



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VÝROBA A CHARAKTERIZACE SÝROVÝCH ANALOGŮ S PŘÍDAVKEM ROSTLINNÉHO OLEJE

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHEESE ANALOGUES WITH THE ADDITION OF
VEGETABLE OIL

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Lucie Babištová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1538/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Lucie Babištová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Výroba a charakterizace sýrových analogů s přídavkem rostlinného oleje

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - čerstvé sýry – charakteristika, složení a vlastnosti, technologie výroby
 - charakteristika, složení a vlastnosti sýrových analogů
 - charakteristika, složení a vlastnosti vybraných rostlinných olejů – obsažené těkavé (aromatické) látky, jejich význam a možnosti využití v potravinářství
 - sensorická kvalita, těkavé (aromatické) látky, mastné kyseliny v olejích, sýrech a sýrových analogích
 - možnosti stanovení těkavých látek a mastných kyselin v sýrech a sýrových analogích – princip, provedení, přehled aplikací především na čerstvé sýry
 - možnosti sensorického hodnocení sýrů a sýrových analogů – přehled aplikací především na čerstvé sýry
2. Vyrobte modelové vzorky sýrových analogů s přídavkem rostlinných olejů
3. Pomocí metody HS–SPME–GC–MS identifikujte a kvantifikujte těkavé látky ve vyrobených vzorcích analogů
4. Pomocí metody GC–FID identifikujte a kvantifikujte volné a vázané mastné kyseliny ve vyrobených vzorcích analogů
5. Pomocí vybraných sensorických metod zhodnoťte sensorickou kvalitu vyrobených analogů
6. Diskutujte příp. korelační závislosti mezi uvedenými faktory

Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

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

Bc. Lucie Babištová
student(ka)

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá výrobou a charakterizací sýrových analogů, tedy výrobků, ve kterých je některá z mléčných složek částečně nebo úplně nahrazena nemléčnou složkou.

Modelové vzorky čerstvého sýra (standard) a analogů čerstvého sýra s přídavkem lněného a řepkového oleje byly vyrobeny standardním technologickým postupem na MENDELU v Brně. Ve vzorcích byl sledován obsah vázaných a volných mastných kyselin, těkavých (aromatických) látek a sensorická kvalita. Cílem bylo zhodnotit vliv přidaného rostlinného oleje na sledované parametry.

Tuky ze vzorku byly extrahovány směsí rozpouštědel diethyletheru a petroletheru. Mastné kyseliny byly převedeny na methylestery kyselou esterifikací katalyzovanou bortrifluoridem a stanoveny metodou GC-FID. V analozích byl nalezen vyšší obsah mastných kyselin ve srovnání s kontrolním vzorkem, a především vzrostl obsah nenasycených mastných kyselin. Pro identifikaci a semikvantifikaci těkavých (aromatických) látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS. Ve vzorcích bylo identifikováno 56 těkavých sloučenin; výrazně se lišilo procentuální zastoupení jednotlivých chemických skupin, nejvyšší obsah byl nalezen v kontrolním vzorku.

Senzorické hodnocení bylo provedeno pomocí stupnic a pořadového testu. Ve všech sledovaných ukazatelích (vzhled, barva, konzistence, vůně a chuť) byl nejlépe hodnocen kontrolní vzorek. U analogů byla detekována chuť a vůně po použitém oleji, která byla zvláště v případě použití řepkového oleje hodnotitelům nepříjemná.

Ze získaných výsledků vyplývá, že přídavek rostlinných olejů sice zvyšuje nutriční hodnotu sýrů (vyšší obsah nenasycených mastných kyselin), ale snižuje jejich sensorickou kvalitu a celkovou přijatelnost spotřebiteli.

Summary

This thesis deals with the production and characterization of cheese analogues, ie products in which some of the dairy components are mutually or completely replaced by a non-dairy component.

Model samples of fresh cheese and analogues of fresh cheese (standard) with the addition of linseed and rapeseed oil were produced by a standard technological procedure in MENDELU Brno.

The content of bound and free fatty acids, volatile (aroma) substances and sensory quality was monitored in the samples. The main focus was to evaluate the effect of added vegetable oil on the monitored parameters.

The fats from the sample were extracted with a mixture of diethyl ether and petroleum ether. Fatty acids were converted to methyl esters by boron trifluoride-catalyzed acid esterification and subsequently identified by GC-FID. The analysis found a higher content of fatty acids in cheese analogues in comparison with the control sample, also the content of unsaturated fatty acids increased. The HS-SPME-GC-MS method was used for the identification and semi-quantification of volatile substances (aromatic substances). 56 volatile compounds were identified in the samples; The percentage of individual chemical groups differed significantly, the highest content was found in the control sample.

Sensory evaluation was performed using a scale and a serial test. In all of monitored indicators (appearance, color, consistency, smell and taste) the control sample was evaluated as best. As for the analogues the taste and smell of used oils were detected, which was unpleasant for the evaluators.

The obtained results show that the addition of vegetable oils increases the nutritional value of cheeses (higher content of unsaturated fatty acids), but reduces their sensory quality and overall consumer acceptability.

Klíčová slova

sýrové analogy, rostlinné oleje, aromatické látky, MK, SPME, GC-FID/MS

Keywords

cheese analogues, vegetable oils, aroma compounds, FA, SPME, GC-FID/MS

BABIŠTOVÁ, L. *Výroba a charakterizace sýrových analogů s přidáním rostlinného oleje*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2021. 107 s. Vedoucí doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci na téma „Výroba a charakterizace sýrových analogů s přídavkem rostlinného oleje“ vypracovala sama s využitím uvedených literárních zdrojů a pramenů.

Bc. Lucie Babištová

Děkuji doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D za odborné vedení, cenné rady, ochotu, laskavost a pomoc při vypracování diplomové práce. Chci také poděkovat manželovi a rodině za trpělivost a podporu během studia i při psaní této práce.

Bc. Lucie Babištová

Obsah

1	Úvod	11
2	Teoretická část	12
2.1	Rozdělení sýrů	12
2.2	Čerstvé sýry	13
2.2.1	Technologie výroby čerstvých sýrů	13
2.2.1.1	Paneer	14
2.2.1.2	Queso blanco	14
2.2.1.3	Cottage	15
2.2.1.4	Ricotta	17
2.2.1.5	Mascarpone	17
2.2.1.6	Mysost	18
2.2.2	Složení čerstvých sýrů	18
2.3	Sýrové analogy	21
2.3.1	Složení a vlastnosti	23
2.3.1.1	Voda	23
2.3.1.2	Bílkoviny	23
2.3.1.3	Tuky	24
2.3.1.4	Emulgační soli	25
2.3.1.5	Škrob	25
2.3.1.6	Hydrokoloidy	26
2.3.1.7	Inulin	26
2.3.1.8	Okyselující látky	26
2.3.1.9	Konzervanty	26
2.3.2	Analog čerstvého sýru	26
2.4	Rostlinné oleje použité pro výrobu vzorků analogů	27
2.4.1	Lněný olej	27
2.4.1.1	Vlastnosti	28
2.4.1.2	Mastné kyseliny	29
2.4.2	Řepkový olej	29
2.4.2.1	Mastné kyseliny	30
2.4.3	Porovnání lněného a řepkového oleje	30
2.5	Aromatické látky	31
2.5.1	Tvorba aromatických látek v sýrech	31
2.5.1.1	Fermentace laktózy a konverze citrátu	31
2.5.1.2	Proteolýza a katabolismus aminokyselin	32
2.5.1.3	Metabolismus aminokyselin s rozvětveným řetězcem	33
2.5.1.4	Katabolismus aromatických aminokyselin	34
2.5.1.5	Methionin a jeho katabolická cesta	34
2.5.1.6	Lipolýza a katabolismus mastných kyselin	34
2.5.2	Aromatické látky v čerstvých sýrech	35
2.5.3	Aromatické látky v sýrových analogích	38
2.5.4	Aromatické látky v řepkovém a lněném oleji	39
2.6	Stanovení mastných kyselin v čerstvých sýrech	39

2.6.1	Přehled aplikací na čerstvé sýry	40
2.7	Stanovení aromatických látek v čerstvých sýrech	41
2.7.1	Přehled aplikací na čerstvé sýry	42
2.8	Senzorické hodnocení sýrů	42
2.8.1	Senzorické vlastnosti sýrů	43
2.8.2	Senzorické hodnocení čerstvých sýrů a sýrových analogů – přehled aplikací	45
3	Experimentální část	46
3.1	Chemikálie a laboratorní vybavení	46
3.1.1	Chemikálie	46
3.1.2	Plyny	46
3.1.3	Přístroje	47
3.1.4	Laboratorní pomůcky	47
3.2	Analyzované vzorky	47
3.3	Použité metody pro stanovení mastných kyselin	48
3.3.1	Extrakce lipidů ze vzorku sýra	48
3.3.1.1	Princip	48
3.3.1.2	Přístroje a pomůcky	48
3.3.1.3	Chemikálie	49
3.3.1.4	Postup	49
3.3.2	Příprava methylesterů mastných kyselin	49
3.3.2.1	Kyselá esterifikace s bortrifluoridem jako katalyzátorem (TAG)	50
3.3.2.2	Kyselá esterifikace s bortrifluoridem jako katalyzátorem (VMK)	50
3.3.3	Podmínky stanovení methylesterů mastných kyselin	53
3.4	Použité metody pro stanovení aromaticky aktivních látek	54
3.4.1	Příprava vzorků	54
3.4.1.1	Podmínky SPME extrakce	54
3.4.1.2	Podmínky GC-MS analýzy	54
3.4.1.3	Identifikace a kvantifikace těkavých látek	55
3.5	Senzorická analýza	55
3.6	Statistické zpracování výsledků	56
4	Výsledky a diskuze	57
4.1	Obsah sušiny a tuku v sušině ve vzorcích	57
4.2	Volné a vázané mastné kyseliny v modelových vzorcích sýrů/analogů	59
4.2.1	Přehled identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích	59
4.2.2	Srovnání obsahu vázaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů	60
4.2.3	Srovnání obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů	62
4.3	Těkavé (aromatické) látky v modelových vzorcích sýrů/analogů	64
4.3.1	Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích	66
4.3.2	Srovnání obsahu identifikovaných látek ve vzorcích	67
4.4	Senzorická kvalita modelových vzorků sýrů/analogů	70
4.4.1	Hodnocení kontrolního vzorku	70
4.4.2	Hodnocení sýrového analogu s přidavkem řepkového oleje	71

4.4.3	Hodnocení sýrového analogu s přidavkem lněného oleje	73
4.4.4	Srovnání sensorické kvality vzorků	74
4.4.5	Výsledky pořadového testu	75
Závěr		76
Seznam použitých zdrojů		76
Seznam použitých zkratk		82
Seznam obrázků		84
Seznam tabulek		85
Seznam příloh		86
Přílohy		88

1. Úvod

Sýry patří mezi nejhodnotnější potraviny v jídelníčku člověka a jsou jeho neodmyslitelnou součástí. Tato práce se zabývá především čerstvým sýrem. Čerstvé sýry jsou definovány jako nezrající sýry, díky tomu je jejich výroba jednoduchá a rychlá. V některých zemích patří čerstvý sýr k nejvyhledávanějším druhům sýra. Co se týče konzistence a obsahu tuku je tento druh sýrů velmi rozmanitý, obsah sušiny se pohybuje okolo 20 %. Nejznámější zástupci jsou Mascarpone, Cottage nebo Ricotta.

Sýrové analogy jsou na trhu už více než 50 let. Jejich vnímání se za tu dobu velmi změnilo. Z počátku byly vnímány jako napodobeniny konvenčních sýrů, dnes jsou podporovány především kvůli nižší ceně a lepšímu složení ve srovnání s klasickými sýry. Obecně je sýrový analog označován jako výrobek, ve kterém je mléčná složka částečně nebo úplně nahrazená složkou nemléčnou. Tímto způsobem je např. možné dosáhnout vyššího obsahu nenasycených mastných kyselin, na jejichž obsah jsou bohatší rostlinné oleje, a snížit obsah nasycených mastných kyselin, které se hojně nachází v mléčném tuku.

Řepkový a lněný olej jsou rostlinné oleje bohaté na nenasycené mastné kyseliny. V případě řepkového oleje je to především kyselina olejová, v případě lněného oleje kyselina linolenová. Toto byl hlavní důvod, proč byly pro výrobu sýrových analogů vybrány právě tyto dva oleje.

Cílem této diplomové práce bylo vyrobit sýrové analogy s přídavkem řepkového a lněného oleje, a následná charakterizace vyrobených vzorků z hlediska obsahu volných a vázaných mastných kyselin, aromaticky aktivních látek a jejich senzorycká analýza pro posouzení přijatelnosti pro spotřebitele.

2. Teoretická část

Tato práce je zaměřena na výrobu modelových vzorků analogů čerstvých sýrů s přidáním rostlinných olejů, konkrétně lněného a řepkového. Teoretická část je zaměřena na charakteristiku, rozdělení, vlastnosti a popis technologie výroby čerstvých sýrů a sýrových analogů. Ve zvláštních kapitolách jsou charakterizovány uvedené oleje.

Jako hlavní charakterizující parametry kvality vzorků byly vybrány a sledovány: volné a vázané mastné kyseliny, aromaticky aktivní látky a sensorická kvalita.

Podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. je sýr definován jako „mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, oddělením podílu syrovátky a následným prokysáním nebo zráním“ [1].

2.1. Rozdělení sýrů

Sýry můžeme klasifikovat podle mnoha kritérií [2,3]:

- Druh použitého mléka:
 - Kravské
 - Ovčí
 - Kozí, apod.
- Použité suroviny:
 - Přírodní sýry
 - Tavené sýry
 - Imitace sýrů připravené rekonstitucí složek mléka a mléčných surovin
 - Analogy sýrů
- Procentuální obsah tuku v sušině:
 - Vysokotučné (více než 60 % včetně)
 - Plnotučné (více než 45 % včetně)
 - Polotučné (více než 25 % včetně)
 - Nízkotučné (více než 10 % včetně)
 - Odtučněné (méně než 10 %)
- Procentuální obsah vody v tukuprosté sušině:
 - Extra tvrdé (méně než 47,0 % včetně)
 - Tvrdé (47,1 – 54,9 %)
 - Polotvrdé (55,0 – 61,9 %)
 - Poloměkké (62,0 – 68,0 % včetně)
 - Měkké (více než 68,0 %)

- Způsob zrání:
 - Sýry nezrající
 - Čerstvé
 - Termizované
 - Sýry zrající
 - Na povrchu
 - S mazem na povrchu
 - V celé hmotě
- Způsob srážení:
 - Sladké sýry (sladké/syřidlové srážení)
 - Kyselé sýry (kyselé srážení)
 - Sýry se smíšeným srážením mléka (srážení vlivem syřidla a kyseliny mléčné)

2.2. Čerstvé sýry

Především kvůli relativně jednoduché výrobě a nepotřebě zrání byly pro experimentální část této práce zvoleny sýry čerstvé.

Čerstvý sýr je podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. definován jako „nezrající sýr, včetně nezrajících sýrů termizovaných“ [1]. Tento sýr se konzumuje ve své základní podobě bez následných technologických procesů. Prochází pouze mléčným kvašením. Sýřenina se po srážení mléka oddělí od syrovátky a oproti ostatním druhům sýra nedochází k následnému zrání. Čerstvé sýry se mezi sebou liší konzistencí a obsahem tuku, výrobní proces je však vždy prakticky stejný. Obsah sušiny se u čerstvých sýrů pohybuje kolem 20 % (nejméně však 18 %), takže u vysokotučných čerstvých sýrů s 80 % tuku v sušině má v absolutní hodnotě pouhých 16 g tuku ve 100 g. Před začátkem výroby je vždy nutné, aby mléko prošlo důkladnou pasterací. Pro delší trvanlivost se dnes většina původně čerstvých sýrů termizuje. Mezi čerstvé sýry se řadí např. Mascarpone, Cottage, Paneer nebo Ricotta [4–6].

Kyselé tvarohové sýry jsou pravděpodobně prvním typem sýrů, které se kdy vyráběly, protože pro kysání mléka je možné použít náhodnou mikroflóru. V některých zemích patří mezi nejvyhledávanější druhy sýrů [7, 8].

2.2.1. Technologie výroby čerstvých sýrů

Většina čerstvých sýrů se vyrábí kyselým srážením mléka (při pH 4,6), smetany nebo syrovátky nebo kombinací kyselého srážení s tepelným ohřevem. Srážení probíhá buď 12-16 hodin při teplotě 21-23 °C, nebo 4-6 hodin při 30 °C a je způsobeno přeměnou laktózy na kyselinu mléčnou přidáním startovací kultury a/nebo přidáním potravinářské kyseliny (mléčné, citrónové). Při kyselém srážení je pH 4,6 a teplota 30 °C. Pro kyselé srážení se zahříváním je pH 5,2 a teplota vyšší než 75 °C. Ve výjimečných případech se může přidat malé množství syřidla pro získání pevnější textury a minimalizaci ztráty kaseinu během

separace syrovátky. Použití syřidla je možné jen u sýrů kyselě srážených bez podpory zvýšením teploty [7, 8].

Výroba čerstvých sýrů zahrnuje následující kroky: úprava mléka (standardizace, pasteurace, případná homogenizace), poté okyselení, tvorba gelu, dehydratace gelu, tedy separace syrovátky a případné další úpravy hotového sýru (pasteurace, krájení, solení, kořenění atd.) [8].

Struktura vytvořeného gelu má vliv na strukturu a senzorycké vlastnosti konečného produktu a také na jeho fyzikálně-chemickou stabilitu během skladování. Je ovlivněna mnoha faktory, jako je množství bílkovin, pasteurace mléka, homogenizace, teplota při procesu okyselení a hodnota pH, při kterém je gel dehydratován. Struktura gelu má největší vliv na konečnou strukturu u sýrů, které nejsou po dehydrataci gelu dále upravovány (tvaroh) [8]. V následujících kapitolách jsou blíže popsány nejznámější druhy čerstvých sýrů.

2.2.1.1. Paneer

Paneer je jihoasijský (indický) sýr vyráběný z kravského nebo buvolího mléka nebo z jejich kombinace. Koagulace je zprostředkována kyselinou (mléčnou nebo citrónovou) nebo kyselým mlékem a zvýšením teploty. Kvalitní Paneer má mramorově bílou barvu, sladkou až mírně kyselou a oříškovou chuť. Pro výrobu kvalitního Paneeru je kvůli vyšší koncentraci tuku, kaseinů a minerálů (vápník, fosfor) lepší použít buvolí mléko. K dosažení dobrého výtěžku je nutné udržovat teplotu mléka 90 °C po 10-15 minut. Koncentrace kyselin ovlivňuje výslednou texturu sýru. Při použití 2% kyseliny je sýr měkký, zatímco při použití 5% kyseliny má sýr tvrdší konzistenci. Zředění kyselin závisí na druhu mléka, typu koagulantu a použité teplotě. Použitá teplota a hodnota pH má velký vliv na vlhkost, a tedy i na texturu. Nejlepší senzoryckou kvalitu má Paneer získaný srážením mléka při 70 °C. Také kolísání hodnoty pH má velký vliv na kvalitu sýru. Ovlivňuje strukturu, chuť i výtěžnost [7].

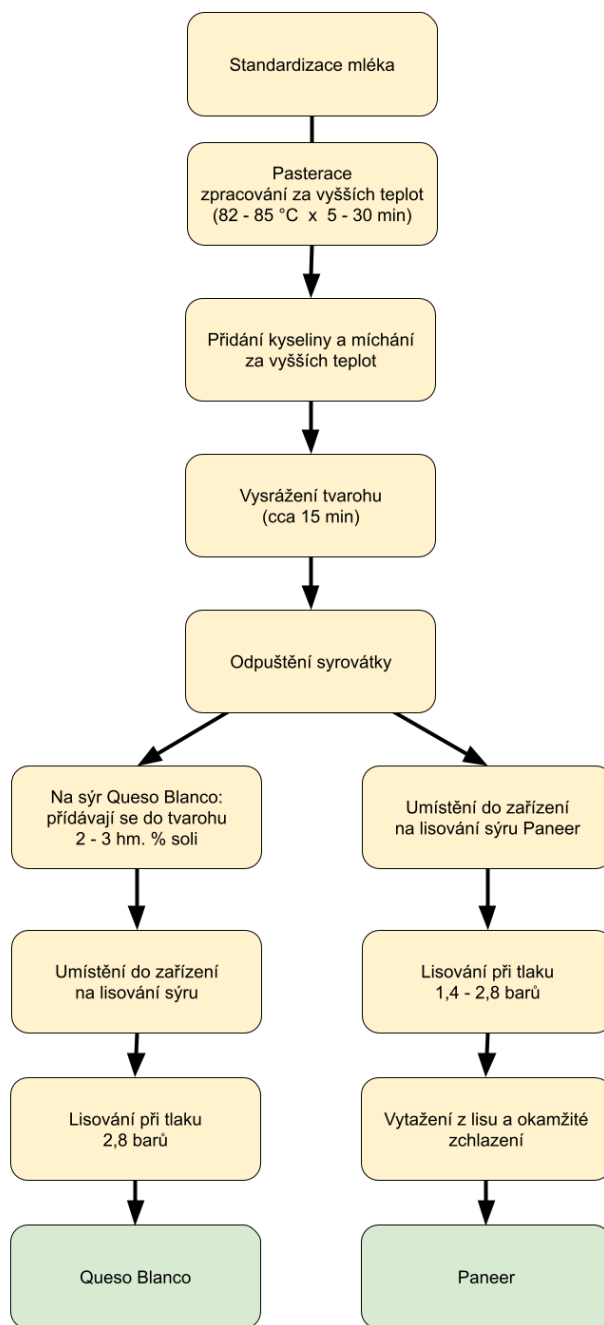
De [9] nebo Sachdeva a Singh [10] uvádějí pokles vlhkosti a výtěžku Paneeru, pokud je hodnota pH snížena z 5,5 na 5,0. Vishweshwaraiah a Anantakrishnan [11] však uvádějí, že Paneer vyrobený z kravského mléka srážením při pH 5,0 měl vynikající senzoryckou kvalitu oproti Paneeru sráženému při pH 5,5. Pro výrobu z kravského mléka popisují Sachdeva a kol. [12] nejlepší senzorycké vlastnosti při koagulaci při pH 5,20-5,25. Pro Paneer vyrobený z buvolího mléka je dle Sachdeva a Singh [10] pro senzoryckou kvalitu nejlepší srážení při pH 5,3-5,35. Základní postup výroby je zobrazen na Obrázku č. 2.1.

2.2.1.2. Queso blanco

Pro výrobu se používá mléko o obsahu tuku 3-3,5 %, které se zahřívá na 85 °C po dobu 30 minut. Mléko se poté ochladí na 82 °C v případě přidání 1-3% kyseliny (citrónové, mléčné, octové, jablečné), nebo na 70 °C v případě okyselení citrusovým ovocem (např. citrónem) nebo kyselou syrovátkou. Po okyselení dochází okamžitě ke koagulaci a směs se míchá po dobu asi 3 minut. Vytvořený sýr klesá ke dnu a usazování trvá přibližně 15 minut. Sýr se poté oddělí od syrovátky, solí se a následně vysekává a lisuje při tlaku 0,27 MPa po dobu 16 hodin. Nakonec se vakuově balí [7].

Hill a kol. [13] uvádějí, že koagulace s kyselinou citronovou při pH 5,2-5,3 poskytuje nejlepší senzorycké vlastnosti Queso blanco. Parnell-Clunies a kol. [14] uvádějí, že tepelným

zpracováním mléka po dobu 5 minut při teplotě 85 °C a při pH 5,3 byl získán strukturou nejpříjemnější a dobře krájitelný sýr. Základní postup výroby je zobrazen na Obrázku č. 2.1.

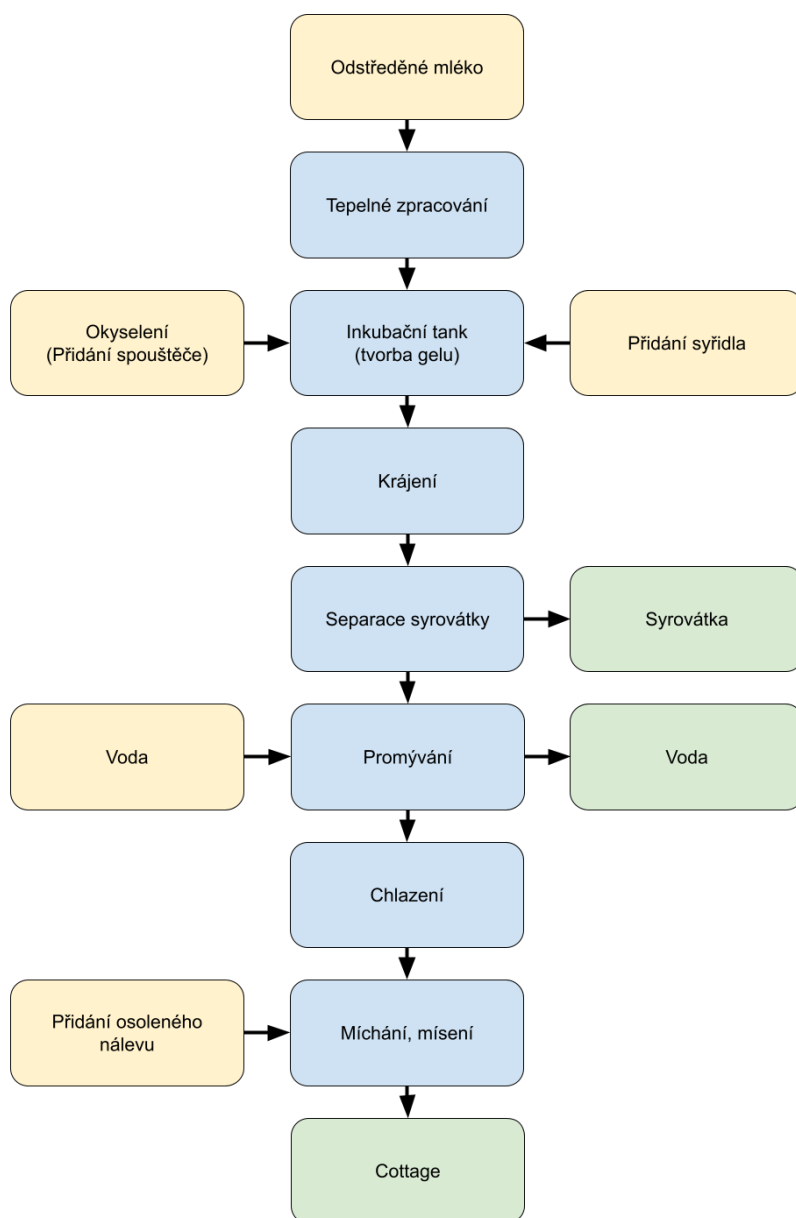


Obrázek 2.1: Výroba sýrů Queso blanco a Paneer [7]

2.2.1.3. Cottage

Cottage je měkký nezrající sýr, ve kterém jsou sýrová zrna v soleném krémovém dresinku. Jeho chuť je krémově jemná až mírně kyselá s nádechem diacetylu. Vyrábí se z odstředěného, pasterovaného (72 °C, 15 s) mléka naočkovaného startovací kulturou produkující

kyselinu mléčnou. Startovací kultury se používá $5-10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a k inkubaci dochází buď 14-15 hodin při teplotě $21-23 \text{ }^\circ\text{C}$ nebo 4-5 hodin při teplotě $30-32 \text{ }^\circ\text{C}$. Je možné použití syřidla při pH 6,3 za účelem zvýšení pevnosti gelu při krájení. Pevnost se zvyšuje při konstantní teplotě $50-60 \text{ }^\circ\text{C}$ s pH 4,6-4,9. Po krájení se sýřenina nechá sedimentovat po dobu 5-15 minut, poté se jemně míchá a pomalu zahřívá ($55 \text{ }^\circ\text{C}$). Dále se odpustí syrovátka a Cottage se promyje vodou o teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2-3 minut. Zrno se schladí a nechá stát alespoň 1 hodinu. Na závěr se zhomogenizovaný, pasterovaný a osolený nálev smíchá se sýrovými zrny. Obsah tuku ve výrobku se pohybuje mezi 4-5 %, přesto má Cottage plnou smetanovou chuť [6–8]. Postup výroby je znázorněn na Obrázku č. 2.2.



Obrázek 2.2: Výroba sýru Cottage

2.2.1.4. Ricotta

Tento sýr pochází z Itálie, v Latinské Americe se nazývá Rqueson a řadí se mezi syrovátkové sýry. Ricotta má měkkou a krémovou texturu, příjemnou a mírně sladkou karamelovou chuť. Vyrábí se z kravského mléka nebo syrovátky nebo z mléka kozího. Při výrobě je obvyklé přidávat k syrovátce 5-20 % plnotučného mléka, odstředěného mléka nebo odtučněného sušeného mléka. Syrovátka se většinou získává z výroby Mozzareilly, je však možné použít jakoukoliv sladkou syrovátku, která má pH vyšší než 6. Při výrobě Ricotty z plnotučného mléka je nutné ho okyselit na pH 6,0. Postup výroby Ricotty je následující. Syrovátka, případně syrovátková směs, se smíchá s mléčnou směsí. Před přidáním plnotučného, odstředěného nebo sušeného mléka je dobré syrovátku neutralizovat na pH 6,9-7,1 pomocí 25% roztoku NaOH. Směs se zahřívá na 80-85 °C. Při teplotě kolem 75 °C je možné přidat smetanu. Pokud je Ricotta vyráběna z plnotučného mléka, pak se během zahřívání přidává NaCl (1,86 g·kg⁻¹ mléka). Do horké směsi se přimíchává kyselina (většinou kyselina octová), aby pH kleslo na 5,6-6,0 a tím je vyvolána koagulace. Sraženina vyplouvá na povrch a v horké syrovátce se nechá po dobu jedné hodiny agregovat. Poté je hotová Ricotta odebrána. Ze 100 kg syrovátky a 5 kg mléka se získá přibližně 5 kg Ricotty. Při správném balení a skladování při teplotě pod 4 °C má Ricotta trvanlivost 21 dní. Hough a kol. [15] uvádějí, že komerční Ricotta skladovaná při teplotě 6 °C měla trvanlivost 33 ± 1,4 dne. Tento sýr je díky cenným syrovátkovým bílkovinám, lehké stravitelnosti a nízkému obsahu tuku a soli z výživového hlediska velmi zajímavý. Má jemnou sladce smetanovou chuť a jeho konzistence je měkká, lehce hrudkovitá až písčitá [6-8]. V Tabulce č. 2.1 můžeme vidět, jak se liší složení Ricotty v závislosti na použité hlavní surovině. Nejvyšší vlhkost má Ricotta vyrobená ze syrovátky, tedy Ricottone. Dále má nejvyšší obsah bílkovin a nejnižší energetickou hodnotu. Co se týče tuku, nejvyšší obsah má samozřejmě Ricotta vyrobená z plnotučného mléka [7].

Tabulka 2.1: Složení sýru typu Ricotta [7]

Výchozí surovina	Ricotta		
	Plnotučné mléko	Polotučné mléko	Syrovátka (Ricottone)
Vlhkost [g/100 g]	72,0	74,5	77,0
Tuk [g/100 g]	13,0	8,0	2,5
Bílkoviny [g/100 g]	11,0	11,5	16,0
Sacharidy [g/100 g]	3,0	5,0	3,5
Popel [g/100 g]	1,0	1,0	1,0
Energie [kJ/100 g]	728,2	577,5	418,5

2.2.1.5. Mascarpone

Mascarpone se vyrábí podobným způsobem jako Ricotta. Základní surovinou však není syrovátka, ale smetana, a teplota zahřívání je mírně vyšší. Výsledkem je krémovější sýr, který se solí, šlehá a formuje do válcového tvaru. Jeho obsah tuku může být až 50 % [6, 7].

2.2.1.6. Mysost

Do skupiny syrovátkových sýrů patří také norský sýr Mysost. Ten se získává zahušťováním syrovátky, nebo její směsí s mlékem nebo smetanou. Tento typ sýru obsahuje velké množství laktózy, která může při zahřívání reagovat s bílkoviny a způsobovat tmavě hnědou barvu. Jeho chuť je sladko slaná a má karamelovou vůni [7].

Mezi další čerstvé sýry, u nás málo známé, patří např. Fromage frais (Francie), Brocciu (Korsika), Cacioricotta (Itálie, Malta), Mizthra a Manouri (Řecko) [7].

2.2.2. Složení čerstvých sýrů

V Tabulce č. 2.2 je uvedeno srovnání čtyř čerstvých sýrů: Cottage, Queso blanco, Ricottone a Ricotta. Nejvyšší obsah tuku má sýr Queso blanco, který je vyráběn z plnotučného mléka. Naopak nejnižší obsah má sýr Ricottone, který se vyrábí ze syrovátky. Co se týče obsahu bílkovin, tak jich opět nejvíce obsahuje sýr Queso blanco, stejně tak co do obsahu soli. Nejnižší obsah bílkovin má sýr Ricotta.

Tabulka 2.2: Srovnání složení vybraných čerstvých sýrů [8]

Sýr	Tuk [%]	Celkový obsah pevných látek [%]	Bílkoviny [%]	Sůl [%]	Popel [%]	pH
Cottage	4,2	21,0	14,0	1,0	1,0	5,0
Queso Blanco	15,0	49,0	22,9	2,0-3,9	5,4	5,3
Ricottone	0,5	27,5	11,0	<0,5	4,0	4,9
Ricotta	12,7	28,0	11,2	<0,5	-	5,9

V Tabulce č. 2.3 je uvedeno srovnání obsahu minerálních látek v sýrech Cottage, Fromage frais a Ricotta. Nejvíce sodíku a zinku obsahuje Cottage, nejvíce draslíku Fromage frais a Ricotta. Nejvíce vápníku a zároveň i hořčíku, fosforu a železa obsahuje Ricotta.

Tabulka 2.3: Obsah minerálních látek v čerstvých sýrech v $[mg/100 g]$ [8]

Sýr	Na	K	Ca	Mg	P	Fe	Zn
Cottage	380	89	73	9	160	0,1	0,6
Fromage frais	31	110	89	8	110	0,1	0,3
Ricotta	100	110	240	13	170	0,4	1,3

Tabulka č. 2.4 srovnává složení tvarohů a sýrů Cottage, Fromage frais, Queso blanco, Ricotta a Ricottone. Nejvíce sušiny, tuku a bílkovin obsahuje sýr Queso blanco. Nejvíce laktózy a vápníku sýr Ricottone.

Tabulka 2.4: Srovnání složení některých druhů čerstvých sýrů [8]

Sýr	Základní surovina	Sušina [%]	Tuk [%]	Bílkoviny [%]	Laktóza [%]	Sůl [%]	Ca [mg/100 g]	pH
Tvaroh	Odstředěné mléko	18	0,5	13,0	3-4	-	120	4,5
Tvaroh	Plnotučné mléko	27	12,0	10,0	2-3	-	100	4,6
Cottage	Polotučné mléko	21	2,0	14,0	-	-	90	4,8
Cottage	Smetana	21	5,0	13,0	-	-	60	4,8
Fromage frais	Odstředěné mléko	14	1,0	8,0	3,5	-	0,15	4,4
Queso blanco	Plnotučné mléko	49	15,0	23,0	1,8	3,9	-	5,4
Ricotta	Plnotučné mléko	28	13,0	11,5	3,0	-	200	5,8
Ricotta	Polotučné mléko	25	8,0	12,0	3,6	-	280	5,8
Ricottone	Syrovátka	18	0,5	11,0	5,2	-	400	5,3

Z hlediska zaměření této práce je zajímavá především skladba mastných kyselin v čerstvých sýrech. Této problematice se věnují některé publikace.

