2022-05-27]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25030461
- [29] SYMPOURA, F, A CORNU, P TOURNAYRE, T MASSOURAS, J.L BERDAGUÉ a B MARTIN. Odor compounds in cheese made from the milk of cows supplemented with extruded linseed and α -tocopherol. *Journal of dairy science* [online]. NEW YORK:

Elsevier Inc, 2009, **92**(7), 3040-3048 [cit. 2022-05-27]. ISSN 0022-0302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2008-1802

- [30] VENKATESHWARLU, Gudipati, Mette B LET, Anne S MEYER a Charlotte JACOBSEN. Chemical and Olfactometric Characterization of Volatile Flavor Compounds in a Fish Oil Enriched Milk Emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. WASHINGTON: American Chemical Society, 2004, **52**(2), 311-317 [cit. 2022-05-27]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf034833v
- [31] URBACH, G. The flavour of milk and dairy products: II. Cheese. *International journal of dairy technology* [online]. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 1997, **50**(3), 79-89 [cit. 2022-05-27]. ISSN 1364-727X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-0307.1997.tb01743.x
- [32] Flavor Bites: Anethole. In: *Perfumerflavorist.com* [online]. [cit. 2022-05-27]. Dostupné z: <https://www.perfumerflavorist.com/flavor/beverage/article/21857150/flavor-bites-anethole>

7 Seznam použitých zkratek

CCP	koloidní kalcium fosfát
(O/V)	emulze typu olej ve vodě
BMK	bakterie mléčného kvašení
ČMK	čisté mlékařské kultury
LDL	lipoprotein s nízkou hustotou
GMP	glykomakropeptid
TAG	triacylglyceroly
VMK	volné mastné kyseliny
MK	mastné kyseliny
MeMK	methylestery mastných kyselin
EPA	kyselina eikosapentaenová
DHA	kyselina dokosahexaenová
ALA	kyselina α -linolenová
TVS	tuk v sušině
SFA	nasyčené mastné kyseliny
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
RO	rybí olej
DDT	dichlordifenyltrichlorethan
HS-SPME	mikroextrakce tuhou fází z plynné fáze
GC	plynová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
LC	kapalinová chromatografie
TOF	analyzátor doby letu

8 Seznam příloh

- Příloha 1 Formulář sensorické analýzy
- Příloha 2 Chromatogram identifikovaných VMK pro vzorek čerstvého sýru (10krát zředěno)
- Příloha 3 Chromatogram identifikovaných VMK pro analog s přídavkem 5 ml oleje (10krát zředěno)
- Příloha 4 Chromatogram identifikovaných VMK pro analog s přídavkem 10 ml oleje (10krát zředěno)
- Příloha 5 Chromatogram identifikovaných VMK pro rybí olej (10krát zředěno)

9 Přílohy

Příloha 1 Formulář sensorické analýzy

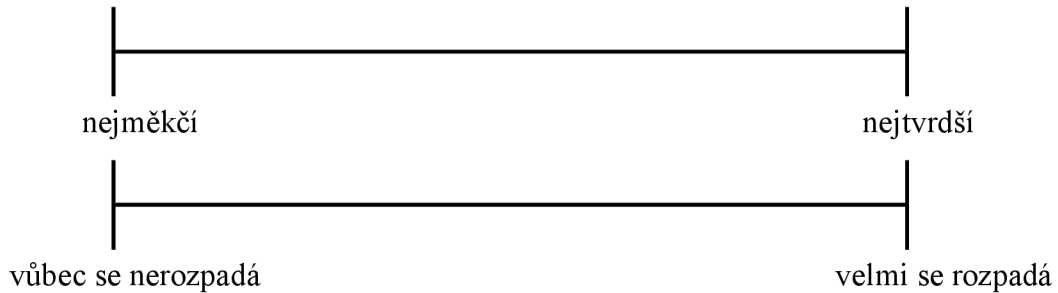
Senzorická analýza sýrových analogů

Datum: muž/žena

kuřák/nekuřák

1, TEXTURA

- Ohodnoťte texturu vzorků podle uvedených stupnic (všechny vzorky na každou stupnici):