Seguel a kol. [16] publikovali studii vlivu přidání brukve do krmné směsi krav na profil mastných kyselin. Jedním z pozorovaných produktů byl sýr Ricotta. Kravám byla do krmných směsí přidávána řepka nebo brukev řepák. Výsledky ukázaly pokles n-6 mastných kyselin u obou obohacených krmných směsí oproti kontrolnímu vzorku. U Ricotty vyrobené z mléka dojnic, které konzumovaly navíc řepku, došlo k poklesu také n-3 mastných kyselin. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce č. 2.5.

Tabulka 2.5: Profil mastných kyselin (%) sýrů Ricotta vyrobených z mléka krav s rozdílným složením stravy [16]

Mastné kyseliny	Krmivo		
	Běžná strava	Brukev řepák	Řepka
C4:0	3,57	4,20	3,86
C6:0	2,14	2,13	2,29
C8:0	1,18	1,20	1,30
C10:0	2,76	2,63	3,05
C11:0	0,28	0,27	0,33
C12:0	3,21	3,43	3,53
C13:0	0,08	0,08	0,07
C14:0	11,55	11,63	12,52
C14:1	0,81	0,74	0,95
C15:0	0,98	0,99	0,97

Mastné kyseliny	Krmivo		
	Běžná strava	Brukev řepák	Řepka
C15:1	0,09	0,24	0,09
C16:0	37,11	40,88	40,64
C16:1	1,21	0,91	1,26
C17:0	0,31	0,45	0,40
C17:1	0,13	0,11	0,18
C18:0	8,98	8,31	7,55
C18:1 trans-10	0,52	0,01	0,01
C18:1 trans-11	0,68	0,02	0,02
C18:1n-9 cis	21,10	18,35	18,88
C18:2n-6 trans	0,65	0,57	0,67
C18:2n-6 cis	0,13	0,01	0,03
C20:0	0,12	-	0,02
C20:1n-9	0,11	-	-
C18:3n-6	0,02	-	-
C18:3n-3	0,42	0,39	0,26
C18:2 cis-9,trans-11	0,63	0,49	0,49
C20:2	0,20	0,01	0,06
C22:0	-	0,19	0,12
C20:3n-3	0,02	0,09	-
C20:3n-6	0,09	0,15	0,08
C22:1n-9	0,42	0,23	0,02
C23:0	0,01	0,38	0,03
C20:4n-6	0,11	0,12	0,11
C22:2	-	0,28	-
C24:0	0,02	0,36	0,10
C20:5n-3	0,08	0,03	0,07
C24:1n-9	0,24	0,12	0,03
C22:6n-3	0,05	0,01	0,05
Nasyčené	72,28	77,12	76,76
Mononenasyčené	25,32	20,72	21,43
Polynenasycené	2,40	2,16	1,81
n-3	0,58	0,52	0,37
n-6	1,00	0,85	0,88
n-6/n-3	1,75	1,73	2,80
PUFA/ SFA	0,03	0,03	0,02

Oliveira a kol. [17] se zabývali přidavkem výlisků z palmových jader jako doplňku stravy dojníc a jeho vlivem na profil mastných kyselin v čerstvých sýrech. Výlisky z palmových jader jsou odpadní produkt při výrobě bionafty nebo při výrobě oleje pro lidskou výživu. Přidání výlisků do krmiva nemělo vliv na obsah kyseliny máselné, kapronové, kaprylové a kaprinové, na kyselinu myristovou, palmitovou, stearovou a olejovou tento přírůstek naopak vliv měl. Kyselina linolová vykazovala lineární růst se zvyšujícím se množstvím výlisků v krmivu. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce č. 2.6.

Tabulka 2.6: Profil mastných kyselin čerstvých sýrů, které byly vyrobeny z mléka dojníc částečně krmených výlisky z palmových jader [g/100 g mastných kyselin] [17]

Mastné kyseliny	Množství výlisků z palmových jader v krmné směsi			
	0 %	25 %	50 %	75 %
C4:0	2,86	2,36	2,52	2,66
C6:0	2,22	1,89	2,01	2,05
C8:0	1,33	1,16	1,23	1,21
C10:0	2,70	2,39	2,46	2,41
C12:0	3,28	4,12	4,31	4,02
C13:0	0,08	0,06	0,07	0,07
C14:0	12,06	12,70	12,53	12,41
C18:0	11,58	11,57	11,18	11,28
Jiné nasycené	33,03	34,22	33,77	33,64
C14:1n-5	1,17	1,20	1,24	1,04
C16:1n-7	1,35	1,37	1,47	1,39
C18:1n-7c	0,54	0,45	0,50	0,54
C18:1n-7t	2,17	2,54	1,76	2,06
C18:1n-9c	22,33	20,85	21,80	21,92
C18:2n-6	0,61	0,61	0,64	0,65
C18:2c9t11	0,16	0,16	0,15	0,14
C18:2t10c12	0,11	0,11	0,11	0,11
C18:3n-3	1,21	1,11	1,11	1,17
C18:3n-6	0,16	0,17	0,16	0,16
C20:2n-6	0,04	0,03	0,03	0,03
Jiné nenasyčené	1,03	0,93	0,97	1,03

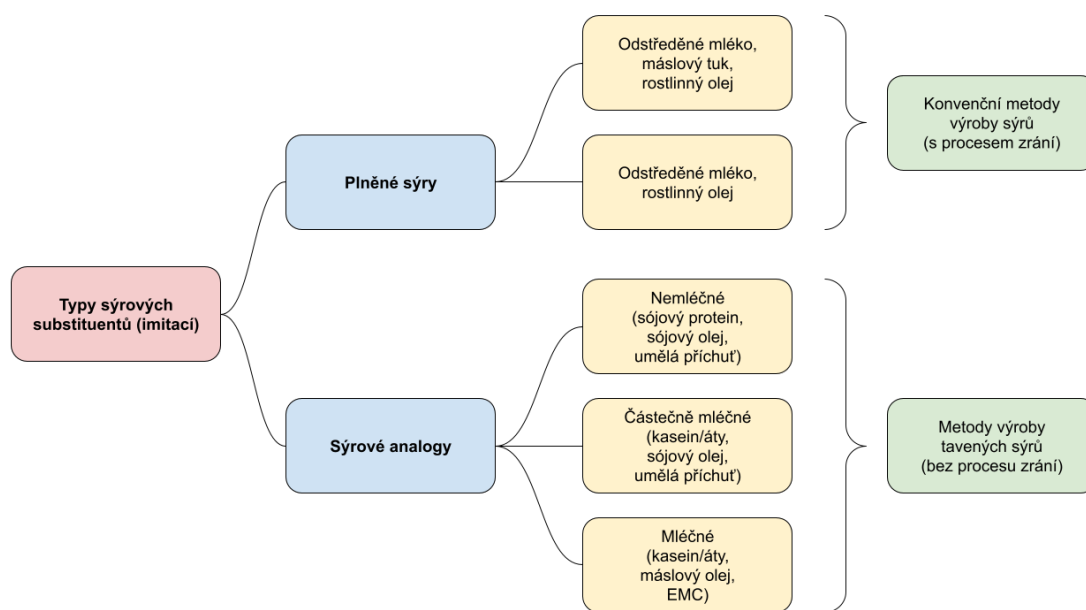
2.3. Sýrové analogy

Sýrový analog je obecně označován jako výrobek získaný smícháním vody, olejů/tuků, bílkovin, emulgačních solí, hydrokoloidů, okyselujících látek, konzervačních látek a dalších potravinářských přídatných látek. Smícháním by měla být získána homogenní sýrová hmota. Dle diagramu (Obrázek 2.3) dělíme sýrové imitace na „plněné sýry“ a sýrové analogy. Plněné sýry jsou v podstatě vyrobeny konvenčními způsoby jako klasické sýry. Sýrové analogy jsou vyráběny smícháním různých surovin za použití podobných postupů jako při výrobě taveného sýra [18, 19].

Vzorky vyrobené a analyzované v této práci patří do kategorie „plněných sýrů“, nicméně této problematice se věnuje minimum publikací. Většina publikovaných prací je věnována analogům sýrů tavených. Termín „plněné sýry“ navíc není v češtině obvyklý a vzorky budou pro jednoduchost nadále v práci označovány jako analogy, resp. se jedná o analogy čerstvých sýrů.

Sýrové analogy dále dělíme na mléčné, částečně mléčné a nemléčné v závislosti na původu použitých surovin. Nejčastěji se můžeme setkat s částečně mléčnými analogy, ve kterých jsou bílkoviny mléčného typu a tuk převážně rostlinného původu. Tyto analogy jsou příznivé především cenou, díky dostupnosti a nízké ceně rostlinných olejů a částeč-

nému nahrazení bílkovin škrobem a/nebo jiným hydrokolloidem. Cenu snižují také nižší kapitálové náklady na výrobní zařízení a skutečnost, že není nutné žádné zrání. Sýrové analogy mohou také posloužit pro začlenění funkčních složek. Vlastnosti jako například textura a chuť jsou při této výrobě relativně stabilní. Výhoda sýrových analogů je také v možnostech variace složení a výživy, zdravotní a stravovací výhody a možnost vytvořit potřebnou texturu a jiné vlastnosti. V závěrečné fázi výroby je i snadné balení a pohodlné použití [18, 19].



EMC - Enzymově modifikované sýry

Obrázek 2.3: Dělení sýrových analogů podle výrobního procesu [20]

Nemléčné sýrové analogy, vyrobené z rostlinných bílkovin i tuků, jsou zajímavé pro vegany nebo jedince, kteří trpí alergií nebo nesnášenlivostí bílkoviny kravského mléka. Náhrada kaseinu rostlinnou bílkovinou však vede ke zhoršení struktury. Mléčné analogy se vyrábějí jen v malém množství, protože jejich výrobní náklady jsou vyšší než u přírodních sýrů [18].

Ve světě není definice sýrových analogů jednotná, proto je nutnost právních předpisů, které zaručí řádné označování, aby nedocházelo ke klamání spotřebitele. Kodex Alimentarius definoval sýrové analogy jako „výrobky, které vypadají jako sýr, ale ve kterých je mléčný tuk částečně nebo úplně nahrazen jinými tuky“ [18].

První sýrové analogy byly vyrobeny v USA před více než 50 lety. Z počátku byly považovány jen za napodobeniny konvenčních potravin. Postupem času byla produkce sýrových analogů stále více podporována hlavně za účelem získání levnějších a zdravějších alternativ nebo ke zvýšení rozmanitosti stravy [18].

Mezi oblíbené sýrové analogy patří náhražka Mozzarely nebo Čedaru. Prodávají se jak samostatně, tak jako součást hotových jídel jako např.: mražená pizza, tvarohový koláč, lasagne, sýrové panini, salátové pokrmy. Vyšší produkce i spotřeba připadá na USA ve

srovnání s Evropou [18].

2.3.1. Složení a vlastnosti

Vlastnosti sýrových analogů hrají hlavní roli v procesu přijímání spotřebitelem. Funkčnost sýrových analogů je ovlivněna mikro a makrostrukturou. Stejně jako u přírodních sýrů jsou i u sýrových analogů velmi důležité reologické vlastnosti a celková funkčnost konečného produktu. Na tyto vlastnosti mají velký vliv zvolené tuky a bílkoviny a jejich poměr, stupeň agregace nebo hydratace bílkovin, distribuce emulgovaného oleje. Podle požadavků na texturu a vlastnosti (roztíratelnost, krájitelnost, drobivost) je nutné upravit složení nebo proces výroby. Sýrové analogy by měly mít jasně definované sensorické vlastnosti a chování během tepelné úpravy (změna barvy, konzistence, chuti) [18].

Klíčové složky v sýrových analogích jsou bílkoviny, tuky/oleje a voda. Mezi další přísady patří, hydrokoloidy, okyselující látky, příchutě a konzervační látky, a v případě analogů tavených sýrů emulgační soli. Suché přísady se nejdříve smíchají s vodou. Následně se přidá tuk/olej a směs se při zvýšené teplotě míchá za vzniku homogenní hmoty podobné sýru. Většina receptur pro přípravu sýrových analogů je patentována [18]. Jak již bylo zmíněno, výroba analogů čerstvých sýrů je obdobná jako u čerstvých sýrů klasických.

2.3.1.1. Voda

Voda představuje hlavní složku a její obsah bývá mezi 48 a 52 %. Je nutná k rozpuštění emulgačních solí, k hydrataci bílkovin a k solubilizaci dalších složek. Voda snižuje tvrdost sýrového analogu a zvyšuje jeho tavitelnost [18].

2.3.1.2. Bílkoviny

Obsah proteinů v sýrových analogích se pohybuje mezi 18 a 35 %. Bílkoviny jsou hlavní složkou, u které dochází k hydrataci. Solubilizované proteiny emulgují volný olej a tím zvyšují viskozitu vodné fáze. Typ, množství, struktura, obsah minerálních látek a rozpustnost bílkovin mají velký vliv na fyzikálně-chemické a reologické vlastnosti produktu. Pro výrobu se používají různé zdroje bílkovin, preferovány jsou zdroje mléčného původu. Převládá využívání tzv. „rennet“ (sladkého) kaseinu a kaseinátů pro své vlastnosti (hydratace, emulgace tuků). Rennet kasein obsahuje velké množství koloidního vápníku. K jeho solubilizaci je nutné dosáhnout potřebných podmínek zpracování a správný výběr emulgačních solí. Rennet kasein je nejhojněji využíván při výrobě sýrového analogu Mozzarella. Pro výrobu sýrových analogů, u kterých je požadováno rozpuštění při tepelné úpravě, není vhodný kaseinát sodný, naopak je využíván pro výrobu roztíratelných analogů, protože má dobré hydratační a emulgační vlastnosti. Cavalier-Salou a Cheftel [21] uvádějí, že při použití kaseinátu sodného místo kaseinátu vápenatého bylo zaznamenáno vyšší pH, nižší pevnost, vyšší stupeň emulgace tuků a vyšší stupeň disociace kaseinu. Je možné použití také para-kaseinátu vápenatého. Používání rostlinných proteinů, jako jsou sójové nebo arašídové proteinové izoláty na úrovni substituce vyšší než 20 %, způsobuje velké problémy s texturou (nízká pružnost a tvrdost, lepkavost) a chutí [18, 19].

2.3.1.3. Tuky

Obsah tuku se pohybuje mezi 22 a 28 % a je velmi důležitý pro strukturu a chuť. Při použití mléčného tuku je při pokojové teplotě asi 15 % tuku stále v pevné fázi a tvoří krystalickou vrstvu, zatímco kapalný tuk je přítomen uvnitř tukových globulí. Pevná složka je složena ze sítě krystalů triacylglycerolů spojených Van der Waalsovými silami. K přerušení těchto sil dochází po přidání emulgačních solí, míchání a zahřívání, posléze dochází k vytvoření kapek oleje o různém průměru, které jsou dále emulgovány působením proteinů. Distribuce těchto kapek a hydratace kaseinátu má zásadní vliv na reologické vlastnosti. Vyšší stupeň míchání má pozitivní vliv na konečný krémový pocit v ústech. Typickými zdroji rostlinných tuků pro výrobu sýrových analogů jsou sójový, palmový nebo řepkový olej. Jejich výhodou je absence cholesterolu a méně nasycených mastných kyselin. Nevýhodou je velká odlišnost od mléčného tuku, a tudíž velký vliv na texturu analogů. Rostlinné tuky jsou při pokojové teplotě kapalné, proto jsou sýrové imitace měkčí než výrobky s mléčným tukem. Řešením tohoto problému může být jejich částečná hydrogenace [18, 19]. Rybinski a kol. [22] uvádějí možnost výroby sýrového analogu s obsahem tuku nižším než 0,5 %. Tento analog byl vyroben kombinací koagulovaného odstředěného mléčného produktu s rennet kaseinem, vodou a emulgačními solemi.

Jak již bylo zmíněno, v této práci je věnována pozornost skladbě mastných kyselin vzorků analogů. Z publikací lze uvést práci Ismail a kol. [23], kteří prováděli stanovení mastných kyselin u tří vzorků sýrových analogů a srovnávali obsah mastných kyselin s kontrolním vzorkem vyrobeným z plnotučného mléka. Na výrobu vzorků byly použity rostlinné oleje, konkrétně extra panenský olivový, kukuřičný a sezamový olej. Analýza byla provedena druhý den po výrobě a po 3 měsících skladování v lednici. Z výsledků uvedených v Tabulce č. 2.7 můžeme vidět, že oproti kontrolnímu vzorku s plnotučným mlékem u vzorku sýrových analogů výrazně klesl obsah mastných kyselin s krátkým řetězcem. Dále můžeme pozorovat pokles obsahu nasycených mastných kyselin (stearové, myristové, palmiové). Naopak u kyseliny olejové a linolové došlo k výraznému nárůstu oproti kontrolnímu vzorku. V dolní části tabulky jsou uvedeny i obsahy nasycených, nenasycených a polynasycených mastných kyselin a poměr nasycených ku nenasyceným. Z výsledků dále vyplynulo, že skladování vzorků nemělo na obsah mastných kyselin významný vliv.

Tabulka 2.7: Profil mastných kyselin sýrových analogů [*g/100 g mastných kyselin*] [23]

Mastná kyselina	Doba skladování [<i>měsíce</i>]	Kontrolní vzorek	Analog		
			Olivový olej	Sezamový olej	Kukuřičný olej
C4:0	0	1,64	0,30	0,20	0,47
	3	1,63	0,32	0,21	0,49
C6:0	0	1,70	0,22	0,23	0,32
	3	1,65	0,26	0,20	0,31
C8:0	0	1,20	0,30	0,21	0,25
	3	1,15	0,39	0,21	0,23
C10:0	0	2,60	0,40	0,51	0,76
	3	2,60	0,44	0,50	0,70

Mastná kyselina	Doba skladování [měsíce]	Kontrolní vzorek	Analog		
			Olivový olej	Sezamový olej	Kukuřičný olej
C12:0	0	3,30	0,68	0,76	0,83
	3	3,50	0,78	0,80	0,79
C14:0	0	11,70	2,30	2,07	2,39
	3	11,80	2,47	2,09	2,10
C16:0	0	37,31	19,70	13,50	16,04
	3	37,40	19,80	13,76	16,25
C16:1	0	2,20	0,90	0,41	0,52
	3	2,27	0,90	0,41	0,47
C18:0	0	9,52	6,06	6,91	3,93
	3	9,95	6,01	6,90	3,70
C18:1	0	22,30	61,53	37,88	27,60
	3	22,70	61,00	37,60	27,15
C18:2	0	2,89	6,20	35,92	43,70
	3	2,90	6,40	35,90	43,65
Nasyčené	0	70,01	30,54	30,54	25,63
	3	70,67	31,13	31,13	25,24
Mononenasycené	0	25,36	63,09	63,09	28,49
	3	25,92	62,50	62,50	28,00
Polynenasycené	0	3,30	6,25	6,25	44,49
	3	3,33	6,49	6,49	44,45
Nasyčené/ nenasyčené kyseliny	0	0,42	2,27	2,27	2,80
	3	0,42	2,20	2,20	2,80

2.3.1.4. Emulgační soli

Jsou nezbytné pro výrobu analogů tavených sýrů. Emulgační soli nemají povrchově aktivní skupiny, proto nemohou působit jako emulgátor, ale podporují hydrataci a solubilizaci bílkovin. Jejich obsah se pohybuje od 0,5 do 3 %. Jako emulgační soli se používají citráty, laktáty, fosfáty nebo tartráty. Často se používá směs fosforečnanu sodného a citrátu trisodného v poměru 1:1. Použití emulgačních solí má za následek sekvestraci vápníku, zvýšení pH, disperzi a hydrataci bílkovin, emulgaci tuků a tvorbu struktury [18, 19].

2.3.1.5. Škrob

Škrob v přirozené formě se do sýrových analogů přidává v množství 2 až 5 % jako náhrada kaseinu s cílem snížit konečnou cenu produktu. Nejpoužívanější bývá kukuřičný škrob. Použití škrobu modifikuje fyzikálně-chemické a funkční vlastnosti v závislosti na použitém škrobu jako je tvar, velikost a bobtnavost. Přidáním škrobu se dá dosáhnout nižší rozpustnosti při pokojové teplotě a velikost tukových globulí bývá menší než u výrobků bez škrobu. Při úplném nahrazení kaseinu škrobem nedochází při tepelné úpravě k tavení výrobku. Škrob může nahradit také tuk, pak vzniká nízkotučný sýrový analog [18, 19].

2.3.1.6. Hydrokoloidy

Spolu s emulgačními solemi jsou hydrokoloidy klasifikovány jako stabilizátory. Mají vazebné a stabilizační schopnosti pro vodu a pokud jsou použity jako náhražka tuku, snižují energetickou hodnotu. Pro výrobu sýrových analogů se používají hydrokoloidy na bázi polysacharidů. Často používané hydrokoloidy jsou např.: agar, guma guar, karagenany, pektin, algináty, xanthan [18].

2.3.1.7. Inulin

Častá přísada používaná v mléčných výrobcích je inulin. Používá se jako vláknina, sladidlo a ke zlepšení sensorických vlastností. V sýrech může díky svým reologickým vlastnostem podobným stolním tukům nahrazovat tuk. Používá se ve formě gelu nebo roztoku [18].

2.3.1.8. Okyselující látky

Přidání okyselujících látek umožňuje snížit pH na 6,0-6,6. Tím je dosaženo mikrobiální stability a okyselení přispívá i k ochucení sýrového analogu. Jako okyselující látky se používají kyselina octová, adipová, citrónová, mléčná, jablečná a fosforečná. Konkrétně pro sýrové analogy se nejčastěji používají kyselina citrónová a mléčná v koncentracích 0,2-1 % v závislosti na typu kyseliny [18, 19].

2.3.1.9. Konzervanty

Jako konzervant se používá např. sorban draselný, nisin, nebo propionát vápenatý a sodný. Mají za úkol prodloužit trvanlivost, tedy inhibovat nebo zpomalovat růst mikroorganismů na úrovni 0,1 %. Často se používá kombinace chloridu sodného, sorbanu draselného a nisinu [18, 19].

2.3.2. Analog čerstvého sýru

Higuera Marin a kol. [24] vyrobili analog čerstvého sýra za účelem fyzikálně-chemické a sensorické analýzy. Mléčný tuk částečně nahradili avokádovou dužinou. Pro analýzu byly vyrobeny tři sýrové analogy a jeden kontrolní vzorek čerstvého sýra. První vzorek měl obsah 0,5 % mléčného tuku a 4,5 % avokádové dužiny, druhý vzorek byl vyroben z 0,5 % mléčného tuku a 9 % avokádové dužiny a třetí z 0,5 % mléčného tuku a 18 % avokádové dužiny. Kontrolní vzorek obsahoval 3,2 % mléčného tuku a 0 % avokádové dužiny. V Tabulce č. 2.8 jsou uvedeny výsledky pozorovaných vlastností. S přidáním avokádové dužiny došlo k poklesu pH a nárůstu vlhkosti. Vzorek s 4,5 % dužiny měl nejvíce bílkovin a zároveň nejméně tuku v sušině. Co do obsahu tuku a bílkovin si byl s kontrolním vzorkem nejpodobnější analog s 18 % avokádové dužiny.

Tabulka 2.8: Tabulka množství avokádové dužiny [24]

	Množství avokádové dužiny			
	0 %	4,5 %	9,0 %	18,0 %
pH	6,23 ± 0,10	4,45 ± 0,04	4,35 ± 0,20	4,60 ± 0,12
Vlhkost [%]	48,54 ± 0,52	63,31 ± 0,81	64,30 ± 0,91	64,90 ± 1,43
Tuk v sušině [%]	40,78 ± 5,51	13,02 ± 4,50	23,40 ± 4,19	37,05 ± 5,67
Bílkoviny [%]	18,05 ± 0,92	29,65 ± 6,86	20,75 ± 1,06	14,30 ± 0,82

2.4. Rostlinné oleje použité pro výrobu vzorků analogů

Částečně mléčné analogy, ve kterých je mléčný tuk nahrazen rostlinným olejem, jsou nejvíce vyráběná varianta, nejčastěji používané oleje sójový, palmový a řepkový. Pro výrobu vzorků v experimentální části této práce byl zvolen olej lněný a řepkový, především kvůli jejich vysoké nutriční hodnotě související se složením mastných kyselin.

Surový olej nebo tuk obvykle obsahuje alespoň 95 % triacylglycerolů. Po rafinaci jejich obsah vzroste na 97-99 %. V menší míře jsou v olejích obsaženy také polyfenoly, fytosteroly, tokoferoly, karotenoidy, chlorofyly, fosfolipidy, mono- a diglyceridy a volné mastné kyseliny (1-3 %). Triacylglyceroly jsou estery mastných kyselin s trojmocným alkoholem glycerolem a obsahují v každé molekule tři acylové řetězce většinou ze dvou nebo tří typů kyselin. V rostlinných olejích je hydroxylová skupina sn-2 esterifikována téměř vždy nenasycenými kyselinami. Triacylglyceroly jsou doprovázeny menším množstvím diacylglycerolů, monoacylglycerolů a volnými mastnými kyselinami. To může být důsledek neúplné biosyntézy triacylglycerolů v semenech nebo lipolýzou po sklizni. Většina monoacylglycerolů a volných mastných kyselin je odstraněna rafinací, diacylglyceroly v produktu většinou zůstávají (0-2 %). Surové oleje obsahují také fosfolipidy, které se odstraňují rafinací [25, 26].

2.4.1. Lněný olej

Lněný olej se získává ze semen lnu setého (olejného) neboli *Linum usitatissimum*. Tato rostlina původně pochází ze střední Asie, nyní se však pěstuje po celém světě, především v oblastech s mírným podnebím, např.: Argentina, Indie, USA, Kanada, Rusko. Má přibližně 100 odrůd [27, 28].

První dochované důkazy o použití lněného semena jako potraviny jsou ze 7. století před naším letopočtem u Řeků, kteří ho přidávali do pečiva [29].

Len můžeme dělit na dva druhy: přadný a olejný. Dříve bylo častější využití lnu pro výrobu vláken než oleje. Výsev olejného lnu připadá na jaro. Rostlina před sklizní dosahuje do výšky 50-60 cm, její listy jsou úzké a podlouhlé. Květ je složen z pěti drobných světlemodrých okvětních lístků a má modré prašníky, v semeníku je uloženo 6-10 semen. S přibývajícím zralostí plodů se rostlina zbarvuje do žlutohněda. Po dozrání se len seče a semena se vymlacují z tobolek. Semena pro výrobu oleje mají zlatožlutou barvu [27-29].

Lněný olej lze koupit jak lisovaný za studena, tak upravený rafinací. Dostupný je většinou jen v prodejnách se zdravou výživou. Kvůli vysokému obsahu kyseliny linolenové by se olej

neměl zahřívát na vyšší teploty a skladován by měl být v temnu a při pokojové teplotě. Je velmi náchylný ke žluknutí. Díky svému vysokému podílu kyseliny linolenové je vhodný při zánětlivých revmatických onemocněních. Co se týče obsahu kyseliny linolenové, patří mezi potraviny s přirozeně nejvyšším obsahem [29].

Obsah oleje v běžně pěstovaných odrůdách lnu setého se pohybuje mezi 28-40 %. Lněné semínko je bohatým zdrojem omega 3 mastných kyselin, především kyseliny α -linolenové, rostlinných lignanů a rozpustné vlákniny. Celé lněné semínko je jedlé. Obsah kyseliny linolenové tvoří obvykle přes 50 %, což umožňuje jeho využití při výrobě barev, laků a tiskařských barev. Zásadní význam má lněný olej mimo jiné pro lékařský průmysl a výrobu mýdla. Ve výživě má zásadnější význam jen v zemích jako je Indie, Čína a jižní Amerika. Využití ve farmacii a pro pekařské a cukrářské účely nachází po celém světě [27, 28, 30].

2.4.1.1. Vlastnosti

Běžně dostupný lněný olej je lehce nažloutlá kapalina charakteristického, lehce nepříjemného zápachu. Kvůli rozdílným podmínkám pěstování, podnebí a odrůd lněných semen lze očekávat rozdílné složení, chemické chování a fyzikální vlastnosti různých lněných olejů. V Tabulce č. 2.9 jsou uvedeny hustoty a koeficient tepelné roztažnosti dvou druhů lněného oleje, baltského a kalkatského [27].

Tabulka 2.9: Hodnoty hustoty a koeficientu tepelné roztažnosti lněného oleje [27]

Olej	Hustota [$kg \cdot m^{-3}$]			Koeficient tepelné roztažnosti [K^{-1}]
	0 °C	15 °C	50 °C	
Baltský olej	944,44	933,68	909,86	0,00076
Kalkatský olej	942,08	931,79	908,47	0,00074

Když je lněný olej vystaven vzduchu, postupně absorbuje kyslík a současně se zvyšuje jeho hustota. Proto lněný olej, který byl dlouho skladován a nebyl speciálně konzervován pro kontakt se vzduchem, má obvykle vyšší hustotu než čerstvý. V Tabulce č. 2.10 je uvedeno srovnání hustoty a indexů lomu dvou vzorků lněného oleje ihned po zpracování a po dvou letech uskladnění bez přístupu kyslíku. Z hodnot jsou patrné jen minimální změny [27].

Tabulka 2.10: Srovnání čerstvého a skladovaného lněného oleje [27]

Olej	Doba skladování	Relativní hustota při 15 °C [$kg \cdot dm^{-3}$]	Index lomu při 25 °C
Vzorek 1	-	0,9347	1,4800
Vzorek 1	2 roky	0,9346	1,4802
Vzorek 2	-	0,9331	1,4797
Vzorek 2	2 roky	0,9330	1,4800

Index lomu je ukazatelem čistoty. Snižuje se v přítomnosti volných organických kyselin, živočišných tuků a rostlinných olejů. Naopak ke zvýšení dojde při polymeraci, oxidaci nebo v přítomnosti minerálního oleje. Lněný olej se od ostatních olejů liší ve fyzikálních vlastnostech při teplotě nižší jak 0 °C. Při teplotě tuhnutí lněný olej nezamrzá v celém svém objemu. Lněný olej ze severního Ruska zůstává čirý i při teplotě -14 °C. Při falšování

a ředění s jinými oleji stoupá teplota, při které dochází k zakalení. Při zahřívání za nepřítomnosti vzduchu se olej zahušťuje v důsledku polymerace a hustota vykazuje nárůst. Za přítomnosti vzduchu k polymeraci dochází také, jen je spojena s rychlou oxidací. Při vyšší teplotě oleje se uvolňuje velké množství páry a teplota, při které se stane hořlavou, se nazývá bod vzplanutí. Lněný olej má bod vzplanutí při teplotě 240 °C [27].

2.4.1.2. Mastné kyseliny

Lněný olej je bohatý na nenasycené mastné kyseliny (87,8-89,8 %). Ishag a kol. [31] uvádí, že při extrakci petroletherem je obsah hlavních mastných kyselin: α -linolenová (42,4 %), linolová (26,2 %), palmitová (12,9 %) a stearová (10,7 %). Rubilar a kol. [32] v dřívější studii uváděli vyšší obsah kyseliny α -linolenová (49-53 %) a olejové (16-21 %) a nižší obsah kyseliny linolové (15-17 %). Při použití n-hexanu pro extrakci byly výsledky protichůdné: kyselina linolová (46,5 %), palmitová (18,0 %), stearová (12,2 %) a α -linolenová (11,6 %). Olej z vyklíčeného lněného semene má vyšší poměr nenasycených a nasycených mastných kyselin (přibližně 7,5) v porovnání se lnem nevyklíčeným (asi 7), proto je olej z vyklíčených semen náchylnější na oxidaci a žluknutí. Rozdíly ve složení mohou být způsobeny různými odrůdami, lokalitou pěstování, metodami extrakce nebo způsobem skladování [33].

2.4.2. Řepkový olej

Řepkový olej se získává ze semen řepky olejné (*Brassica napus L. var. arvensis Lam. (Thell)*) lisováním a následnou extrakcí. Čas na výsev řepky přichází na podzim jako ozim. Následující rok v květnu rozkvétá žlutými květy, stonky a listy má zelenomodré. Sklizeň přichází na řadu v srpnu, kdy je její zbarvení slámově žluté až hnědé. Řepka se seče a mlátí, aby se velké množství semen dostalo z malých lusků. Řepku je nutné sbírat v suchém a teplém počasí, následně sušit v tenkých vrstvách a několikrát za den přehazovat, aby nedošlo k plesnivění, do vlhkosti 8 %. Po vyšlechtění tzv. bezerukové řepky (00-řepka) se řepkový olej řadí do skupiny nutričně významných olejů. Je polovysychavý. Řepkový olej lisovaný za studena je hnědožlutý se zeleným odstínem a je bez zápachu. Olej lisovaný za tepla má nepříjemný zápach, který musí být odstraněn rafinací. Po rafinaci olej získává jasně žlutou barvu [29, 30].

Semeno řepky obsahuje 7,1 % vody, 19,7 % dusíkatých látek, 45,1 % tuku, 5,8 % vlákniny, 18,2 % bezdusíkatých látek a 4,1 % popela. V závislosti na šlechtění, pěstování, hnojení a okolním prostředí se obsah oleje v sušině pohybuje mezi 39-52 %. Má vysoký obsah kyseliny olejové a esenciálních mastných kyselin jako kyseliny linolenové a linolové [29, 30]. V obchodech je možné koupit především rafinovaný řepkový olej. Řepkový olej lisovaný za studena je k sehnání spíše v prodejnách se zdravou výživou. Chuť řepkového oleje je ve většině případů neutrální, stejně jako jeho vůně. Olej lisovaný za studena může mít mírnou ořechovou chuť. V tmavých skleněných láhvích nebo kovových nádobách je možné olej při správných podmínkách skladovat až čtyři roky. Olej lisovaný za studena má trvanlivost maximálně 1 rok [29, 30].

Je vhodný na pečení, marinování, fritování a ke kratšímu i delšímu smažení. Využití najde i ve studené kuchyni do omáček, salátových zálivek nebo nakládání zeleniny. V potravinářském průmyslu se používá pro výrobu margarínů či ztužených tuků, majonéz, konzerv

a dalších potravinářských výrobků. Nejhodnotnějším olejem pro potravinářský průmysl je olej lisovaný za studena [29, 30].

2.4.2.1. Mastné kyseliny

Řepkový olej je považován za jeden z nejzdravějších olejů díky svému jedinečnému profilu mastných kyselin, který je bohatý na mononenasyčené (68,6 %) a polynenasycené mastné kyseliny, především kyselinu linolovou (17,4 %) a kyselinu γ -linolenovou (6,8 %) a má nízký obsah nasycených mastných kyselin (7,2 %) [25].

V řepkovém oleji lisovaném za studena je nejhojněji zastoupena kyselina olejová (63,7 %), linolová (17,4 %), γ -linolenová (6,8 %) a palmitová (4,0 %). Kyselina olejová je tepelně stabilnější než kyselina linolová. Z nutričního hlediska a z pohledu stability je vysoký obsah kyseliny olejové v olejích žádoucí. Kyselina linolová patří mezi esenciální mastné kyseliny, lidské tělo ji potřebuje pro integritu pokožky, buněčné membrány a imunitního systému. Do skupiny omega-6 mastných kyselin patří mimo kyseliny linolové také kyselina γ -linolenová a kyselina arachidonová [25].

V malém množství se v řepkovém oleji lisovaném za studena vyskytují kyselina stearová (2,1 %), eikosenová (2,8 %), eruková (1,9 %), arachová (0,7 %), behenová (0,4 %) a palmitoolejová (0,2 %) [25].

Dříve řepkový olej obsahoval vysoké hladiny kyseliny erukové, která je pro člověka při časté konzumaci zdraví škodlivá. Proto byla stanovena maximální hodnota obsahu kyseliny erukové na 2-5 % [25].

2.4.3. Porovnání lněného a řepkového oleje

Tabulky č. 2.11 a 2.12 porovnávají procentuální složení mastných kyselin lněného a řepkového oleje. Hodnoty v Tabulce č. 2.11 udávají průměrný obsah v olejích, v Tabulce 2.12 v olejích lisovaných za studena. Tabulka č. 2.13 udává hodnoty tukových čísel řepkového a lněného oleje.

Tabulka 2.11: Porovnání složení řepkového a lněného oleje [29]

	Řepkový olej	Lněný olej
Nasycené mastné kyseliny	13 %	10 %
Kyselina palmitová	10 %	6 %
Kyselina stearová	3 %	4 %
Jednoduché nenasyčené mastné kyseliny	56 %	18 %
Kyselina olejová	56 %	18 %
Polynenasycené mastné kyseliny	31 %	72 %
Kyselina linolová	21 %	14 %
Kyselina linolenová	10 %	58 %
Vitamin E (na 100 ml oleje)	30 mg	9 mg

Tabulka 2.12: Srovnání obsahu mastných kyselin u olejů lisovaných za studena [25]

	Řepkový olej [%]	Lněný olej [%]
Palmitová	5,18 ± 0,05	6,46 ± 0,01
Palmitoolejová	0,03 ± 0,01	-
Stearová	1,73 ± 0,03	3,42 ± 0,04
Olejová	60,03 ± 0,31	23,28 ± 0,04
Linolová	20,67 ± 0,11	17,43 ± 0,04
γ- linolenová	10,10 ± 0,30	48,94 ± 0,06
Arachidonová	0,62 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Eikosanová	1,47 ± 0,03	0,19 ± 0,00
Behenová	0,19 ± 0,18	0,14 ± 0,01

Tabulka 2.13: Srovnání tukových čísel olejů [30]

	Řepkový olej	Lněný olej
Číslo zmýdelnění	172-180	184-192
Jodové číslo	94-106	170-204
Nezmýdelnitelný podíl	0,5-1,5 %	1,7-2,5 %

2.5. Aromatické látky

Aromatické, resp. aromaticky aktivní sloučeniny jsou těkavé látky, které mají vůni nebo chuť a přispívají k sensorické kvalitě produktu. Je známo, že charakteristické aroma nevyvolává jen jediná aromatická látka. Charakteristickou chuť sýru definuje tzv. teorie rovnováhy složek, která např. zahrnuje vliv stáří sýru, mikroflóru nebo biochemické procesy [33, 34].

2.5.1. Tvorba aromatických látek v sýrech

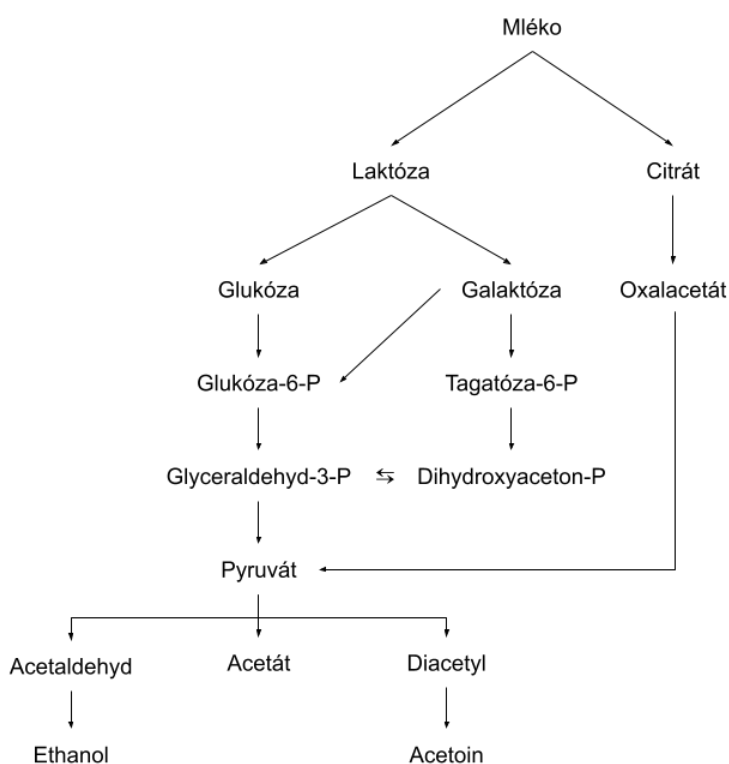
Sloučeniny tvořící jemnou a delikátní chuť mléčné směsi se mění během fermentace na složky chutě, které pocházejí buď z fermentace laktózy a konverze citrátu, degradace proteinů a katabolismu aminokyselin nebo degradace lipidů. V důsledku toho fermentované výrobky na bázi mléka představují komplexní, různorodé a specifické chuťové profily. Mezi základní skupiny tvořící tento profil patří: alkoholy, aldehydy, ketony, estery, laktony, furany, sloučeniny obsahující dusík a volné mastné kyseliny [34].

2.5.1.1. Fermentace laktózy a konverze citrátu

Tvorba aromatických látek během výroby sýrů začíná ihned po přidání startovací kultury. Často využívané jsou bakterie mléčného kvašení, které jsou schopny fermentovat laktózu na kyselinu mléčnou, jejíž chuť je typická především pro čerstvé sýry. Nejprve je laktóza hydrolyzována startovací kulturou na glukózu a galaktózu. Glukóza je následně oxidována na pyruvát a galaktóza je přeměněna bakteriemi na glukózu-6-fosfát nebo glyceraldehyd-3-fosfát přes tagatózu-6-fosfát. Pyruvát může být převeden na aromatické sloučeniny

s krátkým řetězcem (diacetyl, acetoin, acetaldehyd, ethanol nebo acetát). Diacetyl dodává máslu ořechovou chuť a je významnou aromatickou látkou pro Camembert, Čedar, Ementál a Cottage. Acetoin přispívá k aromatickému profilu Čedaru a Mozzarely a acetaldehyd Camembertu [34].

Některé heterofermentační kultury jsou schopny fermentovat i nesacharidové substráty, jako je citrát a produkují acetaldehyd, ethanol, butan-1,2-diol a diacetyl, které vytváří máslové aroma. Citrát je nejdříve hydrolyzován na oxalacetát a acetát, následně je kulturami *Lactococcus* a *Leuconostoc spp.* oxalacetát dekarboxylován na pyruvát. Dvě molekuly pyruvátu jsou kondenzovány α -acetolaktát syntázou a vzniká α -acetolaktát a oxid uhličitý. α -acetolaktát je nestabilní a vzniká buď diacetyl nebo acetoin. Oxid uhličitý může způsobit tvorbu ok u polotvrdých sýrů. Rozpad citrátu a přeměnu pyruvátu lze regulovat použitými mikroorganismy [34]. Schéma katabolismu laktózy je na Obrázku č. 2.4.



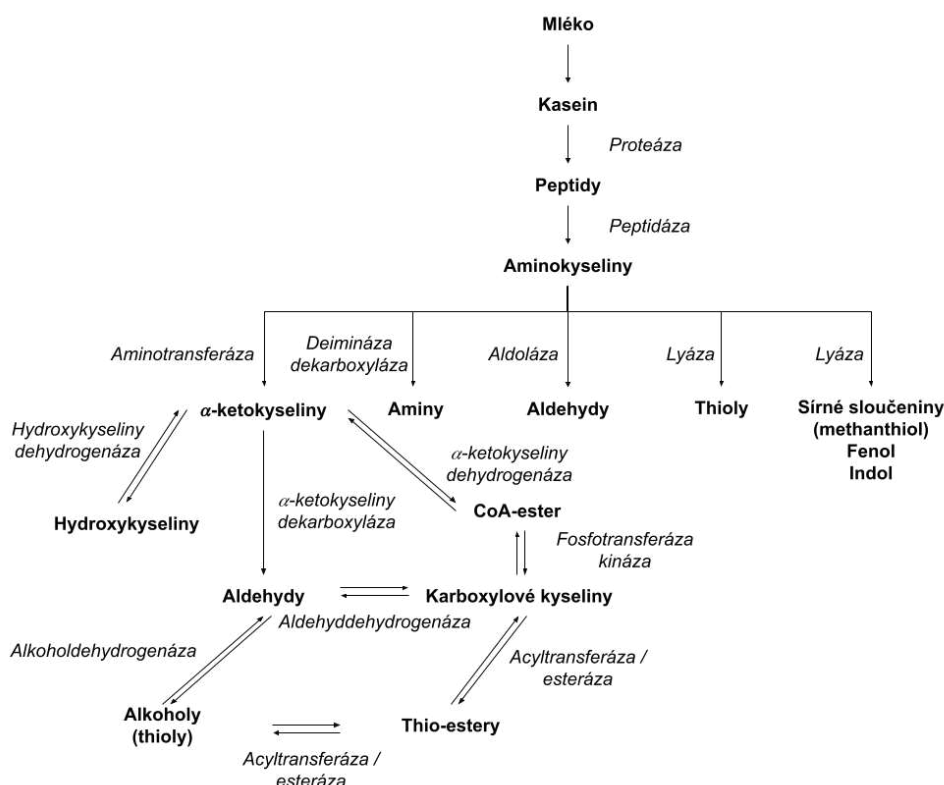
Obrázek 2.4: Biochemické cesty katabolismu v mléce [34]

2.5.1.2. Proteolýza a katabolismus aminokyselin

Z bílkovin je odvozena řada nejdůležitějších aromatických sloučenin především u tvrdých a polotvrdých sýrů. Proces proteolýzy je zahájen proteázami, které rozkládají kasein na peptidy. Kmeny bakterií mléčného kvašení produkují řadu peptidáz, které mohou dále degradovat velké peptidy na menší oligopeptidy nebo až na aminokyseliny. Ty mohou přispívat k sladkému aroma. Peptidy však mohou mít také nežádoucí hořkou chuť. Aminokyselinové konvertázy spouštějí tvorbu aromatických sloučenin z aminokyselin a vznikají alkoholy, aldehydy, kyseliny, estery a také sirné sloučeniny [34].

U sýrů s nízkým obsahem vlhkosti nebo vyšším obsahem soli proteolýza probíhá pomaleji, tak je možné řídit rychlost procesu zrání. Aminokyseliny jsou substrátem pro transaminaci, dehydrogenaci, dekarboxylaci a redukci. Produkují tedy širokou škálu aromatických sloučenin nebo dalších prekurzorů, jako jsou aminy a Streckerovy aldehydy [34].

Tvorba aromatických sloučenin z aminokyselin v sýrech je závislá na použitém kmeni, nejčastěji se volí bakterie mléčného kvašení nebo kvasinky. Studie prokázala, že degradace aminokyselin je hlavním procesem tvorby aroma v sýrech. V tomto ohledu jsou nejdůležitější aminokyseliny leucin, isoleucin, valin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan a methionin [34]. Schéma metabolismu bílkovin je na Obrázku č. 2.5.



Obrázek 2.5: Přehled metabolických drah bílkovin podílejících se na aromatickém složení fermentovaných mléčných výrobků [34]

2.5.1.3. Metabolismus aminokyselin s rozvětveným řetězcem

Katabolismus aminokyselin s rozvětveným řetězcem začíná transaminací, která je katalyzována aminotransferázami. Transaminací leucinu, isoleucinu a valinu vznikají meziprodukty jako α -ketokyseliny, α -ketoisokaproát, α -keto- β -methylvalerát a α -ketoisovalerát. α -ketokyseliny s rozvětvenými řetězci mohou být dekarboxylovány na karboxylové kyseliny nebo aldehydy nebo redukovány na hydroxykyseliny. Všechny produkty těchto reakcí mají silné aroma. Meziproduct α -ketoisokapronát může být dekarboxylován na 3-methylbutanal, který má při nízkých koncentracích příjemné ovocné aroma, ale při vyšších koncentracích může být kyselý a štiplavý. 3-methylbutanal může být dále oxidován na kyselinu isovalerovou, která přispívá k aroma zralého sýru. Isoleucin a valin mohou být dekarboxylovány na 2-methylbutanal a 2-methylpropanal, které jsou oxidovány na kyselinu 2-methylmáseľnou a kyselinu isomáseľnou. Bývá pravidlem, že mastné kyseliny po-

cházející z aminokyselin s rozvětveným řetězcem zapříčiňují žluklé a hnilobné aroma. Jeho vliv na konečné aroma sýrů záleží na jeho obsahu. Přeměnou aldehydů vznikají odpovídající alkoholy (3-methylbutanol, 2-methylbutanol, 2-methylpropanol), které zodpovídají za alkoholové a ovocné aroma. V sýru Ementál je 3-methylbutanol schopen potlačit nepříjemné aroma kyseliny máselné pocházející z lipolýzy. Čerstvému sýru dodává příjemnou vůni 3-methylbutanol [34].

2.5.1.4. Katabolismus aromatických aminokyselin

Katabolismus aromatických aminokyselin začíná transaminací, která je katalyzována aminotransferázami. Produktem jsou indolpyruvát, fenylpyruvát a p-hydroxyfenylpyruvát z tryptofanu, fenylalaninu a tyrosinu. Při použití kvasinek nebo *Brevibacterium linens* můžeme pozorovat eliminační reakci, která je katalyzována lyázami. Ty jsou schopny štěpit postranní řetězce tyrosinu a tryptofanu a tím v jednom kroku vzniká fenol, respektive indol. Zpravidla jsou sloučeniny odvozené od aromatických aminokyselin odpovědné za aroma různých sýrů. Sloučeniny zodpovědné za příjemné aroma jsou benzaldehyd (vůně připomínající mandle), fenylacetaldehyd (medové, květinové tóny) a fenylpropanát (květinové tóny). Méně příjemné aroma způsobují indol a skatol (hnilobný, zatuchlý zápach) a p-kresol (fenolické aroma). Fenylacetaldehyd je důležitý pro aroma Mozzareilly, fenylalkohol zase pro Camembert [34].

2.5.1.5. Methionin a jeho katabolická cesta

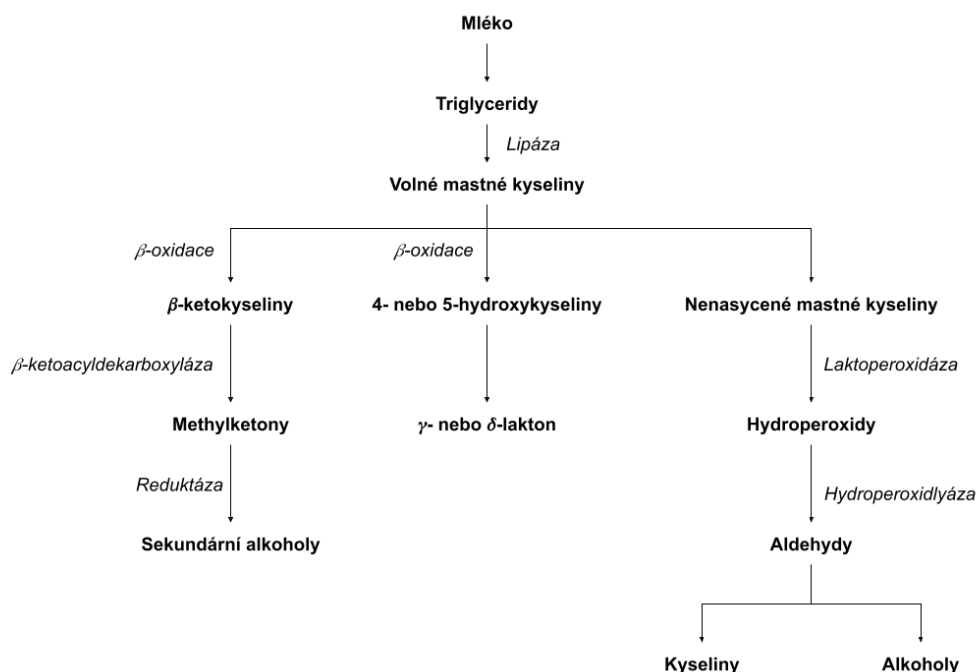
Methionin vstupuje do eliminační reakce katalyzované lyázami za vzniku methanthiolu, který lze dále oxidovat na dimethyldisulfid a dimethyltrisulfid. Methanthiol má vliv na charakteristické aroma Camembertu a Čedaru a dimethyldisulfid a dimethyltrisulfid dodávají sirné tóny [34].

2.5.1.6. Lipolýza a katabolismus mastných kyselin

Odbourávání lipidů probíhá během zrání sýra. Začíná lipolytickými enzymy (hydrolázy), které jsou schopny štěpit esterovou vazbu mezi mastnou kyselinou a glycerolovým jádrem triacylglycerolů. Vznikají volné mastné kyseliny a mono- a diacylglyceroly. Volné mastné kyseliny většinou nejsou samy o sobě aromatické sloučeniny, ale mohou být prekurzory katabolických reakcí, které vytvářejí aromatické látky (methylketony, estery, thioestery, laktony, aldehydy a sekundární alkoholy). Lipolýza je velmi důležitá u měkkých sýrů (Camembert a sýry s modrou plísní) a přispívá k aroma i u Čedaru. Důležitými produkty katabolismu volných mastných kyselin jsou methylketony (alkan-2-ony), které vznikají působením lipáz z plísní. Odbourávání lipidů *Penicillium spp.* začíná odštěpením volných mastných kyselin, kterému napomáhají lipázy. Volné mastné kyseliny jsou oxidovány na α -ketokyseliny, které jsou dekarboxylovány na alkan-2-ony a ty následně redukovány na alkan-2-ol. Methylketony přispívají k aroma sýrů s modrou plísní nebo Ementálu. V sýrech se vyskytuje často 2-nonanon, 2-heptanon, 2-undekanon atd. Dalšími produkty katabolismu mastných kyselin jsou estery. Ty jsou tvořeny reakcemi mezi mastnými kyselinami s krátkým či středně dlouhým řetězcem a alkoholy pocházejícími z fermentace

laktózy nebo katabolismu aminokyselin. Imhof a Bosset [35] analyzovali aromatický profil Ementálu a identifikovali 14 esterů. Meinhart a Schreiner [36] identifikovali 38 esterů v sýru Parmigiano Reggiano. Nejhojnější byly ethylethanoát, ethyloktanoát, ethyldekanóat a methylhexanoát. Thioestery vznikají reakcí esterů mastných kyselin s krátkým řetězcem s methioninem. Charakteristické sýrové aroma dodávají Čedaru. S-methylthioestery přispívají charakteristickým aroma měkkým sýrům [34]. Schéma metabolismu lipidů je na Obrázku č. 2.6.

Laktony se přirozeně vyskytují v mléce a sýrech, pro jejich aroma však nemají velký význam [34].



Obrázek 2.6: Lipolýza a katabolismus mastných kyselin [34]

2.5.2. Aromatické látky v čerstvých sýrech

Bergamaschi a Bittante [37] prováděli stanovení profilu těkavých látek ve smetaně a čerstvých sýrech. V čerstvých sýrech byly nejhojněji zastoupenými skupinami estery a mastné kyseliny. Celkem bylo identifikováno 43 těkavých sloučenin, z toho 8 alkoholů, 9 aldehydů, 7 esterů, 6 mastných kyselin, 5 ketonů a 8 dalších látek. 3-methylbutanal byl identifikován pouze ve smetaně, ethyl laktát a pentan-2-on zase pouze v Ricottě. Profil těkavých látek Ricotty se výrazně lišil od profilu čerstvého sýru. Obsah 3-methylbutan-1-olu, hexan-1-olu a 1-okten-3-olu byl v Ricottě mnohem vyšší, stejně tak celkový obsah aldehydů a ketonů. Naopak celkový obsah esterů byl vyšší u čerstvého sýru. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v Tabulce č. 2.14

Tabulka 2.14: Profil aromatických látek smetany, čerstvého sýra a Ricotty [$\mu\text{m} \cdot \text{kg}^{-1}$] [37]

	Smetana	Čerstvý sýr	Ricotta
Celkové těkavé látky	6,75	6,35	7,91
Alkoholy	3,50	3,50	4,90
3-methyl-2-buten-1-ol	0,56	0,40	0,45
3-methylbutan-1-ol	2,14	1,65	4,29
Pentan-1-ol	2,77	2,52	3,10
Hexan-1-ol	1,30	2,49	3,14
1-okten-3-ol	0,61	0,55	2,65
2-ethylhexanol	1,34	1,45	0,82
2-fenoxyethanol	0,71	0,16	0,57
Oktan-1-ol	0,78	0,38	0,86
Aldehydy	3,39	2,74	7,75
2-methylpropanal	1,72	0,73	3,84
3-methylbutanal	2,50	-	-
Benzaldehyd	0,70	1,19	2,62
Hexanal	1,04	1,76	7,45
Heptanal	1,13	1,62	6,05
Octanal	0,64	0,77	4,27
Oct-2-enal	-	0,12	2,95
Nonenal	0,41	0,72	3,17
Dekanal	1,04	0,59	1,27
Estery	5,03	6,44	4,24
Ethyl acetát	2,08	0,84	4,17
Ethyl laktát	-	-	0,68
Ethyl butanoát	4,45	6,42	0,60
Ethyl hexanoát	3,86	5,25	0,76
Ethyl oktanoát	2,37	3,78	0,37
Ethyl dekanoát	1,13	2,73	0,45
Ethyl dodekanoát	0,56	0,99	0,38
Mastné kyseliny	5,36	3,34	3,71
Kyselina octová	0,90	-	3,29
Kyselina máselná	3,91	1,27	1,21
Kyselina kapronová	4,71	2,39	2,44
Kyselina kaprylová	3,52	2,37	1,81
Kyselina pelargonová	1,24	0,64	0,91
Kyselina kaprinová	2,35	1,78	1,73
Ketony	1,78	1,55	4,21
Butan-2-on	1,71	0,87	3,82
Pentan-2-on	-	-	2,96
Heptan-2-on	1,36	1,09	3,53
Heptan-3-on	0,52	0,57	0,72
Nonan-2-on	0,85	0,72	2,62

	Smetana	Čerstvý sýr	Ricotta
Ostatní	4,74	3,56	3,42
Methylsulfonylmethan	3,53	0,53	2,39
Methylthiomethan	2,66	1,15	1,37
Dihydrofuran-2(3H)-on	0,56	1,21	0,55
3-methylfenol	0,28	0,07	0,15
Toluen	4,09	3,33	2,78
6-propyloxan-2-on	0,66	0,40	0,60
Limonen	1,21	0,78	0,64
α -Pinen	1,01	0,66	0,50

Povolo a kol. [38] zkoumali vliv pastvin na profil aromatických látek sýru Ricotta. Analyzovány byly tři různé vzorky Ricotty. Celkem bylo identifikováno 21 sloučenin, z toho 5 ketonů, 4 aldehydy, 4 kyseliny, 2 alkoholy, 1 ester a 5 dalších látek. Identifikované sloučeniny jsou uvedeny v Tabulce č. 2.15. Nejbohatší aromatický profil z kvalitativního i kvantitativního hlediska měl vzorek 2. Z výsledků vyplývá, že strava dojnic měla vliv na aromatický profil čerstvých sýrů Ricotta.

Tabulka 2.15: Aromatické látky identifikované v sýru Ricotta (plocha píku $\cdot 10^6$) [38]

Sloučenina	Ricotta		
	1	2	3
Dimethylsulfid	0,7	1,6	2,7
Aceton	12,1	36,1	25,2
3-okten	3,2	9,7	-
2-butanon	1,4	4,9	3,5
2-pentanon	3,0	11,9	6,0
Pentanal	3,9	16,2	6,0
Toluen	0,8	15,6	-
Hexanal	1,2	3,8	1,6
2-heptanon	4,5	18,4	7,3
Heptanal	1,6	3,9	0,8
Methyl-hexanoát	-	1,5	-
3-methyl-1-butanol	-	4,2	0,8
1-pentanol	1,1	5,5	1,8
Acetoin	-	2,8	-
2-nonanon	1,0	2,8	0,8
Nonanal	1,0	1,3	0,7
Kyselina máselná	-	2,2	2,5
Kyselina kapronová	-	1,4	3,0
Dimethylsulfon	1,5	1,8	0,4
Kyselina kypřilová	1,6	-	2,2
Kyselina kaprinová	1,8	-	-

2.5.3. Aromatické látky v sýrových analozích

Práce zaměřená na aromatické látky v analozích čerstvých sýrů zatím nebyla publikována, resp. v rámci provedené rešerše se nepodařilo žádnou nalézt. Lze však nalézt některé práce zaměřené na aromatické látky v analozích tavených sýrů.

V publikaci Vítové a kol. [39] je popsáno stanovení těkavých látek ve vzorcích analogů taveného sýra. Vzorky byly vyrobeny s různým typem tuku: máslo, máslový, kokosový, palmový a slunečnicový olej. Identifikováno bylo 31 sloučenin: 10 alkoholů, 8 aldehydů, 6 ketonů, 3 mastné kyseliny a 4 estery. Nejvíce aromatických látek bylo identifikováno v analogu s přídavkem slunečnicového oleje. Jako jediný obsahoval propanal, heptan-2-on a butyl-acetát. Co se týče celkového množství aromatických látek ve vzorku, nejvíc jich měl analog s přídavkem kokosového oleje ($547,30 \pm 9,82$) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a nejméně s olejem palmovým ($372,01 \pm 16,16$) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Tabulka 2.16: Aromatické látky identifikované v analozích taveného sýra [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$] [39]

Aromatická sloučenina	Zdroj tuku				
	Máslo	Máslový olej	Kokosový olej	Palmový olej	Slunečnicový olej
Ethanol	258,47 ± 12,08	221,12 ± 0,20	227,42 ± 3,77	198,49 ± 15,05	240,58 ± 17,58
Butan-1-ol	0,20 ± 0,01	0,31 ± 0,04	0,23 ± 0,01	0,32 ± 0,04	0,28 ± 0,01
Butan-2-ol	16,72 ± 0,36	1,98 ± 0,03	131,08 ± 2,34	-	-
Pentan-1-ol	2,31 ± 0,11	1,49 ± 1,06	1,74 ± 0,08	-	2,57 ± 0,81
Hexan-1-ol	-	0,01 ± 0,01	-	-	0,01 ± 0,01
Octan-1-ol	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Decan-1-ol	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
3-methylbutan-1-ol	0,43 ± 0,05	0,12 ± 0,01	0,42 ± 0,13	0,03 ± 0,01	0,67 ± 0,06
Alkoholy celkem	278,16 ± 12,09	225,06 ± 1,08	360,93 ± 4,44	198,87 ± 15,05	244,14 ± 17,60
Acetaldehyd	82,89 ± 4,18	86,11 ± 8,15	33,95 ± 8,32	21,01 ± 2,50	6,42 ± 1,33
Propanal	-	-	-	-	2,86 ± 0,29
Pentanal	-	0,02 ± 0,01	-	-	-
Hexanal	-	0,01 ± 0,01	-	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Heptanal	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Oktanal	-	0,01 ± 0,01	-	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Benzaldehyd	-	0,01 ± 0,01	-	-	0,01 ± 0,01
2-fenylacetaldehyd	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01
Aldehydy celkově	83,01 ± 4,18	86,25 ± 8,15	34,03 ± 8,32	21,13 ± 2,50	9,42 ± 1,36
Propan-2-on	14,23 ± 1,40	10,61 ± 1,03	-	4,39 ± 1,07	6,69 ± 0,31
Butan-2-on	0,10 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Heptan-2-on	-	-	-	-	0,01 ± 0,01
Undekan-2-on	0,05 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01
4-methylpentan-2-on	0,11 ± 0,02	-	0,17 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,21 ± 0,02
3-hydroxybutanon	0,14 ± 0,01	10,20 ± 0,03	0,25 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,18 ± 0,01
Ketony celkově	14,63 ± 1,40	0,97 ± 1,03	0,65 ± 0,02	4,88 ± 1,07	7,29 ± 0,31
Kyselina octová	98,96 ± 8,78	146,11 ± 2,43	151,68 ± 2,75	146,98 ± 5,21	161,93 ± 6,74
Kyselina máselná	1,24 ± 0,28	-	-	-	2,22 ± 0,21
Mastné kyseliny celkově	100,20 ± 8,78	146,11 ± 2,43	151,68 ± 2,75	146,98 ± 5,21	164,15 ± 6,74
Ethyl-butanoát	-	0,01 ± 0,01	-	0,14 ± 0,01	0,21 ± 0,04
Ethyl-dekanoát	-	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	-
Butyl-acetát	-	-	-	-	0,01 ± 0,01
Estery celkově	-	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,22 ± 0,05
Celkově	476,00 ± 15,58	468,41 ± 8,63	547,30 ± 9,82	372,01 ± 16,16	425,22 ± 18,90

2.5.4. Aromatické látky v řepkovém a lněném oleji

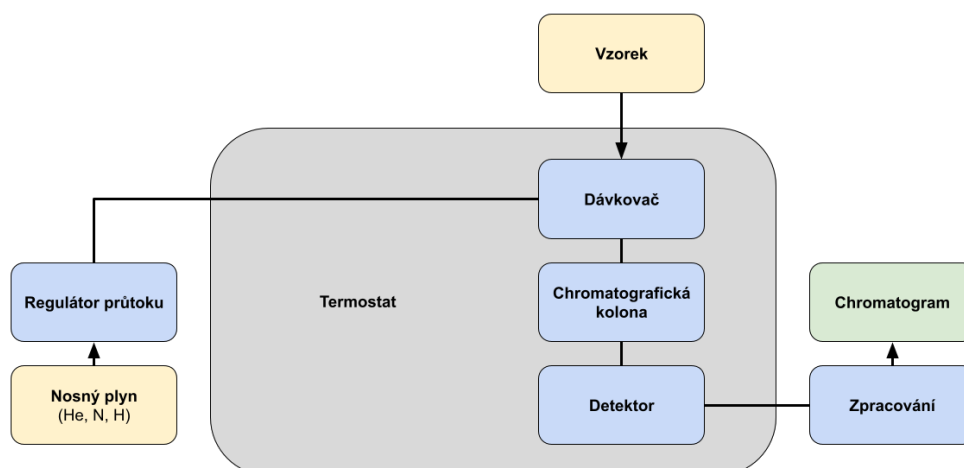
Wei a kol. [40] provedli studii využívající GC-MS ke stanovení aromatických látek v čínském lněném oleji. Hlavní aromatické sloučeniny, ovlivňující aromatický profil lněného oleje, byly: 1-hexanol (bylinný), kyselina octová (kyselá, štiplavá), 2,4-heptadienal (sladký), butyrlakton (karamelový, sladký) a 5-ethyl-dihydro-2(3H)-furanon (podobný obilovinám). Gracka a kol. [41] studovali vliv pražení semen na aromatický profil řepkového oleje. Vybrány byly dvě odrůdy semen, jedna s vysokým obsahem kyseliny linolenové (odráda 1) a druhá s vysokým obsahem kyseliny olejové (odráda 2). Pro pražení byly zvoleny teploty 140, 160 a 180 °C po dobu 5, 10 a 15 minut. V průběhu pražení se sensorické vlastnosti obou odrůd změnil. Celkem bylo identifikováno téměř 200 aromatických sloučenin. Počet a množství těkavých látek byl u pražených semen výrazně vyšší než u nepražených. Hlavní skupiny aromatických látek byly: aldehydy, ketony, alkoholy, deriváty furanu, sloučeniny obsahující síru a sloučeniny obsahující dusík. U obou pražených odrůd byly dominantní aldehydy 2-methyl-2-butanal a (E)-2-methyl-2-butenal. Tyto aldehydy jsou produkty Streckerovy degradace aminokyselin. U olejů z pražených semen byl identifikován ve větším množství také oktanal, který je klíčovou vonnou látkou. Další klíčovou vonnou látkou je hexanal, jehož obsah se u olejů z pražených semen snížil. Z ketonů byly identifikovány u olejů z pražených semen např. 2,3-pentadion, 2,3-butandion, 2,3-oktandion. V procesu pražení se zvýšil také obsah 3-hydroxy-2-butanonu a 2-alkanonu. Z furanových derivátů převládal furfural, který bývá produktem Maillardovy reakce. Ze skupiny sulfidů byly přítomny dimethylsulfid a dimethyldisulfid. Sloučeniny dusíku byly všechny kromě 2,5-dimethylpyrazinu, 2-methyl-5-hexennitrilu a methylallylkyanidu vytvořeny v důsledku pražení. Tabulka profilu aromatických látek v řepkovém oleji je uvedena v Příloze A.

2.6. Stanovení mastných kyselin v čerstvých sýrech

Pro stanovení mastných kyselin v potravinových matricích je ideální plynová chromatografie s plamenově ionizační detekcí.

Princip plynové chromatografie spočívá v rovnovážném rozdělení koncentrace analytu mezi mobilní a stacionární fází na základě adsorpce nebo rozpouštění. Používá se za účelem zjištění informací o přesném složení směsi. Časté využití má při stanovování organických sloučenin. Mobilní fáze je plynná, stacionární může být pevná, nebo kapalná a nachází se uvnitř kolony [42, 43].

Na obrázku č. 2.7 je znázorněno jednoduché schéma zařízení plynového chromatografu.



Obrázek 2.7: Schéma plynového chromatografu

Plamenově ionizační detektor (FID) je nejpoužívanějším detektorem v plynové chromatografii. Má jednotkovou uhlíkovou odezvu a široký lineární provozní rozsah, nízké náklady, snadné použití, rychlou odezvu a robustnost. Rychlost odezvy je závislá na hmotnosti uhlíku, který projde detektorem za jednotku času, nezáleží však na složitosti struktury. Plocha výsledného píku je úměrná množství složky. FID je založen na mechanismu, kterým se většina organických látek redukuje na nasycené protějšky na začátku plamene při nižších teplotách. V plamenu tyto nasycené látky reagují s atomy vodíku a vzniká methan. Ten se v plamenu vznítí a je spalován na formylový kation CHO^+ , který je původcem FID signálu. Kladné ionty jsou sbírány záporně vychýleným kolektorem, což způsobí tok proudu. Ten je následně elektronicky zesílen a digitalizován a je úměrný počtu prošlých iontů. Elektrony proudí v opačném směru a jsou uzemněny v plamenu. Uhlovodíky jsou oxidovány během spalování, případně tvoří CO_2 a H_2O . Nabité meziproducty vedou k odezvě FID. Molekuly obsahující kyslík se neoxidují. Odezva pro sloučeniny obsahující kyslík klesá v pořadí: alkoholy, ethery, aldehydy, ketony > estery > kyseliny. Detektor nedává odezvu na H_2O , CS_2 , HCOOH , $(\text{COOH})_2$, NH_3 , H_2S [44, 45].

2.6.1. Přehled aplikací na čerstvé sýry

Seguel a kol. [16] použili GC-FID ke stanovení mastných kyselin v sýru Ricotta. Extrakce byla provedena podle metody navržené Blightem a Dyerem [46], methylace byla provedena podle postupu Christiese [47] s modifikacemi Chouinarda a kol. [48]. Identifikace byla prováděna pomocí standardů methylesterů mastných kyselin. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 2.2.2.