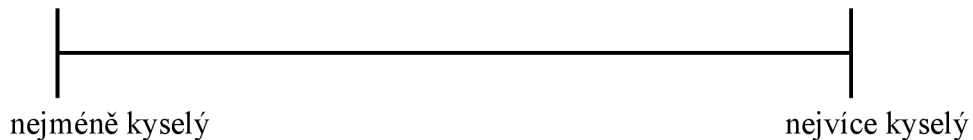


- Ohodnoťte celkově texturu všech 3 vzorků:

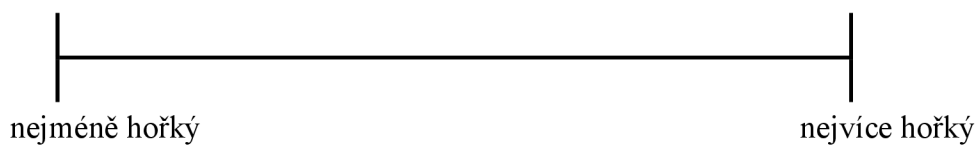
2, CHUŤ

- Ohodnoťte vybrané deskriptory chuti dle uvedených stupnic (všechny vzorky na 1 stupnici):

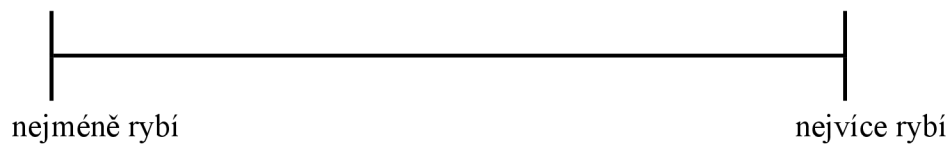
kyselá



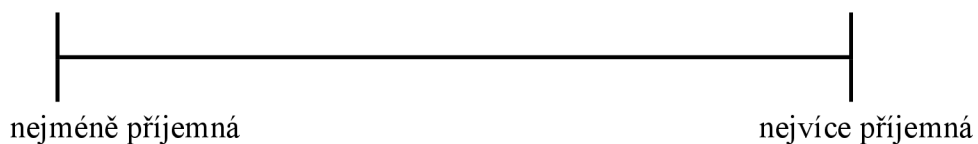
hořká



rybí



příjemnost

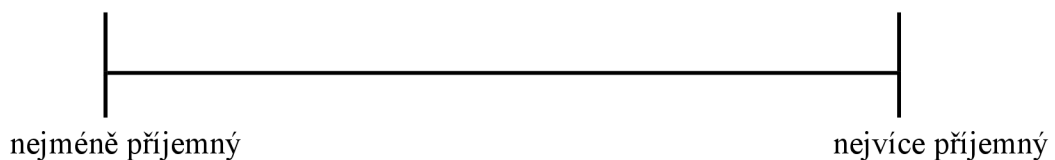
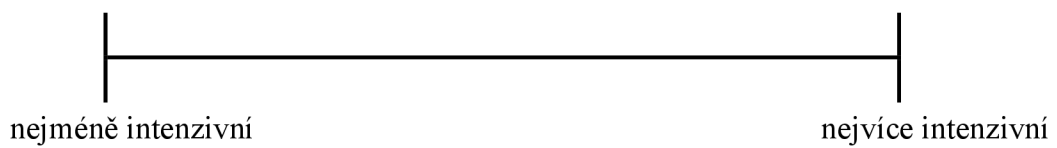


- Ohodnoťte celkově chuť (co Vám chutnalo, vadilo, vyhovovalo atd.):

Vzorek	Ohodnocení
3511	
9206	
8360	

3, VŮŇ

- Ohodnoťte vůni vzorků dle uvedených stupnic (všechny vzorky na každou stupnici):



- Ohodnoťte vůni jednotlivých vzorků:

Vzorek	Ohodnocení
3511	
9206	
8360	

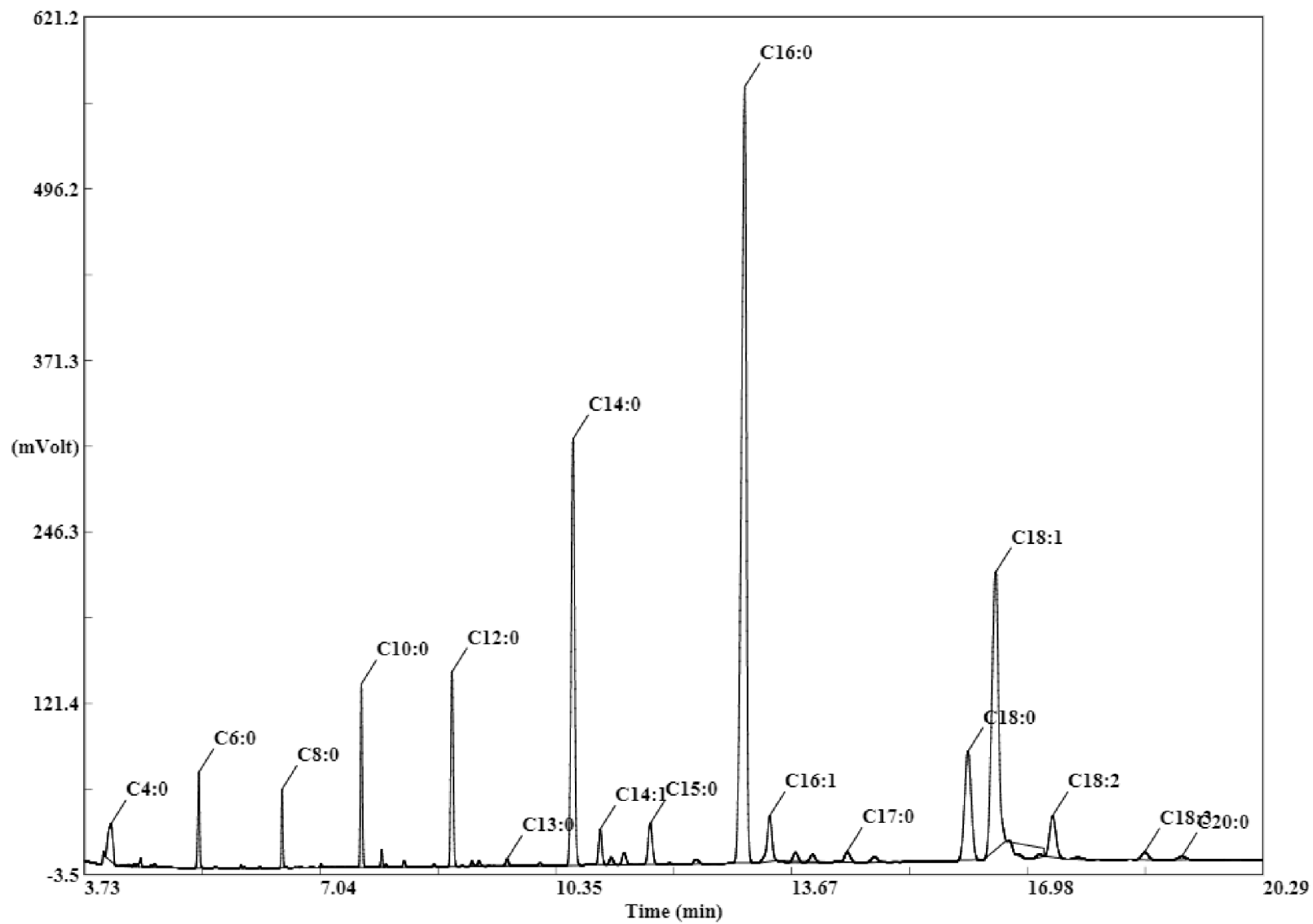
4, POŘADOVÝ TEST

- Seřaďte vzorky od nejhoršího po nejlepší:

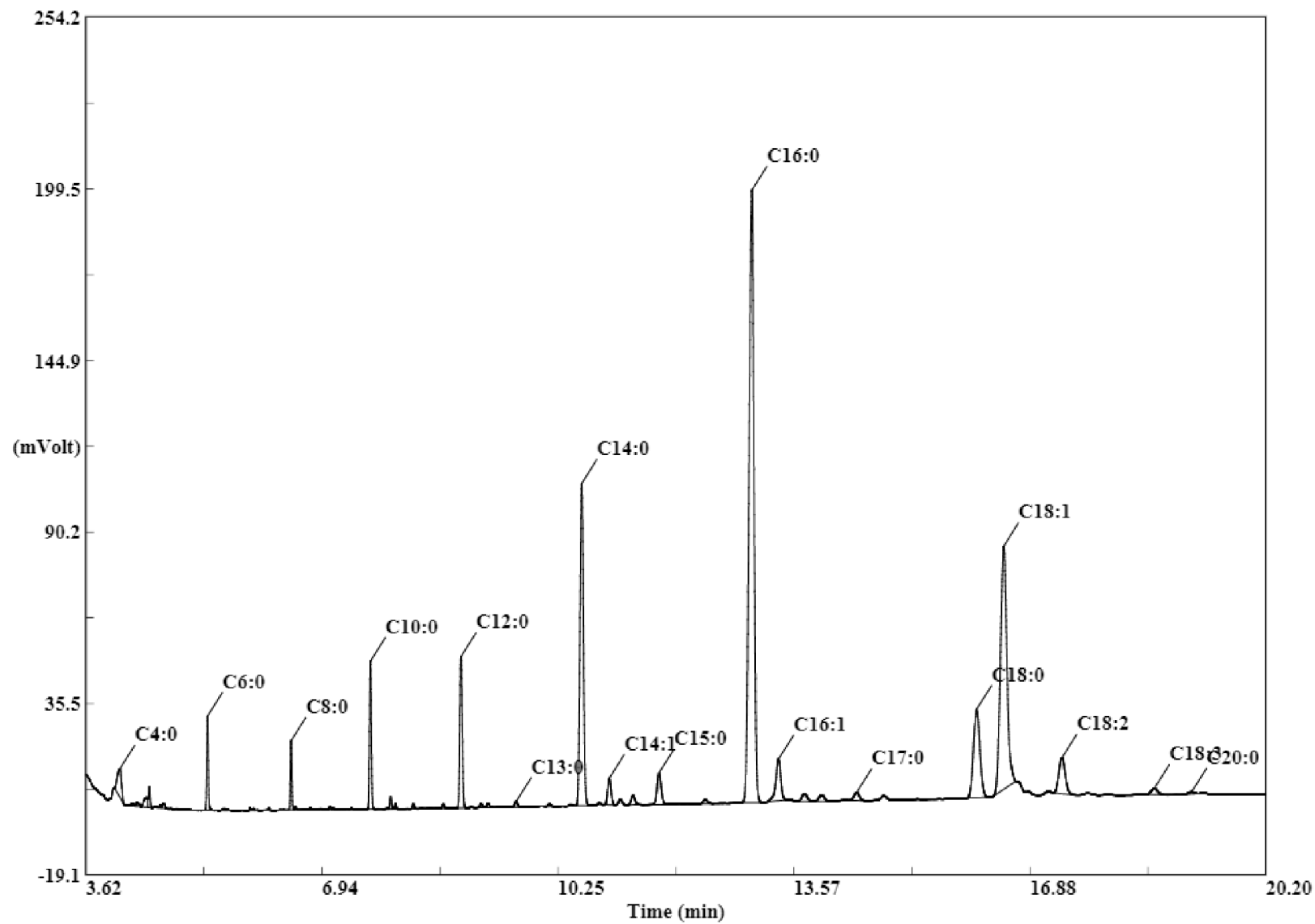
	nejhorší	střední	nejlepší
Číslo vzorku			

Jakékoliv připomínky:

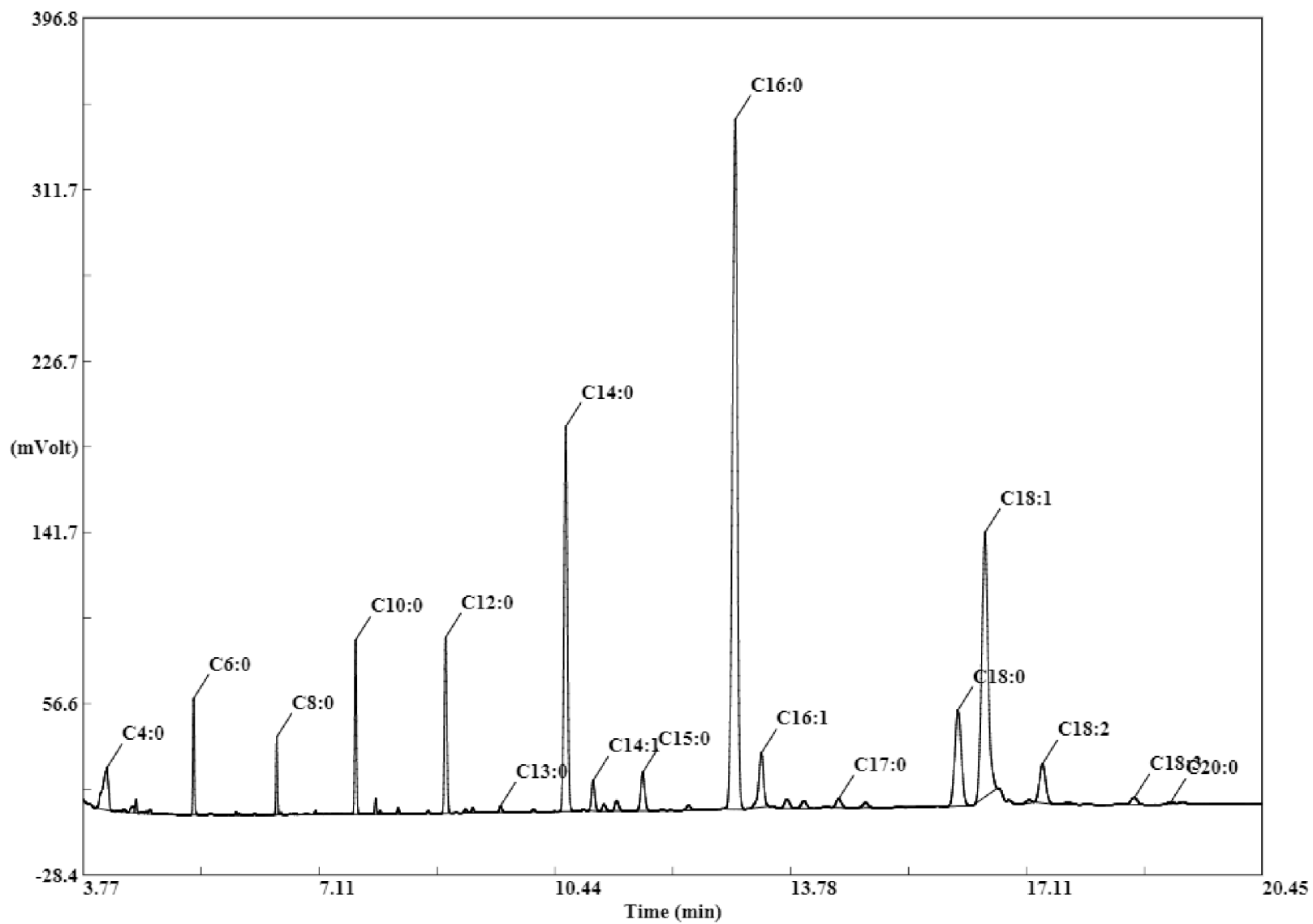
Příloha 2 Chromatogram identifikovaných VMK pro vzorek čerstvého sýru (10krát zředěno), identifikace sloučenin viz tabulka č. 5



Příloha 3 Chromatogram identifikovaných VMK pro analog s přídavkem 5 ml oleje (10krát zředěno), identifikace sloučenin viz tabulka č. 5



Příloha 4 Chromatogram identifikovaných VMK pro analog s přídavkem 10 ml oleje (10krát zředěno), identifikace sloučenin viz tabulka č. 5



Příloha 5 Chromatogram identifikovaných VMK pro rybí olej (10krát zředěno), identifikace sloučenin viz tabulka č. 5