GC-FID byl použit také pro analýzu čerstvých sýrů prováděnou Oliveirem a kol. [17]. Extrakce lipidů byla provedena organickými rozpouštědly (chloroform a methanol) podle Folche a kol. [49]. Příprava methylesterů byla prováděna podle Bannona a kol. [50] a modifikována $0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ bazickým roztokem methoxidu sodného v methanol-diethyletheru (1:1). Identifikace mastných kyselin byla prováděna za pomoci standardů methylesterů

mastných kyselin. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 2.2.2.

2.7. Stanovení aromatických látek v čerstvých sýrech

Pro stanovení těkavých látek v této práci byla použita metoda HS-SPME-GC-MS.

Mikroextrakce pevnou fází kombinuje extrakci analytů ze směsi, předkoncentraci a desorpci do analytického zařízení. Tato technika je ideální pro kapalnou potravinářské vzorky. Účinná technika adsorpce/desorpce eliminuje potřebu rozpouštědel. V SPME je malé množství extrakční fáze spojené s pevným nosičem, který je v kontaktu s matricí vzorku po předem stanovenou dobu. Pokud je tato doba dostatečně dlouhá, dojde k ustálení rovnováhy mezi matricí vzorku a extrakční fází. Adsorbované rozpuštěné látky jsou převedeny do vstupního systému, který desorbuje rozpuštěné látky do plynné (GC) nebo kapalnou (LC) mobilní fáze [51, 52].

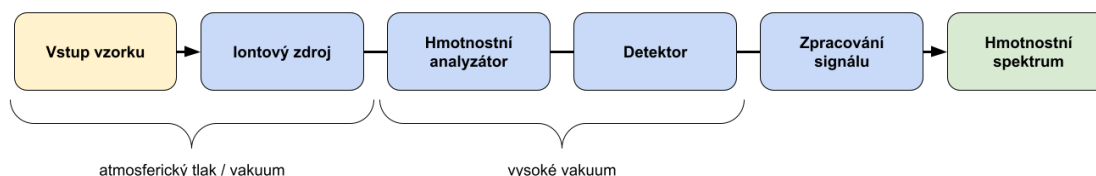
Pro stanovení aromatických látek je nejvýhodnější headspace SPME (vlákno umístěno nad matricí vzorku) [51].

SPME je možné spojit se separačními technikami jako je plynová nebo vysoce účinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií [51, 52].

Hmotnostní spektrometrie je separační metoda založená na rozdělení iontů v plynné fázi v závislosti na jejich poměru hmotnosti a náboje (nábojového čísla) a analýze jejich četnosti. Stanoveny mohou být anorganické ionty, ionizované molekuly, jejich fragmenty nebo asociáty. Hmotnost iontu je vyjádřena jednotkou u , která odpovídá hmotnosti jedné dvanáctiny nuklidu ^{12}C [53].

Hmotnostní spektrometr se skládá z následujících částí (viz. Obrázek 2.8) [53]:

- Vakuový systém
- Vstup vzorku
- Iontový zdroj
- Separátor iontů
- Detektor iontů



Obrázek 2.8: Schéma hmotnostního spektrometru [53]

Pro vytvoření a udržení vakua se používá soustava vývěv, které čerpají plynnou fázi z jednotlivých částí spektrometru. Ty jsou od sebe odděleny kónickými clonami s malou škvírou ve středu, nebo tenkou kapilárou. Je možné použít techniku, při které je možná

ionizace za atmosférického tlaku. V tom případě je iontový zdroj oddělen od separátoru clonami, které tvoří malé segmenty, ve kterých je plynná fáze čerpána až na potřebnou úroveň vysokého vakua [53].

Iontový zdroj má za úkol ionizovat neutrální molekuly. Produkty ionizace se dále mohou rozpadnout na tzv. fragmentové ionty. Elektrostaticky urychlené ionty vlétávají do separátoru. Nejčastěji využívanými ionizačními technikami jsou: elektronová ionizace, chemická ionizace, ionizace nárazem atomů, ionizace laserem za účasti matrice a ionizace za atmosférického tlaku [53].

Vstup iontů do separátoru je prováděn kontinuálně nebo pulzně. K separaci dochází na základě různých fyzikálních vlastností. Mezi separátory iontů patří: magnetický a elektrostatický sektorový separátor, kvadrupólový separátor a iontová past, průletový separátor, cyklotronový separátor a orbitrap [53].

V detektorech dochází k přeměně energie dopadajících iontů nejčastěji na elektrický signál. Ten je digitalizován, zaznamenáván a zpracován počítačem. Používané detektory jsou: elektronový násobič, Faradayův detektor, scintilační detektor atd [53].

2.7.1. Přehled aplikací na čerstvé sýry

Bergamaschi a Bittante [37] prováděli stanovení profilu těkavých látek ve smetaně a čerstvých sýrech pomocí SPME-GC-MS. Do skleněných lahvíček byly naváženy 3 g vzorku a 2 g chloridu sodného. K nim byly přidány 4 ml destilované vody, 50 μl standardu těkavých látek a magnetická míchací tyčinka. Po adsorpci sloučenin na SPME vlákno byly sloučeniny desorbovány v injektoru GC při teplotě 250 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 10 minut a propojeny s hmotnostním detektorem v režimu elektronové ionizace. Identifikace byla provedena pomocí knihovny spekter. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 2.5.2.

2.8. Senzorické hodnocení sýrů

Senzorická analýza je obor, který vyvolává, měří, analyzuje a interpretuje reakce na postřehnutelné vlastnosti a charakteristiky potravin či surovin lidskými smysly (chuť, čich, zrak, hmat a sluch). Senzorická analýza je vždy realizována skupinou posuzovatelů a výsledky jsou poté statisticky zpracovány. Velká část metod je normalizována, tedy normou (ČSN ISO, ISO) je stanoven průběh a požadavky metody [54].

Nejvíce používané metody [54]:

- Rozlišovací zkoušky – stanovení rozdílu mezi vzorky
- Zkoušky používající stupnice a kategorie – odhad stupňů, do nichž jsou vzorky zařazovány
- Deskriptivní (popisné) zkoušky – identifikace zvláštních sensorických znaků ve vzorku

2.8.1. Senzorické vlastnosti sýrů

Pro zajímavost jsou zde uvedeny požadavky na sensorické vlastnosti vybraných typů sýrů, vzhledem k zaměření této práce jsou samozřejmě nejdůležitější informace o sýrech čerstvých.

Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou [55]

- Balení – čistý obal, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.
- Barva a vzhled – smetanová až sýrově žlutá barva typická pro daný typ sýru, u klasicky zrajících sýru suchá a neporušená kůra. U sýrů zrajících ve fólii nepoškozený povrch. Možné mírné vypoukliny.
- Konzistence – jednotná, vláčná až pružná. Pravidelná oka na řezu větší než 5 mm zvětšující se od povrchu ke středu, jsou čistá a lesklá. Bez trhlinek.
- Chuť a vůně – jemná, typická pro každý typ sýru, nasládlá.

Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou [55]

- Balení – čistý obal, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.
- Barva a vzhled – smetanová až sýrově žlutá barva, hladký povrch bez poškození, pravidelný tvar. Možné mírné vypoukliny.
- Konzistence – homogenní, u sýru s vyšším obsahem tuku jemná, vláčná až pružná. U méně tučných sýrů tužší. Menší množství drobných ok nebo úplně bez nich. Mírné provzdušnění se nebere jako závada.
- Chuť a vůně – charakteristická pro daný typ sýru, mléčně jemná s hořkomandlovou příchutí nebo mléčnou nakyslostí.

Sýry s bílou plísní na povrchu [55]

- Balení – čistá podlepená hliníková fólie, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.
- Barva a vzhled – ušlechtilá bílá plíseň po celém povrchu, tvar pravidelný, na řezu mléčně bílá až smetanově žlutá barva. Možné viditelné vlisy po zrací paletě.
- Konzistence – jemná. Možné mírné trhlinky nebakteriálního charakteru.
- Chuť a vůně – jemná, charakteristická pro daný typ sýru, houbově sýrová, pikantní, mírně slaná.

Sýry s plísní uvnitř hmoty [55]

- Balení – čistá hliníková fólie, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.

- Barva a vzhled – pravidelný tvar, hladký povrch se znatelnými vpichy. Sýrová hmota bílé až smetanové barvy porostlá zelenou nebo modrozelenou plísní. Povrch bílé nebo světlehnědé barvy.
- Konzistence – jemná, drobnivá, roztíratelná, stejnoměrně prozrávajíc.
- Chuť a vůně – charakteristická pro daný typ sýru, slabě nakyslá, aromatická, slaná, pikantní.

Sýry s měkkým mazem na povrchu [55]

- Balení – čistý obal, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.
- Barva a vzhled – maz rovnoměrně po celém povrchu, zlatožlutá až naružovělá barva, matně lesklá. Pravidelný tvar s případnými mírnými nerovnostmi.
- Konzistence – měkká s mírně prozrálým jádrem, na řezu drobná oka. Zřetelná struktura sýrových zrn na povrchu.
- Chuť a vůně – charakteristická pro daný typ sýru, jemná až ostře pikantní, mléčně nakyslá, slaná.

Čerstvé a termizované krémové a tvarohové sýry [55]

- Balení – čistý obal, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.
- Barva a vzhled – mléčně bílá až smetanově nažloutlá barva. Homogenní v celé hmotě, čerstvý a uzavřený povrch. Při použití přísad charakteristické zbarvení pro daný typ přísady.
- Konzistence – jemná, hladká, homogenní, roztíratelná. Možné uvolnění syrovátky, přidané přísady rovnoměrně rozprostřeny.
- Chuť a vůně – jemná, nakyslá, smetanově mléčná, jemně slaná. Při použití přísad charakteristická chuť pro daný typ přísady.

Tavené sýry [55]

- Balení – čistý obal, dobře uzavřený, bez vad, správné a čitelné údaje na etiketě.
- Barva a vzhled – smetanově až sýrově žlutá barva případně s charakteristickým odstínem podle použitých surovin a přísad. Pravidelný tvar.
- Konzistence – nelepivá k hliníkové fólii, jemná, hladká, roztíratelná.
- Chuť a vůně – jemně mléčná až máslová, s charakteristickou chutí a vůní podle použitých surovin a přísad.

Vady [55]

- Balení – porušený, znečištěný obal, špatně zvolená barva, špatně označené, špatně uzavřené,...

- Barva a vzhled – prasklý, deformovaný, nepřirozená barva, nehomogenní, plíseň, mazlavost,...
- Konzistence
 - Uvnitř – trhliny, duření, síťovitost, písčítost, drobivost, uvolněná syrovátka,...
 - Na povrchu – nepravidelný tvar, tvrdost/měkkost povrchu, roztékavost,...
- Chuť a vůně – hořkost, česneková chuť, kyselost, žluklá chuť, hniloba, slanost,...

2.8.2. Senzorické hodnocení čerstvých sýrů a sýrových analogů – přehled aplikací

Higuera Marin a kol. [24] uvádí sensorickou analýzu čerstvého sýrového analogu, u kterého byl mléčný tuk nahrazen tukem z avokáda. Byly analyzovány tři vzorky hédonickým testem. První vzorek měl obsah 0,5 % mléčného tuku a 4,5 % avokádové dužiny, druhý vzorek byl vyroben z 0,5 % mléčného tuku a 9 % avokádové dužiny a třetí z 0,5 % mléčného tuku a 18 % avokádové dužiny. Sensorické analýzy se zúčastnilo 109 hodnotitelů bez větších zkušeností se sensorickou analýzou (muži i ženy). Byla použita hédonická stupnice o pěti bodech (1-nepřijatelný, 2-méně dobrý, 3-dobrá, 4-velmi dobrá, 5-výborná). Hodnotitelé jako nejlepší vzorek označili analog s 18 % avokádové dužiny, jako naopak nejhorší byl shledán analog s 4,5 % dužiny.

Golinelli a kol. [56] prováděli sensorické hodnocení čerstvých sýrů za účelem odhalení falšování kozího sýra částečným nahrazením kozího mléka kravským. Analyzováno bylo 7 vzorků s různým poměrem nahrazení kozího mléka kravským (kravské:kozí – 0:100, 5:95, 10:90, 15:85, 25:75, 50:50 a 75:25), sýr vyrobený ze 100 % kozího mléka byl použit jako kontrolní vzorek. Ochutnávky se zúčastnilo 102 hodnotitelů bez větších zkušeností se sensorickou analýzou (44 žen, 58 mužů). Použity byly trojúhelníkové testy. Bylo zjištěno, že hodnotitelé rozeznali i nejmenší přídavek kravského mléka, proto nemohla být určena mez detekce falšování.

3. Experimentální část

3.1. Chemikálie a laboratorní vybavení

3.1.1. Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková 35 % p. a., PENTA, Česká republika
- Ethanol 96 % obj. p. a., SIGMA-ALDRICH, Německo
- Diethylether p. a., PENTA, Česká republika
- Petrolether p. a., PENTA, Česká republika
- Bortrifluorid methanolický roztok 10 %, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Isooktan p. a., SIGMA-ALDRICH, Německo
- Chlorid sodný p. a., PENTA, Česká republika
- Destilovaná voda, FCH VUT
- Síran sodný bezvodý p. a., Lach:ner, Česká republika
- Methanol p. a., Lach:ner, Česká republika
- Hydroxid sodný p. a., PENTA, Česká republika
- Hexan p. a., Lach:ner, Česká republika
- Směsný standard metylesterů mastných kyselin (C14-C24), Restek, PA, USA
- Metylbutyrát, metylkapronát, metylkaprylát, metylkaprinát, metyllaurát, Merck, ČR

3.1.2. Plyny

- Dusík 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem
- Vodík 5.5 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem
- Vzduch 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem
- Helium 4.8, SIAD v tlakové bombě s redukčním ventilem

3.1.3. Přístroje

- Plynový chromatograf TRACE GC 2000, (ThermoQuest Italia S. p. A, Itálie) s plamen-
iono-ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a s kapilární kolonou DB-
-WAX s vysoce polární stacionární fází (PEG) o rozměrech 30 m x 0,32 mm x 0,50
 μm
- 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)
- PC-pracovní stanice, POWER PROFIT
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Váhy analytické GR-202-EC, HELAGO, Itálie
- Vodní lázeň se stojany, Julabo TW 2, Německo
- Topné hnízdo 100 ml, BRNĚNSKÁ DRUTĚVA v.d., Česká republika
- Vakuová rotační odparka, KIKA®-WERKE, Německo
- Lednice a mrazák ERB nerez, Elektrolux, ŠvédskoPomůcky

3.1.4. Laboratorní pomůcky

- Běžné laboratorní sklo a vybavení
- Automatická mikropipeta 100 – 1000 μl , labopette®, Německo
- Automatická mikropipeta 100 – 1000 μl , sartorius, Německo
- Automatická mikropipeta 10 – 100 μl , BIOHIT, Finsko
- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 μm , Supelco, Bellefonte, Pennsylvania,
USA
- Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem
- Vialky o objemu 2 a 4 ml

3.2. Analyzované vzorky

V experimentální části práce byly analyzovány modelové vzorky analogů čerstvých sýrů. Vzorky byly vyrobeny v poloprovozních podmínkách na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně, standardním technologickým postupem pro výrobu čerstvých sýrů (viz kapitola 2.3.1) [7, 8].

Celkem byly vyrobeny 3 typy vzorků: standardní čerstvý sýr (bez přídavku rostlinných

olejů), a analog s přidavkem lněného a řepkového oleje. Označení vzorků je uvedeno v Tabulce č. 3.1. Od každého typu byly vyrobeny 2 vzorky. Okamžitě po výrobě byly vzorky zamrazeny a uchovávány v mrazničce, zabalené v potravinářské fólii, až do doby analýz.

Tabulka 3.1: Označení vzorků

Označení vzorku	Použitý rostlinný olej
B	Řepkový
C	Lněný
K	Bez oleje (kontrolní)



Obrázek 3.1: Vzorek "B"



Obrázek 3.2: Vzorek "C"



Obrázek 3.3: Vzorek "K"

3.3. Použité metody pro stanovení mastných kyselin

Postup byl převzat z bakalářské práce Lucie Hajtmarové [57].

Pro identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin byly mastné kyseliny ve vyizolovaném tuku převedeny esterifikací na methylestery a následně podrobeny analýze pomocí GC-FID.

3.3.1. Extrakce lipidů ze vzorku sýra

Extrakce lipidů ze vzorku sýra byla provedena podle normy ČSN EN ISO 1735:2005.

3.3.1.1. Princip

Netukové látky výrobku se rozpustí a dojde k uvolnění tuku, který se vytřepe kvantitativně směsí diethyletheru a petroletheru. Po odpaření rozpouštědel se tuk zvaží.

3.3.1.2. Přístroje a pomůcky

Struhadlo, nůž, zkumavka, dělicí nálevka, destilační baňka s kulatým dnem 50 ml, vodní lázeň, pipeta 5 a 10 ml, analytické váhy, vakuová odparka.

3.3.1.3. Chemikálie

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

3.3.1.4. Postup

Sýr byl najemno nastrouhán na struhadle. Do zkumavky byl navážen 1 g s přesností na čtyři desetinná místa, bylo přidáno 5 ml kyseliny chlorovodíkové a směs byla zahřívána ve vodní lázni při 80 °C do rozpuštění veškerého sýru. Směs byla ochlazena pod tekoucí vodou.

Pomocí 5 ml ethanolu byla směs převedena kvantitativně do dělicí nálevky. Ke směsi bylo postupně přidáváno 9 ml diethyletheru a 9 ml petroletheru. Po každém přidavku byla promíchána. Poté byla směs nechána 30 minut odstát.

Horní čirá fáze byla oddělena od vodné fáze a odebrána do vysušené a zvážené destilační baňky s kulatým dnem (50 ml). Následně byla provedena druhá a třetí extrakce s polovičním množstvím rozpouštědel. Všechny tři extrakty byly spojeny a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové rotační odparce při teplotě do 40 °C.

Množství tuku bylo zjištěno gravimetricky – vyextrahovaný tuk byl zvážen na analytických vahách s přesností na 0,0001 g a od naměřené hmotnosti byla odečtena hmotnost čisté destilační baňky.

Procentuální obsah tuku se vypočítá pomocí vzorce:

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

w_{tuk}	procentuální obsah tuku	[%]
m_{tuk}	hmotnost vyextrahovaného tuku ze vzorku	[g]
m_{syr}	navážka vzorku sýra	[g]

Procentuální obsah tuku v sušině se vypočítá pomocí vzorce:

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

w_{tvs}	procentuální obsah tuku v sušině	[%]
w_{tuk}	obsah tuku	[%]
w_{sus}	obsah sušiny	[%]

3.3.2. Příprava methylesterů mastných kyselin

Pro přípravu methylesterů byla použita kyselá esterifikace s bortrifluoridem jako katalyzátorem; zvláště pro stanovení všech (TAG) a volných (VMK) mastných kyselin.

3.3.2.1. Kyselá esterifikace s bortrifluoridem jako katalyzátorem (TAG)

Princip:

Glyceroly jsou v prvním kroku bazicky katalyzované reakce transmetylovány pomocí methanolickeho roztoku hydroxidu sodného na methylestery, přítomné volné mastné kyseliny (VMK) jsou převedeny na soli. V druhém kroku kyselě katalyzované reakce jsou soli mastných kyselin (MK) převedeny na methylestery (MeMK) reakcí s komplexem bortrifluorid-methanol.

Přístroje a pomůcky:

Destilační baňka s kulatým dnem, zpětný chladič, topné hnízdo, pipeta 5 a 20 ml, vialka 2 a 4 ml.

Chemikálie:

Methanolickeý roztok hydroxidu sodného ($c = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$), bortrifluorid methanolickeý roztok 10%, isooktan p.a., chlorid sodný p.a. (nasyčený vodný roztok), síran sodný bezvodý p.a.

Postup:

Do destilační baňky s vyextrahovaným tukem byly přidány 4 ml roztoku hydroxidu sodného ($c = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) a varný kamínek. K baňce byl připojen zpětný chladič, byla vložena do topného hnízda a obsah byl vařen pod zpětným chladičem, dokud nevymizely kapičky tuku. V průběhu varu bylo destilační baňkou mícháno, aby se na stěnách baňky nevytvořil pevný kroužek hydroxidu sodného.

Po 10 minutách varu bylo do vroucí směsi přes zpětný chladič přidáno 5 ml methanolickeho roztoku bortrifluoridu a ve varu bylo pokračováno po 20 minut. Poté byly do vroucí směsi přes horní konec chladiče přidány 3 ml isooktanu, destilační baňka byla vyjmuta z topného hnízda a var byl zastaven.

Ihned po zastavení varu bylo do směsi přidáno 20 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, baňka byla uzavřena a protřepávána 15 sekund. Poté bylo přidáno větší množství nasyceného vodného roztoku chloridu sodného tak, že hladina kapaliny dosáhla hrdla baňky a byl jasný přechod mezi dvěma fázemi. Baňka byla pro oddělení fází nechána 5 minut stát.

Z horní isooktanové vrstvy byly odebrány 2 ml do 4 ml vialky, bylo přidáno malé množství bezvodého síranu sodného, aby se odstranily stopy vlhkosti. Z takto připraveného roztoku byl odebrán 1 ml do vialky pro analýzu na plynovém chromatografu.

Příprava methanolickeho roztoku NaOH ($c = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$)

Navážka 2 g NaOH byla za mírného ohřívání ve vodní lázni rozpuštěna ve 100 ml methanolu. Připravený roztok byl uchovávan v lednici.

3.3.2.2. Kyselá esterifikace s bortrifluoridem jako katalyzátorem (VMK)

Princip:

Volné mastné kyseliny jsou esterifikovány zahříváním v přebytku bezvodého methanolu

v přítomnosti BF_3 jako katalyzátoru.

Přístroje a pomůcky:

Destilační baňka s kulatým dnem, zpětný chladič, topné hnízdo, pipeta 5 a 20 ml, vialka 2 a 4 ml.

Chemikálie:

Bortrifluorid methanolický roztok 10%, isooktan p.a., chlorid sodný p.a. (nasyčený vodný roztok), síran sodný bezvodý p.a.

Postup:

Do destilační baňky s vyextrahovaným tukem bylo přidáno 5 ml methanolického roztoku bortrifluoridu a varný kamínek. K baňce byl připojen zpětný chladič, byla vložena do topného hnízda a obsah byl přiveden k varu. Do směsi byly přidány přesně po 3 minutách varu přes horní konec chladiče 3 ml isooktanu, destilační baňka byla vyjmuta z topného hnízda a var byl zastaven.

Ihned po zastavení varu bylo do směsi přidáno 20 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, baňka byla uzavřena a protřepávána 15 sekund. Poté bylo přidáno větší množství nasyceného vodného roztoku chloridu sodného tak, že hladina kapaliny dosáhla hrdla baňky a byl jasný přechod mezi dvěma fázemi. Baňka byla pro oddělení fází nechána 5 minut stát.

Z horní isooktanové vrstvy byly odebrány 2 ml do 4 ml vialky, bylo přidáno malé množství bezvodého síranu sodného, aby se odstranily stopy vlhkosti. Z takto připraveného roztoku byl odebrán 1 ml do vialky pro analýzu na plynovém chromatografu.

Koncentrace methylesteru mastné kyseliny v extraktu (ve vialce) se vypočítá pomocí vzorce:

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

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

Potřebné koncentrace, plochy píků a M_r standardů jsou uvedeny v tabulce č. 2.6.

Výpočet koncentrace MK přepočtem z koncentrace methylesteru MK:

$$c_{MK} = \frac{c_{MeMK} \cdot M_{rMK}}{M_{rMeMK}} \quad (3.4)$$

c_{MK}	koncentrace MK v extraktu	$[mg \cdot ml^{-1}]$
c_{MeMK}	koncentrace MeMK v extraktu	$[mg \cdot ml^{-1}]$
M_{rMK}	molární hmotnosti MK	$[g \cdot mol^{-1}]$
M_{rMeMK}	molární hmotnosti MeMK	$[g \cdot mol^{-1}]$

KAPITOLA 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Tabulka 3.2: Standardy MeMK použité pro identifikaci a přehled molárních hmotností mastných kyselin a odpovídajících methylesterů

	MeMK	Retenční čas [min]	Koncentrace [mg · ml ⁻¹]	Plocha píku [mV · s]	Mr _{MeMK} [g · mol ⁻¹]	Mr _{MK} [g · mol ⁻¹]
C4:0	Kyselina máselná	4,37	0,1	3073915	102,130	88,110
C6:0	Kyselina kapronová	5,67	0,1	3472798	130,187	116,160
C8:0	Kyselina kaprylová	6,85	0,1	3196676	158,241	144,210
C10:0	Kyselina kaprinová	8,00	0,1	3395017	186,295	172,268
C12:0	Kyselina laurová	9,35	0,1	2873110	241,349	200,322
C14:0	Kyselina myristová	11,12	0,1	1225992	242,403	228,376
C16:0	Kyselina palmitová	13,57	0,4	3730560	270,457	256,430
C18:0	Kyselina stearová	16,83	0,3	2179371	298,511	284,484
C18:1	Kyselina olejová	17,30	4,5	33592447	296,495	282,468
C18:2	Kyselina linolová	18,20	1,5	11131918	294,479	280,452
C18:3n3	Kyselina linolenová	19,74	0,3	2163208	292,463	278,436
C20:0	Kyselina arachová	21,31	0,3	1923943	326,565	312,538
C22:0	Kyselina behenová	28,76	0,3	1722493	354,619	340,592
C22:1	Kyselina eruková	29,83	2,0	12034470	352,603	338,576
C24:0	Kyselina lignocerová	41,26	0,3	806041	382,673	368,646

- MeMK - methylestery mastných kyselin
 Mr_{MeMK} - molární hmotnost methylesterů mastných kyselin
 Mr_{MK} - molární hmotnost mastných kyselin

Výpočet množství v původním objemu v baňce:

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

- m_{MK} celková hmotnost MK v baňce [mg]
 c_{MK} koncentrace MK v extraktu [mg · ml⁻¹]
 V objem isooktanu (3 ml) [ml]

Výpočet koncentrace MK v sýru:

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

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

Výpočet koncentrace MK v tuku:

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

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

3.3.3. Podmínky stanovení methylesterů mastných kyselin

- Plynový chromatograf, TRACE GC (ThermoQuest S.p.A., Itálie)
- Autosampler AI/AS 3000
- Kapilární kolona, DB-WAX (30 m x 0,32 mm x 0,5 μ m)
- Oven – teplotní program
 - 50 °C, 1 minuta
 - Vzestupný gradient 25 °C·min⁻¹ do 200 °C se zdržením 0 minut
 - Vzestupný gradient 3 °C·min⁻¹ do 230 °C se zdržením 30 minut
 - Celková doba analýzy: 47 minut
- Inlet
 - Teplota injektoru: 250 °C
 - Splitless time: 1 minuta
 - Dávkování: autosampler bez děliče toku (splitless) (1 μ l)
- Carrier gas
 - Průtok dusíku: 1 ml·min⁻¹
- Detektor FID (plamenově ionizační)
 - Teplota detektoru: 250 °C
 - Průtok vzduchu: 350 ml·min⁻¹
 - Průtok vodíku: 35 ml·min⁻¹
- Make-up dusíku: 30 ml·min⁻¹

3.4. Použité metody pro stanovení aromaticky aktivních látek

Pro identifikaci a semikvantifikaci aromaticky aktivních látek byla použita metoda head-space mikroextrakce na pevnou fázi ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (HS-SPME-GC-MS).

3.4.1. Příprava vzorků

Na analytických vahách byly, s přesností na čtyři desetinná místa, naváženy 3 g vzorku do vialky se závitovým magnetickým uzávěrem, která byla umístěna do autosampleru pro analýzu.

3.4.1.1. Podmínky SPME extrakce

- SPME vlákno: DVB/CAR/PDMS 50/30 μm , (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA)
- Doba inkubace (temperování): 10 minut
- Doba extrakce: 20 minut
- Teplota extrakce a inkubace: 40 $^{\circ}\text{C}$
- Hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm

3.4.1.2. Podmínky GC-MS analýzy

- Kapilární kolona: TG-WaxMS, parametry kolony: 30 m \times 0,25 mm \times 0,5 μm
- Teplota desorpce (teplota injektoru): 240 $^{\circ}\text{C}$
- Doba desorpce: 20 minut
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru: 40 mm
- Technika dávkování: splitless (ventil uzavřen 10 minut)
- Nosný plyn: helium, 1 ml \cdot min $^{-1}$
- Teplotní program:
 - 40 $^{\circ}\text{C}$ s výdrží 2 minuty
 - Vzestupný gradient 3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ do 110 $^{\circ}\text{C}$ s výdrží 10 minut
 - Vzestupný gradient 3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ do 200 $^{\circ}\text{C}$ s výdrží 0 minut
 - Celková doba analýzy: 65 minut
- Detektor: hmotnostní spektrometr

- Ionizace plynné fáze: elektronová ionizace
- Teplota iontového zdroje: 200 °C
- Typ analyzátoru: kvadrupólový analyzátor
- Skenovací rozsah m/z: 30-370 amu
- Rychlost skenování: 0,2s

3.4.1.3. Identifikace a kvantifikace těkavých látek

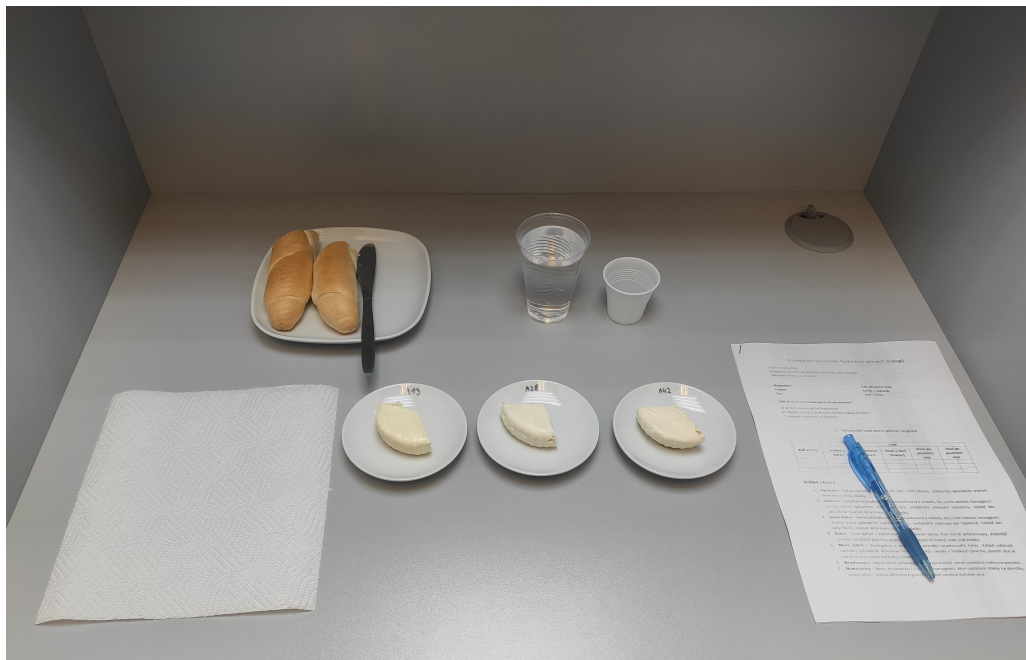
Identifikace aromaticky aktivních látek byla provedena pomocí knihovny spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA). Obsah identifikovaných sloučenin je vyjádřen semikvantitativně pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu.

3.5. Senzorická analýza

Bylo odváženo cca 40 g vzorku, umístěno na talířky a opatřeno kódem (viz Obrázek 3.4). Takto připravené vzorky byly předloženy hodnotitelům. Jako chuťový neutralizátor byla podávána voda.

Komisi hodnotitelů tvořila skupina 6 vybraných hodnotitelů (4 ženy, 2 muži) z řad studentů FCH VUT znalých problematiky technologie výroby sýrů a sensorického hodnocení. Sensorická analýza se skládala z hodnocení pomocí stupnic a pořadového testu. Vzhled a barva, textura, vůně a chuť (flavour) byly hodnoceny pomocí popisných stupnic (vynikající → nepříjemný), chuť a vůně po použití oleji (neznatelná → velmi silná), příjemná → nepříjemná.

Na závěr měli hodnotitelé seřadit všechny tři vzorky podle celkové přijatelnosti. Formulář pro sensorické hodnocení je uveden v Příloze C.



Obrázek 3.4: Vzorčky připravené pro senzoričnou analýzu

3.6. Statistické zpracování výsledků

Data byla zpracována v programu MS Excel Office 365. Vzorčky byly analyzovány dvakrát ($n=2$), výsledky jsou uvedeny ve tvaru průměr \pm směrodatná odchylka, popřípadě graficky, chybové úsečky vyjadřují směrodatnou odchylku měření. Výsledky senzoričké analýzy jsou prezentovány graficky formou mediánu, chybové úsečky znázorňují rozpětí (minimální a maximální hodnota).

4. Výsledky a diskuze

Tato práce je součástí rozsáhlé studie, která se zabývá výrobou a následnou charakterizací modelových vzorků sýrových analogů.

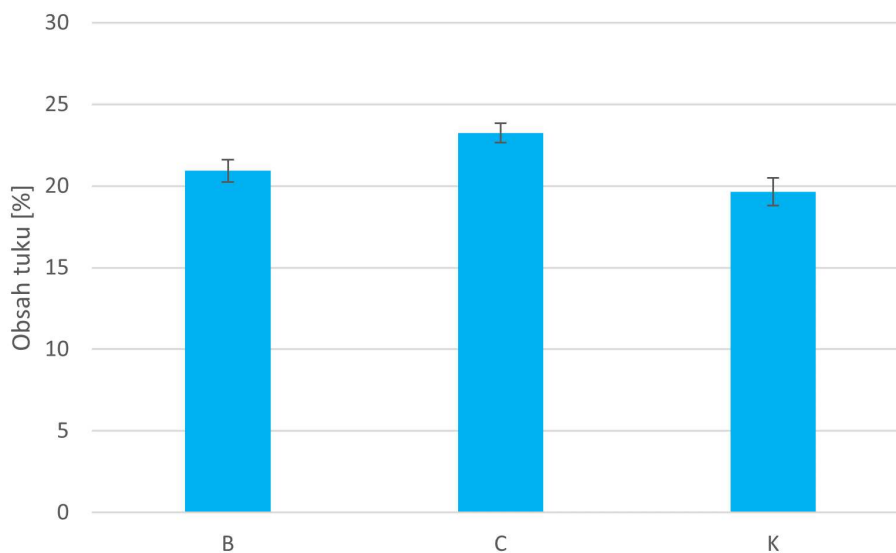
Pro tuto práci byla vybrána z hlediska výroby jednoduchá varianta – sýry čerstvé (nezrající). Cílem bylo nejprve ověřit postup výroby čerstvého sýra (vzorek K) v poloprovozních podmínkách; následně byly stejným postupem vyrobeny analogy s přídavkem řepkového (vzorek B) a lněného (vzorek C) oleje.

Pomocí vybraných metod, ověřených a optimalizovaných na analýzu čerstvých sýrů, byl posouzen profil těkavých látek, mastných kyselin, a celková sensorická kvalita vyrobených vzorků. Hlavním záměrem bylo zjistit, zda bude mít přídavek rostlinných olejů vliv na uvedené parametry.

4.1. Obsah sušiny a tuku v sušině ve vzorcích

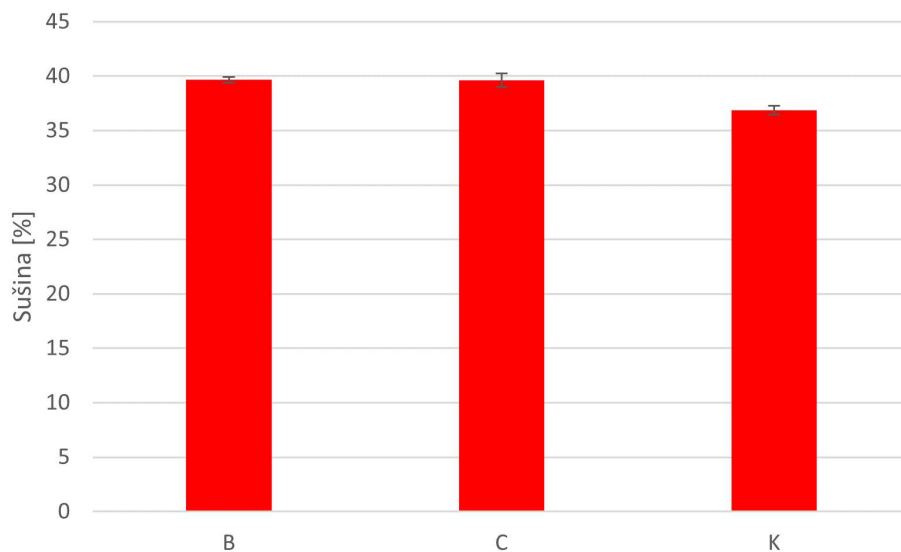
Množství tuku v modelových vzorcích bylo stanoveno extrakcí směsí diethyletheru a petroletheru (ČSN EN ISO 1735) a vypočítáno pomocí vzorce 3.1, je vyjádřeno v %.

Z grafu na Obrázku č. 4.1 je zřejmé, že z kontrolního vzorku bylo vyextrahováno nejméně tuku ($19,64 \pm 0,84$ %), nejvíce naopak u vzorku sýrového analogu s lněným olejem ($23,24 \pm 0,59$ %). Obsah tuku ve vzorku sýrového analogu s řepkovým olejem bylo $20,93 \pm 0,69$ %.



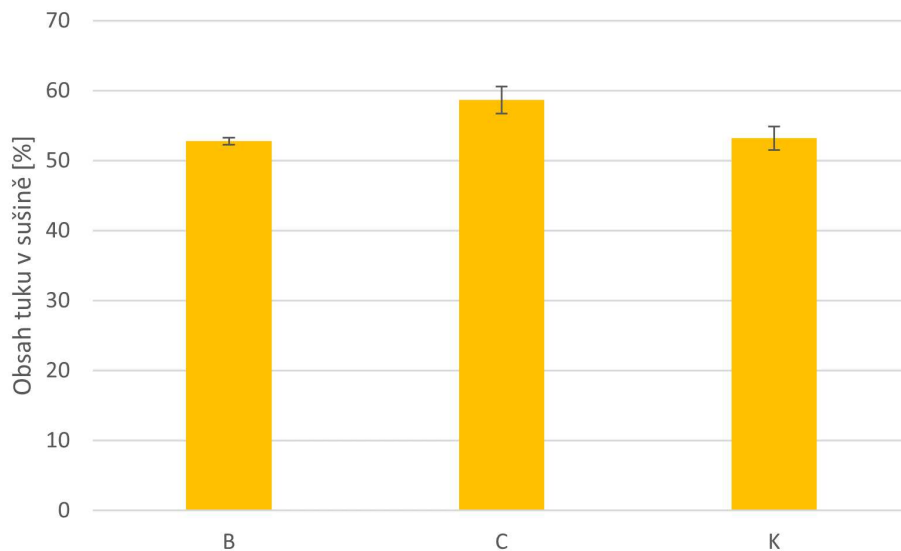
Obrázek 4.1: Obsah tuku ve vzorcích

Dále byl stanoven obsah sušiny (ČSN EN ISO 5534). Z grafu na Obrázku č. 4.2 je patrné, že obsah sušiny ve vzorcích sýrových analogů je v podstatě totožný – řepkový $39,66 \pm 0,25$ % a lněný $39,63 \pm 0,65$ %. Oproti tomu obsah sušiny v kontrolním vzorku je nižší ($36,89 \pm 0,40$ %). Obsah sušiny u čerstvých sýrů se pohybuje kolem 20 %, což je výrazně méně než u analyzovaných vzorků, čemuž odpovídala i tužší konzistence.



Obrázek 4.2: Obsah sušiny ve vzorcích

Nakonec byl vypočítán obsah tuku v sušině pomocí vzorce 3.2. Výsledky jsou znázorněny v grafu na Obrázku č. 4.3. Nejvyšší množství tuku v sušině obsahoval sýrový analog s přídavkem lněného oleje ($58,68 \pm 1,94$ %). Obsah tuku v kontrolním vzorku a v analogu s přídavkem řepkového oleje byl velmi podobný ($53,21 \pm 1,68$ %, resp. $52,78 \pm 0,49$ %). Jak je vidět z grafů na Obrázcích č. 4.1 až 4.3, mezi vzorky byly nalezeny rozdíly, což je možné přičíst určité nestandardnosti výroby.



Obrázek 4.3: Obsah tuku v sušině

4.2. Volné a vázané mastné kyseliny v modelových vzorcích sýrů/analogů

Lipidy ze vzorku byly izolovány pomocí směsi rozpouštědel diethyletheru a petroletheru, následně byla provedena esterifikace MK za použití bortrifluoridu jako katalyzátoru a volné a vázané MK byly analyzovány pomocí GC-FID.

Identifikace MK byla provedena na základě srovnání retenčních časů MEMK s příslušnými standardy. Kvantifikace probíhala srovnáním ploch píků se standardy o známé koncentraci.

4.2.1. Přehled identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích

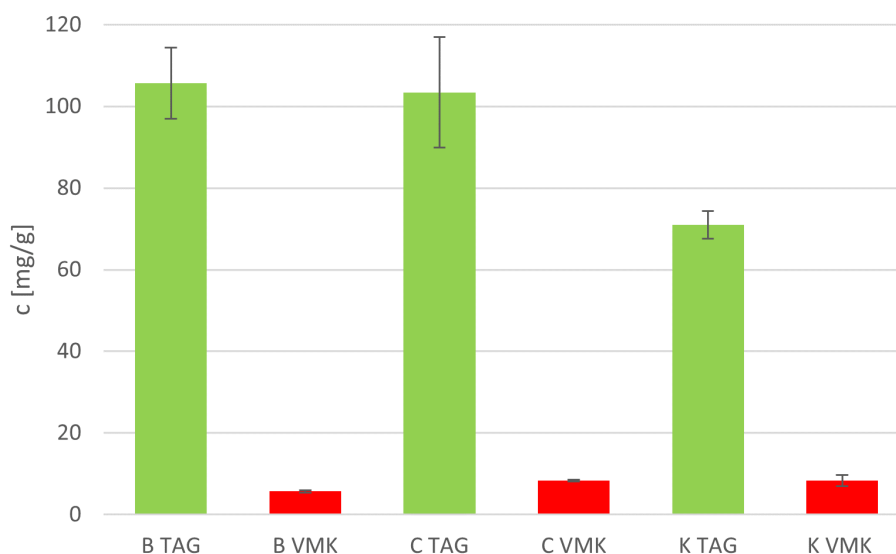
Ve vzorcích bylo identifikováno 15 vázaných a 14 volných MK. Přehled identifikovaných MK je uveden v Tabulkách č. 4.1 a 4.2, jejich obsah je vyjádřen v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ sýru/analogu. Ukázky chromatogramů jsou uvedeny v Příloze B.

Jedná se především o MK typické pro mléčný tuk a byly už v čerstvých sýrech identifikovány např. v Ricottě [16], a 12 z nich také v čerstvých sýrech v práci Oliveir a kol. [17] (viz. podkap. 2.2.2), v této práci však nebyly identifikovány mastné kyseliny delší než 20 uhlíků.

Případné další MK nebylo možné identifikovat, protože nebyly k dispozici odpovídající standardy.

Graf na Obrázku č. 4.4 porovnává celkový obsah identifikovaných volných a vázaných MK. Obsah vázaných mastných kyselin v analogích byl velmi podobný, oproti tomu kontrolní vzorek obsahoval vázaných mastných kyselin výrazně méně. To zřejmě souvisí s přidavkem olejů a celkově vyšším obsahem tuku v analogích.

Co se týče volných mastných kyselin podobný obsah má kontrolní vzorek a sýrový analog s přidavkem lněného oleje. Výrazně méně VMK obsahuje sýrový analog s přidavkem řepkového oleje, což zřejmě souvisí s jeho dobrou stabilitou.

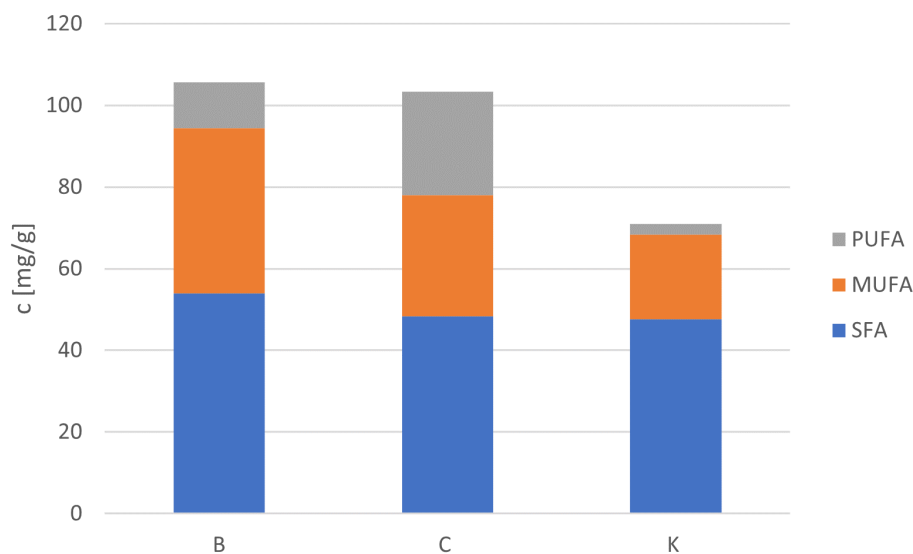


Obrázek 4.4: Celkový obsah vázaných a volných mastných kyselin

4.2.2. Srovnání obsahu vázaných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů

V grafu na Obrázku č. 4.5 je znázorněn obsah nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) vázaných MK. Z grafu vyplývá, že obsah SFA je ve všech vzorcích podobný. Rozdíl nastává v obsahu MUFA a PUFA.

Oba rostlinné oleje jsou bohaté na nenasycené MK [25, 29]. Nejvíce MUFA bylo identifikováno v sýrovém analogu s řepkovým olejem, ten měl nejvyšší obsah kyseliny olejové, která z velké části pochází z řepkového oleje [25]. Nejvyšší obsah PUFA byl identifikován v sýrovém analogu s přidavkem lněného oleje, ten měl nejvyšší obsah kyseliny linolové a linolenové, které budou pocházet z lněného oleje [31, 32].



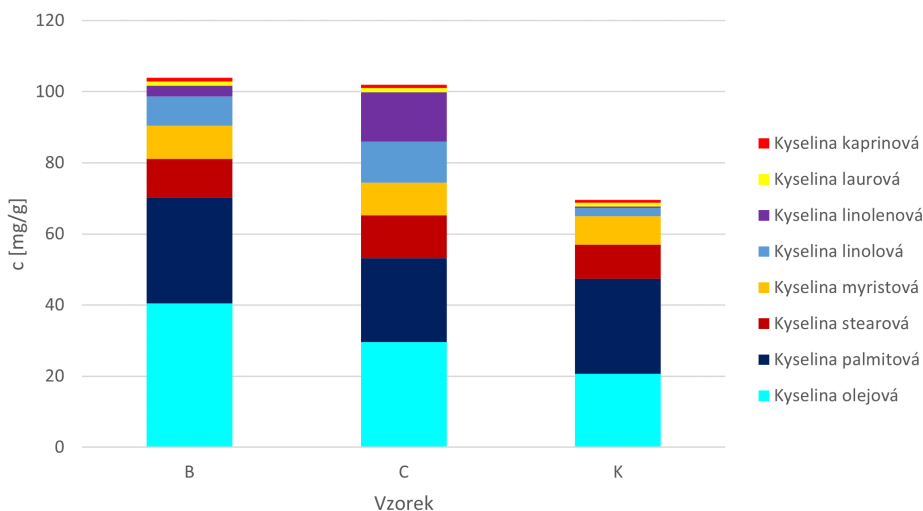
Obrázek 4.5: Porovnání obsahu vázaných MK dle jejich nasycenosti

Počet identifikovaných vázaných MK je ve všech třech vzorcích stejný – 15 MK. Jejich přehled je v Tabulce č. 4.1 a také v grafech na Obrázcích 4.6 a 4.7. Graf z Obrázku č. 4.6 znázorňuje majoritně zastoupené a graf na Obrázku č. 4.7 minoritně zastoupené vázané MK ve vzorcích. Obsah mastných kyselin je uveden jako jejich průměrná hmotnost ze dvou měření v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra/analogu \pm směrodatná odchylka.

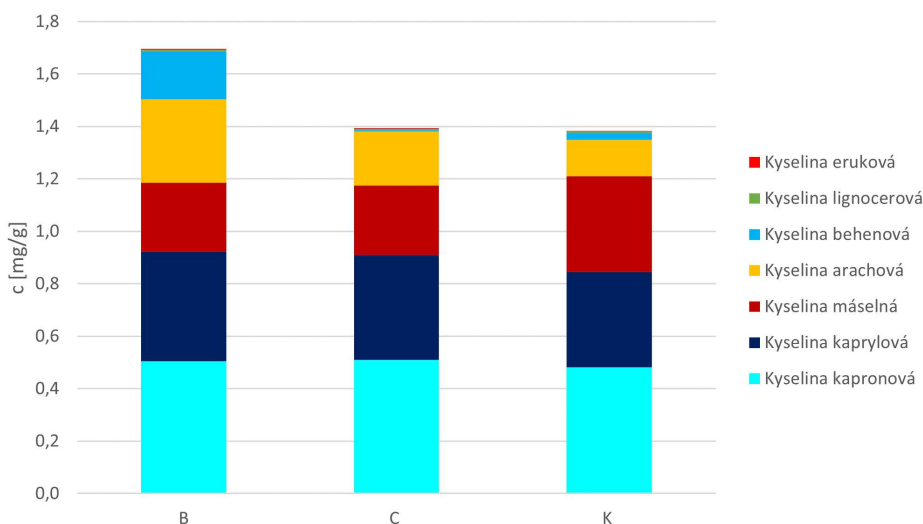
Tabulka 4.1: Obsah vázaných mastných kyselin v sýru/analogu [$(\cdot 10^{-1})$ mg \cdot g $^{-1}$ \pm SD]

Mastná kyselina	B	C	K
Kyselina máselná	2,63 \pm 0,49	2,66 \pm 0,27	3,64 \pm 0,39
Kyselina kapronová	5,05 \pm 0,42	5,11 \pm 0,29	4,82 \pm 0,07
Kyselina kaprylová	4,19 \pm 0,14	3,99 \pm 0,39	3,64 \pm 0,11
Kyselina kaprinová	10,17 \pm 0,00	9,48 \pm 1,01	8,64 \pm 0,16
Kyselina laurová	12,37 \pm 0,64	11,73 \pm 0,99	10,54 \pm 0,24
Kyselina myristová	93,14 \pm 7,90	91,47 \pm 5,85	80,95 \pm 3,49
Kyselina palmitová	297,20 \pm 15,85	235,27 \pm 85,49	266,46 \pm 10,77
Kyselina stearová	109,06 \pm 8,79	121,38 \pm 7,73	95,50 \pm 5,78
Kyselina olejová	405,34 \pm 41,42	296,20 \pm 16,60	207,33 \pm 11,65
Kyselina linolová	81,45 \pm 9,80	115,88 \pm 7,53	23,13 \pm 1,51
Kyselina linolenová	30,78 \pm 3,79	138,76 \pm 9,13	3,55 \pm 0,45
Kyselina arachová	3,18 \pm 0,13	2,07 \pm 0,27	1,39 \pm 0,06
Kyselina behenová	1,84 \pm 0,17	0,05 \pm 0,03	0,28 \pm 0,24
Kyselina eruková	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,02 \pm 0,00
Kyselina lignocerová	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00

Všechny vzorky obsahovaly nejvíce kyseliny olejové, palmitové, stearové a myristové. Nejnížší obsah všech mastných kyselin, s výjimkou kyseliny máselné, palmitové, behenové a lignocerové měl, v porovnání s ostatními vzorky kontrolní vzorek. Jediná mastná kyselina, která byla zastoupena nejvíce v kontrolním vzorku, byla kyselina máselná (typická pro mléčný tuk). Sýrový analog s přidavkem řepkového oleje měl nejvyšší obsah kyseliny olejové, palmitové a stearové. Sýrový analog s lněným olejem obsahoval, v porovnání s ostatními vzorky, vysoké množství kyseliny linolenové a linolové, u té především v porovnání s kontrolním vzorkem. U sýrového analogu s přidavkem řepkového oleje stojí za zmínku malý obsah kyseliny erukové, který je srovnatelný s obsahem v ostatních vzorcích. Jak již bylo zmíněno, dnes se pěstuje tzv. bezeruková řepka, v níž se obsah kyseliny erukové pohybuje max. okolo 1 % [25]. U minoritně zastoupených mastných kyselin měla, v porovnání s ostatními vzorky, vyšší obsah kyselina arachová a behenová v sýrovém analogu s řepkovým olejem, podobně jako v práci [25].



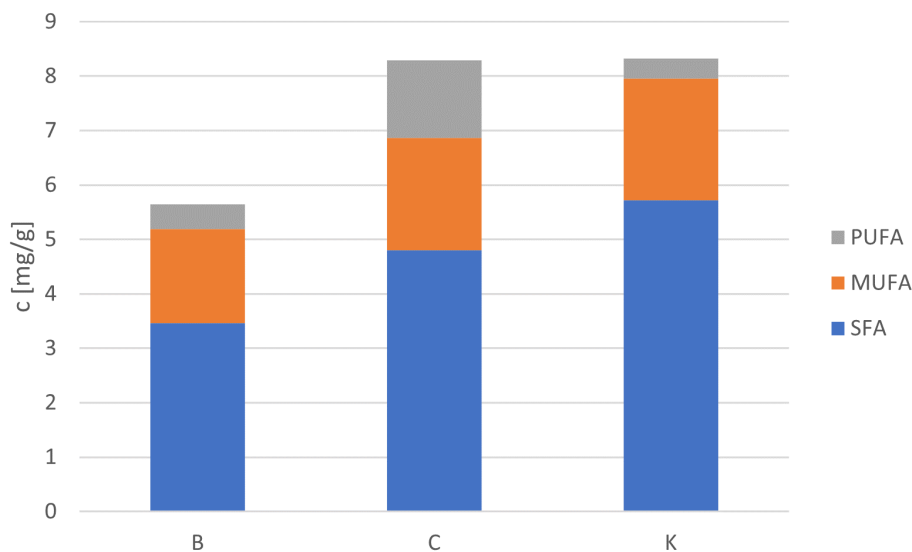
Obrázek 4.6: Obsah majoritně zastoupených kyselin ve vzorcích



Obrázek 4.7: Obsah minoritně zastoupených kyselin ve vzorcích

4.2.3. Srovnání obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích sýrů/analogů

V grafu z Obrázku č. 4.8 je znázorněn obsah volných SFA, MUFA a PUFA. U volných MK nebyl obsah nasycených MK tak vyrovnaný. Nejvíce jich obsahoval překvapivě kontrolní vzorek. Oproti vázaným MK obsahoval také nejvíce MUFA. Co se týče obsahu PUFA, zůstalo nejvyšší zastoupení v analogu s přidavkem lněného oleje.



Obrázek 4.8: Porovnání obsahu volných MK dle jejich nasycenosti

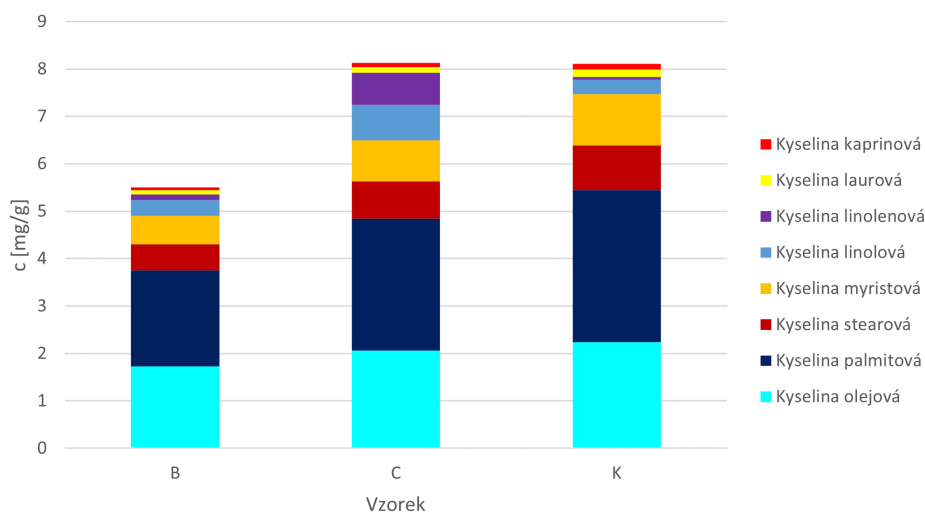
Ve všech vzorcích bylo identifikováno 14 MK. Oproti vázaným mastným kyselinám se ve vzorcích volně nevyskytovala kyselina lignocerová. Přehled identifikovaných volných mastných kyselin je v Tabulce č. 4.2. Dále bylo provedeno grafické srovnání zvláště pro majoritně zastoupené MK (graf na Obrázku č. 4.9) a minoritně zastoupené MK (graf na Obrázku č. 4.10). Obsah mastných kyselin byl opět uveden jako jejich průměrná hmotnost ze dvou měření v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sýra \pm směrodatná odchylka.

Tabulka 4.2: Obsah volných mastných kyselin v sýru/analogu [$(\cdot 10^{-2}) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \pm \text{SD}$]

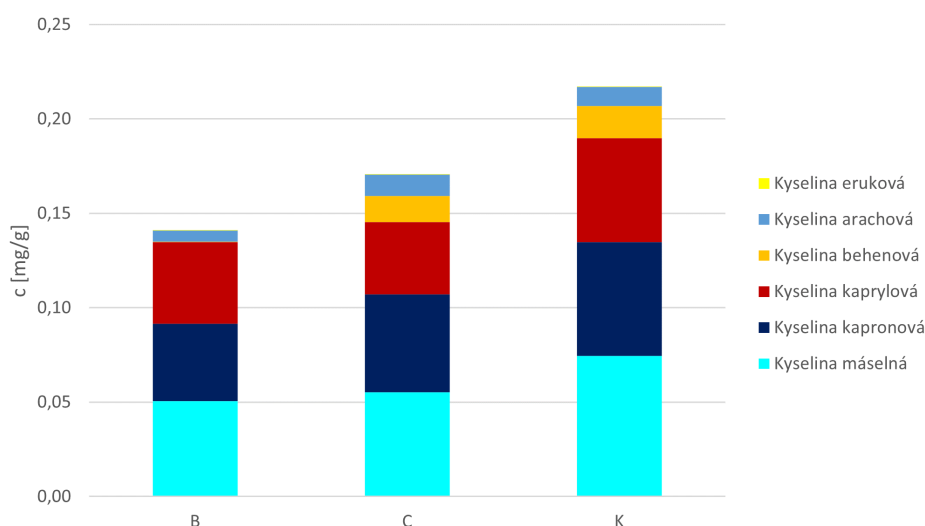
Mastná kyselina	B	C	K
Kyselina máselná	5,07 \pm 0,39	5,54 \pm 0,03	7,45 \pm 0,79
Kyselina kapronová	4,10 \pm 0,38	5,16 \pm 0,11	6,03 \pm 0,00
Kyselina kaprylová	4,32 \pm 1,59	3,85 \pm 0,15	5,51 \pm 0,92
Kyselina kaprinová	6,31 \pm 0,19	8,63 \pm 0,28	11,87 \pm 2,12
Kyselina laurová	8,05 \pm 0,17	11,54 \pm 0,30	15,25 \pm 2,87
Kyselina myristová	60,19 \pm 2,21	86,33 \pm 3,15	108,74 \pm 17,57
Kyselina palmitová	202,34 \pm 14,06	278,54 \pm 8,94	320,32 \pm 40,93
Kyselina stearová	54,82 \pm 4,63	78,43 \pm 2,97	94,51 \pm 19,31
Kyselina olejová	172,81 \pm 11,41	206,13 \pm 8,01	223,66 \pm 46,58
Kyselina linolová	33,95 \pm 1,00	74,56 \pm 2,21	30,17 \pm 6,98
Kyselina linolenová	11,92 \pm 0,30	68,45 \pm 2,00	6,33 \pm 1,15
Kyselina arachová	0,58 \pm 0,57	1,13 \pm 0,08	1,03 \pm 0,22
Kyselina behenová	0,02 \pm 0,00	1,38 \pm 0,00	1,69 \pm 0,00
Kyselina eruková	0,02 \pm 0,00	0,02 \pm 0,00	0,02 \pm 0,00
Kyselina lignocerová	-	-	-

Všechny vzorky, stejně jako v případě vázaných MK, obsahovaly nejvíce kyseliny olejové, palmitové, stearové a myristové. Oproti vázaným MK je však obsah volných MK opačný. Nejvyšší obsah všech mastných kyselin, s výjimkou kyseliny linolenové, linolové a arachové, se nachází v kontrolním vzorku. Nejvíce volné kyseliny linolové a linolenové

obsahoval analog s lněným olejem.



Obrázek 4.9: Obsah majortině zastoupených volných mastných kyselin ve vzorcích



Obrázek 4.10: Obsah minortině zastoupených volných mastných kyselin ve vzorcích

4.3. Těkavé (aromatické) látky v modelových vzorcích sýrů/analogů

Těkavé látky byly stanoveny pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Identifikace byla provedena na základě srovnání hmotnostních spekter s knihovnou spekter.

Celkem bylo ve všech vzorcích identifikováno 56 sloučenin, z toho 19 alkoholů, 9 esterů, 6 kyselin, 4 aldehydy, 3 sírné sloučeniny, 3 terpeny, 2 ketony, 2 furany a 7 látek zařazených do skupiny ostatní. Ukázky chromatogramů jsou uvedeny v Příloze B.

Přehled identifikovaných sloučenin je v Tabulce 4.3. Retenční čas je uveden jako průměr ze všech měření ($n=6$), relativní odchylka se pohybovala v hodnotách $<1\%$, takže reprodukovatelnost kvalitativní analýzy lze považovat za výbornou. V tabulce je dvakrát

uveden 2,3-butandiol z důvodu identifikace obou izomerů.

Některé z látek identifikovaných v modelových vzorcích byly identifikovány také v čerstvém sýru a Ricottě [37, 38], ale také v řepkovém [41] a lněném oleji [40].

V kontrolním vzorku bylo identifikováno 44 aromatických sloučenin, z toho 13 alkoholů, 6 esterů, 6 kyseliny, 2 ketony, 4 aldehydy, 3 sirné sloučeniny, 2 terpeny, 1 furan a 7 látky zařazené do skupiny „ostatní“. V sýrovém analogu s přídavkem řepkového oleje bylo identifikováno 42 sloučenin, z toho 17 alkoholů, 6 esterů, 4 kyseliny, 2 ketony, 2 aldehydy, 3 sirné sloučeniny, 2 terpeny, 2 furany a 4 látky zařazené do skupiny „ostatní“. V sýrovém analogu s přídavkem lněného oleje bylo identifikováno 45 sloučenin, z toho 15 alkoholů, 6 esterů, 4 kyseliny, 2 ketony, 4 aldehydy, 3 sirné sloučeniny, 2 terpeny, 2 furany a 7 látky zařazené do skupiny „ostatní“.

Tabulka 4.3: Těkavé aromatické látky identifikované ve vzorcích sýrů/analogů

sloučenina	skupina	T_R [min]	B	C	K	Ref.
ethanol	alkohol	4,59	i	i	i	
2,3-butandion	keton	5,64	i	i	i	[41]
dimethyldisulfid	sirná sloučenina	8,37	i	i	i	
1,2-dimethylbenzen	ostatní	10,63		i		
D-limonen	terpen	12,80	i	i	i	[41]
eukalyptol	ostatní	13,21		i	i	
3-methyl-2-butenal	aldehyd	13,54		i	i	
3-methylbutanol	alkohol	13,69	i	i	i	[37, 38]
2-pentylfuran	furan	14,45	i	i		[41]
1-pentanol	alkohol	15,50	i	i	i	[37, 38]
acetoin	keton	17,10	i	i	i	[38, 41]
heptan-2-ol	alkohol	18,42	i	i	i	[41]
prenol	alkohol	18,61		i	i	
1-hexanol	alkohol	19,87	i	i	i	[37, 40, 41]
dimethyltrisulfid	sirná sloučenina	20,95	i	i	i	[41]
methyl-acetát	ester	21,31	i	i		
nonenal	aldehyd	21,53	i	i	i	[37]
2-oktanol	alkohol	22,67	i			
ethyl-oktanoát	ester	23,16		i		[37]
okt-1-en-3-ol	alkohol	23,98	i	i	i	[37]
heptyl-formiát	ester	24,18	i	i	i	
kyselina octová	kyselina	24,36	i	i	i	[37, 40]
2-ethyl-1-hexanol	alkohol	25,58	i	i	i	[37, 41]
kafr	terpen	26,55			i	
hept-2-en-1-ol	alkohol	26,58	i	i		
2-nonanol	alkohol	26,89		i		
benzaldehyd	aldehyd	27,40		i	i	[37]
2,3-butandiol	alkohol	28,11	i	i	i	
ethylenglykol-diacetát	ester	28,59	i	i	i	
2,3-butandiol	alkohol	30,25	i	i	i	
methyl-dekanoát	ester	31,01			i	
2-okten-1-ol	alkohol	32,44	i			
kyselina máselná	kyselina	34,26	i	i	i	[37, 38]
1-nonanol	alkohol	36,11	i			
karvon	terpen	40,70	i	i		

sloučenina	skupina	T_R [min]	B	C	K	Ref.
kyselina valerová (pentanová)	kyselina	41,99			i	
methoxyfenyloxim	ostatní	43,67	i	i	i	
kyselina kapronová (hexanová)	kyselina	47,38	i	i	i	[37, 38]
benzylalkohol	alkohol	48,51	i	i	i	
dimethylsulfon	sírná sloučenina	49,67	i	i	i	[38]
fenylethanol	alkohol	49,93	i	i	i	[41]
dodecylethylester kyseliny uhličité	ester	52,16			i	
1-undekanol	alkohol	52,17	i			
levoglukosenon	ostatní	52,92		i	i	
2,5-furandikarboxylaldehyd	furan	53,06	i	i	i	
hexylcinnamal	aldehyd	54,15	i	i	i	
kyselina kaprylová (oktanová)	kyselina	55,86	i	i	i	[37, 38]
Decylester-dekanoát	ester	57,37	i			
monododecylether diethylenglykolu	ostatní	58,20	i		i	
2-fenoxyethanol	alkohol	58,57	i	i	i	[37]
kyselina pelargonová (nonanová)	kyselina	59,47			i	[37]
kaprolaktam	ostatní	59,84	i	i	i	
tetrahydro-6-pentyl-2H-pyran-2-on	ostatní	60,08		i	i	
Metyl-hexadekanoát	ester	60,75	i	i	i	
2-methyl-5-(1-methylethyl)fenol	ostatní	60,93	i	i	i	
Ethyl-hexadekanoát	ester	61,90	i	i	i	

i - identifikováno, T_R - retenční čas

4.3.1. Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích

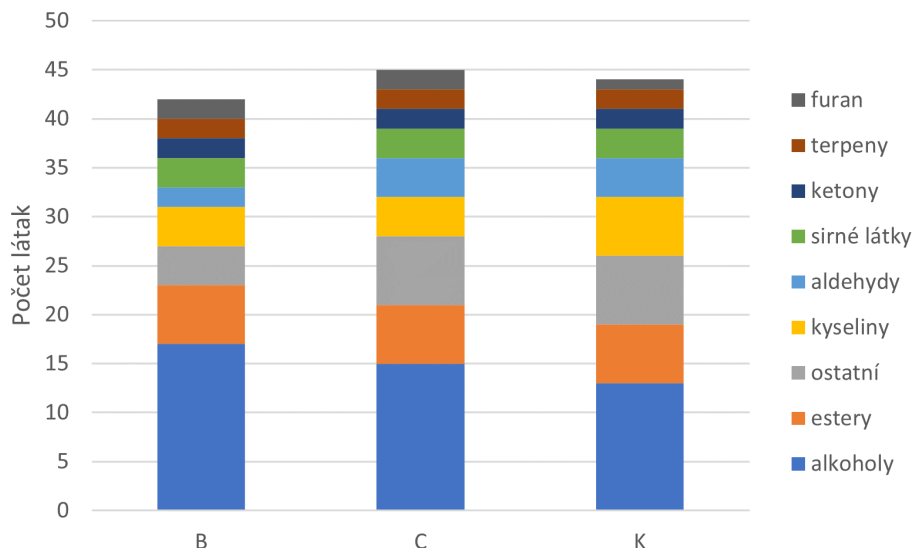
V Tabulce č. 4.4 a grafu na Obrázku č. 4.11 je srovnání celkového počtu identifikovaných sloučenin ve vzorcích. Sloučeniny byly rozděleny podle chemických skupin. Jak z tabulky, tak z grafu je patrné, že nejvíce sloučenin bylo identifikováno v sýrovém analogu s lněným olejem. O sloučeninu méně bylo identifikováno v kontrolním vzorku a nejméně sloučenin bylo zjištěno v analogu s řepkovým olejem. Z grafu na Obrázku 4.11 je dále patrné, že zastoupení jednotlivých chemických skupin je ve všech třech vzorcích podobné. Nejvíce zastoupenou chemickou skupinou byly alkoholy, dále pak kyseliny a estery.

Mezi aromatické látky identifikované ve všech třech vzorcích patřily: ethanol, 2,3-butan-dion, dimethyldisulfid, D-limonen, 3-methylbutanol, 1-pentanol, acetoin, heptan-2-ol, 1-hexanol, dimethyltrisulfid, nonenol, okt-1-en-3-ol, heptyl-formiát, kyselina octová, 2-ethyl-1-hexanol, 2,3-butandiol, ethylenglykol-diacetát, kyselina máselná, methoxyfenyloxim, kyselina kapronová, benzylalkohol, dimethylsulfon, fenylethanol, 2,5-furandikarboxylaldehyd, hexylcinnamal, kyselina kaprylová, 2-fenoxyethanol, kaprolaktam, methyl-hexadekanoát, 2-methyl-5-(1-methylethyl)fenol a ethyl-hexadekanoát.

Acetoin a ethanol vznikají při fermentaci laktózy za pomoci bakterií mléčného kvašení. 3-methylbutanol dodává čerstvým sýrům příjemnou vůni. Dimethyldisulfid a dimethyltrisulfid vznikají z methioninu a v mnoha sýrech mají na starost sírné tóny [34]. Kyselina octová je kyselá a štiplavá. Hexan-1-ol má bylinné aroma [40]. Benzaldehyd je zodpovědný za aroma připomínající mandle [34].

Aromatické látky nacházející se pouze v sýrovém analogu s řepkovým olejem byly: 2-oktanol, 2-okten-1-ol, 1-nonanol, 1-undekanol a decylester-dekanoát. Ani jedna z těchto sloučenin nebyla dosud v řepkovém oleji identifikována [41].

Těkavé látky nacházející se pouze v sýrovém analogu s lněným olejem: 1,2-dimethylbenzen, ethyl-oktanoát a 2-nonanol. Ani jedna ze sloučenin nebyla dosud v lněném oleji identifikována [40], avšak ethyl-oktanoát byl identifikován v čerstvém sýru a Ricottě [37]. Aromatické látky nacházející se pouze v kontrolním vzorku: kafr, methyl-dekanoát, kyselina valerová, dodecylester kyseliny uhličitě a kyselina pelargonová, ta jediná byla identifikována v čerstvém sýru a Ricottě [37].



Obrázek 4.11: Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích

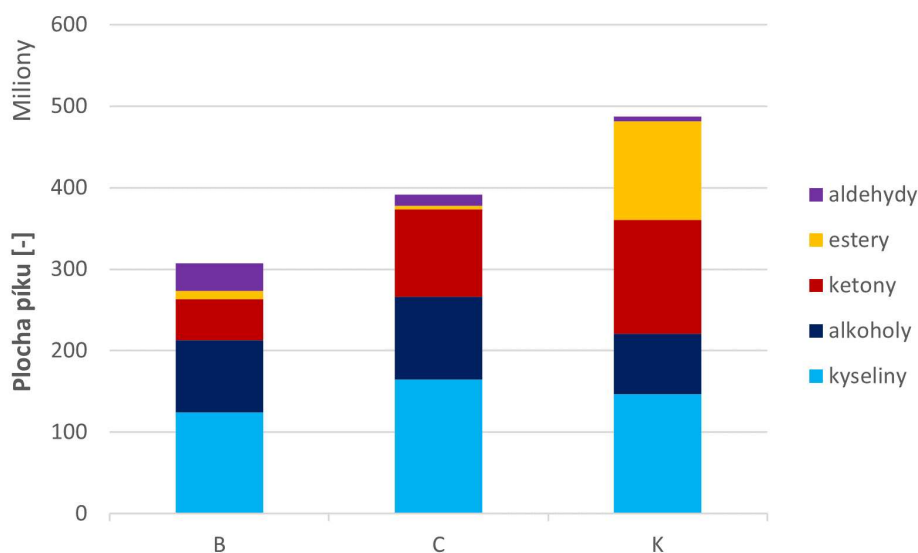
Tabulka 4.4: Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích

Typ sloučeniny	B	C	K
alkoholy	17	15	13
ketony	2	2	2
estery	6	6	6
aldehydy	2	4	4
kyseliny	4	4	6
siřné sloučeniny	3	3	3
terpeny	2	2	2
furany	2	2	1
ostatní	4	7	7
celkem	42	45	44

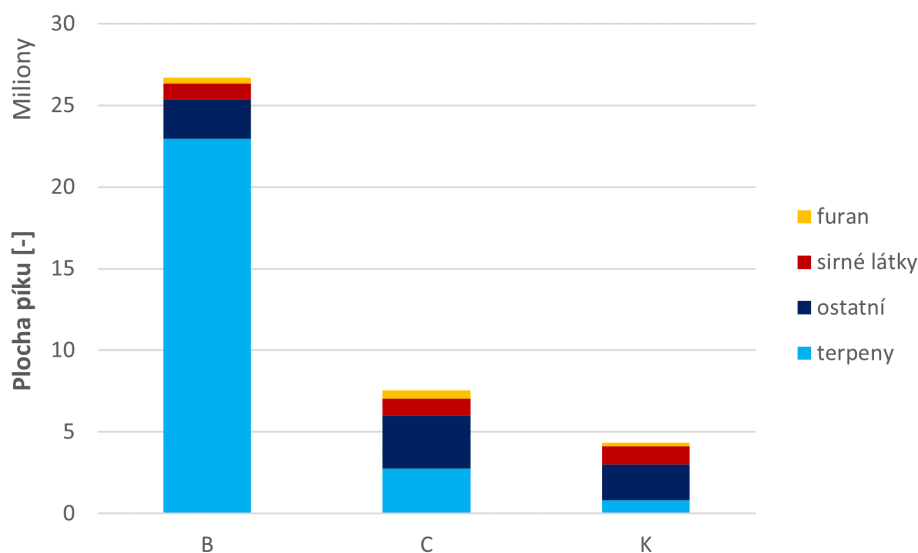
4.3.2. Srovnání obsahu identifikovaných látek ve vzorcích

Obsah identifikovaných aromatických látek je vyjádřen semikvantitativně pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu. V grafech na Obrázcích 4.12 a 4.13 je uvedeno srovnání obsahu majoritních, resp. minoritních sloučenin ve vzorcích, opět rozdělených podle chemických skupin, vyjádřeny jako plochy píků. V grafech z Obrázků 4.14 a 4.15 je srovnání procentuální.

Lze předpokládat, že vzorky analogů budou bohatší na obsah aromatických látek díky přidaným olejům. Tento předpoklad se však nepotvrdil. Z grafu na Obrázku č. 4.12 můžeme vidět, že nejvyšší obsah aromatických látek měl kontrolní vzorek. Velký rozdíl je především v obsahu esterů, kontrolní vzorek jich obsahoval mnohonásobně více než vzorky analogů. Konkrétně se jednalo především o mehyl-dekanoát. Oproti tomu vzorek analogu s lněným olejem obsahoval mnohonásobně více terpenů než kontrolní vzorek a analog s řepkovým olejem viz graf na Obrázku č. 4.13.



Obrázek 4.12: Celkový obsah identifikovaných aromatických látek - majoritní

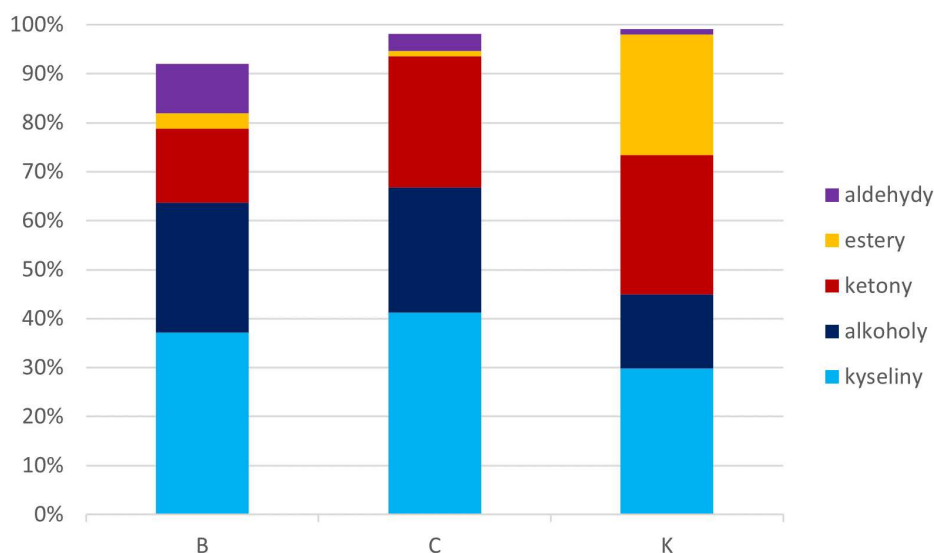


Obrázek 4.13: Celkový obsah identifikovaných aromatických látek - mainoritní

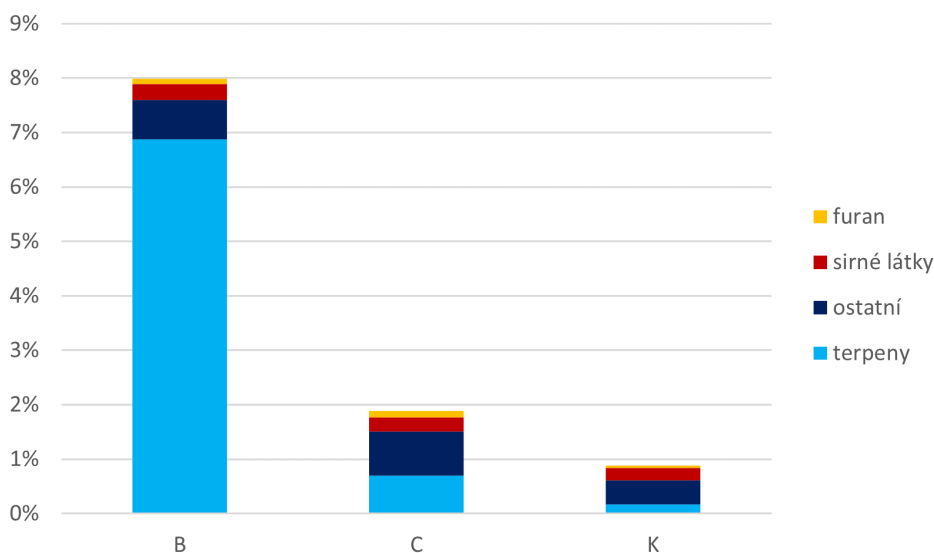
Z grafu na Obrázku č. 4.14 vyplývá, že z celkového množství byly nejvíce zastoupeny kyseliny, v analogu s řepkovým olejem cca 37 %, v analogu s lněným olejem cca 41 % a v kontrolním vzorku cca 30 %. Významné zastoupení mají také alkoholy a ketony. V sýrovém analogu s řepkovým olejem cca 27 % resp. 15 %, v analogu s lněným olejem cca 25 % resp. 27 % a v kontrolním vzorku cca 15 % resp. 28 %. Posledními skupinami uve-

denými v grafu na Obrázku č. 4.14 jsou aldehydy a estery. Kontrolní vzorek obsahoval nejvíce esterů (cca 25 %), oproti tomu ale nejméně aldehydů (cca 1 %). Nejvíce aldehydů obsahoval sýrový analog s řepkovým olejem (cca 10 %) a také cca 3 % esterů. Nejméně esterů obsahoval analog s lněným olejem (cca 1 %) a cca 3 % aldehydů.

V grafu z Obrázku č. 4.15 jsou uvedeny minoritní aromatické látky, i když obsah terpenů v analogu s řepkovým olejem dosahuje asi 7 %. Oproti tomu je jejich obsah v analogu s lněným olejem necelé procento a v kontrolním vzorku jen necelé 0,2 %. Obsah ostatních aromatických sloučenin se pohyboval pod hranicí 1 %.



Obrázek 4.14: Procentuální zastoupení identifikovaných majoritních látek



Obrázek 4.15: Procentuální zastoupení identifikovaných minoritních látek

Nejvíce zastoupenými aromatickými látkami ve všech vzorcích vůbec byla kyselina octová a acetoin. Třetí nejvíce zastoupenou látkou byl u analogu s přídavkem řepkového oleje hexylcinnamal, u analogu s lněným olejem 2,3-butandiol a u kontrolního vzorku methyl-dekanoát. Nejvíce zastoupenou sirnou sloučeninou byl dimetyldisulfid. Největší

zastoupení z terpenů měl D-limonen a z furanů 2-pentylfuran. Ze skupiny ostatní to pak byl methoxyfenyloxim.

4.4. Senzorická kvalita modelových vzorků sýrů/analogů

Vzorky sýrů/sýrových analogů byly podrobeny i sensorickému hodnocení. Modelových vzorků bylo vyrobeno jen omezené množství, proto mohlo být provedeno jen jednoduché sensorické hodnocení, které bylo zaměřeno na chutnost a celkovou přijatelnost, případné ovlivnění sensorického charakteru přidaným olejem.

Před ochutnávkou byli posuzovatelé tázáni, jaké zaujímají stanovisko k sýrovým analogům. Všech šest hodnotitelů uvedlo, že si nejsou jistí, jestli již konzumovali sýrový analog. Všichni hodnotitelé uvedli, že jejich zdravotní stav je dobrý a že jsou nekuřáci.

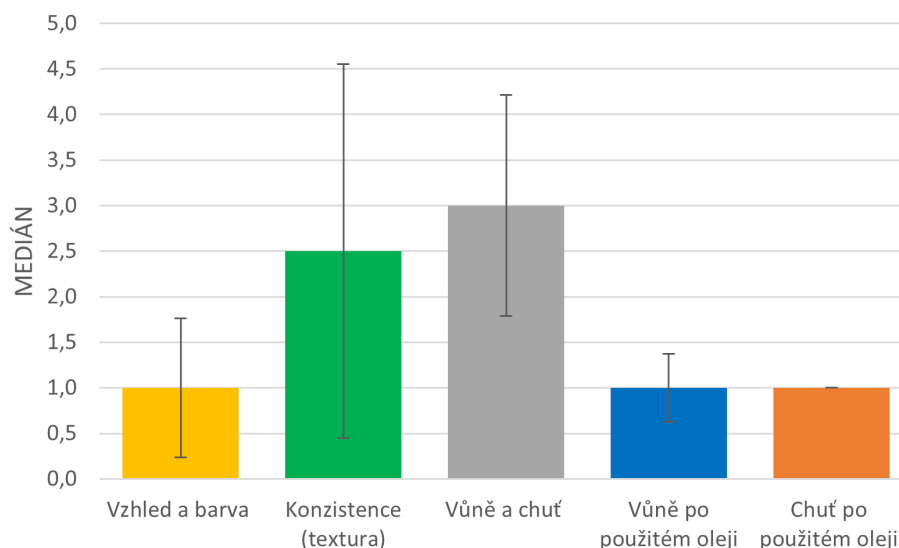
Hodnoceny byly jednotlivé znaky: vzhled a barva, konzistence (textura), vůně a chuť (flavour) a také vůně a chuť po použitém oleji. Hodnocení bylo prováděno za pomoci sedmibodové popisné stupnice, chuť a vůně po použitém oleji byla hodnocena: příjemná/nepříjemná. Stupeň 1 byl definován jako vynikající, stupeň 7 jako nepříjemný. Na závěr prováděli hodnotitelé pořadový test celkové přijatelnosti, kde měli seřadit vzorky od nejlepšího po nejhorší a případně zdůvodnit. Formulář pro sensorické hodnocení je uveden v Příloze C.

Z dat získaných od hodnotitelů byl vypočítán medián pro jednotlivé vzorky sýrů/analogů v jednotlivých kategoriích. Tyto hodnoty byly následně graficky zpracovány, chybové úsečky znázorňují rozpětí. Výsledky pořadového testu celkové přijatelnosti byly vyjádřeny, jako součet pořadí jednotlivých vzorků, chybové úsečky znázorňují rozpětí.

4.4.1. Hodnocení kontrolního vzorku

V grafu na Obrázku č. 4.16 je uvedeno hodnocení jednotlivých znaků. Z výsledků hodnocení vyplývá, že kontrolní vzorek měl vynikající vzhled a barvu, velmi dobrou až výbornou konzistenci a velmi dobrou vůni a chuť. Všichni hodnotitelé správně ohodnotili chuť a vůni po použitém oleji jako neznatelnou.

Posuzovatelé měli také za úkol napsat připomínky odůvodňující vybrané pořadí vzorků v pořadovém testu celkové přijatelnosti. Tyto připomínky jsou uvedeny v Tabulce č. 4.5 až 4.7.



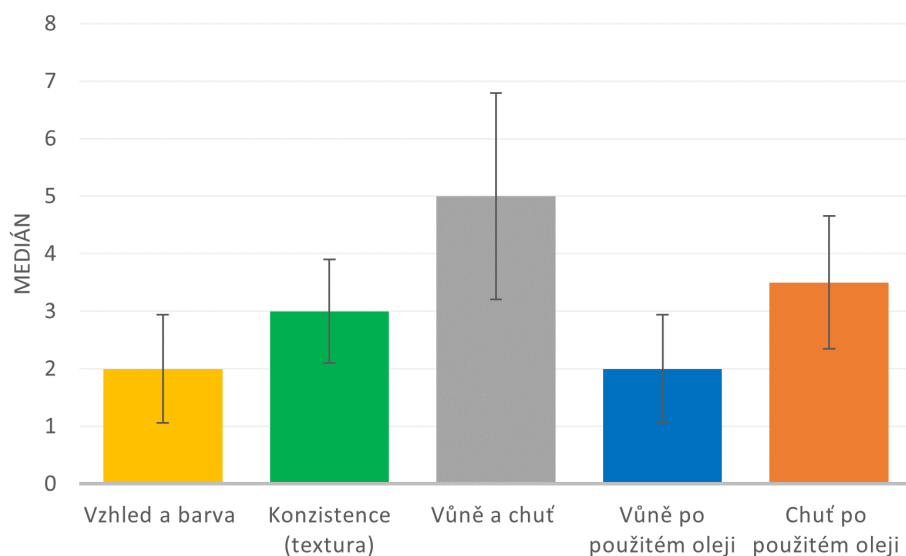
Obrázek 4.16: Výsledky senzoričkého hodnocení kontrolního vzorku

Tabulka 4.5: Připomínky hodnotitelů k celkové přijatelnosti kontrolního vzorku

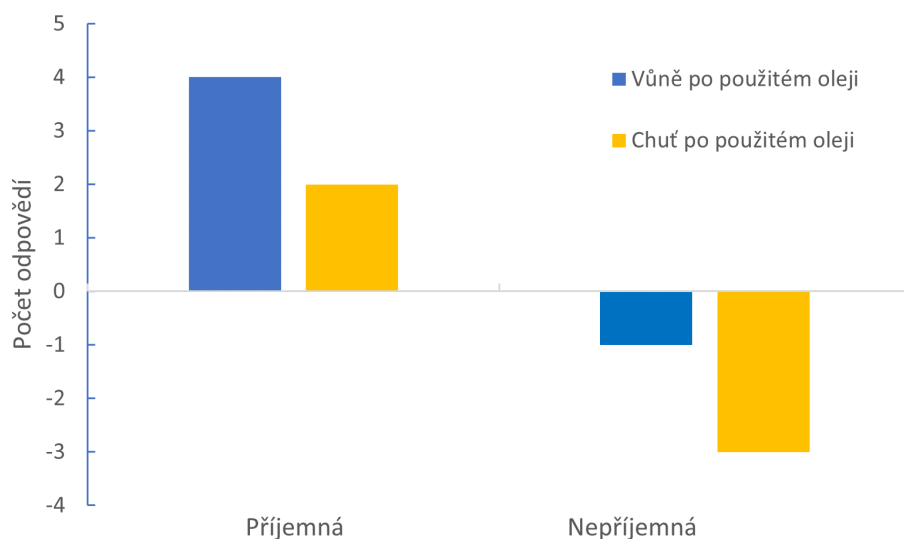
Hodnotitel	Připomínka
1	Příjemná tvarohová chuť, horší konzistence
2	Jemný a jediný bez pachuti
3	-
4	Jemná, ne úplně homogenní a nestejnorodá chuť, mírně kyselý
5	Nejpříjemnější chuť a konzistence, bez hořké pachuti
6	Atraktivní vzhled, jemná chuť, lepivá konzistence, nakyslá vůně

4.4.2. Hodnocení sýrového analogu s přídavkem řepkového oleje

V grafech na Obrázcích č. 4.17 a 4.18 je uvedeno hodnocení jednotlivých znaků. Z výsledků hodnocení vyplývá, že sýrový analog s přídavkem řepkového oleje měl výborný vzhled a barvu, jeho textura byla velmi dobrá, ale chuť a vůně méně dobrá. Vůně po použitém oleji byla slabá a pro většinu hodnotitelů příjemná. Naopak chuť po použitém oleji byla střední až silná a pro více hodnotitelů nepříjemná než příjemná.



Obrázek 4.17: Výsledky sensorického hodnocení sýrového analogu s přidavkem řepkového oleje



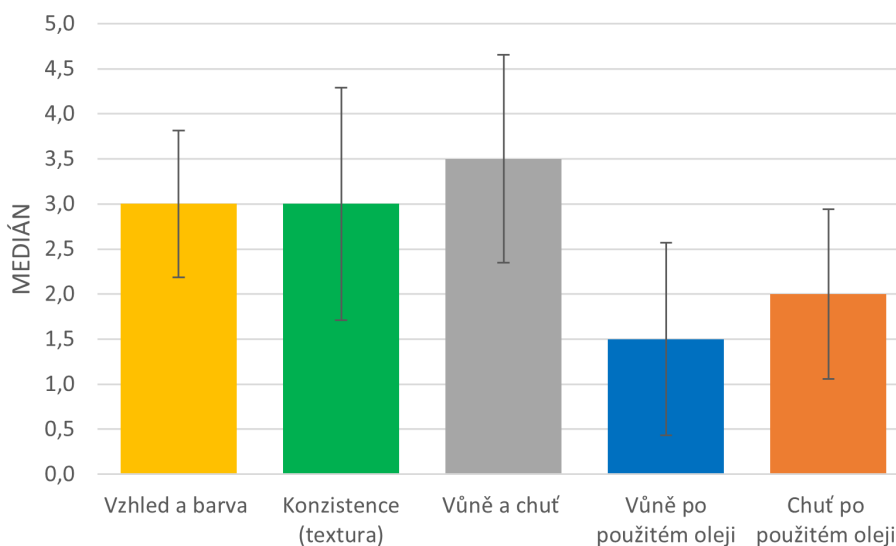
Obrázek 4.18: Zhodnocení vůně/chuti po použitém oleji sýrového analogu s přidavkem řepkového oleje

Tabulka 4.6: Připomínky hodnotitelů k celkové přijatelnosti sýrového analogu s přidavkem řepkového oleje

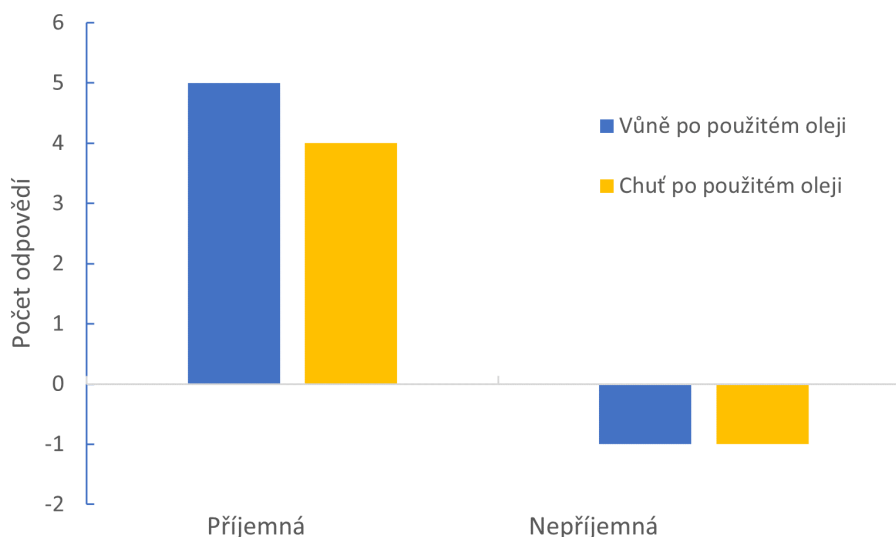
Hodnotitel	Připomínka
1	Nepříjemná chuť
2	Byl nejhorší, vůbec mi nechutnal, měl zvláštní pachut
3	-
4	Jemná a příjemná chuť, homogenní, hladká textura
5	Méně přijatelné estetické vlastnosti, zvláštní textura, velmi výrazná hořká pachut
6	Mírně nakyslá chuť a vůně, homogenní barva

4.4.3. Hodnocení sýrového analogu s přidavkem lněného oleje

Výsledky hodnocení sýrového analogu s přidavkem lněného oleje jsou zpracovány do grafů na Obrázcích č. 4.19 a 4.20. Z výsledků vyplývá, že jak vzhled a barva, tak i konzistence byla velmi dobrá. Chuť vzorku byla hodnocena jako dobrá až velmi dobrá. Vůně po použitém oleji byla slabá až neznatelná a chuť po použitém oleji byla hodnocena jako slabá. Pouze jeden z hodnotitelů posoudil vůni po použitém oleji jako nepříjemnou a jiný z hodnotitelů posoudil jako nepříjemnou chuť po použitém oleji.



Obrázek 4.19: Výsledky senzoričkého hodnocení sýrového analogu s přidavkem lněného oleje



Obrázek 4.20: Zhodnocení vůně/chuti po použitém oleji sýrového analogu s přidavkem lněného oleje

Tabulka 4.7: Připomínky hodnotitelů k celkové přijatelnosti sýrového analogu s přidavkem lněného oleje

Hodnotitel	Připomínka
1	Jemná a dobrá chuť, příjemná vůně, dobrá konzistence
2	Dobrá konzistence, zvláštní pachut'
3	-
4	Kyselejší, mírná pachut'
5	Hořká pachut', dobrá barva a textura
6	Horší konzistence, nakyslá chuť a vůně

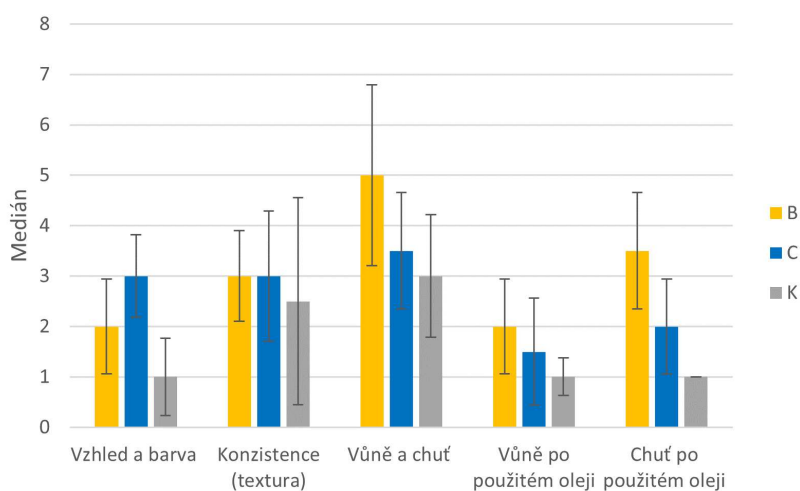
4.4.4. Srovnání sensorické kvality vzorků

V grafu na Obrázku č. 4.21 jsou uvedeny celkové výsledky pro všechny vzorky. Vzhled a barva byla nejlépe hodnocena u kontrolního vzorku, tedy jako vynikající, naopak nejhůře dopadl sýrový analog s přidavkem lněného oleje, který byl posouzen jen jako velmi dobrý. Sýrový analog s přidavkem řepkového oleje si vysloužil hodnocení vzhledu a barvy výborné.

Konzistence (textura) byla nejlépe hodnocena u kontrolního vzorku, tedy velmi dobrá až výborná. Sýrové analogy dostaly stejné ohodnocení a to, že je jejich konzistence velmi dobrá.

Co se týče chuti opět byl nejlépe hodnocen kontrolní vzorek, hodnocení jeho flavouru bylo velmi dobré. Sýrový analog s přidavkem řepkového oleje naopak dostal hodnocení méně dobré. Posuzovatelé uváděli v připomínkách nepříjemnou až hořkou pachut' Sýrový analog s lněným olejem byl hodnocen jako dobrý až velmi dobrý, i u tohoto vzorku však někteří posuzovatelé uváděli zvláštní až hořkou pachut'.

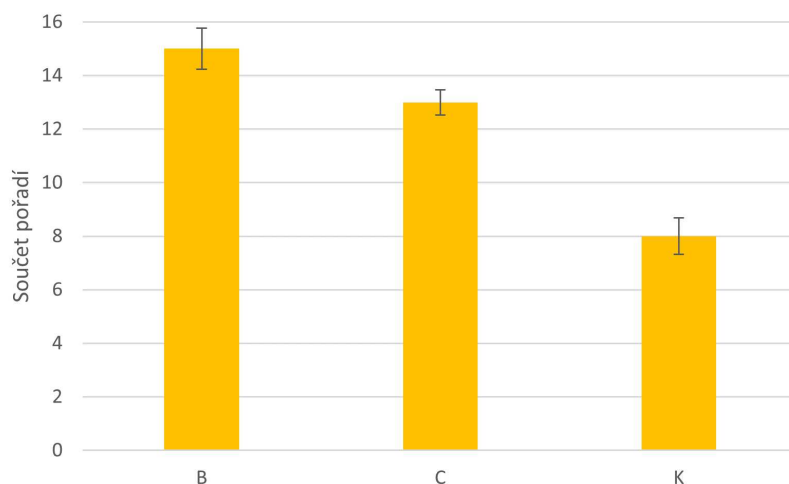
Vůně a chuť po použitém oleji byla v kontrolním vzorku správně rozeznána jako neznatelná všemi posuzovateli. U sýrového analogu s řepkovým olejem byla vůně po použitém oleji hodnocena jako slabá a chuť jako střední až silná. Vůně byla pro většinu posuzovatelů příjemná, naopak chuť byla pro více hodnotitelů nepříjemná než příjemná. U sýrového analogu s lněným olejem byla chuť po použitém oleji slabá a vůně slabá až neznatelná. Pro většinu posuzovatelů byla vůně i chuť po použitém oleji v tomto vzorku příjemná.



Obrázek 4.21: Srovnání výsledků sensorického hodnocení

4.4.5. Výsledky pořadového testu

Výsledky pořadového testu celkové přijatelnosti byly vyjádřeny jako součet pořadí jednotlivých vzorků v grafu z Obrázku č. 4.22, chybové úsečky znázorňují rozpětí. Z výsledku vyplývá, že nejpříjemnějším vzorkem byl kontrolní vzorek. Pro čtyři hodnotitele byl jako nejlepší vzorek zařazen na první místo, u zbylých dvou byl na místě druhém. Další v pořadí byl sýrový analog s přídavkem lněného oleje. Pro jednoho z hodnotitelů byl tento vzorek nejlepší, pro dva hodnotitelé byl tento vzorek naopak nejhorší. Poslední místo v celkové přijatelnosti zaujal sýrový analog s přídavkem řepkového oleje. U čtyř hodnotitelů zaujímal tento vzorek poslední (nejhorší) místo a pouze jediný posuzovatel ho zařadil na místo první (nejlepší).



Obrázek 4.22: Výsledky pořadového testu

Z výsledků vyplývá, že kontrolní vzorek byl hodnocen jako nejlepší jak v jednotlivých značích, tak i v pořadovém testu celkové přijatelnosti. Jako nejhorší vzorek byl v pořadovém testu hodnocen sýrový analog s přídavkem řepkového oleje.

Závěr

Cílem této diplomové práce bylo vyrobit vzorky čerstvých sýrů a jejich analogů s přísadkou řepkového a lněného oleje, tyto vzorky charakterizovat z hlediska obsahu volných a vázaných mastných kyselin, aromatických látek a sensorické přijatelnosti.

Ve všech vzorcích bylo celkem identifikováno 15 vázaných a 14 volných mastných kyselin. Podle předpokladu byl celkový obsah mastných kyselin vyšší u sýrových analogů ve srovnání s kontrolním vzorkem (bez přísadky oleje), a především vzrostl obsah nenasyčených mastných kyselin. To dělá sýrové analogy atraktivnějšími z pohledu nutriční hodnoty.

Ve vzorcích bylo identifikováno 56 těkavých aromatických sloučenin, z toho 19 alkoholů, 9 esterů, 6 kyselin, 4 aldehydy, 3 sirné sloučeniny, 3 terpeny, 2 ketony, 2 furany a 7 látek zařazených do skupiny ostatní. Počet sloučenin ve vzorcích se příliš nelišil, rozdílly však byly nalezeny v jejich obsahu. Nejvyšší obsah aromatických látek byl nalezen v kontrolním vzorku, což by mohlo naznačovat, že podstatná část pochází spíše ze sýrů (mléčný základ) než z přidávaných rostlinných olejů. Výrazně se lišilo i procentuální zastoupení jednotlivých chemických skupin.

Při sensorické analýze byl ve všech sledovaných ukazatelích (vzhled, barva, konzistence, vůně a chuť) nejlépe hodnocen kontrolní vzorek. Nejhorší dopadl sýrový analog s řepkovým olejem, který měl podle hodnotitelů místy hořkou pachut, i když ostatní znaky byly hodnoceny jako velmi dobré až vynikající. Chuť a vůně po použití oleje byla v případě lněného oleje hodnocena vesměs pozitivně, u řepkového oleje byla pro větší část hodnotitelů nepříjemná.

Použití rostlinných olejů při výrobě čerstvého sýra mělo prokazatelně vliv na složení a sensorické vlastnosti konečného výrobku. Sýrové analogy měly díky rostlinným olejům vyšší množství nenasyčených mastných kyselin a měly odlišný profil aromatických látek. Sensorické vlastnosti však byly hodnoceny horší než u kontrolního vzorku, především u sýrového analogu s řepkovým olejem. Do budoucna bude nutné optimalizovat výrobní proces, a především množství přidávaného oleje, aby vznikl chutný a nutričně hodnotný čerstvý sýr.

Seznam použitých zdrojů

- [1] Vyhláška č. 397/2016 Sb.: Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: Sbírka zákonů ČR. ročník 2016, 162/2016.
- [2] SIMEONOVÁ, Jana, Ivo INGR a Stanislav GAJDUŠEK, 2003. *Zpracování a zbožíživalství živočišných produktů*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-715-7708-1.
- [3] JANŠTOVÁ, Bohumíra, Lenka VORLOVÁ, Pavlína NAVRÁTILOVÁ, Michaela KRÁLOVÁ, Lenka NECIDOVÁ a Eva MAŘICOVÁ, 2012. *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-635-3.
- [4] IBURG, Anne. *Lexikon sýrů: výroba, původ, druhy, chuť*. Čestlice: Rebo Productions CZ, 2004. ISBN 80-7234-379-3.
- [5] *Sýry: druhy a recepty*. V Praze: Ikar, 2006. ISBN 80-249-0756-9.
- [6] DOSTÁLKOVÁ, Jana a Pavel KADLEC. *Potravinářské zbožíživalství: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2014. Monografie. ISBN 978-80-7418-208-2. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:d5dc2560-02ff-11e7-8830-005056827e51>
- [7] MCSWEENEY, Paul. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Boston, MA: Elsevier, 2017. ISBN 9780124170124.
- [8] FOX, Patrick F, Timothy P GUINEE, Timothy M COGAN a Paul L. H MCSWEENEY, 2017. *Fundamentals of Cheese Science*. 2. vydání. 2017. Boston, MA: Springer US. ISBN 978-1-4899-7679-6.
- [9] De, S., 1980. *Outlines of Dairy Technology*, second ed. Oxford University Press, New Delhi, pp. 156.
- [10] Sachdeva, S., Singh, S., 1988. Optimization of processing parameters in the manufacture of paneer. *Journal of Food Science and Technology* **25** (3), 142–145.
- [11] Vishweshwaraiah, L., Anantakrishnan, C.P., 1985. A study on technological aspects of preparing paneer from cow's milk. *Asian Journal of Dairy Research*. **4** (3), 171–176.
- [12] Sachdeva, S., Prokopek, D., Reuter, H., 1991. Technology of paneer from cow milk. *Japanese Journal of Dairy Food Science* **40** (2), A85–A90.
- [13] Hill, A.R., Bullock, D.H., Irvine, D.M., 1982. Manufacturing parameters of Queso Blanco made from milk and recombined milk. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. **15**, 47.
- [14] Parnell-Clunies, E.M., Irvine, D.M., Bullock, D.M., 1985. Texture characteristics of Queso Blanco. *Journal of Dairy Science*. **68**, 789.

- [15] Hough, G., Puglieso, M.L., Sanchez, R., Da Silva, O.M., 1999. Sensory and microbiological shelf-life of a commercial ricotta cheese. *Journal of Dairy Science*. **82**, 454–459.
- [16] SEGUEL, Guillermo, Juan Pablo KEIM, Einar VARGAS-BELLO-PÉREZ, Carolina GELDSETZER-MENDOZA, Rodrigo A. IBÁÑEZ a Christian ALVARADO-GILIS. Effect of forage brassicas in dairy cow diets on the fatty acid profile and sensory characteristics of Chanco and Ricotta cheeses. *Journal of Dairy Science* [online]. 2020, **103**(1), 228-241 [cit. 2021-6-22]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2019-17167
- [17] OLIVEIRA, Ronaldo, Mario FARIA, Raimundo SILVA, Leilson BEZERRA, Gleidson CARVALHO, Alyson PINHEIRO, Juliana SIMIONATO a André LEÃO. Fatty Acid Profile of Milk and Cheese from Dairy Cows Supplemented a Diet with Palm Kernel Cake. *Molecules* [online]. 2015, **20**(8), 15434-15448 [cit. 2021-6-22]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules200815434
- [18] MASOTTI, Fabio, Stefano CATTANEO, Milda STUKNYTĖ a Ivano DE NONI. Status and developments in analogue cheese formulations and functionalities. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2018, **74**, 158-169 [cit. 2021-2-24]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2018.02.016
- [19] BACHMANN, Hans-Peter. Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal* [online]. 2001, **11**(4-7), 505-515 [cit. 2021-5-27]. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/S0958-6946(01)00073-5
- [20] BACHMANN, H-P.: Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal*. July 2001, Vol. **11**, No. 4-7, pp. 505-515. ISSN 0958-6946
- [21] C. Cavalier-Salou, J.C. Cheftel. Emulsifying salts influence on characteristics of cheese analogs from calcium caseinate. *Journal of Food Science*, **56** (1991), pp. 1542-1547
- [22] Rybinski, B. E., Bixby, D. G., Dawson, L. E., & Woodford, L. E. (1993). No-fat cheese analog containing rennet casein. *European Patent Application*, 0-568-287 (pp. 1–1).
- [23] ISMAIL, Khalid Al, Barah Al HIARY a Maher Al DABBAS. Evaluation of Some Chemical and Sensory Properties of Processed Cheese Analogue with Selected Vegetable Oils. *International Journal of Chemical and Process Engineering Research* [online]. 2015, **2**(6), 75-85 [cit. 2021-6-15]. ISSN 23132558. Dostupné z: doi:10.18488/journal.65/2015.2.6/65.6.75.85
- [24] HIGUERA MARIN, José V., Rosa N. AGUIRRE- CASTILLO, Fernando ARENAS GIL a Guillermo A. CORREA LONDOÑO. Análisis fisicoquímico y sensorial de queso fresco con reemplazo de grasa por lípidos de aguacate (Persea americana Mill V. Hass). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* [online]. 2019, **22**(1) [cit. 2021-6-19]. ISSN 01234226. Dostupné z: doi:10.31910/rudca.v22.n1.2019.1199
- [25] CHEW, Sook Chin. Cold-pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil: Chemistry and functionality. *Food Research International* [online]. 2020, **131** [cit. 2021-7-1]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.108997

- [26] GUNSTONE, F. D. *The chemistry of oils and fats: sources, composition, properties, and uses*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2004. ISBN 1-4051-1626-9.
- [27] NEWTON FRIEND, J. The Chemistry of Linseed oil [online]. London: Gurney & Jackson, 1917, 96 s. [cit. 2021-02-28]. Dostupné z: <http://archive.org/stream/chemistryoflinse00frierich#page/n5/mode/2up>.
- [28] GUNSTONE, FRANK D. *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*. 2. vydání. Blackwell Publishing Ltd., 2011, 353 s. ISBN 978-1-4443-3268-1.
- [29] IBURG, Anne. *Lexikon octů a olejů: původ, chuť, použití, recepty*. Dobřeojovice: Rebo Productions CZ, 2004. ISBN 80-7234-382-3.
- [30] TAUFEROVÁ, Alexandra. *Technologie a hygiena potravin rostlinného původu I., II*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-692-6.
- [31] O.A.O. Ishag, a kol. Proximate composition, physicochemical properties and antioxidant activity of flaxseed, *Annual Research & Review in Biology* (2019), pp. 1-10
- [32] M. Rubilar, a kol. Flaxseed as a source of functional ingredients, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **10** (3) (2010), pp. 373-377
- [33] FARAG, Mohamed A., Diaaeldin M. ELIMAM a Sherif M. AFIFI. Outgoing and potential trends of the omega-3 rich linseed oil quality characteristics and rancidity management: A comprehensive review for maximizing its food and nutraceutical applications. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2021, 114, 292-309 [cit. 2021-6-22]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.05.041
- [34] NOLLET, Leo M. L. a Fidel TOLDRÁ, ed. *Sensory analysis of foods of animal origin*. Boca Raton: CRC Press, c2011. ISBN 978-1-4398-4795-4.
- [35] Imhof, B. a Bosset, J. O., Relationship between microorganism and formation of aroma compounds in fermented dairy products, *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung A*, **198**, 267, 1994
- [36] Meinhart, E. and Schreier, P., Study of flavour compounds from Parmigiano Reggiano cheese, *Milchwissenschaft*, **41**, 689, 1986
- [37] BERGAMASCHI, M. a G. BITTANTE. From milk to cheese: Evolution of flavor fingerprint of milk, cream, curd, whey, ricotta, scotta, and ripened cheese obtained during summer Alpine pasture. *Journal of Dairy Science* [online]. 2018, 101(5), 3918-3934 [cit. 2021-6-56]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2017-13573
- [38] POVOLO, M., G. CONTARINI, M. MELE a P. SECCHIARI. Study on the Influence of Pasture on Volatile Fraction of Ewes' Dairy Products by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Dairy Science*. 2007, 90(2), 556-569. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)71539-4

- [39] VÍTOVÁ, Eva, Blanka LOUPANCOVÁ, Kateřina SKLENÁŘOVÁ, Radka DIVIŠOVÁ a František BUŇKA. Identification of volatile aroma compounds in processed cheese analogues based on different types of fat. *Chemical Papers* [online]. 2012, **66**(10) [cit. 2021-7-2]. ISSN 1336-9075. Dostupné z: doi:10.2478/s11696-012-0181-z
- [40] C. Wei, et al. Aroma characterization of flaxseed oils using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-olfactometry, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **115** (9) (2013), pp. 1032-1042
- [41] GRACKA, Anna, Henryk H. JELEŇ, Małgorzata MAJCHER, Aleksander SIGER a Anna KACZMAREK. Flavoromics approach in monitoring changes in volatile compounds of virgin rapeseed oil caused by seed roasting. *Journal of Chromatography A* [online]. 2016, 1428, 292-304 [cit. 2021-7-3]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2015.10.088
- [42] HELÁN, Václav, ed., 2005. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2. upravené vydání. Český Těšín: 2 THETA. ISBN 80-86380-29-7.
- [43] CHRISTIAN, Gary D., Purnendu K. DASGUPTA a Kevin A. SCHUG, c2014. *Analytical chemistry*. 7. vydání. Hoboken: Wiley. ISBN 978-0-470-88757-8.
- [44] POOLE, Colin, 2012. *Gas chromatography*. Amsterdam: Elsevier. ISBN 978-0-12-385540-4.
- [45] KRÍŽEK, Martin a Jan ŠÍMA. *Analytická chemie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2015. ISBN 978-80-7394-486-5.
- [46] E.G. Bligh, W.J. Dyer. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37** (1959), pp. 911-917 13671378
- [47] W.W. Christie. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *Journal of Lipid Research*, **23** (1982), pp. 1072-1075
- [48] P.Y. Chouinard, L. Corneau, A. Saebo, D.E. Bauman. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science.*, **82** (1999), pp. 2737-274510629821
- [49] Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 1957, **226**, 497-509.
- [50] Bannon, C.D.; Breen, G.J.; Craske, J.D.; Hai, N.T.; Harper, N.L.; O'rourke, K.L. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability III literature review of and investigations into the development of rapid procedures for the methoxide catalysed methanol of fats and oils. *Journal of Chromatography A*. 1982, **247**, 71-89.
- [51] MEYERS, Robert A., ed. *Encyclopedia of Analytical Chemistry* [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2006 [cit. 2021-6-26]. ISBN 9780470027318.

- [52] HEAVEN, Michael W. a David NASH. Recent analyses using solid phase microextraction in industries related to food made into or from liquids. *Food Control* [online]. 2012, **27**(1), 214-227 [cit. 2021-6-26]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2012.03.018
- [53] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [54] BUŇKA, František, Jan HRABĚ a Bohumír VOSPĚL. *Senzorická analýza potravin I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. ISBN 978-80-7318-628-9. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:ab8d6280-1de8-11eb-979b-005056827e52>.
- [55] KOUŘIMSKÁ, Lenka. *Principy Senzorické Analýzy: Zavádění nových metod rozborů a technologických postupů u prvovýrobců a zpracovatelů mléka*. Praha, 2008. Dostupné také z: http://www.uniconsulting.cz/download/ucebni-text/Zavadeni_novych_metod.pdf.
- [56] GOLINELLI, L.P., A.C. CARVALHO, R.S. CASAES, C.S.C. LOPES, R. DELIZA, V.M.F. PASCHOALIN a J.T. SILVA. Sensory analysis and species-specific PCR detect bovine milk adulteration of frescal (fresh) goat cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 2014, **97**(11), 6693-6699 [cit. 2021-6-29]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2014-7990
- [57] HAJTMAROVÁ, L. *Profil mastných kyselin sýrů eidamského typu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. 63 s. Vedoucí doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

Seznam použitých zkratek

FID	Plamenově ionizační detektor
GC	Plynový chromatograf
HS	Headspace uspořádání analýzy
MeMK	Methylestery mastných kyselin
MK	Mastné kyseliny
MS	Hmotnostní detektor
MUFA	Mononenasyčené mastné kyseliny
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny
SD	Směrodatná odchylka
SFA	Nasycené mastné kyseliny
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
TAG	Triacylglycerol
VMK	Volné mastné kyseliny

Seznam obrázků

2.1	Výroba sýrů Queso blanco a Paneer [7]	15
2.2	Výroba sýru Cottage	16
2.3	Dělení sýrových analogů podle výrobního procesu [20]	22
2.4	Biochemické cesty katabolismu v mléce [34]	32
2.5	Přehled metabolických drah bílkovin podílejících se na aromatickém složení fermentovaných mléčných výrobků [34]	33
2.6	Lipolýza a katabolismus mastných kyselin [34]	35
2.7	Schéma plynového chromatografu	40
2.8	Schéma hmotnostního spektrometru [53]	41
3.1	Vzorek "B"	48
3.2	Vzorek "C"	48
3.3	Vzorek "K"	48
3.4	Vzorky připravené pro senzorickou analýzu	56
4.1	Obsah tuku ve vzorcích	57
4.2	Obsah sušiny ve vzorcích	58
4.3	Obsah tuku v sušině	58
4.4	Celkový obsah vázaných a volných mastných kyselin	59
4.5	Porovnání obashu vázaných MK dle jejich nasycenosti	60
4.6	Obsah majoritně zastoupených kyselin ve vzorcích	62
4.7	Obsah minoritně zastoupených kyselin ve vzorcích	62
4.8	Porovnání obsahu volných MK dle jejich nasycenosti	63
4.9	Obsah majoritně zastoupených volných mastných kyselin ve vzorcích	64
4.10	Obsah minoritně zastoupených volných mastných kyselin ve vzorcích	64
4.11	Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích	67
4.12	Celkový obsah identifikovaných aromatických látek - majoritní	68
4.13	Celkový obsah identifikovaných aromatických látek - minoritní	68
4.14	Procentuální zastoupení identifikovaných majoritních látek	69
4.15	Procentuální zastoupení identifikovaných minoritních látek	69
4.16	Výsledky senzorického hodnocení kontrolního vzorku	71
4.17	Výsledky senzorického hodnocení sýrového analogu s přídavkem řepkového oleje	72
4.18	Zhodnocení vůně/chuti po použití oleji sýrového analogu s přídavkem řepkového oleje	72
4.19	Výsledky senzorického hodnocení sýrového analogu s přídavkem lněného oleje	73
4.20	Zhodnocení vůně/chuti po použití oleji sýrového analogu s přídavkem lněného oleje	73
4.21	Srovnání výsledků senzorického hodnocení	74
4.22	Výsledky pořadového testu	75
B.1	Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v sýrovém analogu s přídavkem řepkového oleje	94
B.2	Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v sýrovém analogu s přídavkem řepkového oleje	95

B.3	Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v sýrovém analogu s přídavkem lněného oleje	96
B.4	Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v sýrovém analogu s přídavkem lněného oleje	97
B.5	Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v kontrolním vzorku	98
B.6	Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v kontrolním vzorku	99
B.7	Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v sýrovém analogu s přídavkem řepkového oleje	100
B.8	Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v sýrovém analogu s přídavkem lněného oleje	101
B.9	Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v kontrolním vzorku	102

Seznam tabulek

2.1	Složení sýru typu Ricotta [7]	17
2.2	Srovnání složení vybraných čerstvých sýrů [8]	18
2.3	Obsah minerálních látek v čerstvých sýrech v [mg/100 g] [8]	18
2.4	Srovnání složení některých druhů čerstvých sýrů [8]	19
2.5	Profil mastných kyselin (%) sýrů Ricotta vyrobených z mléka krav s rozdílným složením stravy [16]	19
2.6	Profil mastných kyselin čerstvých sýrů, které byly vyrobeny z mléka dojníc částečně krmených výlisky z palmových jader [g/100 g mastných kyselin] [17]	21
2.7	Profil mastných kyselin sýrových analogů [g/100 g mastných kyselin] [23] .	24
2.8	Tabulka množství avokádové dužiny [24]	27
2.9	Hodnoty hustoty a koeficientu tepelné roztažnosti lněného oleje [27]	28
2.10	Srovnání čerstvého a skladovaného lněného oleje [27]	28
2.11	Porovnání složení řepkového a lněného oleje [29]	30
2.12	Srovnání obsahu mastných kyselin u olejů lisovaných za studena [25]	31
2.13	Srovnání tukových čísel olejů [30]	31
2.14	Profil aromatických látek smetany, čerstvého sýra a Ricotty [$\mu\text{m} \cdot \text{kg}^{-1}$] [37]	36
2.15	Aromatické látky identifikované v sýru Ricotta (plocha píku $\cdot 10^6$) [38] . . .	37
2.16	Aromatické látky identifikované v analogích taveného sýra [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$] [39] .	38
3.1	Označení vzorků	48
3.2	Standardy MeMK použité pro identifikaci a přehled molárních hmotností mastných kyselin a odpovídajících methylesterů	52
4.1	Obsah vázaných mastných kyselin v sýru/analogu [$(\cdot 10^{-1}) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \pm \text{SD}$]	61
4.2	Obsah volných mastných kyselin v sýru/analogu [$(\cdot 10^{-2}) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \pm \text{SD}$] .	63
4.3	Těkavé aromatické látky identifikované ve vzorcích sýrů/analogů	65
4.4	Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích	67
4.5	Připomínky hodnotitelů k celkové přijatelnosti kontrolního vzorku	71
4.6	Připomínky hodnotitelů k celkové přijatelnosti sýrového analogu s přídatkem řepkového oleje	72
4.7	Připomínky hodnotitelů k celkové přijatelnosti sýrového analogu s přídatkem lněného oleje	74
A.1	Profil aromatických látek v řepkovém oleji [41]	89

Seznam příloh

Profil aromatických látek v řepkovém oleji	88
Chromatogramy	93
Protokol sensorické analýzy	103

Přílohy

A. Profil aromatických látek v řepkovém oleji

PŘÍLOHA A. PROFIL AROMATICKÝCH LÁTEK V ŘEPKOVÉM OLEJI

Tabulka A.1: Profil aromatických látek v řepkovém oleji [41]

	Odrůda 1	Odrůda 2	Odrůda 1	Odrůda 2
Sloučeniny	-	-	Pražená	Pražená
Aldehydy				
(E)-2-dodekenal		0,09 ±0,05		0,10 ±0,03
(E)-2-methyl-2-butenal			2,33 ±0,35	2,41 ±0,20
(E)-2-nonenal	0,09 ±0,02	0,16 ±0,05	0,07 ±0,02	0,13 ±0,06
(E)-2-oktenal		0,12 ±0,01		0,28 ±0,01
(E,E)-2,4-heptadienal			0,28 ±0,01	0,45 ±0,00
(E,E)-2,6-nonadienal				0,13 ±0,01
(Z)-2-dekenal		0,35 ±0,03		0,33 ±0,02
(Z)-2-heptenal	0,12 ±0,01	0,05 ±0,00	0,53 ±0,17	0,40 ±0,03
(Z)-4-heptenal			0,05 ±0,00	
2-Butenal	0,03 ±0,01	0,13 ±0,05	0,02 ±0,00	1,22 ±0,03
2-Hexenal	0,05 ±0,00	0,01 ±0,00	0,07 ±0,01	0,22 ±0,00
2-methyl-2-pentenal			0,05 ±0,01	
2-methyl-butanal	0,01 ±0,00		13,52 ±1,10	29,64 ±0,12
2-methyl-propanal				76,79 ±4,91
2-undecenal		0,25 ±0,07		0,10 ±0,02
4-methyl-3-pentenal			0,09 ±0,02	
Dekanal		0,13 ±0,01		0,13 ±0,02
Heptanal	0,96 ±0,12	1,47 ±0,09	1,47 ±0,33	1,55 ±0,14
Hexanal	4,08 ±0,59	8,00 ±0,21	0,52 ±0,07	1,06 ±0,35
Nonanal	0,26 ±0,03	0,24 ±0,05	0,42 ±0,09	0,61 ±0,11
Oktanal	2,51 ±0,39	3,72 ±0,08	8,68 ±0,51	11,44 ±0,13
Pentanal	0,86 ±0,02	1,36 ±0,15	0,20 ±0,06	2,65 ±0,08
Fenylacetaldehyd	0,46 ±0,02	0,39 ±0,03	5,32 ±0,50	4,23 ±0,39
Propanal	0,01 ±0,00		0,30 ±0,06	0,44 ±0,15
Ketony				
(E)-3-okten-2-on	0,13 ±0,00	0,16 ±0,04	0,18 ±0,02	0,28 ±0,06
1-okten-3-on				0,09 ±0,01
1-penten-3-on			0,09 ±0,00	
2,3-butandion		0,07 ±0,01	1,31 ±0,21	0,77 ±0,08
2,3-oktandion			0,10 ±0,02	
2,3-pentandion			52,28 ±5,78	24,20 ±0,05
2-butanon	0,11 ±0,01		2,00 ±0,38	
2-cyklopenten-1-on			0,53 ±0,09	
2-cyklopenten-1,4-dion			0,24 ±0,05	
2-dekanon		0,02 ±0,00		0,09 ±0,01
2-heptanon	0,31 ±0,02	0,46 ±0,04	4,88 ±0,03	5,97 ±0,40
2-hexanon	0,11 ±0,02	0,13 ±0,02	0,13 ±0,01	0,80 ±0,02
2-methyl-2-cyklopenten- 1-on			0,24 ±0,04	
2-oktanon	0,09 ±0,02	0,25 ±0,01	1,05 ±0,07	1,08 ±0,15
3-hydroxy-2-butanon				6,46 ±0,15
4-methyl-3-penten-2-on			0,75 ±0,15	
5-methyl-2-hexanon			0,42 ±0,09	
6-methyl-5-hepten-2-on	0,46 ±0,05		4,17 ±0,63	
Cyklopentanon			0,08 ±0,01	

PŘÍLOHA A. PROFIL AROMATICKÝCH LÁTEK V ŘEPKOVÉM OLEJI

	Odrůda 1	Odrůda 2	Odrůda 1	Odrůda 2
Alkoholy				
(R)-2-hexanol		0,28 ±0,05		0,04 ±0,01
1,4-pentandiol			0,04 ±0,01	
1,5-hexadien-3-ol	0,15 ±0,02	0,09 ±0,03	2,63 ±0,43	1,55 ±0,00
1-butanol	0,20 ±0,02	0,22 ±0,02	0,37 ±0,02	0,17 ±0,04
1-heptanol	0,04 ±0,01		0,11 ±0,01	0,09 ±0,01
1-hexanol	1,49 ±0,09	5,92 ±0,45	9,61 ±2,75	6,99 ±0,95
1-methoxy-2-propanol		0,09 ±0,01		0,01 ±0,00
1-oktanol		0,04 ±0,01		0,15 ±0,03
1-pentanol	1,33 ±0,26	1,06 ±0,11	4,17 ±0,67	0,62 ±0,04
1-penten-3-ol			0,14 ±0,02	
1-propanol	0,03 ±0,01		0,06 ±0,02	0,01 ±0,00
2,5-dimethyl-1,5-hexadien-3-ol			0,04 ±0,01	
2-butanol	0,64 ±0,07	1,47 ±0,19	0,77 ±0,05	0,52 ±0,04
2-ethyl-1-hexanol		0,07 ±0,01		0,02 ±0,00
2-heptanol	0,08 ±0,01	0,48 ±0,05	0,34 ±0,07	0,48 ±0,10
2-methyl-1-butanol	0,38 ±0,02	0,88 ±0,09	0,52 ±0,12	0,99 ±0,21
2-methyl-1-propanol	0,63 ±0,05	1,53 ±0,07	3,89 ±0,25	3,07 ±0,04
2-pentanol	0,39 ±0,01	0,61 ±0,10	0,79 ±0,03	0,27 ±0,05
2-fenylethanol			2,33 ±0,02	3,12 ±0,03
2-propyl-1-heptanol	0,02 ±0,00		0,02 ±0,00	
3-pentanol	0,16 ±0,02	0,66 ±0,07	0,75 ±0,03	0,30 ±0,01
4-penten-1-ol	0,20 ±0,01			
6-methyl-5-hepten-2-ol	0,20 ±0,02		1,00 ±0,17	
Estery				
Methyl hexanoát		0,04 ±0,00	0,21 ±0,01	0,14 ±0,01
Methyl thiocyanát			0,55 ±0,11	1,09 ±0,25
Uhlovodíky				
(Z)-2-okten				0,01 ±0,00
1,3-oktadien			0,06 ±0,01	
1,6-oktadien			0,05 ±0,00	
1-buten	0,02			
1-ethenyl-4-ethyl-benzen		0,03 ±0,01		0,02 ±0,00
1-nonen		0,05 ±0,00		0,06 ±0,01
1-okten	0,15 ±0,03		0,33 ±0,02	
4-methyl-oktan	0,88 ±0,17		0,32 ±0,08	
Azulen	0,07 ±0,02		0,07 ±0,01	0,11 ±0,01
Butyl-benzen		0,06 ±0,01		0,02 ±0,00
Pentyl-benzen		0,03 ±0,00		0,01 ±0,00
Propyl-benzen		0,06 ±0,01		0,01 ±0,00
Cyklické sloučeniny				
(Z)-3,7-dimethyl-1,3,6-oktatrien	0,01 ±0,00		0,02 ±0,00	
1,3,5,7-cyklooktatraen	0,06 ±0,00		0,23 ±0,01	
1,3,5-cykloheptatrien	5,42 ±0,64		11,74 ±2,79	
3-(1-methylethyl)-cyklohexen	0,02 ±0,00		0,07 ±0,02	
Heterocyklické sloučeniny				
(Methoxymethyl)-oxiran			3,69 ±0,65	
3,5-dimethyl-isoxazol			0,14 ±0,03	
4,5-dimethyl-oxazol			0,09 ±0,03	
4-methyl-1,3-oxazine-2,6[3h]-dion			0,10 ±0,03	
Ethyl-oxiran		0,68 ±0,05		0,23 ±0,05
Trimethyl-oxazol			0,10 ±0,03	

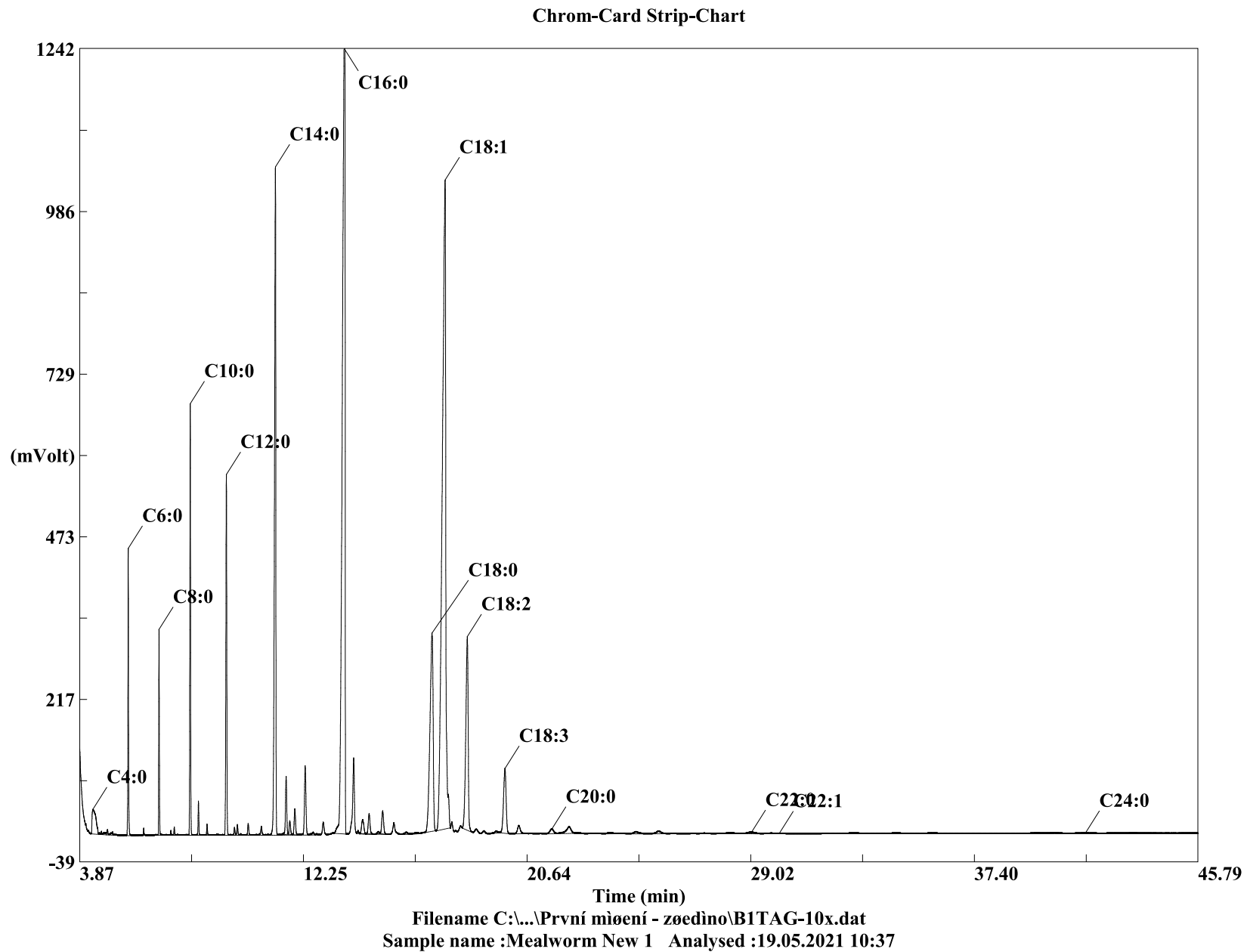
PŘÍLOHA A. PROFIL AROMATICKÝCH LÁTEK V ŘEPKOVÉM OLEJI

	Odrůda 1	Odrůda 2	Odrůda 1	Odrůda 2
Deriváty furanu				
2-(2-propenyl)-furan			0,38 ±0,05	
2(3H)-furanon			0,67 ±0,09	
2(5H)-furanon				0,49 ±0,06
2-ethyl-furan	0,19 ±0,04	0,18 ±0,03	0,72 ±0,11	0,37 ±0,02
2-furanmethanol			0,91 ±0,24	
2-methoxy-furan			0,03 ±0,00	0,16 ±0,02
2-methyl-furan	0,05 ±0,01		2,40 ±0,43	
2-n-butyl furan	0,04 ±0,01	0,09 ±0,00	0,11 ±0,01	0,12 ±0,02
2-n-heptylfuran				0,01 ±0,00
2-pentyl-furan	0,01 ±0,00		0,08 ±0,01	
2-propyl-furan			0,06 ±0,01	
5-ethyl-2(5H)-furanone	0,05 ±0,01	0,06 ±0,01	0,30 ±0,05	0,05 ±0,01
5-ethyl-dihydro-2(3H)-furanon			0,05 ±0,01	
5-hexyl-dihydro-2(3H)-furanon			0,08 ±0,01	
5-methyl-2(3H)-furanon	0,01 ±0,00		0,08 ±0,01	
5-methyl-2(5H)-furanon			0,21 ±0,05	
5-methyl-2-furankarboxaldehyd			2,03 ±0,35	
Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanon			9,93 ±0,75	5,10 ±0,10
Dihydro-3-methyl-2(3H)-furanon			0,04 ±0,01	
Dihydro-4-methyl-2(3H)-furanon			0,08 ±0,02	
Dihydro-5-methyl-2(3H)-furanon	0,02 ±0,00	0,14 ±0,00	0,31 ±0,05	0,31 ±0,05
Dihydro-5-propyl-2(3H)-furanon		0,01 ±0,00	0,07 ±0,01	0,13 ±0,03
Furfural	0,02 ±0,00		66,52 ±12,01	59,14 ±0,31
Tetrahydro-furan	0,06 ±0,01		3,05 ±0,75	
Sloučeniny síry				
[1,4]-dithian-2-on			0,05 ±0,01	
2-(1-methylvinyl)thiofen			0,03 ±0,00	
2,4-dimethyl-2-thiazolin			0,21 ±0,04	
2,4-dimethyl-thiazol			0,44 ±0,02	
2,4-dithiapentán	0,05 ±0,01			
2-acetylthiazol			0,17 ±0,03	
2-isothiokyanato-butan	0,10 ±0,01		0,17 ±0,02	
2-methyl-thiazol			0,12 ±0,02	
2-methyl-thiofen			0,58 ±0,02	0,60 ±0,02
2-propyl-thiofen			0,07 ±0,01	
2-thiofenekarboxaldehyd			0,29 ±0,02	
3-(methylthio)-propanal			0,06 ±0,02	0,08 ±0,02
3,5-dithiahexanol 5,5-dioxide		0,45 ±0,02		1,16 ±0,31
3-methyl-thiofen			0,75 ±0,19	0,75 ±0,01
4-(4-methylpent-3-enyl)-3,6-dihydro-1,2-dithiin	0,12 ±0,01		0,33 ±0,09	
4-isothiokyanato-1-buten	12,97 ±0,76	24,14 ±1,85	25,29 ±1,89	32,19 ±1,55
4-methyl-2-(1-methylethyl)-thiazol			0,26 ±0,01	
4-methylpentyl isothiokyanat			0,03 ±0,01	
4-methylthiazol			0,39 ±0,03	
5-ethylthiazol			0,05 ±0,01	
Dihydro-2-methyl-3(2h)-thiofenon			0,27 ±0,04	
Dihydro-3-(2h)-thiofenon			0,35 ±0,08	
Dimethylsulfid	17,24 ±1,84	17,24 ±2,54	16,96 ±0,58	19,24 ±0,76
Dimethyltrisulfid	0,01 ±0,00	0,01 ±0,00	0,19 ±0,02	0,92 ±0,01
Isopropyl isothiokyanat	0,05 ±0,01		0,03 ±0,01	
Methyl (methylthio) methyl disulfid			0,02 ±0,00	
Thiazol			0,71 ±0,12	0,03 ±0,00
Thiiran			0,04 ±0,01	0,46 ±0,10

PŘÍLOHA A. PROFIL AROMATICKÝCH LÁTEK V ŘEPKOVÉM OLEJI

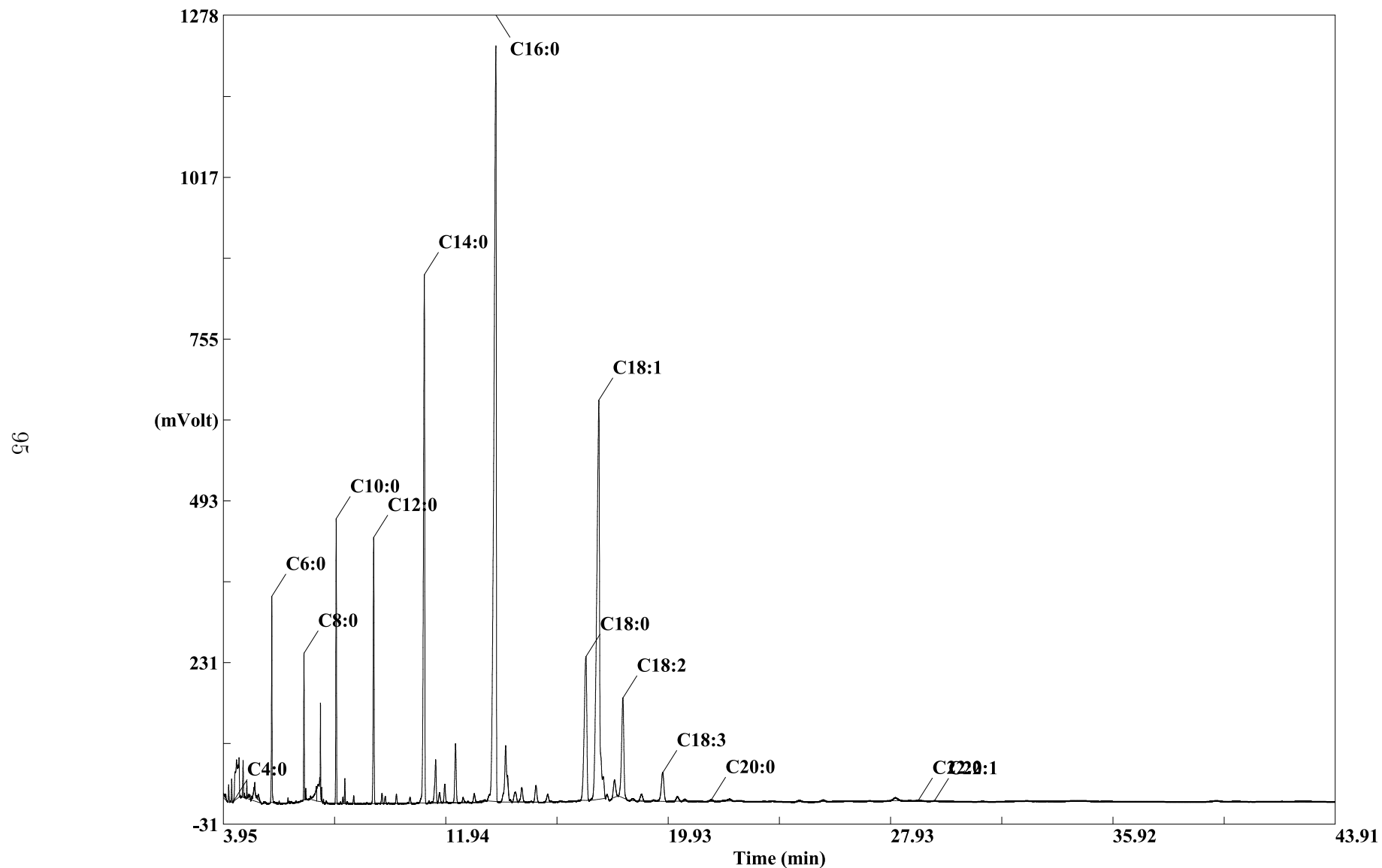
	Odrůda 1	Odrůda 2	Odrůda 1	Odrůda 2
Thiofen			3,17 ±0,52	3,53 ±0,06
Sloučeniny dusíku				
(E)-2-pentenenitril			28,50 ±10,89	
(Z)-2-methyl-5-(1-propenyl)-pyrazin				1,62 ±0,12
(Z)-2-methyl-6-(1-propenyl)-pyrazin			1,02 ±0,09	
1-methyl-1H-pyrrole-2-karboxaldehyd			0,05 ±0,00	
1-methyl-2-pyrrolidinon			0,07 ±0,01	
2-(3-methylbutyl)-3,5-dimethylpyrazin			0,10 ±0,01	
2,3-diethyl-5-methyl-pyrazin			0,09 ±0,01	0,10 ±0,01
2,3-dimethyl-pyrazin			3,04 ±0,15	
2,4-hexadienenitril			0,40 ±0,02	
2,4-pentadienenitril				0,80 ±0,06
2,5-dimethyl-3-(2-propenyl)-pyrazin			0,07 ±0,00	0,11 ±0,01
2,5-dimethyl-pyrazine	0,30 ±0,05		82,48 ±26,35	99,72 ±2,45
2-acetyl-3-methylpyrazin			0,18 ±0,04	
2-ethenyl-5-methyl-pyrazin			0,33 ±0,01	0,55 ±0,02
2-ethenyl-6-methyl-pyrazin			0,23 ±0,06	
2-ethyl-5-methyl-pyrazin			8,33 ±1,65	15,22 ±0,93
2-methyl-5-hexenenitril	0,41 ±0,05	0,10 ±0,01	145,94 ±18,21	110,40 ±7,13
2-methyl-pyridin			11,09 ±1,59	
2-propenenitril			0,46 ±0,15	
2-propionyl-1-pyrrolin			0,03 ±0,00	
3,5-diethyl-2-methyl-pyrazin			0,49 ±0,01	0,63 ±0,03
3,5-dimethyl-2-isobutylpyrazin			0,05 ±0,01	
3-putenenitril			1,33 ±0,37	1,99 ±0,14
3-isopropyl-2-methoxy-pyrazin			0,13 ±0,02	0,11 ±0,01
3-hydroxy-propanenitril				0,21 ±0,02
3-methylpyridazin			0,17 ±0,03	
5,6-dihydro-2h-pyran-2-on			0,20 ±0,07	
5-methyl-hexanenitril			5,74 ±0,99	4,58 ±0,23
6,7-dihydro-2,5-dimethyl-5h-cyklopentapyrazin			0,03 ±0,00	
Ethenyl pyrazin			7,58 ±1,59	
Ethyl pyrazin			0,08 ±0,02	4,53 ±0,19
Heptanonitril				3,31 ±0,10
Hexanenitril			16,53 ±2,65	11,93 ±0,41
Methallyl kyanid	5,80 ±0,37		723,82 ±11,17	
Methyl pyrazin			3,95 ±0,75	31,65 ±2,27
n-acetyl-4(H)-pyridin			0,17 ±0,03	
Pyrazin			1,22 ±0,33	
Pyrrol			0,09 ±0,03	
Tetrahydro-6-methyl-2h-pyran-2-on			0,10 ±0,00	
Trimethyl pyrazin			27,34 ±1,18	15,32 ±0,30
Fenoly				
2-methoxy 4-vinylfenol				1,54 ±0,20
Terpeny				
Limonen	0,26 ±0,02	0,30 ±0,04	0,34 ±0,02	0,33 ±0,05
Terpenoidy				
Andrografolid		0,02 ±0,00		0,03 ±0,01

B. Chromatogramy



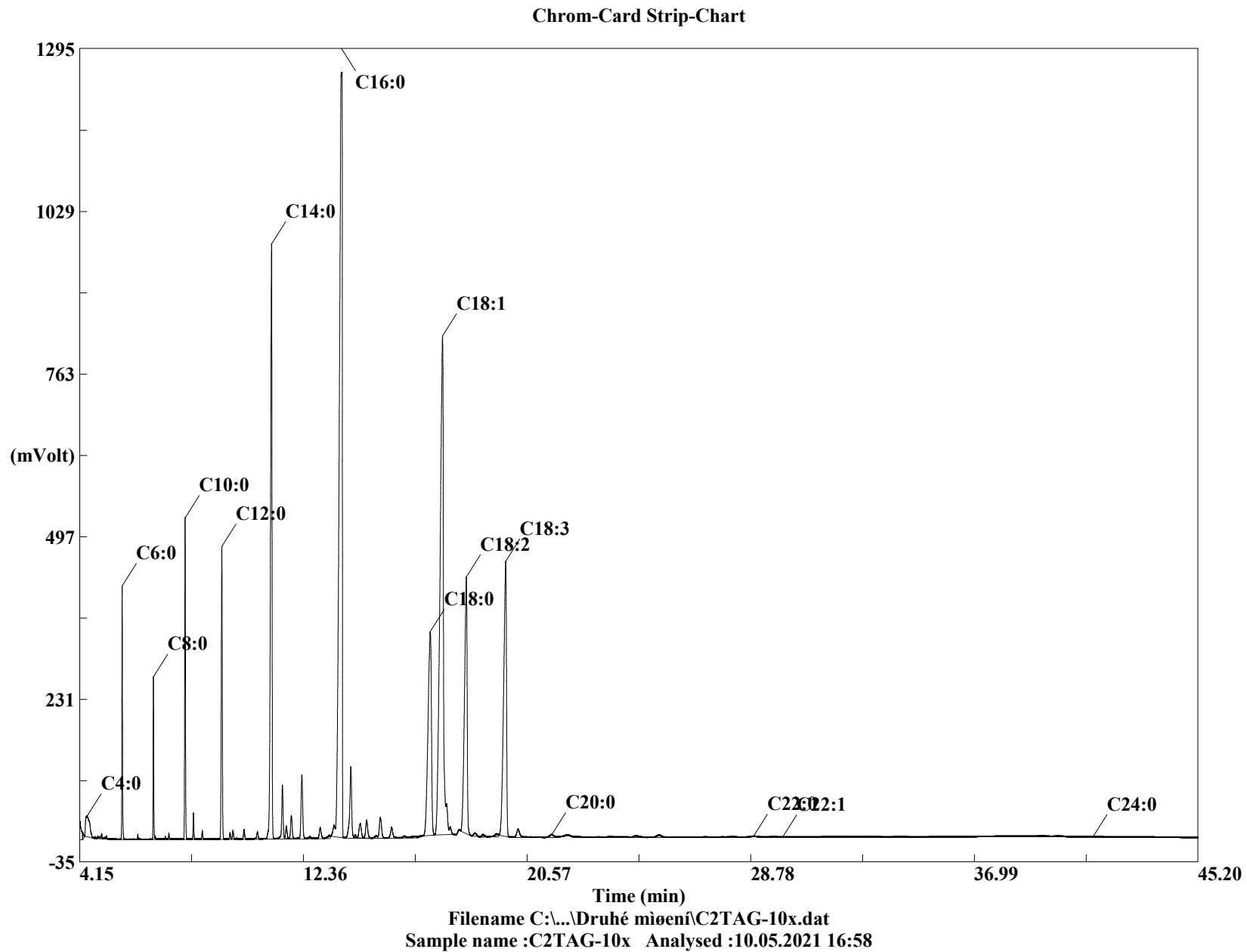
Obrázek B.1: Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v sýrovém analogu s přidavkem řepkového oleje

Chrom-Card Strip-Chart



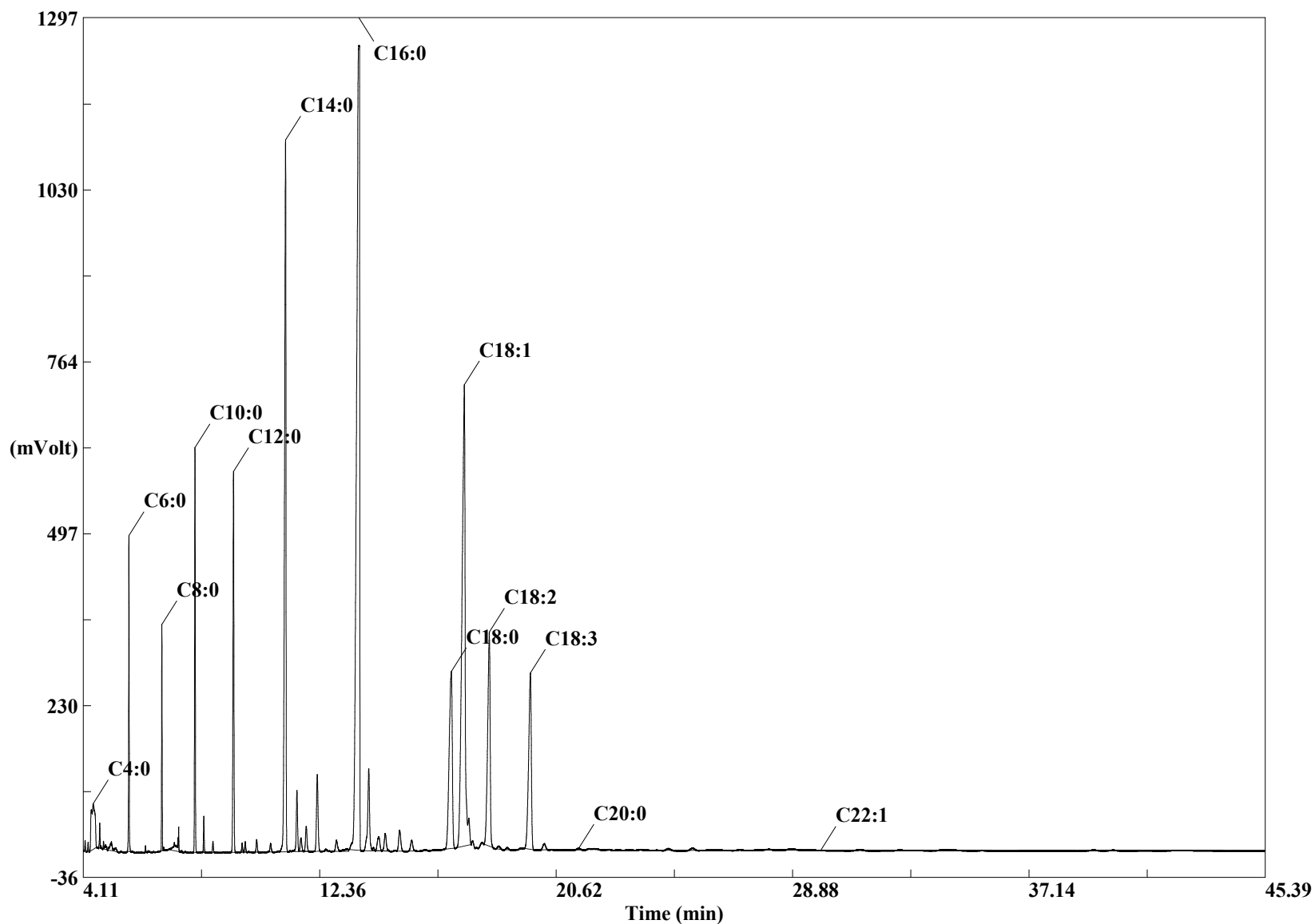
Filename C:\...\První měření\B1VMK.dat
Sample name :B1VMK Analysed :06.05.2021 13:13

Obrázek B.2: Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v sýrovém analogu s přidavkem řepkového oleje



Obrázek B.3: Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v sýrovém analogu s přidavkem lněného oleje

Chrom-Card Strip-Chart

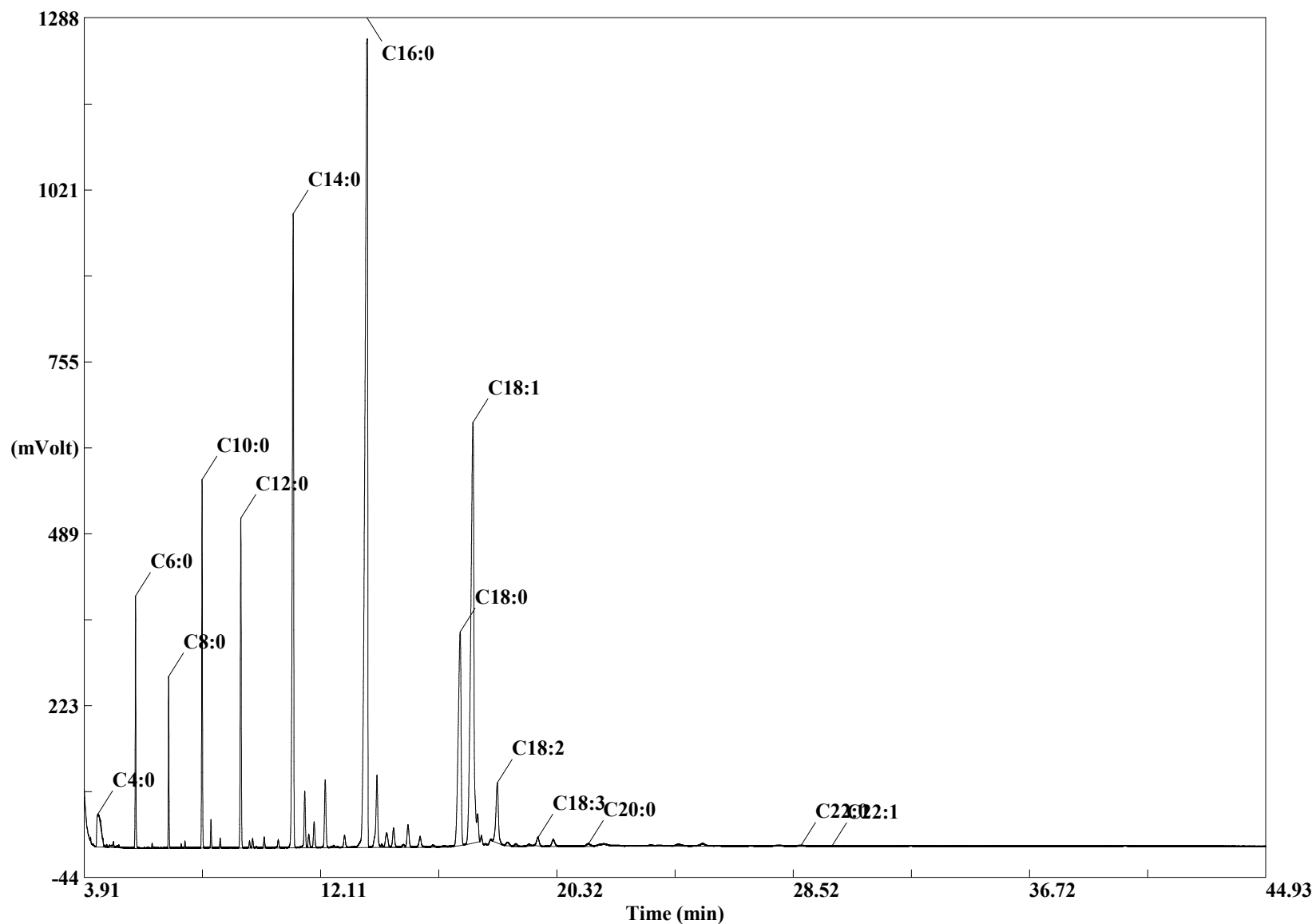


97

Filename C:\...\První měření\C1VMK.dat
Sample name :C1VMK Analysed :06.05.2021 15:02

Obrázek B.4: Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v sýrovém analogu s přidavkem lněného oleje

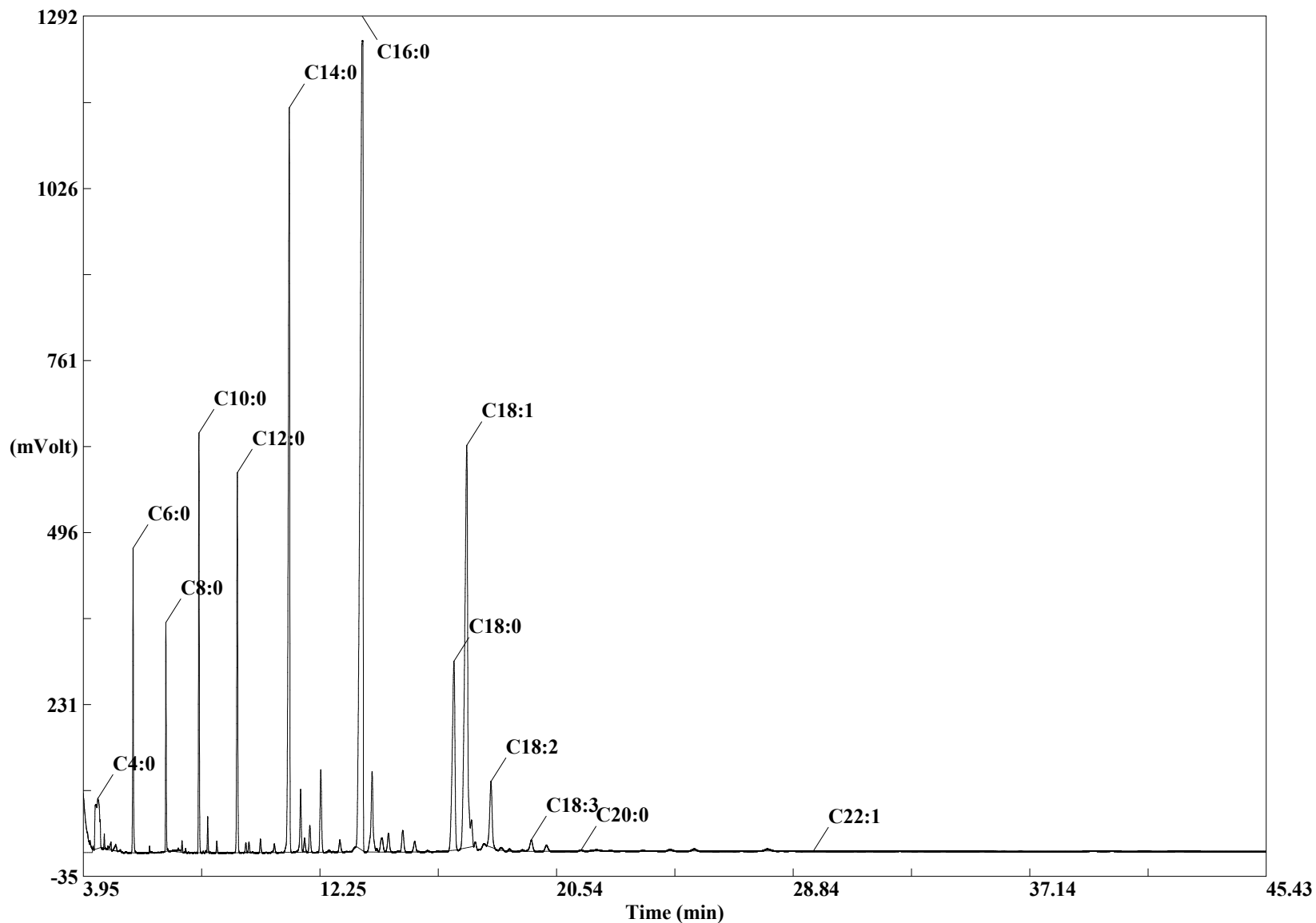
Chrom-Card Strip-Chart



Filename C:\...\První míšení - zjedino\K1TAG-10x.dat
Sample name :Buffalo New 2 Analysed :19.05.2021 14:15

Obrázek B.5: Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v kontrolním vzorku

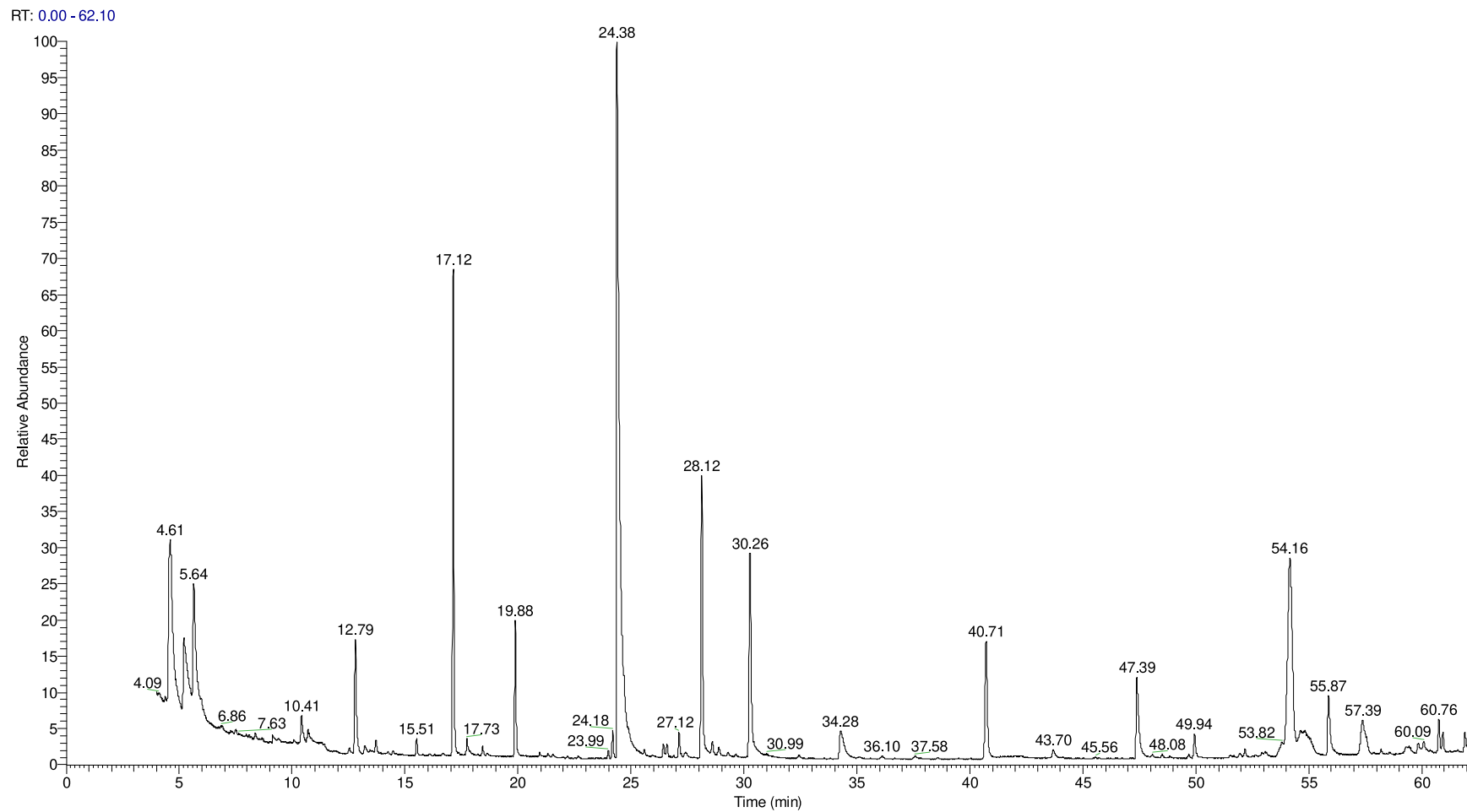
Chrom-Card Strip-Chart



66

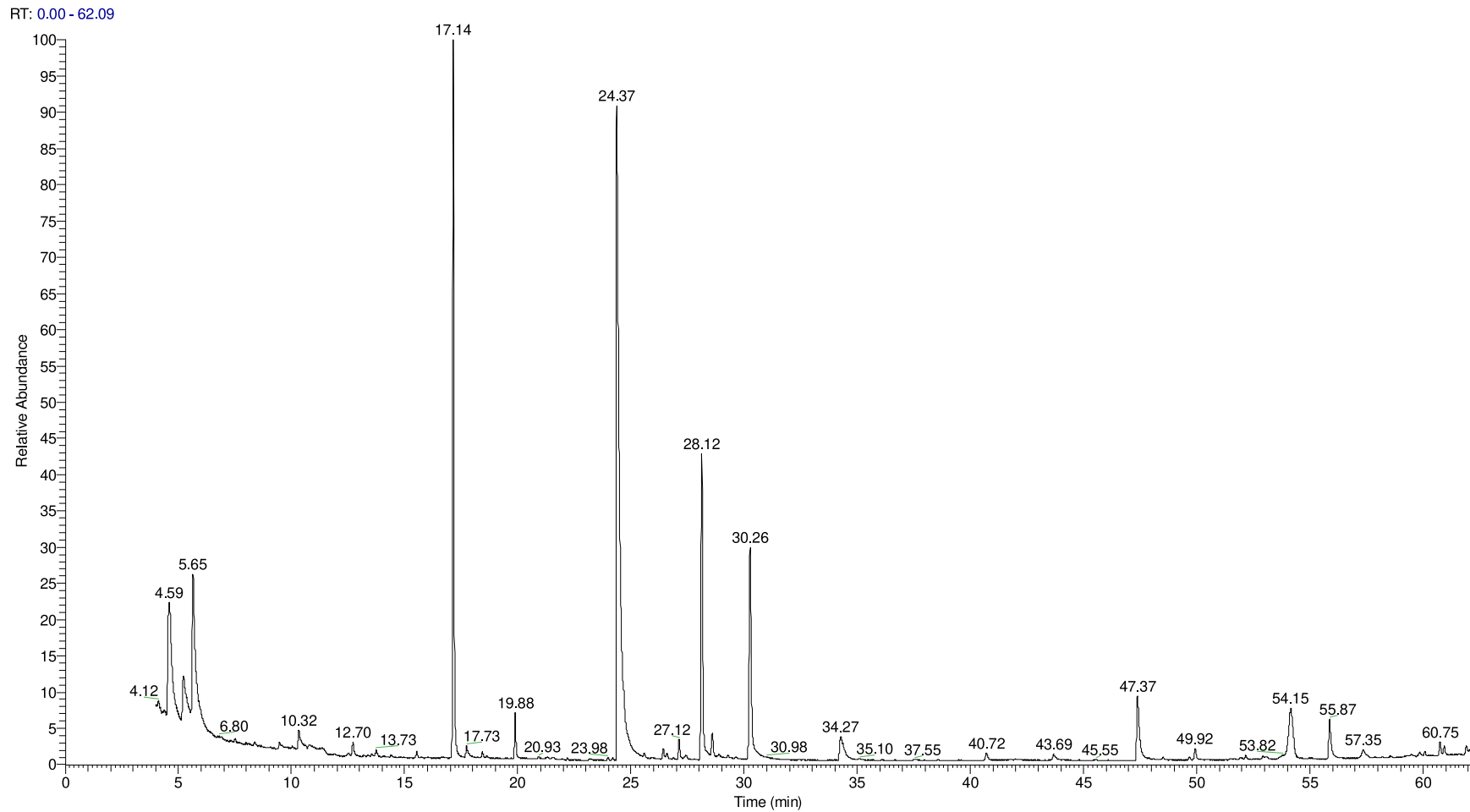
Filename C:\...\První měření - zjedino\K1VMK-znovu.dat
Sample name :K1VMK-znovu Analysed :19.05.2021 16:05

Obrázek B.6: Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v kontrolním vzorku

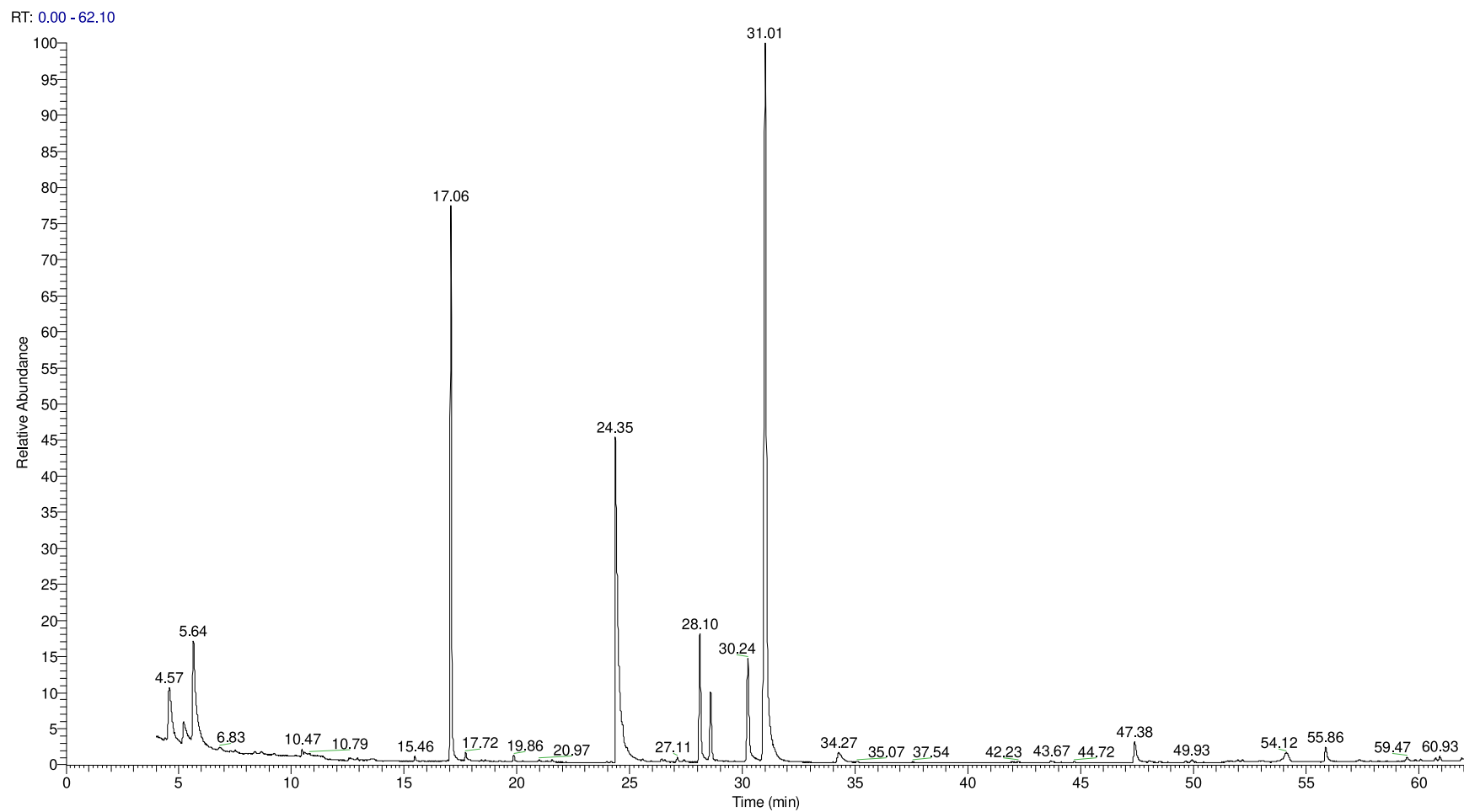


Obrázek B.7: Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v sýrovém analogu s přidavkem řepkového oleje

NL:
1.30E8
TIC MS
analogy202
Oprosinec0
3



Obrázek B.8: Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v sýrovém analogu s přidavkem lněného oleje



NL:
2.80E8
TIC MS
analogy202
Oprosinec0
9

Obrázek B.9: Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v kontrolním vzorku

C. Protokol senzoričké analýzy

Protokol pro senzorní hodnocení sýrových analogů

Vážení hodnotitelé,
zhodnoťte, prosím, předložené vzorky sýrových analogů.
Děkujeme Vám za spolupráci.

Hodnotitel:

Datum:

Čas:

Váš zdravotní stav:

kuřák / nekuřák

muž / žena

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

- a) sýrové analogy běžně konzumuji
- b) nejsem si jistý/á, jestli jsem sýrový analog již měl/a
- c) sýrovým analogům se vyhýbám

1. Senzorické hodnocení pomocí stupnice

Kód vzorku	Znak					
	Vzhled a barva	Konzistence (textura)	Vůně a chuť (flavour)	Vůně po použitím oleji	Chuť po použitím oleji	

Vzhled a barva

- Vynikající** – barva smetanová, stejnorodá, bez cizích odstínů. Vzhled bez jakýchkoliv známek deformace, čistý, hladký.
- Výborná** – nepatrná odchylka od deklarované barvy a vzhledu, bez cizích odstínů, homogenní. Změny barvy způsobené osycháním sýru, oxidačními změnami vyloučeny. Vzhled bez jakýchkoliv známek deformace, čistý, hladký.
- Velmi dobrá** – mírná odchylka od deklarované barvy a vzhledu, bez cizích odstínů, homogenní. Změny barvy způsobené osycháním sýru, oxidačními změnami jen nepatrné. Vzhled bez jakýchkoliv známek deformace, sýr čistý, hladký.
- Dobrá** – homogenní s vyloučením mramorování barvy. Tvar mírně deformovaný, drobnější závady v hladkosti povrchu, povrch sýra je nepatrně matný, stále však hladký.
- Méně dobrá** – homogenní s nepatrnými náznaky mramorování barvy. Vzhled vykazuje odchylky způsobené deformací tvaru, drobnější závady v hladkosti povrchu, povrch sýra je mírně matný, mírné odchylky v hladkosti.
- Nevyhovující** – barva mírně nehomogenní (mramorovitá), mírné oxidativní změny na povrchu.
- Nepřijatelný** – barva na povrchu i v těstě nehomogenní, silné oxidativní změny na povrchu, výskyt plísně, značná deformace povrchu, vzhled narušen duřením sýra.

Konzistence (textura)

1. **Vynikající** – jemná, hladká, roztíratelná, plastická, bez vzduchových dutin, homogenní.
2. **Výborná** – roztíratelná, jemná, nelepivá.
3. **Velmi dobrá** – roztíratelnost dobrá, nepatrně tužší nebo měkčí.
4. **Dobrá** – roztíratelnost dobrá, mírně tužší nebo měkčí, slabě lepivá, ojedinělý výskyt dutinek.
5. **Méně dobrá** – tužší nebo měkčí, lepivá, slabě písčitá.
6. **Nevyhovující** – tuhá, řídká, nehomogenní.
7. **Nepřijatelná** – velmi tuhá až drobná, silně lepivá, roztékavá, nehomogenní, zduřelá, písčitá.

Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

1. **Vynikající** – chuť čistá, jemně mléčná až máslová, jemně sýrově nasládlá, výrazná. Vůně čistá, velmi harmonická, cizí příchutě jsou vyloučeny.
2. **Výborná** – nepatrné odchylky od vynikající chuti a vůně, chuť a vůně harmonická, sýrová nebo máslová, bez cizí příchutě.
3. **Velmi dobrá** – mírné odchylky od vynikající chuti a vůně, přesto harmonická, přirozeně mléčně nakyslá nebo nasládlá, typická, bez cizí příchutě, méně výrazná.
4. **Dobrá** – nevýrazná chuť, bez cizí příchutě.
5. **Méně dobrá** – výskyt cizích příchutí ve velmi malé intenzitě, méně harmonická, nahořklá nebo slanější, kyselejší, nečistá, kvasničná.
6. **Nevyhovující** – výskyt cizích příchutí, méně harmonická, slanější.
7. **Nepřijatelná** – nečistá, žluklá, slaná, hořká, zatuchlá, ostře kyselá, případně jiné vady.

Vůně po použitém oleji

- | | |
|----------------|-----------------------|
| 1. Neznatelná | |
| 2. Slabá | |
| 3. Střední | P – příjemná |
| 4. Silnější | N – nepříjemná |
| 5. Velmi silná | |

Chuť po použitém oleji

- | | |
|----------------|-----------------------|
| 1. Neznatelná | |
| 2. Slabá | |
| 3. Střední | P – příjemná |
| 4. Silnější | N – nepříjemná |
| 5. Velmi silná | |

2. Pořadový test celkové přijatelnosti

Pořadí vzorků	1. (nejlepší)	2.	3. (nejhorší)
Kód vzorku			

Zdůvodněte: