



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

**MONITORING OBSAHU SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK
V PRŮBĚHU VÝROBY SÝRŮ**

MONITORING OF SENSORY ACTIVE COMPOUNDS DURING CHEESE PRODUCTION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Hana Ryglová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1064/2016
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Hana Ryglová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Eva Vítová, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název diplomové práce:

Monitoring obsahu senzoricky aktivních látek v průběhu výroby sýrů

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - stručná charakteristika vybraných typů sýrů
 - senzoricky aktivní látky v přírodních a tavených sýrech
 - možnosti stanovení senzoricky aktivních látek v sýrech - princip, provedení, přehled aplikací
2. Pomocí metody SPME-GC-FID identifikujte a kvantifikujte senzoricky aktivní látky ve vzorcích přírodních a tavených sýrů
3. Diskutujte změny obsahu senzoricky aktivních látek v průběhu výroby

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

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

Bc. Hana Ryglová
student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá monitoringem senzoricky aktivních látek v průběhu výroby sýrů eidamského typu, tj. přírodní tvrdé sýry s nízkodohřívanou sýřeninou, a v tavených sýrech, které z nich byly vyrobeny.

Senzoricky aktivní látky se podílejí na celkovém aroma a chuti sýrů. Jedná se o těkavé látky patřící do skupin alkoholů, aldehydů, ketonů, nižších mastných kyselin, esterů, laktonů, terpenů a dalších.

Pomocí metody SPME/GC/FID byly tyto látky identifikovány a kvantifikovány v modelových vzorcích přírodních a tavených sýrů, vyrobených na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně. Celkem bylo ve vzorcích identifikováno 42 těkavých sloučenin, z toho 6 aldehydů, 7 ketonů, 15 alkoholů, 6 esterů a 8 kyselin. Mezi vzorky byly nalezeny rozdíly jak v počtu identifikovaných sloučenin, tak v jejich celkovém obsahu i v obsahu jednotlivých chemických skupin. Vliv použitého pasteračního záhřevu na obsah a složení identifikovaných sloučenin se nejvíce projevil u vzorků zralých sýrů, u tavených sýrů potom v kombinaci s déletrvajícím záhřevem během tavení.

ABSTRACT

This work deals with monitoring of sensory active compounds during production of Edam cheeses, i.e. natural hard cheeses with low heat curd, and of processed cheeses, which were produced from Edam cheeses.

Sensory active compounds contribute to overall flavour of cheese. They are volatile compounds, which include alcohols, aldehydes, ketones, fatty acids, esters, lactones, terpenes etc.

These compounds were identified and quantified using SPME/GC/FID method in the model samples of Edam cheeses and processed cheeses, produced at Tomas Bata University in Zlin. In total 42 volatile compounds were identified, 6 aldehydes, 7 ketones, 15 alcohols, 6 esters and 8 acids. Differences in number of compounds identified, as well as in the contents of them, were found between samples. Effect of pasteurization on the contents and composition of the identified compounds was the most obvious in the samples of matured cheeses. In the samples of processed cheeses the effect of pasteurization was the most obvious in combination with prolonged heating during melting.

KLÍČOVÁ SLOVA

sýry, senzoricky aktivní látky, SPME, GC

KEY WORDS

cheese, sensory active compounds, SPME, GC

RYGLOVÁ, H. *Monitoring obsahu senzoricky aktivních látek v průběhu výroby sýrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 87 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Ing. Evě Vítové, Ph.D. a konzultantce Ing. Martině Mahdalové za odborné vedení diplomové práce, za cenné rady a připomínky během psaní této práce.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	8
2.1 ROZDĚLENÍ SÝRŮ	8
2.2 SLOŽENÍ SÝRŮ	9
2.2.1 MLÉČNÝ TUK	10
2.2.2 MLÉČNÉ SACHARIDY	10
2.2.3 MLÉČNÉ PROTEINY	11
2.2.4 MINERÁLNÍ LÁTKY	13
2.2.5 VITAMINY	13
2.3 PŘÍRODNÍ SÝRY EIDAMSKÉHO TYPU	13
2.4 TECHNOLOGIE VÝROBY SÝRŮ EIDAMSKÉHO TYPU	14
2.4.1 PŘÍPRAVA MLÉKA PŘED SÝŘENÍM	14
2.4.2 SÝŘENÍ	15
2.4.3 ZPRACOVÁNÍ SÝŘENINY	15
2.4.4 FORMOVÁNÍ A LISOVÁNÍ	15
2.4.5 SOLENÍ	16
2.4.6 BALENÍ	16
2.4.7 ZRÁNÍ	16
2.5 TAVENÉ SÝRY	18
2.6 VÝROBA TAVENÝCH SÝRŮ	19
2.7 SENZORICKY AKTIVNÍ LÁTKY	20
2.7.1 VZNIK SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V PRŮBĚHU ZRÁNÍ SÝRŮ	21
2.8 MOŽNOSTI IZOLACE SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V SÝRECH	24
2.8.1 HEADSPACE METODY	24
2.8.2 EXTRAČNĚ-DESTILAČNÍ METODY	25
2.9 MOŽNOSTI STANOVENÍ SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V SÝRECH	25
2.10 POUŽITÉ METODY A EXPERIMENTÁLNÍ TECHNIKY	26
2.10.1 MIKROEXTRAKCE PEVNOU FÁZÍ (SOLID PHASE MICROEXTRACTION - SPME)	26
2.10.2 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE	27
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
3.1 LABORATORNÍ VYBAVENÍ A CHEMIKÁLIE	29
3.1.1 PLYNY	29
3.1.2 PŘÍSTROJE	29
3.1.3 PRACOVNÍ POMŮCKY	29
3.1.4 CHEMIKÁLIE – STANDARDY	29
3.2 ANALYZOVANÉ VZORKY	31
3.2.1 PŘÍPRAVA VZORKU PRO STANOVENÍ SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK	32
3.3 METODA SPME/GC/FID	32
3.3.1 PODMÍNKY SPME/GC/FID ANALÝZY	32
3.3.2 VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ SPME/GC/FID ANALÝZY	33
3.3.3 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ	33

4 VÝSLEDKY A DISKUZE	34
4.1 STANOVENÍ SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK POMOCÍ SPME/GC/FID.....	34
4.1.1 STANDARDY SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK	34
4.1.2 VÝSLEDKY SPME/GC/FID ANALÝZY	36
4.1.3 SROVNÁNÍ CELKOVÉHO ZASTOUPENÍ JEDNOTLIVÝCH CHEMICKÝCH SKUPIN	59
4.1.4 VÝSLEDKY PCA ANALÝZY	62
5 ZÁVĚR.....	65
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	66
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	71
8 PŘÍLOHY	72

1 Úvod

Sýry jsou důležitou součástí našeho jídelníčku, kterou lidstvo zná od nepaměti. Jejich historie sahá až do 6000 let před naším letopočtem do jižní Asie a Středního východu. Podle legendy sýr náhodně objevil arabský kupec Kaman ze Středního východu, který si na dlouhou cestu pouští s sebou vzal zásobu mléka, kterou si uschoval ve vaku z kozího žaludku. Když se po nějaké době chtěl napít, spatřil k velkému údivu, že na povrchu vaku plavou bílé kousky mléčné hmoty. Tento jev byl způsoben působením enzymů z kozího žaludku, tepla a natřásáním mléka díky jízdě na koni. Postupně pak byly sýry rozšířeny do celého světa.

První tavený sýr byl vyroben až na počátku 20. století ve švýcarské firmě Gerber a spol. jako výsledek snahy o zvýšení trvanlivosti přírodních sýrů. Rovněž tento vynález se rozšířil do celého světa a je mezi spotřebiteli velmi oblíbený.

Sýry jsou mléčné výrobky, které jsou bohaté na bílkoviny, vitaminy a minerální látky, zejména vápník a fosfor, které jsou důležité pro naše kosti. Hlavní složkou bílkovin je kasein, který je zodpovědný za srážení mléka a tedy i výrobu sýrů a dalších mléčných výrobků. Sýry jsou dobrým zdrojem vitaminů rozpustných v tucích, jsou to především vitamin A, D, E a některé vitaminy skupiny B. Mohou se podávat jako hlavní jídla nebo jen jako chuťovky. Oblíbené jsou jako příloha k vínu. V dnešní době se vyrábí mnoho druhů sýrů po celém světě, jež se od sebe liší svojí konzistencí, chutí i aroma.

V této práci je především teoreticky zpracována problematika přírodních sýrů eidamského typu a tavených sýrů, což jsou v České republice velice oblíbené a rozšířené sýry. Eidam lze koupit v různých variacích, například jako plátky, v celku, strouhaný, uzený nebo s různými příměsemi koření a s různým obsahem tuku. Tavené sýry také existují v mnoha formách, například jako roztíratelné, krájitelné, plátkované a tekuté, i s různými zeleninovými, masovými a kořeněnými příchutěmi.

Cílem diplomové práce byl monitoring senzorycky aktivních látek v průběhu výroby modelových sýrů eidamského typu a tavených sýrů vyrobených na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně a následně posouzení vlivu pasteračního zahřevu na počet i obsah stanovených senzorycky aktivních látek v jednotlivých vzorcích. Tzv. senzorycky aktivní látky jsou příčinou charakteristické chuti a aroma sýrů; pro jejich stanovení byla použita mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií s FID detekcí (SPME/GC/FID).

2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. je sýr definovaný 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].

Sýry jsou bohaté na mléčný tuk, mléčné bílkoviny, vitaminy a minerální látky, zejména vápník a fosfor. Díky těmto vlastnostem jsou cennou složkou každého jídelníčku. Koncentrace výše uvedených látek bývá v sýrech až 10x vyšší než v mléce, ze kterého byl daný sýr vyroben. Nejčastěji používaným mlékem pro výrobu sýrů je mléko kravské, ovčí a kozí [2, 3].

V dnešní době je výroba sýrů poměrně složitý technologický proces, jehož základním principem je vysrážení mléčných bílkovin pomocí kyseliny mléčné nebo syřidla. Výsledkem je vznik pevné bílé sýřeniny a syrovátky, které se od sebe oddělí, a sýřenina je dále zpracována dle druhu sýra a nakonec se nechá zrát. V průběhu zrání získává každý sýr svoji typickou chuť a aroma [3].

2.1 Rozdělení sýrů

V současné době existují stovky druhů sýrů, které se rozdělují dle následujících kritérií [4]:

Podle technologie:

- Přírodní sýry
- Tavené sýry
- Syrovátkové sýry

Podle obsahu vody v tukuprosté hmotě:

- Extra tvrdé (méně než 51,0 %)
- Tvrdé (49,0–56,0 %)
- Polotvrdé (54,0–69,0 %)
- Měkké (nejméně 67,0 %)

Podle obsahu tuku v sušině:

- Vysokotučné (≥ 60 hm.%)
- Plnotučné (45–60 hm.%)
- Polotučné (25–45 hm.%)
- Nízkotučné (10–25 hm.%)
- Odtučněné (< 10 hm.%)

Podle způsobu zrání:

- Nezrající sýry
 - Tvarohové sýry
 - Smetanové sýry
 - Termizované sýry
 - Pařené sýry
 - Bílé sýry

- Plísňové sýry
 - Sýry s plísní na povrchu
 - Sýry s plísní v těstě
- Sýry zrající pod mazem
- Sýry s anaerobním zráním v celé hmotě
 - Sýry zrající v chladu
 - Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou
 - Sýry eidamského typu
 - Sýry s tvorbou ok
 - Sýry čedarového typu
 - Sýry z pařeného těsta
 - Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou
 - Sýry ementálského typu
 - Sýry typu moravský bochník
 - Sýry ke strouhání

2.2 Složení sýrů

Základní surovinou pro výrobu sýrů je mléko. Nejčastěji se při výrobě sýrů používá kravské mléko, které obsahuje 12–14 % sušiny a 86–88 % vody. Sušina mléka je tvořena mléčným tukem a tukuprostou sušinou mléka. Obsah tuku v mléce se pohybuje okolo 3,5 % a více. Tukuprostou sušinu tvoří bílkoviny mléka (kolem 3,2 %), mléčný cukr laktóza (4,5–5,2 %) a dále celá řada minoritních složek jako jsou minerální látky, vitaminy a enzymy (obrázek 1) [5].



Obr. 1: Složení mléka [6].

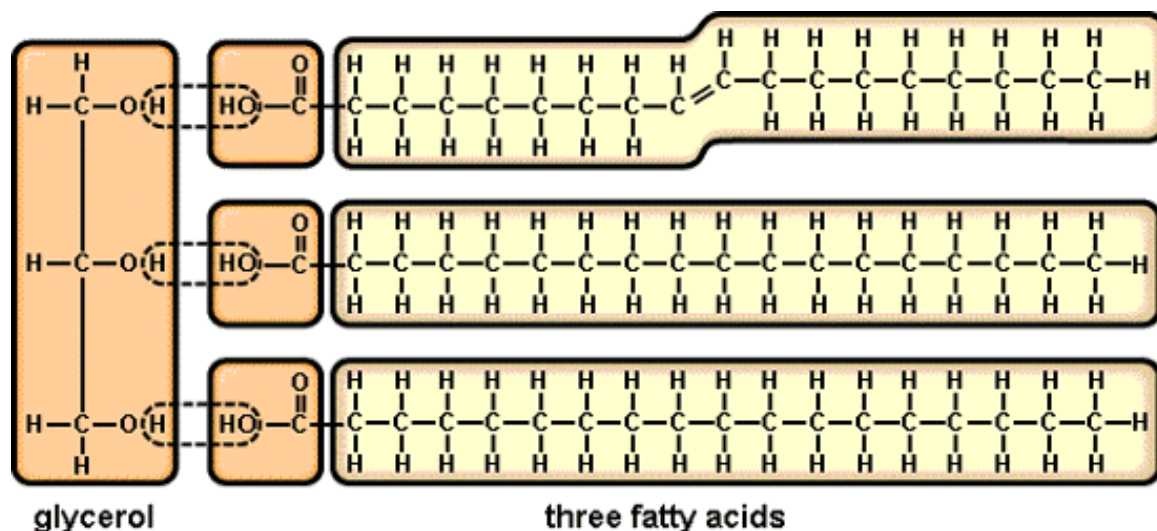
V sýrech se obsah jednotlivých složek poněkud liší, protože při výrobě sýrů dochází k jejich zakonzcentrování z kapalné fáze (mléka) do pevné fáze (sýru). Obsah vody se sníží na 30–78 %, množství tuku se zvýší na 12–28 % v celkové hmotnosti sýru (20–68 % v sušině), množství bílkovin se zvýší na 12,5–20,2 % u měkkých sýrů a 23,8–40,6 % u tvrdých sýrů, dále dochází i k zakonzcentrování minerálních látek a vitaminů. Pouze obsah laktózy se sníží téměř na 0 %, z důvodu metabolické přeměny laktózy na kyselinu mléčnou a na další produkty mléčného kvašení [7, 8].

2.2.1 Mléčný tuk

Mléčný tuk se v syrovém mléce vyskytuje ve formě malých tukových kapének o velikosti 3–4 μm , které jsou obklopeny bílkovinnými membránami a jejichž velikost závisí na plemeni, laktanční fázi a na stravě jednotlivého kusu skotu. Slouží jako bohatý zdroj energie, rozpouštědlo pro vitaminy rozpustné v tucích a jako zásoba esenciálních mastných kyselin, dále ovlivňuje konzistenci a zlepšuje chuť sýrů [9, 10].

Hlavní složkou mléčného tuku jsou triacylglyceroly (obrázek 2), které představují až 98 % mléčného tuku. Dalšími složkami jsou mono- a diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, fosfolipidy a steroly [10].

Mléčný tuk obsahuje přes 500 různých volných mastných kyselin, z nichž nejvíce zastoupené jsou kyselina olejová, palmitová a stearová. Většina volných mastných kyselin je v mléčném tuku zastoupena ve stopových množstvích, přesto jsou velmi důležité, protože ve formě laktonů přispívají k specifické chuti sýrů [11].



Obr. 2: Struktura triacylglycerolu [12].

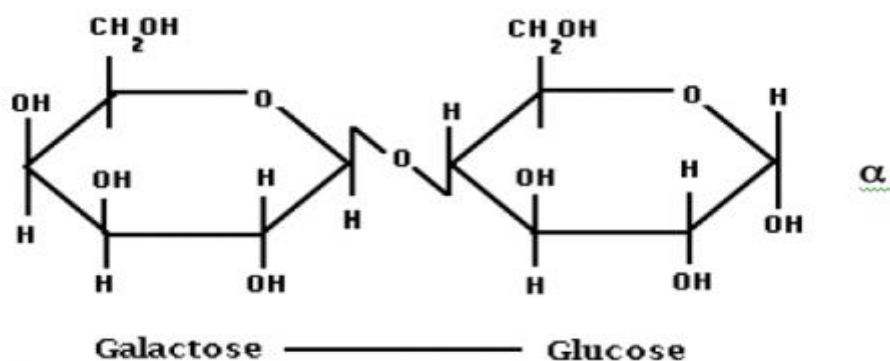
2.2.2 Mléčné sacharidy

Hlavním mléčným sacharidem je disacharid laktosa (obrázek 3), zvaná též mléčný cukr, která se skládá z monosacharidů D-galaktosy a D-glukosy, jež jsou spojeny β -1,4-glykosidickou vazbou (obrázek 2). Díky přítomnosti poloacetalového hydroxylu na glukose, vykazuje laktosa redukční vlastnosti [13].

Vyskytuje se ve dvou izomerických formách α -laktosa a β -laktosa, které mohou mezi sebou vzájemně přecházet. Jednotlivé formy se od sebe odlišují různou rozpustností ve vodě

a dalšími vlastnostmi, celkově je však rozpustnost laktosy ve vodě nízká oproti ostatním sacharidům [13].

V průběhu zrání sýrů je laktosa pomocí bakterií mléčného kvašení téměř zcela přeměněna na kyselinu mléčnou a další produkty mléčného kvašení, a proto se v sýrech vyskytuje v zanedbatelném množství nebo téměř vůbec [14].



Obr. 3: Vzorec laktosy [15].

2.2.3 Mléčné proteiny

V mléce se nacházejí dva typy proteinů, globulární syrovátkové proteiny, které se nacházejí v mléčném séru, a hlavní mléčná bílkovina kasein, která je v mléce přítomna ve formě koloidní disperze [9].

2.2.3.1 Kasein

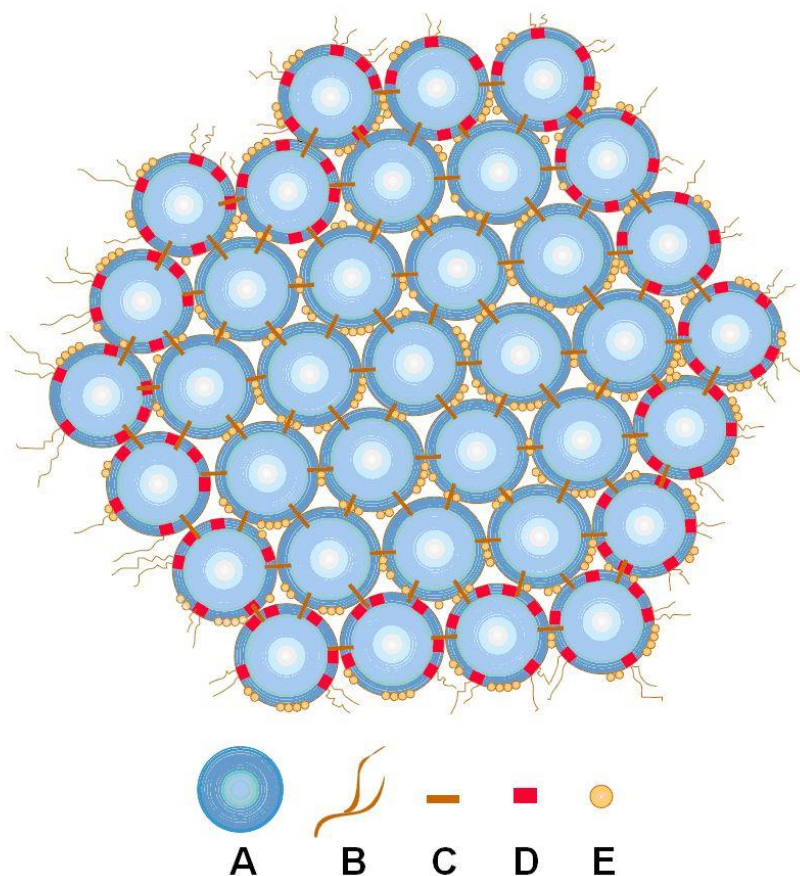
Kasein tvoří až 80 % mléčných proteinů. Řadí se mezi fosfoproteiny, protože součástí jeho struktury je fosfor ve formě kyseliny fosforečné. Vlivem hydrofóbních sil tvoří molekuly kaseinu tzv. submicely, které pak za účasti fosforečnanů a citrátů vápenatých agregují do micel o velikosti 50–300 nm (obrázek 4), které nesou záporný náboj. Kaseinové micely jsou zodpovědné za bílou barvu mléka, protože společně s kapénkami tuku rozptylují dopadající světlo. Kasein má svůj izoelektrický bod při pH 4,6. Jestliže kasein tohoto bodu dosáhne, dochází k agregaci kaseinových micel a probíhá tzv. kyselé srážení mléka, které se využívá při výrobě některých druhů sýrů a fermentovaných mléčných produktů [4, 9, 16].

Mezi hlavní frakce kaseinového komplexu patří α_{s1} -, α_{s2} -, β - a κ -kasein. Jednotlivé frakce se od sebe liší počtem fosfátových zbytků, citlivostí k vápenatým iontům a hydrofóbitou.

Nejvíce zastoupenou frakcí kaseinu jsou α_{s1} -kasein a α_{s2} -kasein, které tvoří až 42 % kaseinového komplexu. Oba dva α_s -kaseiny po chemické stránce patří mezi fosfoproteiny. α_{s1} -kasein v přítomnosti vápenatých iontů tvoří nerozpustnou vápenatou sůl a jeho fragmenty se považují za λ -kasein. α_{s2} -kasein má podobnou strukturu jako α_{s1} -kasein, ale není tak citlivý k přítomnosti vápenatých iontů [7, 16].

Mezi fosfoproteiny se také řadí β -kasein, který při teplotách 1 °C a nižších tvoří s vápenatými ionty rozpustnou sůl, při vyšších teplotách však tvoří sůl nerozpustnou. Jelikož β -kasein patří mezi hydrofóbní látky, nachází se především uvnitř kaseinových micel. Pomocí proteolytických mléčných enzymů je β -kasein degradován na γ -kasein [7, 16].

κ -kasein na rozdíl od ostatních kaseinů patří mezi glykoproteiny. Oproti β -kaseinu tvoří hydrofilní molekuly, které se nacházejí na povrchu kaseinových micel. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří κ -kasein rozpustné soli, které právě v přítomnosti vápenatých iontů stabilizují α_s -kasein a β -kasein. Pokud dojde k proteolýze κ -kaseinu, dochází ke ztrátě jeho ochranné funkce ostatních frakcí kaseinu a v přítomnosti vápenatých iontů se kaseinové micely začnou spojovat pomocí vápníkových můstků a vytvoří gel. Tomuto jevu se říká tzv. sladké srážení mléka a je to základ výroby sladkých sýrů [4, 7, 16].



Obr. 4: Micela kaseinu: A: submicela, B: vyčnívající řetězec, C: kalcium fosfát, D: κ -kasein, E: fosfátová skupina [17].

2.2.3.2 Syrovátkové (sérové) proteiny

Syrovátkové neboli sérové proteiny tvoří zbylých 20 % z mléčných proteinů. V této skupině proteinů dominují β -laktoglobulin, který tvoří asi 50 % syrovátkových proteinů, a α -laktalbumin, který tvoří asi 30 % proteinů syrovátky. Zbylých 20 % sérových proteinů tvoří sérový albumin, imunoglobuliny, proteázové peptony, laktoferin a transferin [18].

Jedná se o globulární proteiny, jejichž struktura je stabilizována intramolekulárními disulfidovými vazbami. Syrovátkové proteiny nejsou fosforylovány a nejsou citlivé k vápenatým iontům. Při vysokých teplotách (okolo 90 °C) dochází k jejich denaturaci. Tyto proteiny se při výrobě sýrů nijak neuplatňují, protože bývají ze sýřeniny vyplavovány společně se syrovátkou [19].

2.2.4 Minerální látky

Mléko a mléčné výrobky jsou důležitým zdrojem minerálních látek, které jsou pro člověka nepostradatelné. Jedná se především o biogenní prvky, jako jsou vápník, fosfor, hořčík a draslík, ale také se zde vyskytují některé minoritní prvky jako zinek, měď, jód, selen, železo [18].

Sýry jsou považovány za dobrý zdroj vápníku, hořčíku a fosforu. Všechny tyto tři prvky jsou důležité pro správnou tvorbu kostí, udržují je silné a zdravé. Spolu s draslíkem a sodíkem hrají důležitou roli při udržování vodní rovnováhy v těle a při správné cévní, svalové a nervové aktivitě. Vápník se dále podílí na srážlivosti krve a hořčík s fosforem jsou nezbytné pro enzymové reakce a transport buněčné energie [20].

Zbytek minerálů se v sýrech nachází pouze v minoritním množství, ale i přesto plní své důležité funkce. Například zinek je součástí některých proteinů a má svoji roli při enzymové aktivitě. Železo se podílí na transportu kyslíku v krvi, měď je antioxidant a selen s jódem jsou součástí hormonů štítné žlázy [20].

2.2.5 Vitaminy

Vitaminy jsou organické nízkomolekulární sloučeniny, které jsou pro člověka ve velké míře esenciální, proto je velmi důležité, aby je člověk přijímal v dostatečném množství v potravě [8].

V sýrech se vyskytují především vitaminy rozpustné v tucích, vitamin A, E, D a K. Vitaminy rozpustné ve vodě se v sýrech nachází jen v malém množství, protože z velké většiny jsou při výrobě sýrů ze sýřeniny vyplavovány jako součást syrovátky [9].

Všeobecně je většina sýrů dobrým zdrojem vitaminů rozpustných v tucích A, E a D a vitaminu B₂ a B₁₂. Vitamin A je důležitý pro dobrý zrak, jelikož je součástí zrakového pigmentu rhodopsinu a podporuje správný růst organismu. Vitamin D je spojen s metabolismem vápníku a fosforu, které jsou důležité pro správný vývoj kostí. Vitamin E zpomaluje proces stárnutí organismu a slouží jako prevence kardiovaskulárních chorob a vzniku rakoviny. Vitaminy B₂ a B₁₂ zajišťují správnou funkci nervového systému [8, 9, 19].

2.3 Přírodní sýry eidamského typu

Podle výše uvedeného rozdělení patří sýry eidamského typu mezi sýry tvrdé (obsahují do 45 % vody v tukuprosté hmotě), s nízkodohřívanou sýřeninou. Charakteristikou těchto sýrů je dohřívání horkou vodou na teplotu do 40 °C a praní syrového zrna, které slouží ke snížení obsahu laktosy a regulaci průběhu prokysávání. Obsah prací vody by měl být v rozmezí 20–40 % z množství odpuštěné syrovátky. Při nižším pracím poměru vznikají v sýrech trhliny a naopak při vyšším pracím poměru mají sýry gumovitou konzistenci a prázdnou chuť [4, 14, 21].

Kolébkou sýrů eidamského typu je Holandsko, kde je jejich výroba známa již od 11. století. Prvním sýrem eidamského typu byla gouda, jež svůj název dostala podle města Gouda v jižním Holandsku. Mladé sýry mají jemnou, mírně fondánovou nebo oříškovou chuť a světle žlutou barvu. Postupem zrání sýry získávají plnější a výraznější chuť a i barva se stává tmavší [22].

Dalším zástupcem sýrů eidamského typu je u nás velice oblíbený a rozšířený sýr zvaný eidam, který pochází také z Holandska z města Edam, po němž opět získal svůj název. Jeho

chuť je jemná, nepříliš slaná až nasládlá. Barva je mírně nažloutlá, čím více světlá, tím menší zralost sýra [23].

2.4 Technologie výroby sýrů eidamského typu

Výroba sýrů obecně je poměrně složitý technologický proces, který obsahuje celou řadu kroků a biochemických přeměn. V této kapitole jsem se zaměřila na technologii výroby sýrů eidamského typu, který je v České republice velmi rozšířený a oblíbený a je analyzován v experimentální části této práce. Jednotlivé kroky výroby přírodních sýrů jsou schematicky znázorněny na obrázku 5.

2.4.1 Příprava mléka před syřením

Základní surovinou pro výrobu kvalitních sýrů je kvalitní mléko, tedy mléko, které obsahuje nízký počet somatických buněk, neobsahuje žádná antibiotika, má vhodné organoleptické vlastnosti a vhodnou mikrobiologickou jakost [24].

V prvním kroku je potřeba zbavit mléko mechanických nečistot, což se děje pomocí filtrace nebo centrifugace [4].

V druhém kroku dochází k tepelnému ošetření mléka pomocí šetrné pasterace. Pasterace pomáhá zajišťovat zdravotní nezávadnost mléka a následně i sýrů. Pro sýry s nízkodohřívanou syřeninou se doporučuje provádět pasteraci v teplotním rozmezí 74–78 °C po dobu 15–20 sekund. Použití vyšší teploty při pasteraci je nevhodné, protože se tím zhoršuje syřitelnost mléka a oddělování syrovátky. Použití šetrné pasterace zajišťuje, že syrovátkové proteiny nedenaturují a netvoří komplex s kaseiny a díky tomu κ -kasein zůstává přístupný pro působení syřidla [4, 25].

Jednotlivé sýry jsou charakterizovány určitou hodnotou tuku v sušině, proto je nutné mléko pro výrobu sýrů standardizovat. Nejčastěji se standardizuje pouze obsah tuku v mléce, ale v některých provozech standardizují i obsah bílkovin [4, 26].

Následuje přidavek chloridu nebo mléčnanu vápenatého v maximálním množství 200 g na 1000 l mléka. Chlorid vápenatý zajišťuje zlepšení syřitelnosti, která se zhoršila při pasteraci a zlepšuje kvalitu syřeniny, zvyšuje její pevnost [4, 25].

Zejména u dlouhozrajících sýrů a sýrů s nižší kyselostí se přidává dusičnan draselný (průměrně 100 g na 1000 l), který zabíjí činnosti koliformních bakterií a bakterií mléčného kvašení, jež způsobují pozdější dužení sýrů. V dnešní době je snaha použít dusičnanu co nejvíce omezit, protože při vysokých dávkách může brzdit činnost kyselinotvorných kultur a může docházet ke vzniku barevných vad sýrů. Použití dusičnanu je nahrazeno baktofugací nebo se používá zaočkování pasterovaného mléka ochrannou dávkou smetanové kultury a ponechání do druhého dne, tzv. předežrání [4, 25].

Někdy se přidávají ještě některá barviva, zejména annato nebo karoten, které zlepšují barvu pozdějších sýrů [4].

Nakonec se mléko napustí do sýrařského výrobníku, kde se předežře nebo ochladí na teplotu syření 30–33 °C a přidají se za stálého míchání čisté mlékařské kultury 30–45 minut před syřením. Základní kulturou pro téměř všechny druhy sýrů je mezofilní (smetanová kultura), kterou tvoří *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Cremoris*. Případně se doplní dalšími kulturami podle druhu sýra, což v případě přírodních sýrů eidamského typu je kultura *Lactobacillus casei* [4, 9, 25].

2.4.2 Sýření

Srážení kaseinu neboli sýření je základním technologickým krokem při výrobě sýrů. Rozeznáváme dva typy srážení kaseinu – kyselé a sladké. Při kyselém srážení dochází ke koagulaci kaseinu v případě, že hodnota pH se přiblíží jeho izoelektrickému bodu ($\text{pH} = 4,6$). Kyselé srážení se uplatňuje především při výrobě tvarohu a jen některých druhů sýrů [27].

Při výrobě velké většiny sýrů se používá sladké srážení, při kterém se využívá působení syřidla. Syřidlo pomocí příslušných enzymů štěpí specifické peptidové vazby v κ -kaseinu za vzniku para- κ -kaseinu, glykomakropeptidu a následné proteinové destabilizace. Výsledkem je vznik koagula – syřeniny [27].

Klasické syřidlo, jehož aktivní složkou je enzym chymosin (rennin) se získává pomocí extrakce telecích žaludků. V dnešní době se klasické syřidlo začíná nahrazovat jinými enzymovými preparáty, které mají stejný účinek jako chymosin a jsou živočišného, mikrobiálního nebo rostlinného původu [4].

Samotné sýření probíhá při teplotě 30–33 °C po dobu 30–60 minut v sýrařském výrobníku. Na průběh sýření má významný vliv teplota, koncentrace syřidlového enzymu a kyselost mléka [25].

2.4.3 Zpracování syřeniny

Zpracování syřeniny zahrnuje několik kroků, jejichž výsledkem je vytvoření sýrových zrn a oddělení potřebného množství syrovátky ze syřeniny. V okamžiku, kdy je dosažena požadovaná tuhost, se syřenina pomocí sýrařských harf nakrájí za vzniku sýrových zrn, částic o velikosti 3–15 mm. Sýrařská harfa je soustava plochých nebo strunných nožů, uložených v rámu, které se otáčí v různých výškových rovinách. Tato operace trvá přibližně 20 minut [4, 25].

Vzniklé zrno se dále míchá v uvolněné syrovátce. Zejména na počátku je zrno křehké a hrozí jeho rozbití na jemné částice, tzv. sýrový prach, který odchází společně se syrovátkou, proto je důležité, aby míchání bylo šetrné. Zároveň je ale důležité, aby nedocházelo k sedimentaci a slepování zrna [4].

U sýrů eidamského typu probíhá ještě dohřívání a dosoušení syřeniny. Zde platí, že čím vyšší je teplota, tím více se uvolní syrovátky ze zrna. V průběhu dohřívání se za stálého míchání zvyšuje teplota z teploty sýření na teplotu dosoušení. Podle toho, jak vysoká je použita teplota, se sýry dělí na sýry s vysokodohříváním (48–55 °C) a s nízkodohříváním syřeninou (34–37 °C) [4, 25].

Posledním krokem při zpracování syřeniny u sýrů eidamského typu je tzv. praní sýrového zrna, při němž se snižuje obsah laktosy v syřenině a zároveň se i syřenina dohřívá. Praní probíhá přidávkem teplé vody ohřáté na 50–60 °C [4].

2.4.4 Formování a lisování

Formováním a lisováním získává syřenina svůj výsledný tvar. Nejčastějším tvarem eidamských sýrů jsou tzv. cihly o hmotnosti 1,0–2,5 kg, ale vyrábějí se i ve formě bloků o hmotnosti 10–30 kg [26].

Pomocí formování začíná oddělování syrovátky od sýrového zrna. Poté následuje lisování, které u tvrdých a polotvrdých sýrů probíhá v lisovacích vanách obdélníkového tvaru. Sýry se lisují narůstajícím tlakem 0,005–0,04 MPa po dobu 60 minut. Tlak musí narůstat

postupně, pokud by došlo k rychlému zvýšení tlaku, došlo by k uzavření povrchu sýra a syrovátka by nemohla odtéct. Uvolněná syrovátka se nejčastěji odvádí do sběrné nádrže, kde se zahušťuje a následně suší [4, 25].

2.4.5 Solení

Solení je důležité nejen z hlediska výsledné chuti sýrů, ale má vliv i na aktivitu enzymů a mikrobiálních kultur při pozdějším zrání sýrů. Pomocí solení se zpevní povrch sýrů a zvýší osmotický tlak v prostoru mezi zrny, čímž se zvýší množství uvolněné syrovátky. Používají se tři různé postupy solení – solení do zrna (do těsta), solení na sucho a solení v solné lázni [4, 25].

Sýry eidamského typu se solí v solné lázni. Koncentrace soli v lázni se pohybuje v rozmezí 16–23 % NaCl a její pH u tvrdých sýrů bývá 5,2. Teplota solné lázně bývá 10–14 °C. Vylisovaná syrová hmota se do solné lázně ponoří na několik hodin až 5 dnů. Doba solení závisí na velikosti a tvaru sýra [4, 25, 26].

Solné lázně je potřeba mikrobiologicky čistit pomocí filtrace a ohřevu, upravovat jejich pH a regenerovat je [25].

Po dokončení solení se nasolené sýry nechají 1–2 dny oschnout a poté se buď balené, nebo nebalené přemísťují do zracích sklepů [25].

2.4.6 Balení

Jako balicí materiál při výrobě sýrů se používají buď zrací fólie, nebo plastové nátěry. Ty zamezují povrchové kontaminace sýrů, především plísněmi, a snižují vysychání sýrů v průběhu zrání [4, 28].

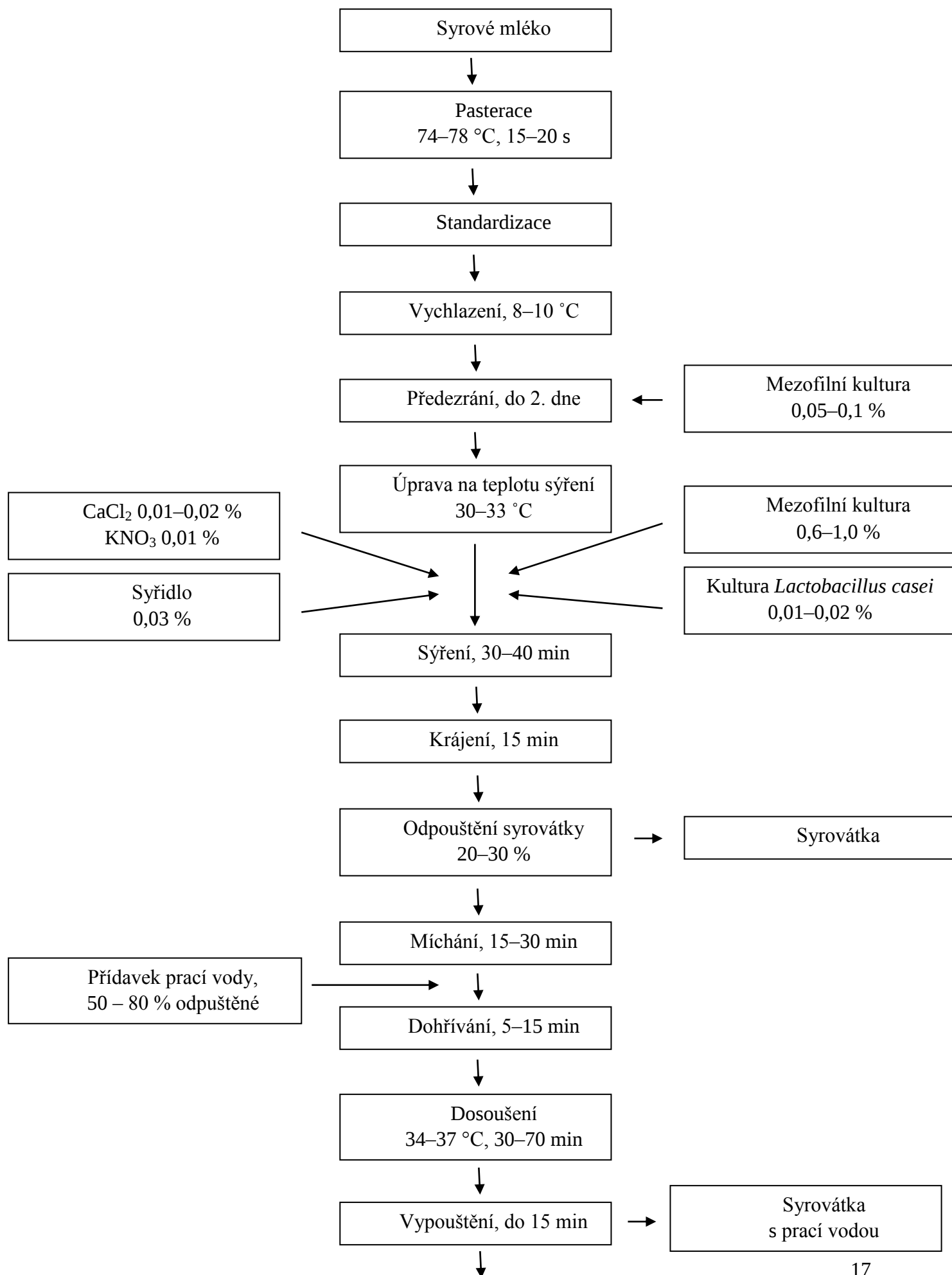
Pro sýry eidamského typu se nejčastěji používají teplem smrštitelné fólie polyvinylchlorid-polyvinylidenchlorid (Cryovac, Saran). Tyto fólie propouští plyny vzniklé při fermentaci (např. CO₂) a zrání sýrů, ale okolní plyny k sýru nepropouští [4, 28].

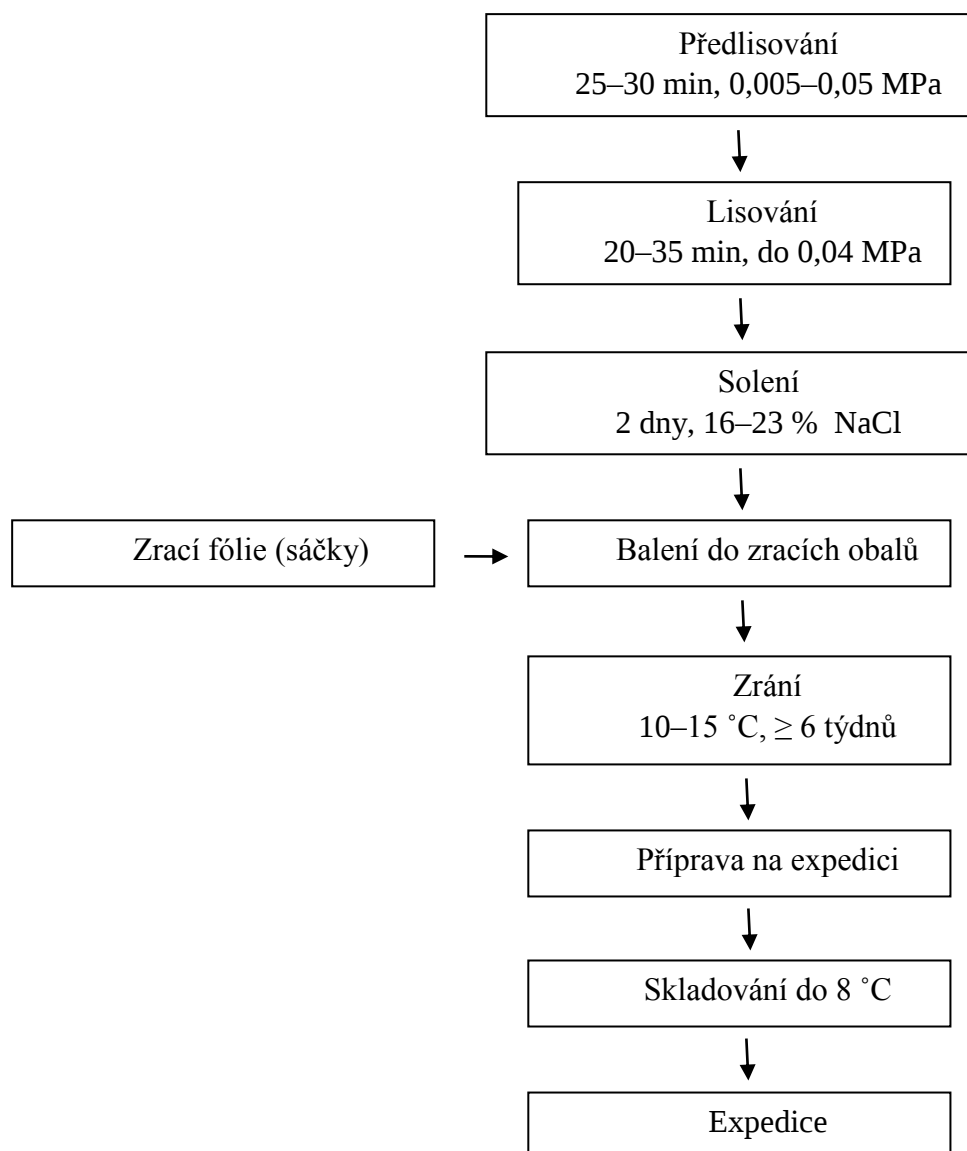
2.4.7 Zrání

Zrání zahrnuje celou řadu biochemických změn sýra, které jsou způsobeny enzymatickou činností mlékařských kultur a enzymů syřidla. Při těchto změnách sýr získává svůj typický vzhled, konzistenci, chuť, aroma a složení. Zrání sýrů má dvě fáze – tzv. předběžné a hlavní zrání [4, 25].

Předběžné zrání zahrnuje fermentaci laktosy a probíhá při zpracování mléka, syřeniny, formování a solení. Je třeba, aby bylo dosaženo potřebné hranice kyselosti, u tvrdých sýrů pH 5,2, u měkkých sýrů 4,8–5,0 [4, 25].

Hlavní zrání probíhá ve zracích sklepech, které jsou vybavené klimatizací s rozvodem filtrovaného vzduchu. V zásadě se využívá dvou druhů zracích sklepů. Jedná se o teplé kvasné sklepy s teplotou 20–26 °C a relativní vlhkostí vzduchu 90 % a chladné sklepy zrací s teplotou 10–15 °C a relativní vlhkostí vzduchu 80–100 %. Sýry se ve sklepech ukládají do polic, které jsou umístěné v kovových stojanech [4, 25].





Obr. 5: Schéma výroby sýrů eidamského typu (upraveno podle [4]).

2.5 Tavené sýry

Podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. je tavený sýr definovaný jako *sýr, který byl tepelně upraven za přídavku tavicích solí* [1].

První tavený sýr vznikl na počátku 20. století, přesněji v roce 1911, ve švýcarské firmě Gerber a spol. Prvotní myšlenka, která vedla ke vzniku tavených sýrů, bylo zvýšit trvanlivost přírodních sýrů a najít alternativní využití pro přírodní sýry, které bylo obtížné prodat, zejména kvůli jejich mechanickým vadám. Poté se jejich výroba rozšířila do celého světa [29].

V České republice v dnešní době patří tavené sýry k rozšířeným a oblíbeným mléčným výrobkům. Tavené sýry většinou mají jednotnou bílou až nažloutlou barvu. Jejich textura by měla být homogenní, jemná, hladká, bez ok a přiměřeně tuhá bez zrnitosti. Co se týče aroma a chuti, tak ty bývají charakteristické podle druhu sýra, ze kterého byl tavený sýr vyroben, popřípadě dle různých příchutí, které mohou být při výrobě tavených sýrů

přidávány, například zeleninová, masová, houbová příchut' a různé druhy koření. Existuje i několik forem, ve kterých lze tavené sýry na českém trhu najít, například roztíratelné, krájitelné, plátkované a tekuté [30, 31].

2.6 Výroba tavených sýrů

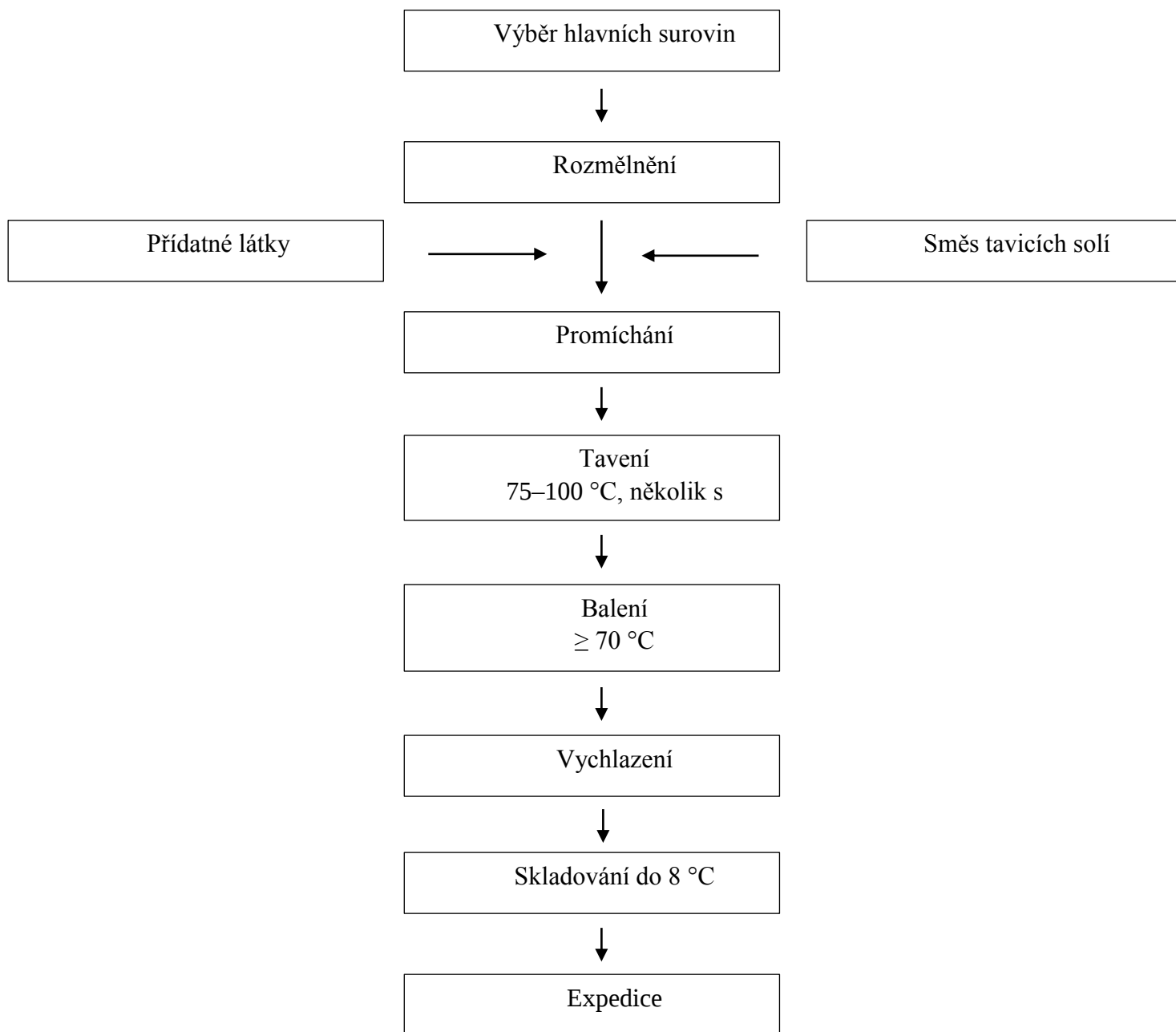
Výroba tavených sýrů spočívá v zahřátí surovin společně s tavicími solemi za stálého míchání a částečného podtlaku do doby, než je vytvořena homogenní hmota, která má požadované vlastnosti. V České republice se většinou používá diskontinuální způsob výroby v tzv. tavicích kotlích [31]. Schematicky je výroba tavených sýrů znázorněna na obrázku 6.

Nejprve se připraví směs, která je určena k tavení. Jako základní surovina při výrobě tavených sýrů se používají přírodní sýry. V České republice se nejčastěji jedná o přírodní sýry eidamského typu, minoritně se používají sýry švýcarského typu nebo moravský bochník. Při výrobě tavených sýrů se mohou používat přírodní sýry s různými mechanickými vadami, které by byly jinak neprodejné, což je ekonomicky i v rámci šetření potravin výhodné. Tyto sýry ale nesmí být mikrobiologicky závadné, aby neohrozily bezpečnost hotových tavených sýrů. Jako další suroviny se používají máslo, smetana, které zvyšují obsah tuku; tvaroh pro zvýšení tukuprosté sušiny; tzv. krém, což je sýr už jednou utavený, který hotovému výrobku dodává jemnější a stabilnější konzistenci; pitná voda, díky níž se upravuje obsah sušiny; a příp. různé příchutě. Jednotlivé suroviny jsou nadávkovány ve vhodném poměru, podle požadavků na obsah sušiny, tuku v sušině a požadovaných vlastností finálního výrobku. Následně jsou rozmělněny a promíchány [9, 19, 31].

Dalším krokem je určení směsi tavicích solí. Tavicí soli jsou pro výrobu tavených sýrů klíčové. Zajišťují výměnu Ca^{2+} iontů v tavenině za Na^+ (K^+) ionty, emulgují tuk, rozpouštějí bílkoviny, upravují pH. Jsou obvykle slabě alkalické s jednomocným kationtem a vícemocným aniontem. Nejčastěji se jedná o sodné soli kyseliny citronové, fosforečné a polyfosforečné. Obvykle se používají ve směsích a v množství 2-3 % hmotnosti finálního výrobku. Složení a množství tavicí směsi ovlivňuje vlastnosti hotového taveného sýra [4, 9, 31].

Následuje vlastní proces tavení připravených směsí. Rozmělněná a promíchaná směs surovin se vloží do tavicího kotle a přidá se k ní směs tavicích solí. Tavicí kotel se uzavře a za mírného podtlaku, aby došlo k odstranění vzduchových bublin z výrobku, se směs poměrně rychle zahřeje na tzv. tavicí teplotu. Tavicí teplota obvykle dosahuje 75–100 °C a působí po dobu několika sekund [19, 31].

Mezi poslední výrobní kroky patří balení a chlazení. Při balení by teplota taveniny neměla klesnout pod 70 °C, aby nedošlo k mikrobiální kontaminaci hotového výrobku. Navíc do této teploty tavenina zůstává dostatečně tekutá, což usnadňuje balení. V České republice se nejčastěji tavené sýry balí do hliníkových obalů nebo plastových kelímků. Po uzavření obalů se výrobky vychladí a skladují při teplotě 4–8 °C [31].



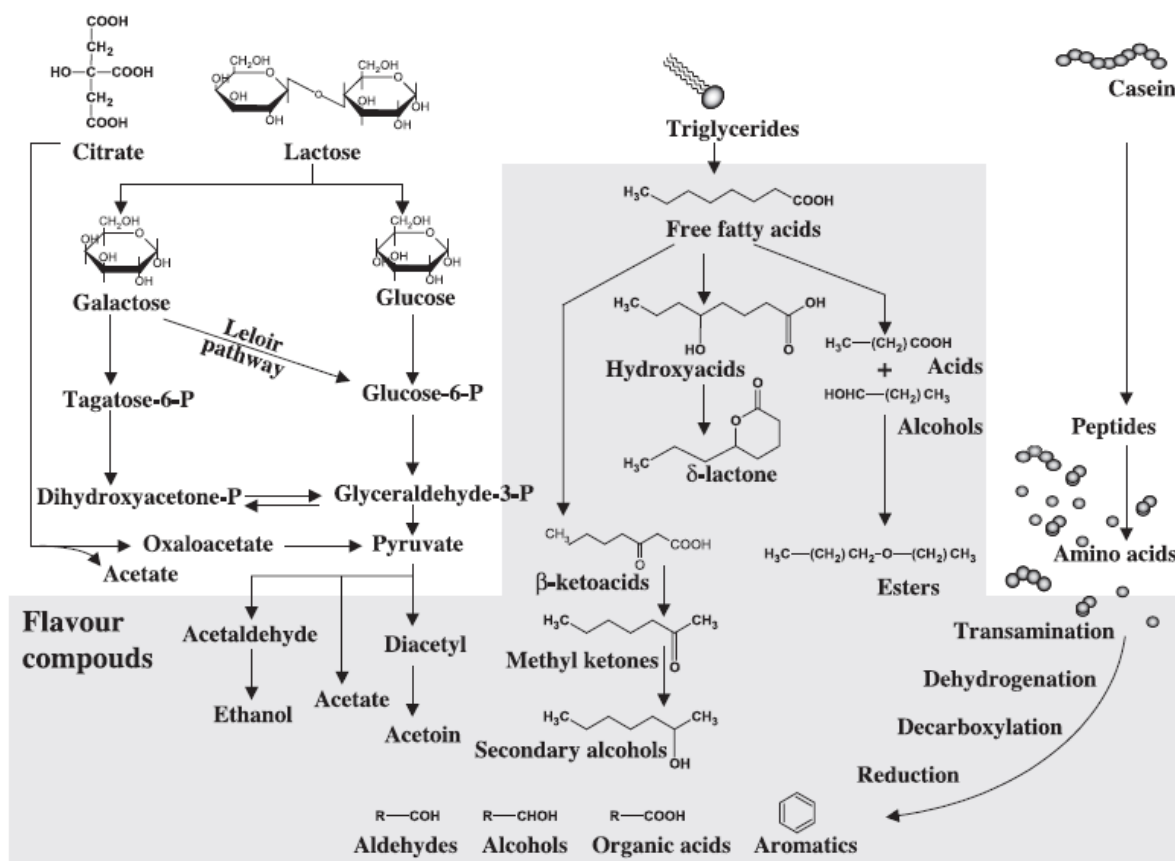
Obr. 6: Schéma výroby tavených sýrů (upraveno podle [29]).

2.7 Senzoricky aktivní látky

Senzoricky aktivní látky jsou látky, které zajišťují charakteristickou chuť a vůni v potravinách. Po chemické stránce se jedná o látky těkavé, tedy s nízkou molekulovou hmotností, patřící do různých chemických skupin, například alkoholů, aldehydů, ketonů, esterů, nižších mastných kyselin, terpenů, laktonů a dalších. Jako metoda pro jejich stanovení v rámci této práce byla zvolena mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií s FID detekcí. V následujících kapitolách je popsán vznik senzoricky aktivních látek v sýrech a stručně uveden princip, teorie a popis zařízení použitých metod.

2.7.1 Vznik sensoricky aktivních látek v průběhu zrání sýrů

Senzoricky aktivní látky vznikají především během zrání sýrů, které zahrnuje jak mikrobiologické, tak biochemické procesy. Hlavní biochemické procesy, které doprovázejí zrání sýrů, lze rozdělit na primární a sekundární. Primární děje zahrnují metabolismus laktosy, laktátu a citrátu, lipolýzu a proteolýzu. Během primárních dějů vzniká kyselina mléčná, volné mastné kyseliny a volné aminokyseliny. Sekundární děje zahrnují zejména procesy, během nichž jsou volné mastné kyseliny a volné aminokyseliny metabolizovány za vzniku sensoricky aktivních látek (obrázek 7) [32, 33].



Obr. 7: Biochemické procesy vedoucí ke vzniku sensoricky aktivních látek. Sensoricky aktivní látky vyznačeny šedě [34].

2.7.1.1 Metabolismus laktosy, laktátu a citrátu

Téměř veškeré množství laktosy je během výroby sýrů vyplaveno ze syřeniny společně se syrovátkou. Zbýlé množství laktosy je metabolizováno pomocí glykolýzy prostřednictvím kyslíkových bakterií rodu *Lactococcus* nebo fosfoketolázovou cestou, například rodem *Leuconostoc*. Fermentace laktosy je poměrně rychlý proces a probíhá převážně v prvních dnech zrání. Hlavní produkt metabolismu laktosy je L- nebo D-laktát, popřípadě jejich racemická směs, který vzniká enzymatickou přeměnou pyruvátu pomocí enzymu NAD-laktátdehydrogenasy. V sýrech holandského typu může být část L-laktátu přeměňována na D-laktát, nebo může být laktát oxidován na kyselinu octovou a oxid uhličitý pomocí nezákyskových bakterií mléčného kvašení. Podle druhu sýra může být laktát také dále přeměňován na různé karboxylové kyseliny, například kyselinu mravenčí (methanová), propionovou (propanová) a octovou (ethanová), které se také podílejí na celkové chuti a vůni

sýra. Již zmíněný pyruvát je základem pro vytváření řady sensoricky aktivních látek s krátkým řetězcem, jako například diacetylu (butan-2,3-dionu), acetoinu (3-hydroxybutan-2-onu), acetaldehydu (ethanal), etanolu, které vykazují typickou jogurtovou a máselnou chuť a vůni [9, 32, 34].

Metabolismus citrátu má zvláštní význam u sýrů s nízkodohřívanou syřeninou, protože vzniká oxid uhličitý, který je zodpovědný za tvorbu charakteristických ok. Dalším produktem citrátového metabolismu je diacetyl, který je důležitou sensoricky aktivní sloučeninou v řadě druhů sýrů, včetně sýrů holandského typu. Diacetyl může být dále přeměněn na acetoin, butan-2,3-diol a butan-2-on, které jsou rovněž důležité sensoricky aktivní látky v různých druzích sýrů [32].

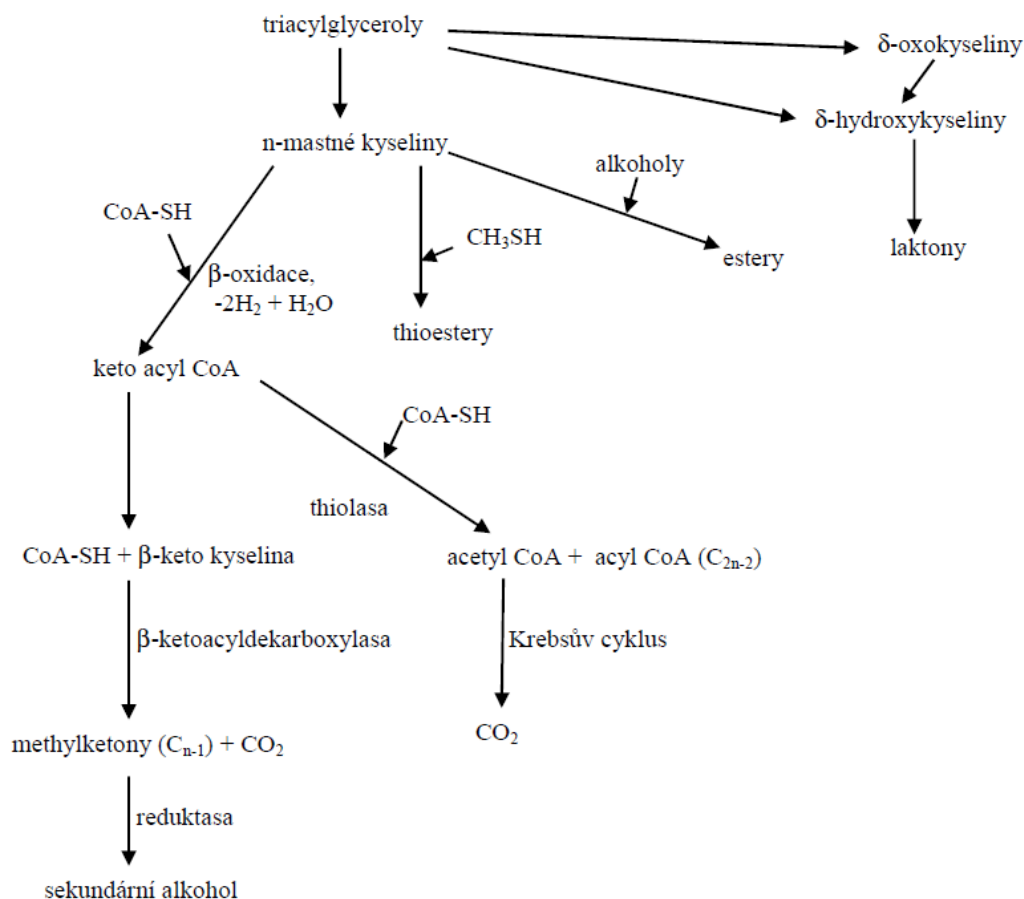
2.7.1.2 Lipolýza

Mléčný tuk je nezbytný pro rozvoj správné chuti v sýru během jeho zrání. Z biochemického hlediska mléčný tuk může podléhat oxidačním nebo hydrolytickým degradacím. Vzhledem k nízkému oxidačně-redukčnímu potenciálu sýra je oxidace mléčných lipidů značně omezena. Za hlavní biochemický děj mléčného tuku při zrání sýrů je tedy považována lipolýza, enzymatická hydrolyza triacylglycerolu na volné mastné kyseliny a glycerol, mono- a diacylglyceroly. Během lipolýzy se uplatňují lipolytické enzymy zvané lipasy, které štěpí esterovou vazbu mezi glycerolem a volnými mastnými kyselinami. Mléčný tuk obsahuje vysoké koncentrace mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem, které jako produkty lipolýzy přímo přispívají k chuti a vůni sýrů. Volné mastné kyseliny slouží také jako prekurzory pro vznik esterů a methylketonů, které patří mezi sensoricky aktivní látky [32, 34, 35].

Lipolýza je rozsáhlá zejména u tvrdých italských sýrů a sýrů s modrou plísní uvnitř hmoty. U sýrů s nízkodohřívanou syřeninou je považována spíše za nežádoucí a probíhá v nich pouze v mírném rozsahu. Pokud by u těchto sýrů probíhala rozsáhlá lipolýza, vysoký obsah vzniklých mastných kyselin by mohl způsobovat například žluknutí. Nicméně nízké koncentrace volných mastných kyselin, jsou-li ve správné rovnováze s produkty proteolýzy nebo jiných reakcí, přispívají k výsledné chuti nízkodohřívaných sýrů [9, 32].

2.7.1.3 Metabolismus volných mastných kyselin

Volné mastné kyseliny jsou důležitým prekurzorem katabolických reakcí, při kterých vznikají sensoricky aktivní látky, jež probíhají během zrání sýrů. Estery mastných kyselin vznikají reakcí mastných kyselin s alkoholy, ethyl ester je nejběžnější ester vyskytující se v sýrech. Thioestery vznikají reakcí mastných kyselin s thioley, které jsou produkty katabolických reakcí aminokyselin obsahujících síru. Laktony mastných kyselin jsou cyklické sloučeniny, které vznikají pomocí intramolekulární cyklizace hydroxykyselin. γ - a δ -laktony přispívají k aroma a chuti ve většině druhů sýrů. Hlavní skupinou sensoricky aktivních látek u sýrů s modrou plísní uvnitř hmoty jsou n-methylketony, které jsou z mastných kyselin metabolizovány pomocí částečné β -oxidace. n-Methylketony mohou být redukovány na příslušné sekundární alkoholy (obrázek 8) [9, 34].



Obr. 8: Schéma lipolýzy a metabolismu volných mastných kyselin v sýrech [25].

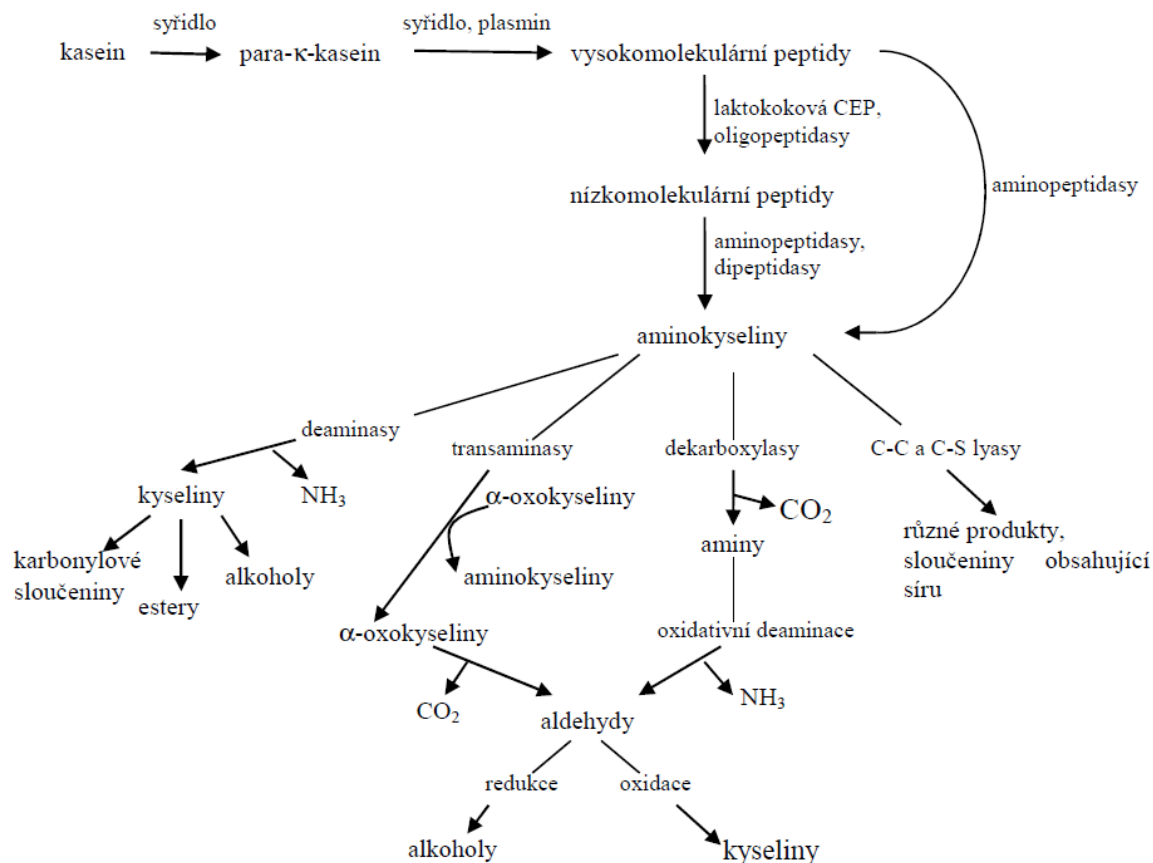
2.7.1.4 Proteolýza

Proteolýza je nejsložitější a u většiny druhů sýrů i nejdůležitější metabolický proces, který v sýrech během zrání probíhá. Proteolýza sýrů během jejich zrání hraje důležitou roli ve vývoji jejich textury, aroma a chuti. Účinky proteolýzy se u sýrů objevují obvykle za 10 až 16 dnů zrání. Hlavním procesem proteolýzy je degradace para-κ-kaseinu zbytky syřidla na polypeptidy, které jsou dále pomocí enzymů proteasy a peptidasy štěpeny na oligopeptidy a volné aminokyseliny. Právě volné aminokyseliny jsou základem pro vznik sensoricky aktivních látek [9, 25, 36].

2.7.1.5 Metabolismus volných aminokyselin

Katabolické reakce volných aminokyselin mohou vést k celé řadě sloučenin jako například amoniaku, aminů, aldehydů, fenolů, indolů a alkoholů, z nichž všechny přispívají k výsledné chuti a aroma sýrů [32, 34].

První fáze katabolických reakcí aminokyselin zahrnuje dekarboxylaci, deaminaci, transaminaci, desulfuraci nebo možnou hydrolýzu postranního řetězce. Druhá fáze se týká přeměny výsledných sloučenin (aminy a α-ketokyseliny), jakož i samotných aminokyselin, na aldehydy, což se děje především působením deaminasy na aminy. Závěrečná fáze katabolismu aminokyselin zahrnuje redukci aldehydů na alkoholy nebo jejich oxidaci na příslušné karboxylové kyseliny. Aminokyseliny obsahující síru mohou podstupovat rozsáhlé přeměny, což vede ke tvorbě řady sloučenin, jako například methanthiolu a různých derivátů síry (obrázek 9) [32, 34].



Obr. 9: Schéma proteolýzy a metabolismu volných aminokyselin v sýrech [25].

2.8 Možnosti izolace senzoričky aktivních látek v sýrech

První a často nejkritičtější krok ve stanovení senzoričky aktivních látek v sýrech je izolace těkavých sloučenin z netěkavé matrice sýra. V mnohých izolačních technikách se využívá toho, že senzoričky aktivní látky jsou těkavé a nepolární. Metody, které využívají těkavých vlastností SAL, zahrnují headspace a destilační techniky. Zatímco extrakce rozpouštědlem a adsorpční metody využívají nepolárního charakteru SAL. Bohužel neexistuje jedna jediná izolační metoda, která by dávala ty nejlepší výsledky, proto je vhodné jednotlivé metody kombinovat, např. headspace-adsorpční a extrakčně-destilační techniky. V následujících kapitolách je uveden přehled nejpoužívanějších izolačních postupů senzoričky aktivních látek ze sýrů [37].

2.8.1 Headspace metody

Headspace izolační metody jsou výhodné díky schopnosti monitoringu plynného headspace, který se nachází nad kapalným nebo pevným vzorkem v utěsněném prostoru, nejčastěji ve vialce. Headspace techniky jsou omezeny pouze na sloučeniny, které se nachází v plynné fázi. Patří sem statická headspace a dynamická headspace/purge-and-trap. Tyto metody jsou nedestruktivní a nejsou potřeba žádné velké úpravy vzorku [37].

Při statické headspace je vzorek ve vialce temperován, dokud se nevytvoří rovnováha mezi plynnou a kapalnou fází. Poté je odebrán známý objem plynné fáze z uzavřeného prostoru nad vzorkem, který je převeden na chromatografickou kolonu. Speciálním případem statické headspace je mikroextrakce pevnou fází (SPME), která je podrobněji popsána

v kapitole 2.10.1. Při dynamické headspace je do prostoru nad vzorkem přiváděn inertní plyn, který následně prochází sorpční trubicí, kde jsou zachycovány uvolněné těkavé látky. Zachycené látky jsou pak převedeny na chromatografickou kolonu. Zatímco při purge-and-trap izolaci inertní plyn prochází přímo vzorkem [38]. Co se týče prací, ve kterých byly tyto izolační techniky použity při analýze sýrů, lze jmenovat práce např. Qiana a kol. [39, 40], Attaie [41], Pérese a kol. [42] a Franka a kol. [43].

2.8.2 Extrakčně-destilační metody

Principy extrakčních metod jsou založeny na kontaktu dvou nemísitelných fází, při kterém dochází k separaci a zakoncentrování izolovaných sloučenin do malého objemu extrakčního rozpouštědla. Destilační techniky oddělují těkavé látky od netěkavých na základě rozdílných teplot varu. Těkavé látky přechází během destilace do plynné fáze, po ochlazení se získá kapalina (destilát), která je obohacena o těkavé látky z původního vzorku. Extrakčně-destilační techniky jsou snadno proveditelné, nejsou náročné na laboratorní vybavení a poskytují reprodukovatelné výsledky. Komplikují je však některé faktory, například: a) úroveň koncentrace – koncentrace senzoricky aktivních látek obecně bývají velmi nízké, proto je nutné tyto sloučeniny nejenom izolovat, ale i zakoncentrovat; b) matrice vzorku – těkavé sloučeniny jsou často intracelulární a je nutné rozrušení vzorku, dále izolaci komplikují netěkavé složky vzorku, jako jsou lipidy, proteiny a sacharidy, které mají pěnivý a emulzifikační charakter; c) variabilita těkavosti – senzoricky aktivní látky mají široké rozmezí bodů varu, od pokojové teploty až po teploty kolem 100 °C; d) nestabilita – mnoho sloučenin je nestabilních a snadno podléhají oxidační nebo teplotní degradaci [44–46].

Z těchto metod jsou pro izolaci SAL ze sýrů nejvíce používány simultánní destilace/extrakce (SDE), kterou ve své práci použili např. Larráyo a kol. [47] a Shiota a kol. [48]. Jedná se v podstatě o spojení destilace vodní parou s kontinuální extrakcí. Tato metoda umožňuje izolaci a zakoncentrování v jednom kroku, což výrazně snižuje časovou náročnost procesu a minimalizuje objemy použitých kapalin v důsledku jejich nepřetržité recirkulace [49].

Extrakce rozpouštědlem (SE) je obzvláště vhodná pro izolaci polo-těkavých sloučenin (laktony, volné mastné kyseliny, fenolové sloučeniny atd.), které nemohou být efektivně izolovány pomocí headspace metod. Jako rozpouštědlo se zde nejčastěji používá diethylether [37]. Extrakci fenolových sloučenin rozpouštědlem využili ve své práci Carunchia-Whetstine a kol. [50], dále lze zmínit práci Liawa a kol. [51]. Pokud extrahované látky analyzujeme pomocí plynové chromatografie, tak se často jako přečišťující krok používá vysoko-vakuová destilace [37].

Superkritická fluidní extrakce (SFE) využívá oxidu uhličitého, který se pomocí nadkritické teploty a tlaku nachází v nadkritickém stavu a přímo prochází vzorkem. Mezi výhody této extrakce patří nízká teplota potřebná pro extrakci, a bezpečnost a netoxicitu oxidu uhličitého. Nevýhodou je omezená schopnost extrakce polárních látek a instrumentální náročnost [44]. Optimalizací této metody pro extrakci senzoricky aktivních látek z ovčeho sýra se ve své práci zabývá Larráyo a kol. [52].

2.9 Možnosti stanovení senzoricky aktivních látek v sýrech

Dalším krokem po izolaci senzoricky aktivních látek ze vzorku je jejich identifikace a kvantifikace. Mezi nejčastější metody stanovení izolovaných sloučenin patří plynová

chromatografie (GC), která je podrobněji popsána v kapitole 2.10.2., další možností je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).

Plynová chromatografie velmi často pracuje ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS), kde se využívá výhod obou metod – výborné separační schopnosti plynové chromatografie a rychlé identifikaci a kvantifikaci neznámých sloučenin hmotnostní spektrometrie [37].

Při stanovení senzoricky aktivních látek se také velmi často využívá plynová chromatografie s olfaktometrickou detekcí. Princip metody spočívá v tom, že separované těkavé látky jsou paralelně detekovány elektronickým detektorem (často MS detekce) a olfaktometrem, kde jsou smíchány s vlhčeným vzduchem. U výstupu olfaktometru sedí zkušební osoba, která pomocí čichu charakterizuje vůni jednotlivých píků. Výhodou této metody je možnost rozeznat, které těkavé látky, separované pomocí GC, jsou opravdu senzoricky aktivní [37]. Tyto tři metody analýzy jsou použity v již uvedených pracích v kapitole 2.8.

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie pracuje na podobném principu jako plynová chromatografie, s tím rozdílem, že mobilní fází je kapalina. Ve srovnání s GC je HPLC poměrně málo účinná, pomalejší a nákladnější, proto je při stanovení těkavých látek v sýrech méně používaná [44]. Akyol a kol. [53] a Marriley [34] tuto metodu ve svých pracích použili ke stanovení volných mastných kyselin, butan-2,3-dionu a 3-hydroxybutan-2-onu ze vzorků sýrů.

2.10 Použité metody a experimentální techniky

V této práci byla pro identifikaci a kvantifikaci senzoricky aktivních látek ve vzorcích sýrů zvolena metoda mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií, protože je to poměrně nenáročná, rychlá a přesná metoda. V následujících kapitolách jsou stručně popsány principy těchto dvou metod.

2.10.1 Mikroextrakce pevnou fází (Solid Phase Microextraction - SPME)

Mikroextrakce pevnou fází je relativně mladá metoda, která kombinuje extrakci a předběžné zakoncentrování vzorku ze směsi na absorpční vlákno a následnou desorpci vzorku do analytického zařízení, v mém případě do plynového chromatografu. Tato metoda je ideální pro kapalně vzorky, protože zde dochází k rychlému dosažení rovnováhy mezi vláknem a roztokem (DI-SPME) nebo headspace prostorem (HS-SPME) [54].

V dnešní době existuje pět základních komerčně dostupných materiálů pro SPME. Jsou to polydimethylsiloxan (PDMS), polyakrylát (PA), divinylbenzen (DVB), karboxen (CAR) a Carbowax (CBW) [54].

Touto metodou lze stanovovat široké spektrum látek. Látky netěkavé až látky extrémně těkavé, také látky polární či nepolární [55].



Obr. 10: SPME vlákno.

2.10.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) patří mezi separační metody, které k dělení složek směsi využívají mnohonásobně opakovaného vytváření rovnovážných stavů jednotlivých složek mezi dvě fyzikálně odlišné a nemísitelné fáze [56].

První fáze se nazývá stacionární (nepohyblivá) a druhá fáze je mobilní (pohyblivá). V případě plynové chromatografie je mobilní fází plyn, tzv. nosný plyn, který neinteraguje se stacionární fází ani se separovanými složkami. Nosný plyn zajišťuje pouze transport směsi kolonou. Jednotlivé složky vzorku musí být nejprve převedeny do plynné fáze, aby mohly být transportovány kolonou. V koloně se složky dělí na základě různé schopnosti interakce se stacionární fází. Složky, které silněji interagují se stacionární fází, jsou v koloně zadržovány déle než složky, které se stacionární fází interagují méně [56, 57].

Tato metoda se používá pro separaci a identifikaci složitějších směsí plynů a těkavých látek s bodem varu menším než cca 400 °C. Jedná se o kolonovou chromatografii, kde jednotlivé zóny separovaných složek jsou unášeny do detekčního systému, jehož výsledkem je chromatogram. Chromatogram je soubor tzv. chromatografických píků, jejichž poloha na časové ose chromatogramu je kvalitativní vlastnost složky a plocha píku uzavřená obalovou křivkou píku (u symetrických zón i výška píku) je úměrná kvantitě dané složky [56, 57].

Jednotlivé části plynového chromatografu jsou: zdroj nosného plynu, dávkovač (injektor), chromatografická kolona, termostat, detektor a řídicí a vyhodnocovací zařízení (počítač) (obrázek 11) [44].

Zdrojem nosného plynu bývá tlaková láhev obsahující vodík, dusík, helium nebo argon. Nosný plyn se volí dle inertního chování vůči separovaným složkám, velkou roli zde také hraje netoxicity, bezpečnost práce a nižší cena [57].

Dávkovač zavádí vzorek do proudu nosného plynu. Teplota dávkovače by měla přesahovat bod varu nejméně těkavé složky alespoň o 50 °C, aby nedocházelo ke kondenzaci vzorku. Nejvíce užívané dávkovače jsou [44, 56]:

- Dávkovač s děličem toku – split injector
- Dávkovač bez děliče toku – splitless injector
- Dávkování přímo do kolony – on column injector
- Dávkovač s programově zvyšovanou teplotou vypařování vzorku

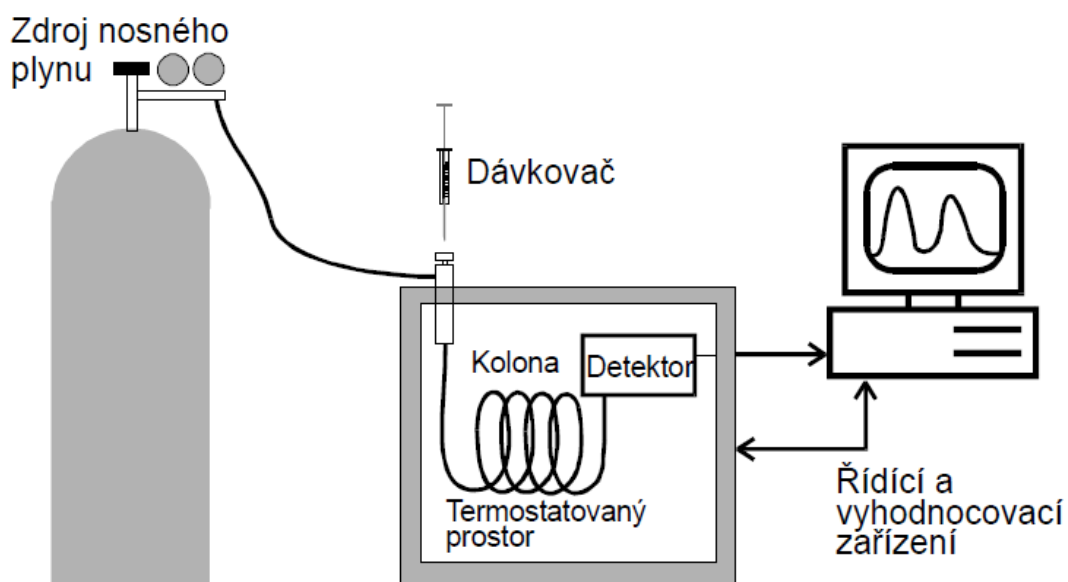
Chromatografické kolony pro plynovou chromatografii jsou náplňové a kapilární. V experimentální části této práce byla použita kolona kapilární, jejíž vnitřní stěny jsou povlečené stacionární fází. Existují i kapilární kolony, které jsou naplněné stacionární fází v celém svém objemu. Vnitřní průměr kapilár je 100–700 µm, délka kapilár 15–100 m [56].

Termostat udržuje konstantní teplotu a tvorbu teplotního programu pro gradientovou eluci. Injektor, kolona i detektor jsou termostatovány zvlášť [56].

Poslední součástí plynového chromatografu je detektor. Je to zařízení, které reaguje na změny složení mobilní fáze, které převádí na elektrický signál. Detektor registruje jednotlivé zóny separovaných složek a zajišťuje jejich identifikaci a kvantifikaci. Existuje celá řada detektorů [56]:

- Tepelně vodivostní detektor (TCD)
- Plamenový ionizační detektor (FID)
- Plamenový termoionizační detektor (AFID, TID)
- Plamenový fotometrický detektor (FPD)
- Detektor elektronového záchytu (ECD)
- Argonový detektor
- Olfaktometrický detektor

Plynový chromatograf použitý v rámci této práce je vybaven plamenově ionizačním detektorem (viz kapitola 3.1.2), který funguje na principu spalování analytu v plameni, který hoří mezi dvěma elektrodami. Molekuly organických sloučenin poskytují v plameni radikály, které přecházejí na ionty, jež zvyšují vodivost plamene a detektorem prochází proud přímo úměrný koncentraci analyzované složky [56].



Obr. 11: Schéma plynového chromatografu [44].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie

3.1.1 Plyny

- Dusík 5.0 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem a tlakovou membránou
- Vodík 5.5 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem
- Vzduch 5.0 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem pro kyslík

3.1.2 Přístroje

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB-WAX (30 m x 0,32 mm x 0,5 μ m) s výstupem na PC
- Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie
- Lednice
- Vodní lázeň

3.1.3 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno CARTM/PDMS 85 μ m, SPME Supelco Fiber
- Mikropipeta Biohit-Proline (100–1000 μ l), špičky
- Vialky o objemu 4 ml s kaučuk-teflonovým septem a šroubovacím uzávěrem
- Běžné laboratorní sklo
- Parafilm Pechiney PLASTIC PACKAGING
- Nůž, nůžky, špachtle

3.1.4 Chemikálie – standardy

- 2-methylbutan-1-ol, MERCK, Německo
- 2-methylpropan-1-ol čistý, LACHEMA, Česká republika
- 2-methylpropan-2-ol, LACHEMA, Česká republika
- 3-hydroxybutan-2-on 98%, MERCK, Německo
- 3-methylbutan-1-al, SIGMA-ALDRICH, Německo
- 3-methylbutan-1-ol, MERCK, Německo
- 4-methylpentan-2-on, LOBA CHEMIE INDO AUSTRANAL CO., Indie
- Benzylalkohol pro analýzu, MERCK, Německo
- Butan-2,3-dion pro syntézu, 97%, MERCK, Německo

- Butan-2-ol, REONAL, Maďarsko
- Butan-2-on 99%, LACHEMA, Česká republika
- Butanol čistý, LACHEMA, Česká republika
- Butylethanoát, LACHEMA, Česká republika
- Dekan-1-ol, MERCK, Německo
- Dekan-2-on, MERCK, Německo
- Ethanal pro syntézu, MERCK, Německo
- Ethanol 96%, LACH-NER, Česká republika
- Ethylbutanoát pro syntézu, 98%, MERCK, Německo
- Ethyldekanoát, MERCK, Německo
- Ethylethanoát, LACHEMA, Česká republika
- Ethyloktanoát 98%, MERCK, Německo
- Fenylethanal, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Fenylethanol, MERCK, Německo
- Fenylmethanal, REACHIM, Rusko
- Heptan-2-ol, MERCK, Německo
- Heptan-2-on pro syntézu, 98%, MERCK, Německo
- Heptanal 97%, MERCK, Německo
- Hexan-1-ol, MERCK, Německo
- Hexanal pro syntézu 98%, MERCK, Německo
- Kyselina 2-hydroxypropanová, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Kyselina 2-methylpropanová pro syntézu, MERCK, Německo
- Kyselina 3-methylbutanová pro syntézu, MERCK, Německo
- Kyselina butanová, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Kyselina dekanová, MERCK, Německo
- Kyselina ethanová, LACH-NER, Česká republika
- Kyselina hexanová pro syntézu, MERCK, Německo
- Kyselina oktanová, REACHIM, Rusko
- Kyselina propanová pro analýzu, MERCK, Německo
- Methanol 99,5%, LACH-NER, Česká republika
- Nonan-2-ol 98%, MERCK, Německo

- Nonan-2-on, MERCK, Německo
- Nonanal pro syntézu, MERCK, Německo
- Octan methylnatý, MERCK, Německo
- Okt-1-en-3-ol, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Oktan-1-ol, FLUKA CHEMIE, Švýcarsko
- Oktan-2-ol 98%, FLUKA CHEMIE, Švýcarsko
- Oktanal pro syntézu 98%, MERCK, Německo
- Pentan-1-ol, LACHEMA, Česká republika
- Pentan-2-ol pro syntézu, MERCK, Německo
- Pentan-2-on pro syntézu, MERCK, Německo
- Pentanal pro syntézu 98%, MERCK, Německo
- Propan-2-ol p.a., LACHEMA, Česká republika
- Propan-2-on, LACHEMA, Česká Republika
- Propanal pro syntézu, MERCK, Německo
- Propanol, LACHEMA, Česká republika
- Propylethanoát čistý, BRUXELUS, Belgie
- Undekan-2-on pro syntézu, MERCK, Německo

3.2 Analyzované vzorky

V experimentální části diplomové práce byly analyzovány modelové vzorky přírodních sýrů eidamského typu (55 % sušiny, 45 % tuku v sušině) a tavených sýrů (40 % sušiny, 50 % tuku v sušině), které byly vyrobeny standardním technologickým postupem během února a května 2015 na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně.

Pro výrobu sýrů bylo použito odstředěné mléko (obsah tuku asi 0,1 %), které bylo nejprve podrobeno standardizaci obsahu mléčného tuku („nepasterované mléko“) a následně diskontinuálně pasterováno („pasterované mléko“). Dále bylo standardizované a pasterované mléko ve výrobníku vytemperováno na 32 °C, přidána sýrařská kultura a chlorid vápenatý. Po 20 minutách se za stálého míchání přidalo syřidlo a směs se nechala v klidu po dobu 30 minut. Následně se syřenina prokrojila sýrařskou harfou a nechala se 10 minut v klidu. Poté se syřenina velmi opatrně ručně míchala po dobu 20 minut, aby došlo k drobení a vytužování zrna. Dále se odebralo určité množství syrovátky a přidala se voda o teplotě 60 °C, čímž došlo k dohřívání zrna a poté po dobu 30 minut a ručního míchání došlo k dosoušení zrna. Následovalo předlisování zrna po dobu 20 minut a po této době se zrno ještě lisovalo. Solení probíhalo po dobu 5 hodin v 20% (w/v) nálevu chloridu sodného. Poté se vylišované sýry ošetřily antimykotickou suspenzí. Nakonec se sýry nechaly po dobu 1 hodiny oschnout, zabalily do smrštitelné fólie a nechaly zrát při teplotě 10 °C po dobu 2 měsíců.

Následně byly sýry rozemlety a za přídavku tavicích solí (2,5 %) a promíchání taveny při teplotě 85 °C.

Celkem byly vyrobeny tři série vzorků sýrů, které se lišily teplotou a dobou pasteračního zahřevu (tabulka 1). Ke každé sérii vzorů odpovídá příslušné nepasterované a pasterované mléko, z něhož byly vzorky vyrobeny.

Tabulka 1: Podmínky pasterace pro jednotlivé výroby

	Výroba 1	Výroba 2	Výroba 3
teplota	65 °C	80 °C	74 °C
čas	30 min	30 s	30 s

První vzorky byly odebrány 48 hodin po zabalení, přepraveny do laboratoře při teplotě < 6 °C a okamžitě podrobeny analýze. Další vzorky byly proměřeny po 2 měsících zrání při teplotě 10 °C. Následně z nich byly vyrobeny tavené sýry, které byly po 3 měsících skladování při teplotě 4 °C také analyzovány. Celkem byly vyrobeny opět tři série vzorků tavených sýrů, které se lišily dobou tavení (tabulka 2).

Tabulka 2: Podmínky tavení pro jednotlivé výroby

	Tavba A	Tavba B	Tavba C
teplota	85 °C	85 °C	85 °C
čas	1 min	5 min	10 min

3.2.1 Příprava vzorku pro stanovení senzoričky aktivních látek

Do vialek o objemu 4 ml bylo naváženo 1 g vzorku sýru (1 ml vzorku mléka), který byl nakrájen na drobné kostičky. Vzorek byl nanesen na dno vialky, aby nedošlo k pozdějšímu kontaktu s SPME vláknem. Poté byla vialka uzavřena vzduchotěsným kaučuk-teflonovým septem, aby nedošlo k úniku těkavých látek.

3.3 Metoda SPME/GC/FID

Pomocí mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií (SPME/GC) byly identifikovány a kvantifikovány SAL ve vzorcích přírodních i tavených sýrů.

Navážený vzorek ve vialce byl po dobu 30 minut umístěn ve vytemperované vodní lázni na 35 °C, kde docházelo k ustavení rovnováhy mezi vzorkem a headspace prostorem. Poté bylo do headspace prostoru vsunuto na 20 minut SPME vlákno, na které se během extrakce nasorbovaly těkavé látky. Po ukončení extrakce bylo vlákno zasunuto do ocelového obalu a přeneseno do injektoru plynového chromatografu, kde došlo k desorpci těkavých látek z vlákna a k jejich identifikaci a kvantifikaci.

3.3.1 Podmínky SPME/GC/FID analýzy

- Teplota vodní lázně 35 °C
- Hmotnost vzorku 1,00 g (1,00 ml)
- Temperování vzorku 30 minut, doba extrakce na SPME vlákno 20 minut

- Desorpce: splitless injection do GC – ventil uzavřen po dobu 5 minut, teplota injektoru 250 °C
- Nosný plyn dusík N₂, optimální průtok 0,9 ml·min⁻¹
- Teplotní program: 40 °C s výdrží 1 minutu, vzestupný gradient 5 °C za minutu do 200 °C s výdrží 7 minut, celková doba analýzy 42 minut
- Detektor FID (plamenově ionizační), teplota 220 °C, průtok vodíku 35 ml·min⁻¹, průtok vzduchu 350 ml·min⁻¹, make-up dusíku 30 ml·min⁻¹

3.3.2 Vyhodnocení výsledků SPME/GC/FID analýzy

Vyextrahované SAL byly identifikovány a kvantifikovány pomocí standardů. Identifikace byla založena na porovnání retenčních časů vzorků a standardů. Kvantifikace byla založena na srovnání odpovídající plochy píku analyzovaného vzorku a standardu o známých množstvích a za stejných podmínek.

Koncentrace SAL byla vypočtena podle následujícího vztahu:

$$c_i = \frac{A_i}{A_s} \cdot c_s \quad (1)$$

kde c je koncentrace v ng/ml a A příslušná plocha píku. Index i označuje vzorek a index s označuje standard. Platí: $c = \text{ng/ml} \sim \text{ng/g}$ sýru

3.3.3 Statistické zpracování výsledků

Výsledky byly zpracovány pomocí Microsoft Office Excel 2010 a jsou uvedeny ve formě průměr $\pm$ směrodatná odchylka. Každý vzorek byl analyzován třikrát ($n = 3$).

Pro statistické porovnání výsledků byla použita metoda ANOVA a Duncanův test, pro zkoumání korelací mezi obsahem identifikovaných sloučenin byla použita metoda PCA [58]; statistický software Statistica, v. 12. Veškeré statistické testování bylo provedeno na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Stanovení senzoricky aktivních látek pomocí SPME/GC/FID

Tato práce je součástí rozsáhlé studie, která se zabývá studiem senzorické kvality přírodních sýrů eidamského typu a tavených sýrů, se zaměřením především na flavour a s ním související obsah senzoricky aktivních látek. Probíhá ve spolupráci s UTB ve Zlíně, která disponuje potřebným technologickým vybavením pro výrobu sýrů. Podstatou této práce byla identifikace a kvantifikace senzoricky aktivních látek a následné porovnání změn obsahu stanovených látek v průběhu výroby přírodních/tavených sýrů. Modelové vzorky sýrů byly vyrobeny standardním technologickým postupem (viz kapitola 3.2).

Jako metoda pro stanovení SAL v sýrech/tavených sýrech byla zvolena mikroextrakce pevnou fází v kombinaci s plynovou chromatografií s FID detekcí (SPME/GC/FID). SPME je jednoduchá, rychlá a snadno použitelná extrakční technika, která je v poslední době poměrně často aplikována mimo jiné i pro stanovení SAL v různých typech vzorků včetně sýrů, lze zde uvést např. práce Franka a kol. [59] a/nebo Verzera a kol. [60].

Tato metoda je zavedena a používána i na ÚCHPBT a byla již aplikována pro analýzu různých typů vzorků včetně přírodních a tavených sýrů v rámci řešení diplomových a bakalářských prací. Přesný postup a podmínky stanovení byly převzaty z citovaných předchozích bakalářských a diplomových prací [61, 62].

V rámci této práce byly proměřeny vzorky sýrů eidamského typu a vzorky tavených sýrů, které z nich byly vyrobeny. Sýry byly analyzovány okamžitě po výrobě, přesněji řečeno 48 hodin od jejich výroby. Dále byly proměřeny po 2 měsících zrání a následně z nich byly vyrobeny tavené sýry, které byly podrobeny po 3 měsících skladování také analýze. Jednotlivé série vzorků (výroby) se od sebe lišily použitým pasteračním zahřevem (teplota vs. doba) a použitým tavicím zahřevem (teplota vs. doba). Cílem tedy nebyl pouze monitoring senzorických látek v průběhu výroby, ale i posouzení vlivu pasteračního resp. tavicího zahřevu na obsah stanovených senzoricky aktivních látek.

Podmínky analýzy a postup jsou uvedeny v kapitolách 3.2.1 a 3.3.1.

4.1.1 Standardy senzoricky aktivních látek

Vyextrahované SAL byly identifikovány srovnáním retenčních časů a kvantifikovány srovnáním ploch píků s identickými standardy známé koncentrace. V tabulce 3 jsou uvedeny jednotlivé standardy společně s jejich retenčními časy a koncentracemi.

Tabulka 3a: Standardy použité pro identifikaci a kvantifikaci

Sloučenina	Retenční čas [min]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
ethanal	3,61	96,8
propanal	4,91	107,6
propan-2-on	5,24	0,002
methylethanoát	5,35	4,0
ethylethanoát	6,37	4,6
butan-2-on	6,61	9,7
methanol	6,63	3 156,8
2-methylpropan-2-ol	6,70	8,5

Tabulka 3b: Standardy použité pro identifikaci a kvantifikaci (pokračování)

3-methylbutan-1-al	6,98	6,5
propan-2-ol	7,20	212,2
ethanol	7,42	393,7
butan-2,3-dion	8,20	15,9
propylethanoát	8,22	2,4
pentan-2-on	8,37	1,7
pentanal	8,38	1,3
4-methylpentan-2-on	9,00	2,2
butan-2-ol	9,52	1 224,7
ethylbutanoát	9,72	0,8
propanol	9,84	34,6
butylethanoát	10,62	0,7
2-methylpropan-1-ol	11,34	1 987,2
hexanal	11,87	2,2
pentan-2-ol	12,16	328,1
butanol	12,88	13,1
heptanal	13,34	0,4
heptan-2-on	13,64	0,9
3-methylbutan-1-ol	14,50	349,1
2-methylbutan-1-ol	14,51	8,8
pentan-1-ol	15,75	8,8
oktanal	16,57	0,3
3-hydroxybutan-2-on	16,90	1,0
heptan-2-ol	17,40	0,3
hexan-1-ol	18,32	1,8
nonan-2-on	19,28	0,9
nonanal	19,69	0,2
oktan-2-ol	19,95	1,1
ethyloktanoát	20,33	0,6
okt-1-en-3-ol	20,70	1,2
k. ethanová	20,76	680,4
dekan-2-on	21,95	0,7
nonan-2-ol	22,42	1,8
k. propanová	22,89	482,1
fenylmethanal	23,05	1,1
k. 2-methylpropanová	23,64	127,8
oktan-1-ol	24,43	0,2
undekan-2-on	24,58	0,7
k. butanová	25,09	242,6
fenylethanal	25,79	55,4
kyselina 3-methylbutanová	26,05	954,2
ethyldekanoát	26,06	0,7
dekan-1-ol	28,25	17,9
fenylethanol	29,44	21,8
k. 2-hydroxypropanová	29,91	12 087,9
benzylalkohol	30,87	28,2

Tabulka 3c: Standardy použité pro identifikaci a kvantifikaci (pokračování)

k. hexanová	34,30	190,0
k. oktanová	34,32	270,3
k. dekanová	40,44	54 000,0

4.1.2 Výsledky SPME/GC/FID analýzy

Celkově bylo ve všech vzorcích identifikováno 42 sensoricky aktivních látek, z nichž bylo 6 aldehydů, 7 ketonů, 15 alkoholů, 6 esterů a 8 nižších mastných kyselin. Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích je uvedeno v grafech 1, 8 a 15.

V tabulkách 4–10 je uveden celkový přehled stanovených SAL v jednotlivých vzorcích, v grafech 2, 9 a 16 je přehledně znázorněno srovnání celkového obsahu identifikovaných sloučenin, v grafech 3–7, 10–14 a 17–21 srovnání jednotlivých chemických skupin. V grafech 22–24 srovnání celkového zastoupení jednotlivých chemických skupin v jednotlivých vzorcích.

Tabulka 4a: Přehled stanovených sensoricky aktivních látek ve vzorcích nepasterovaného mléka

Skupina / Sloučenina	Výroba 1 c [ng·ml ⁻¹]	Výroba 2 c [ng·ml ⁻¹]	Výroba 3 c [ng·ml ⁻¹]
Aldehydy (celkový obsah):	28,85 ± 1,19*	24,87 ± 1,06*	30,51 ± 1,59*
ethanal	11,17 ± 0,77*	3 918 ± 222	10,18 ± 0,34*
propanal	17,47 ± 0,91*	20,88 ± 1,04*	20,33 ± 1,55*
3-methylbutan-1-al	202 ± 29	72,7 ± 3,5	-
heptanal	10,9 ± 1,0	-	-
Ketony (celkový obsah):	945 ± 30	1 129 ± 41	1 214 ± 100
butan-2-on	762 ± 23	921 ± 41	992 ± 100
4-methylpentan-2-on	183 ± 19	208,8 ± 2,6	212,6 ± 3,9
dekan-2-on	-	-	9,4 ± 1,0
Alkoholy (celkový obsah):	16,40 ± 0,42*	25,24 ± 0,45*	16,59 ± 0,37*
ethanol	6 684 ± 178	13,85 ± 0,39*	11,57 ± 0,34*
butan-2-ol	1 401 ± 29	2 750 ± 59	1 385 ± 85
propanol	156,5 ± 1,1	363 ± 24	-
2-methylpropan-1-ol	3 089 ± 86	-	-
3-methylbutan-1-ol	1 146 ± 87	-	1 077 ± 79
propan-2-ol	3 808 ± 361	8 270 ± 213	2 440 ± 99
dekan-1-ol	112,5 ± 6,0	-	107,9 ± 2,0
heptan-2-ol	-	-	12,1 ± 0,5
Estery (celkový obsah):	63,7 ± 1,4	-	34,0 ± 0,4
ethylethanoát	46,7 ± 1,1	-	-

Tabulka 4b: Přehled stanovených sensoricky aktivních látek ve vzorcích nepasterovaného mléka (pokračování)

ethylbutanoát	17,0 ± 1,0	-	7,1 ± 0,3
ethyldekanoát	-	-	27,0 ± 0,3
Kyseliny (celkový obsah):	10,33 ± 0,80*	9 681 ± 988	17,95 ± 0,65*
k. propanová	1 106 ± 11	-	-
k. 3-methylbutanová	9 225 ± 802	9 681 ± 988	9 365 ± 647
k. ethanová	-	-	7 830 ± 20
k. butanová	-	-	752,2 ± 6,3
Celkový obsah SAL:	56,59 ± 1,50*	60,92 ± 1,52*	66,29 ± 1,76*

* konc. v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ mléka

Tabulka 5: Přehled stanovených sensoricky aktivních látek ve vzorcích pasterovaného mléka

Skupina / Sloučenina	Výroba 1 c [$\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Výroba 2 c [$\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Výroba 3 c [$\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$]
Aldehydy (celkový obsah):	21,43 ± 0,48*	23,51 ± 0,66*	44,68 ± 0,45*
ethanal	5 828 ± 195	6 207 ± 168	28,38 ± 0,43*
propanal	15,60 ± 0,44*	17,30 ± 0,64*	16,30 ± 0,14*
Ketony (celkový obsah):	816 ± 17	1 065 ± 44	976,0 ± 8,2
butan-2-on	595 ± 14	804 ± 41	725,0 ± 8,2
4-methylpentan-2-on	222 ± 10	261 ± 16	251,0 ± 0,1
Alkoholy (celkový obsah):	10,01 ± 0,33*	25,76 ± 0,50*	65,89 ± 0,62*
ethanol	6 364 ± 176	13,13 ± 0,49*	12,26 ± 0,55*
butan-2-ol	2 898 ± 278	11,35 ± 0,10*	47,74 ± 0,11*
propanol	146 ± 15	327,1 ± 4,3	-
3-methylbutan-1-ol	604 ± 19	950 ± 46	-
propan-2-ol	-	-	5 885 ± 259
Estery (celkový obsah):	21,4 ± 1,3	-	18,7 ± 0,5
ethylbutanoát	10,0 ± 1,0	-	18,7 ± 0,5
butylethanoát	11,5 ± 0,9	-	-
Kyseliny (celkový obsah):	8 886 ± 685	7 933 ± 577	8 203 ± 499
k. 3-methylbutanová	8 886 ± 685	7 933 ± 577	8 203 ± 499
Celkový obsah SAL:	41,16 ± 0,90*	58,26 ± 1,01*	119,77 ± 0,91*

* konc. v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ mléka

Tabulka 6: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích nezralých sýrů

Skupina / Sloučenina	Výroba 1 c [ng·g ⁻¹]	Výroba 2 c [ng·g ⁻¹]	Výroba 3 c [ng·g ⁻¹]
Aldehydy (celkový obsah):	10,88 ± 0,76*	12,51 ± 1,18*	11,62 ± 1,06*
ethanal	4 682 ± 79	4 537 ± 141	4 132 ± 149
propanal	5 953 ± 752	7 834 ± 1 173	7 290 ± 1 045
3-methylbutan-1-al	245 ± 18	143,3 ± 1,7	196,8 ± 9,9
Ketony (celkový obsah):	2 179 ± 63	4 282 ± 177	1 981 ± 14
butan-2-on	411 ± 37	567 ± 31	467 ± 39
butan-2,3-dion	683 ± 22	1 866 ± 133	843 ± 120
4-methylpentan-2-on	639 ± 41	348 ± 24	233,4 ± 7,4
dekan-2-on	10,0 ± 0,5	9,0 ± 0,4	-
3-hydroxybutan-2-on	437 ± 22	1 492 ± 110	439 ± 42
Alkoholy (celkový obsah):	454,50 ± 19,53*	662,63 ± 23,22*	677,58 ± 43,14*
ethanol	438,51 ± 18,99*	647,13 ± 23,21*	666,37 ± 43,13*
butan-2-ol	12,04 ± 4,54*	7 349 ± 495	5 445 ± 718
propanol	654 ± 85	936 ± 74	200,2 ± 2,3
2-methylpropan-1-ol	3 192 ± 37	7 101 ± 284	4 242 ± 73
3-methylbutan-1-ol	-	-	1 309 ± 69
butanol	84,0 ± 3,1	95,5 ± 4,4	-
pentan-1-ol	28,2 ± 1,0	20,8 ± 1,4	18,0 ± 1,0
Estery (celkový obsah):	24,0 ± 9,8	70,0 ± 0,7	58,3 ± 3,1
ethylethanoát	-	49,9 ± 0,5	-
ethylbutanoát	24,0 ± 9,8	20,2 ± 0,5	25,9 ± 0,7
ethyldekanoát	-	-	32,5 ± 3,0
Kyseliny (celkový obsah):	47,27 ± 1,92*	42,13 ± 0,68*	39,70 ± 0,83*
k. propanová	2 453 ± 346	1 178,9 ± 5,0	2 600 ± 337
k. 3-methylbutanová	11,27 ± 1,67*	8 639 ± 374	5 525 ± 674
k. ethanová	28,10 ± 0,83*	31,36 ± 0,57*	30,28 ± 0,34*
k. butanová	4 532 ± 247	958 ± 16	-
k. 2-methylpropanová	919 ± 64	-	1 287 ± 114
Celkový obsah SAL:	514,86 ± 19,64*	721,63 ± 23,26*	730,94 ± 43,16*

* konc. v µg.g⁻¹ sýra

Tabulka 7a: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích zralých sýrů

Skupina / Sloučenina	Výroba 1 c [ng·g ⁻¹]	Výroba 2 c [ng·g ⁻¹]	Výroba 3 c [ng·g ⁻¹]
Aldehydy (celkový obsah):	15,39 ± 1,63*	11,63 ± 0,93*	3 148 ± 49
ethanal	14,02 ± 1,62*	3 043 ± 217	2 400 ± 29
propanal	1 227 ± 150	873 ± 123	525 ± 39
3-methylbutan-1-al	114,5 ± 5,6	7 695 ± 895	204,1 ± 7,2
pentanal	2,8 ± 0,2	-	-
hexanal	12,1 ± 0,4	13,9 ± 0,9	18,7 ± 0,2
heptanal	7,7 ± 0,7	-	-
Ketony (celkový obsah):	1 667 ± 107	438 ± 27	263 ± 33
butan-2-on	338 ± 29	116,4 ± 9,4	51,2 ± 3,3
butan-2,3-dion	778 ± 78	49,8 ± 5,7	76,2 ± 1,8
4-methylpentan-2-on	183 ± 19	271 ± 24	119 ± 33
dekan-2-on	9,7 ± 0,7	-	9,1 ± 0,1
3-hydroxybutan-2-on	359 ± 64	-	8,1 ± 0,1
Alkoholy (celkový obsah):	8 798,29 ± 542,98*	5 429,98 ± 155,95*	5 718,12 ± 173,87*
propan-2-ol	5 323 ± 323	-	-
ethanol	8 771,30 ± 542,97*	5 419,56 ± 155,95*	5 710,39 ± 173,87*
butan-2-ol	13,09 ± 2,10*	2 112 ± 231	2 123 ± 77
propanol	557 ± 84	525 ± 50	340,5 ± 2,1
2-methylpropan-1-ol	6 207 ± 837	7 563 ± 500	3 949 ± 299
3-methylbutan-1-ol	1 564 ± 250	-	734 ± 17
butanol	43,5 ± 5,1	37,6 ± 1,5	38,6 ± 0,8
pentan-1-ol	33,5 ± 5,1	30,7 ± 0,8	35,6 ± 1,4
hexan-1-ol	6,5 ± 0,9	5,2 ± 0,7	-
oktan-1-ol	55,6 ± 8,0	-	-
dekan-1-ol	122 ± 18	138 ± 13	496 ± 20
heptan-2-ol	-	-	12,1 ± 0,3
Estery (celkový obsah):	513 ± 50	977 ± 84	805 ± 22
methylethanoát	66 ± 13	66,3 ± 8,5	-
ethylethanoát	389 ± 48	860 ± 83	733 ± 22
ethylbutanoát	19,3 ± 3,2	49,9 ± 4,1	52,0 ± 0,8
ethyldekanoát	20,3 ± 2,7	-	20,1 ± 0,8
butylethanoát	17,9 ± 1,9	-	-
Kyseliny (celkový obsah):	407,35 ± 30,82*	187,60 ± 16,59*	227,73 ± 6,51*
k. propanová	7 746 ± 919	5 984 ± 834	13,18 ± 0,38*
k. 3-methylbutanová	12,38 ± 1,14*	13,85 ± 1,71*	20,10 ± 2,93*
k. ethanová	135,21 ± 21,30*	143,33 ± 16,26*	141,47 ± 4,17*

Tabulka 7b: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích zralých sýrů (pokračování)

k. butanová	6 354 ± 846	3 455 ± 236	5 447 ± 392
k. 2-methylpropanová	1 885 ± 391	1 968 ± 130	1 593 ± 136
k. 2-hydroxypropanová	35,77 ± 2,14*	19,01 ± 2,69*	45,95 ± 4,01*
k. hexanová	23,69 ± 2,96*	-	-
k. dekanová	184,31 ± 21,90*	-	-
Celkový obsah SAL:	9 223,20 ± 543,85*	5 630,62 ± 156,83*	5 950,07 ± 173,99*

* konc. v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra

Tabulka 8a: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů z výroby 1

Skupina / Sloučenina	Výroba 1		
	85 °C, 1 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (A1)	85 °C, 5 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (B1)	85 °C, 10 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (C1)
Aldehydy (celkový obsah):	4 804 ± 36	13,76 ± 0,76*	14,93 ± 1,43*
ethanal	2 296,8 ± 7,0	3 423 ± 11	4 374 ± 237
propanal	2 234 ± 31	10,19 ± 0,76*	10,03 ± 1,41*
3-methylbutan-1-al	229 ± 17	111 ± 11	471,1 ± 9,3
pentanal	18,9 ± 0,5	6,8 ± 0,6	13,4 ± 1,9
heptanal	25,7 ± 0,3	27,4 ± 1,4	43,8 ± 2,9
Ketony (celkový obsah):	236,9 ± 4,3	238,3 ± 5,8	1 122 ± 92
butan-2-on	224,4 ± 4,3	-	75,1 ± 6,4
butan-2,3-dion	-	77,2 ± 0,1	145,3 ± 8,2
4-methylpentan-2-on	-	142,1 ± 5,8	854 ± 92
dekan-2-on	-	-	11,2 ± 1,2
3-hydroxybutan-2-on	12,4 ± 0,7	9,1 ± 0,2	14,2 ± 0,5
pentan-2-on	-	10,0 ± 0,6	18,7 ± 1,2
heptan-2-on	-	-	3,3 ± 0,2
Alkoholy (celkový obsah):	4 402,64 ± 4,06*	3 674,78 ± 273,48*	4 247,69 ± 492,75*
propan-2-ol	4 303 ± 546	-	-
ethanol	4 391,51 ± 3,96*	3 667,97 ± 273,48*	4 235,36 ± 492,75*
butan-2-ol	3 056 ± 399	2 378 ± 51	5 407 ± 639
2-methylbutan-1-ol	43,9 ± 0,6	-	-
2-methylpropan-1-ol	2 592 ± 531	4 374 ± 122	4 040 ± 268
3-methylbutan-1-ol	970 ± 191	-	1 171 ± 72
butanol	115 ± 71	45,8 ± 4,0	335 ± 30
pentan-1-ol	49,7 ± 1,5	21,5 ± 1,2	62,9 ± 0,6
pentan-2-ol	-	-	1 296 ± 102
hexan-1-ol	-	-	4,4 ± 0,2

Tabulka 8b: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů z výroby 1 (pokračování)

nonan-2-ol	-	-	11,6 ± 0,6
Estery (celkový obsah):	402 ± 11	1 112 ± 69	930 ± 66
propylethanoát	66,0 ± 1,2	35,9 ± 0,7	65,0 ± 2,6
ethylethanoát	314 ± 10	1 057 ± 69	808 ± 66
ethylbutanoát	22,4 ± 3,2	12,3 ± 0,3	46,6 ± 3,3
butylethanoát	-	6,6 ± 0,5	10,1 ± 0,4
Kyseliny (celkový obsah):	27,60 ± 3,13*	22,87 ± 0,48*	61,12 ± 3,30*
k. propanová	14,51 ± 2,95*	7 377 ± 53	6 980 ± 158
k. 3-methylbutanová	-	2 546 ± 63	3 483 ± 181
k. ethanová	6 044 ± 843	12,95 ± 0,47*	41,80 ± 3,24*
k. butanová	4 055 ± 81	-	5 411 ± 575
k. 2-methylpropanová	2 995 ± 596	-	3 449 ± 81
Celkový obsah SAL:	4 435,68 ± 5,12*	3 712,76 ± 273,48*	4 325,79 ± 492,77*

* konc. v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra

Tabulka 9a: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů z výroby 2

Skupina / Sloučenina	Výroba 2		
	85 °C, 1 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (A2)	85 °C, 5 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (B2)	85 °C, 10 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (C2)
Aldehydy (celkový obsah):	4 725 ± 58	4 964 ± 41	4 541 ± 364
ethanal	1 812 ± 57	1 483 ± 13	704,9 ± 1,1
propanal	2 668,5 ± 8,9	3 247 ± 39	3 586 ± 364
3-methylbutan-1-al	187,6 ± 6,1	220,2 ± 1,3	206,7 ± 3,6
pentanal	4,2 ± 0,3	3,2 ± 0,3	5,0 ± 0,2
heptanal	53,2 ± 1,9	10,7 ± 0,3	38,5 ± 0,3
Ketony (celkový obsah):	349,2 ± 9,5	523 ± 15	457 ± 15
butan-2-on	128,0 ± 6,5	304 ± 11	98,3 ± 1,8
butan-2,3-dion	22,2 ± 0,3	22,7 ± 0,2	157,2 ± 3,4
4-methylpentan-2-on	169,6 ± 6,9	156 ± 11	165 ± 14
3-hydroxybutan-2-on	13,9 ± 0,1	10,4 ± 0,1	13,2 ± 0,3
pentan-2-on	15,5 ± 0,5	30,7 ± 0,7	23,6 ± 0,4
Alkoholy (celkový obsah):	4 210,91 ± 14,66*	4 470,57 ± 50,55*	4 639,45 ± 8,32*
ethanol	4 203,61 ± 14,66*	4 461,33 ± 50,55*	4 631,97 ± 8,32*
butan-2-ol	1 793 ± 29	1 648 ± 130	1 793 ± 129
propanol	-	-	197,2 ± 5,8

Tabulka 9b: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů z výroby 2 (pokračování)

2-methylpropan-1-ol	5 143 ± 465	5 200 ± 141	4 622 ± 12
3-methylbutan-1-ol	-	2 323 ± 68	806 ± 16
butanol	331,6 ± 3,8	36,5 ± 1,1	35,1 ± 1,0
pentan-1-ol	30,6 ± 1,4	27,5 ± 0,7	30,3 ± 0,5
Estery (celkový obsah):	936 ± 32	625 ± 10	465,2 ± 4,4
propylethanoát	66,2 ± 1,5	79,8 ± 3,3	-
ethylethanoát	378,6 ± 2,7	404,8 ± 9,5	437,0 ± 4,3
ethylbutanoát	484 ± 31	133,2 ± 2,4	20,9 ± 0,9
butylethanoát	7,4 ± 0,4	6,8 ± 0,1	7,2 ± 0,3
Kyseliny (celkový obsah):	36,07 ± 0,46*	23,08 ± 0,74*	31,48 ± 0,52*
k. propanová	7 240 ± 135	5 023 ± 89	8 114 ± 502
k. 3-methylbutanová	2 328 ± 113	-	-
k. ethanová	20,74 ± 0,28*	11,39 ± 0,72*	16,49 ± 0,08*
k. butanová	4 206 ± 320	5 589,5 ± 2,4	5 202 ± 22
k. 2-methylpropanová	1 552 ± 43	1 079 ± 167	1 673 ± 96
Celkový obsah SAL:	4 252,98 ± 14,67*	4 499,76 ± 50,55*	4 676,40 ± 8,34*

* konc. v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra

Tabulka 10a: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů z výroby 3

Skupina / Sloučenina	Výroba 3		
	85 °C, 1 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (A3)	85 °C, 5 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (B3)	85 °C, 10 min c [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$] (C3)
Aldehydy (celkový obsah):	4 700 ± 181	4 887 ± 142	4 944 ± 180
ethanal	1 059 ± 76	764 ± 10	1 254 ± 114
propanal	3 440 ± 164	3 725 ± 139	3 492 ± 138
3-methylbutan-1-al	185 ± 12	358 ± 26	156 ± 15
pentanal	-	4,2 ± 0,4	3,9 ± 0,2
heptanal	15,7 ± 0,4	36,1 ± 2,9	37,7 ± 0,1
Ketony (celkový obsah):	352 ± 18	699 ± 114	348,6 ± 6,9
butan-2-on	64,2 ± 1,4	244,8 ± 0,7	115,1 ± 6,0
butan-2,3-dion	27,1 ± 0,5	135 ± 14	43,6 ± 0,1
4-methylpentan-2-on	226 ± 18	254 ± 113	147,0 ± 3,4
3-hydroxybutan-2-on	13,1 ± 0,4	20,1 ± 2,7	17,6 ± 0,5
pentan-2-on	8,9 ± 0,5	24,6 ± 2,0	15,3 ± 0,4
dekan-2-on	13,0 ± 0,1	20,2 ± 0,1	10,1 ± 0,2

Tabulka 10b: Přehled stanovených senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů z výroby 3 (pokračování)

Alkoholy (celkový obsah):	4 940,44 ± 3,29*	4 355,15 ± 48,23*	4 413,22 ± 0,22*
ethanol	4 933,33 ± 3,29*	4 346,43 ± 48,22*	4 407,93 ± 0,09*
butan-2-ol	3 807 ± 236	2 092 ± 162	1 616 ± 160
2-methylpropan-1-ol	3 240 ± 19	3 087 ± 133	2 926 ± 112
3-methylbutan-1-ol	-	3 483 ± 45	718 ± 34
butanol	29,6 ± 0,3	17,0 ± 0,1	-
pentan-1-ol	29,2 ± 1,6	32,4 ± 1,4	29,1 ± 0,1
Estery (celkový obsah):	650,2 ± 2,7	374 ± 25	499,8 ± 6,5
propylethanoát	-	-	77,8 ± 1,0
ethylethanoát	650,2 ± 2,7	345 ± 25	402,2 ± 6,1
ethylbutanoát	-	29,1 ± 3,5	19,8 ± 2,2
Kyseliny (celkový obsah):	21,84 ± 1,53*	54,94 ± 2,47*	21,93 ± 1,84*
k. propanová	7 058 ± 26	21,93 ± 0,35*	8 635 ± 433
k. ethanová	9 063 ± 1 482	25,39 ± 2,42*	9 101 ± 1 768
k. butanová	4 725 ± 371	5 785 ± 363	2 889 ± 242
k. 2-methylpropanová	990 ± 64	1 831 ± 111	1 300 ± 89
Celkový obsah SAL:	4 967,98 ± 3,64*	4 416,04 ± 48,29*	4 440,94 ± 1,86*

* konc. v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra

4.1.2.1 Vyhodnocení pasteračního účinku

V případě pasteračního a sterilizačního záhřevu se v praxi využívají různé teploty. Jednotlivé typy záhřevů (vyjádřené dobou τ , po kterou byla potravinu vystavena určité teplotě T) můžeme srovnat pomocí tzv. inaktivačního účinku. Inaktivační účinek je definovaný jako doba záhřevu F_0 (v minutách) potřebná pro požadovaný rozsah redukce daného modelového mikroorganismu (s definovanou hodnotou teplotní citlivosti z) účinkem referenční teploty T . Běžně užívanou referenční teplotou je $T = 121,1$ °C. Hodnotu F_0 vypočteme podle vztahu (2):

$$F_0 = \tau \cdot 10^{\frac{T-121,1}{z}} \quad (2)$$

kde τ je doba v min, po kterou působí teplota T v °C, a z je teplotní citlivost testovacího mikroorganismu.

Pro účely hodnocení pasteračního účinku P_0 se někdy zavádí ještě další referenční teplota $T = 60$ °C. V tomto případě se vztah (2) změní následovně (3) [63]:

$$P_0 = \tau \cdot 10^{\frac{T-60}{z}} \quad (3)$$

Ekvivalentně lze vyjádřit i termodestrukční čáry pro jednotlivé sloučeniny v mléce. Termodestrukční čarou pro danou chemickou látku budeme rozumět takové kombinace použité teploty T a doby τ jejího působení, které vedou k ekvivalentnímu snížení obsahu dané chemické látky. Teplotní citlivost z (°C) pak bude udávat, o kolik je třeba zvýšit teplotu

systému T (°C), abychom dosáhli stejného rozsahu destrukce dané látky při 90% snížení doby τ .

Jedním z hlavních cílů této práce bylo posouzení vlivu použitého pasteračního záhřevu mléka na obsah stanovených látek. Aby bylo možné porovnávat různé použité kombinace teplota/doba pasterace, byly tyto přepočítány na pasterační účinek (P_0). Pro výpočet dosaženého pasteračního účinku byl použit vzorec (3) a na základě literatury byla zvolena hodnota $z = 25$ °C, což je střední hodnota pro očekávané nežádoucí chemické změny.

Tabulka 11: Dosažený pasterační účinek pro jednotlivé výroby

	Výroba 1	Výroba 2	Výroba 3
teplota	65 °C	80 °C	74 °C
čas	30 min	30 s	30 s
pasterační účinek	47,5 min	3,2 min	1,8 min

Výsledky jsou uvedeny v tabulce 11. Je zřejmé, že výrazně nejvyššího pasteračního účinku (nejvyššího tepelného namáhání) bylo dosaženo kombinací 65 °C, 30 min (výroba 1). U výroby 2 a 3 rozdíl není tak markantní, nejmenší pasterační účinek poskytuje kombinace 74 °C, 30 s (výroba 3).

4.1.2.2 Vliv pasteračního záhřevu na obsah SAL ve vzorcích mléka

Celkem byly vyrobeny tři série vzorků sýrů (označeny 1, 2 a 3); jak již bylo uvedeno, pro výrobu bylo vždy použito odstředěné mléko (obsah tuku cca 0,1 %), u něhož byl přídavkem smetany (tučnost 18 %) standardizován obsah tuku na 3,5 %. V této fázi byl odebrán vzorek mléka (označený jako „nepasterované“) a podroben analýze. Je zajímavé, že už zde byly nalezeny rozdíly v počtu i obsahu nalezených SAL (viz grafy 1–7; tabulka 4), přestože mléko pochází od téhož producenta; mléko bylo odebíráno ve dvou dnech, pro každou výrobu zvlášť.

V případě nepasterovaného mléka ve vzorku 1 bylo identifikováno 17 sloučenin, ve vzorku 2 celkem 10 a ve vzorku 3 celkem 16 sloučenin. Celkový obsah identifikovaných těkavých látek se pohyboval v rozsahu cca 56–66 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ mléka. Rozdíly je potřeba přičíst různým faktorům, které ovlivňují produkci mléka u hospodářských zvířat, jako např. způsob krmení, zdravotní stav, laktační cyklus apod. [5, 64]. U vzorku z výroby 3 byl nalezen vysoký obsah kyselin (graf 7), pravděpodobně z fermentace laktosy činností přítomných mikroorganismů, ve vzorku 2 překvapivě nebyly identifikovány žádné estery (graf 6). Obsah ostatních chemických skupin byl obdobný u všech tří výroby.

Standardizované mléko bylo následně pasterováno, přičemž byly aplikovány tři různé kombinace teploty a doby záhřevu (tabulka 1). V této fázi byl vždy odebrán vzorek mléka (označený jako „pasterované“) a podroben analýze (grafy 1–7; tabulka 5).

Ve vzorku 1 bylo identifikováno 11 sloučenin, ve vzorku 2 celkem 9 a ve vzorku 3 celkem 9 sloučenin. Celkový obsah identifikovaných těkavých látek se pohyboval v rozsahu cca 41–120 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ mléka.

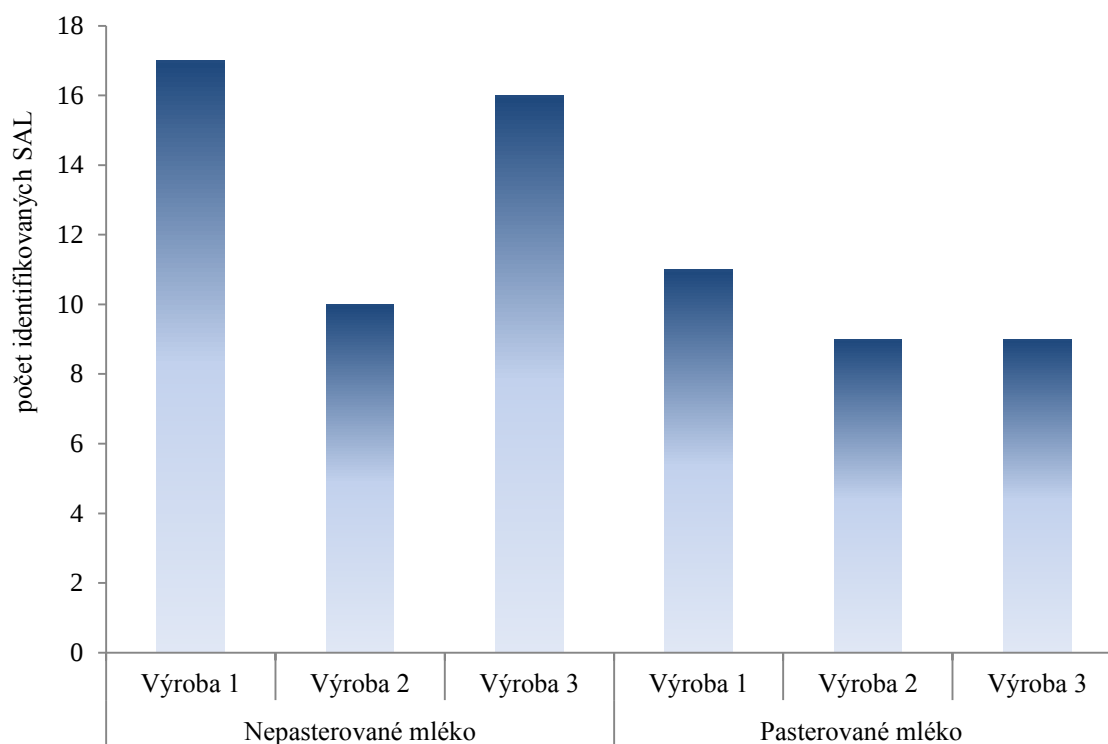
V důsledku pasteračního záhřevu došlo ke snížení počtu identifikovaných SAL u všech tří výroby. Konkrétně došlo ke ztrátě těkavých kyselin (propanová, ethanová a butanová), esterů ethylethanoátu a ethyldekanoátu, některých alkoholů (2-methylpropan-1-ol, dekan-1-ol a heptan-2-ol) a 3-methylbutan-1-olu, heptanal a dekan-2-onu.

V pasterovaném mléce ze všech tří výrob se tedy nacházely v podstatě tytéž sloučeniny, ale v různém množství. Mezi vzorky byly nalezeny významné rozdíly v obsahu SAL (graf 2). Pasterační záhřev má pravděpodobně vliv především na obsah těkavých látek.

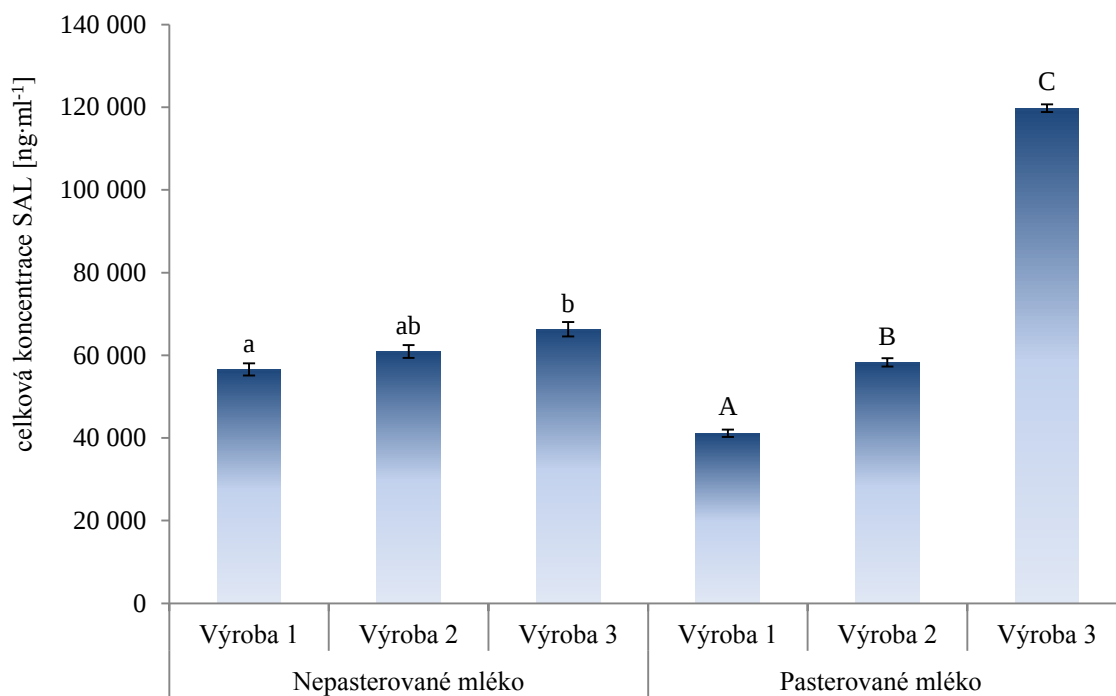
Ve vzorku 3 (pasterace 74 °C, 30 s) byl nalezen nejvyšší celkový obsah SAL (119,77 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Tento záhřev, jak je patrné z tabulky 11, je považován za nejšetrnější ke složkám mléka [63], došlo zde ke zvýšení celkového obsahu sloučenin oproti mléku nepasterovanému, především kvůli vysokému obsahu ethanalu, a alkoholů butan-2-olu a propan-2-olu, který nebyl v ostatních vzorcích vůbec. Tyto látky se pravděpodobně vytvořily působením záhřevu [63].

Ve vzorku 1 (65 °C, 30 min) byl nalezen celkový obsah SAL pouze 41,16 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, ve vzorku 2 (80 °C, 30 s) 58,26 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$; u obou těchto výrob došlo ke snížení celkového obsahu oproti mléku nepasterovanému. Vyšší pasterační teplota a/nebo doba (vyšší pasterační účinek) pravděpodobně způsobuje větší degradaci některých sloučenin [63], v tomto případě především výrazný pokles propanalu a kys. 3-methylbutanové. Ke zvýšení obsahu došlo pouze v případě butan-2-olu.

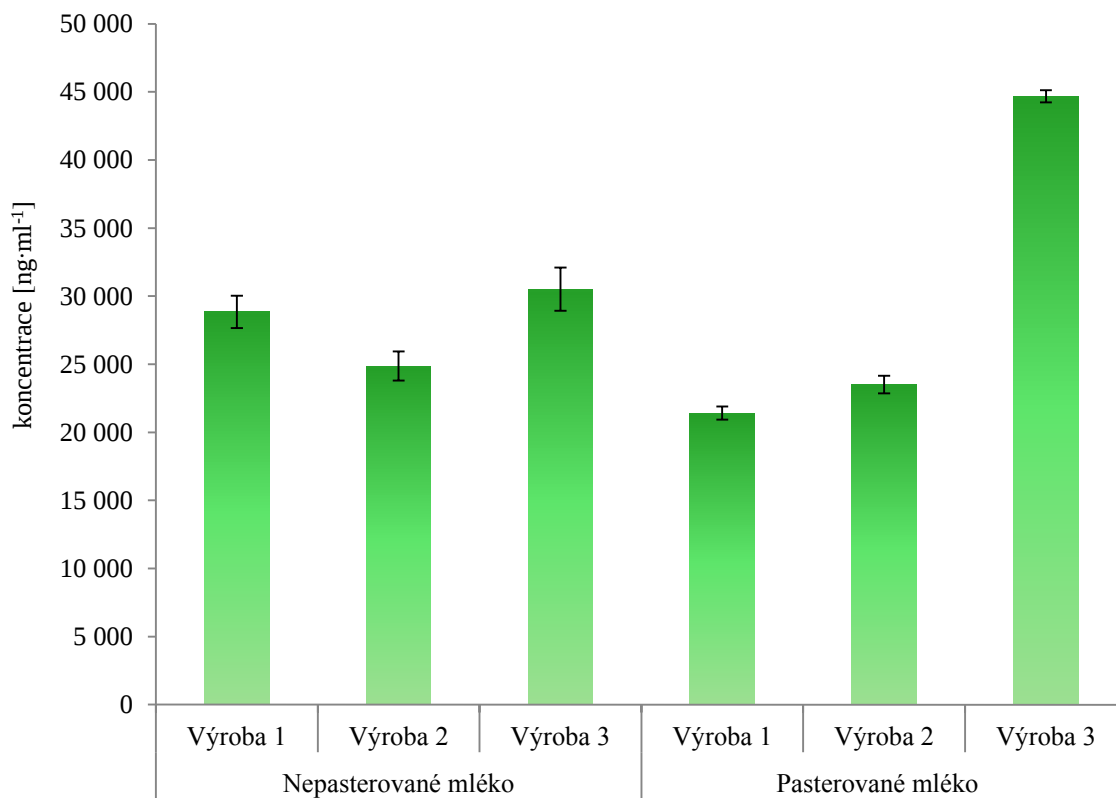
Obsah ketonů a kyselin byl srovnatelný u všech tří výrob (graf 4 a 7).



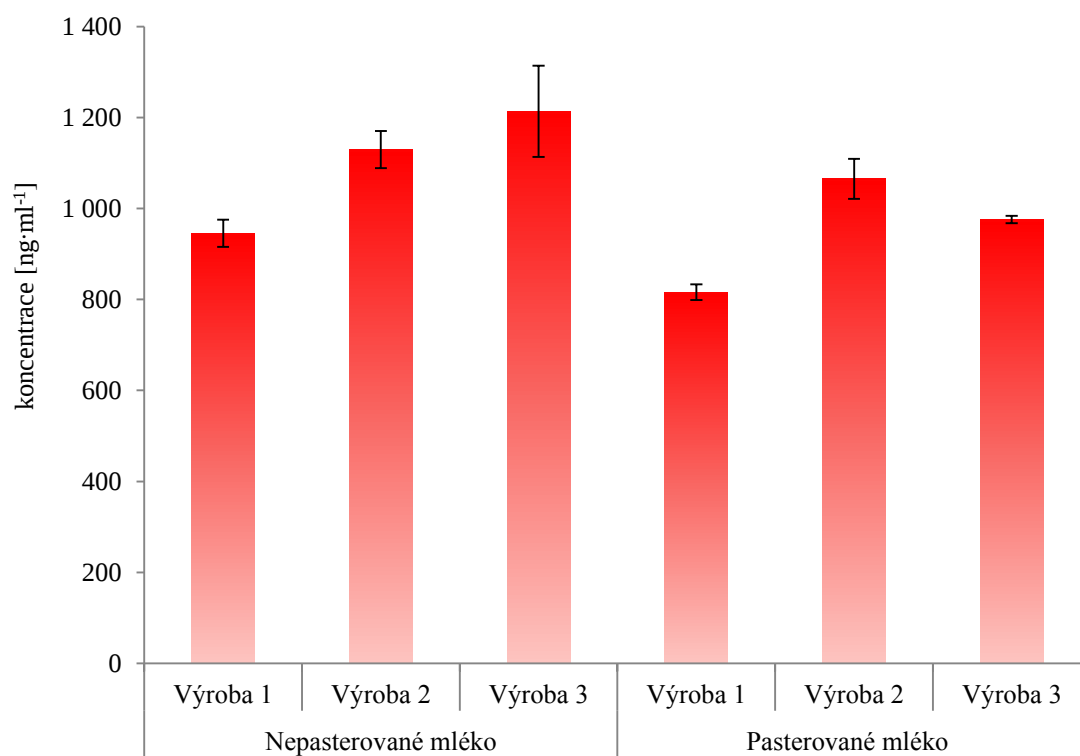
Graf 1: Srovnání celkového počtu identifikovaných sensoricky aktivních látek ve vzorcích mléka



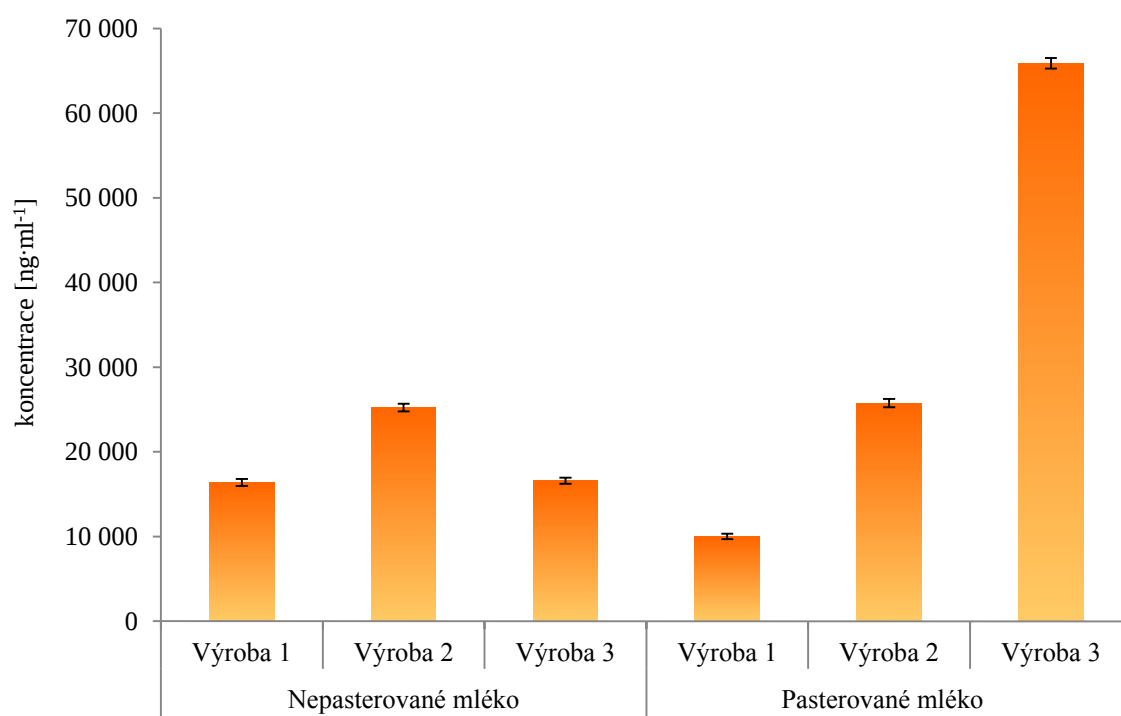
Graf 2: Srovnání celkového obsahu identifikovaných senzoricky aktivních látek ve vzorcích mléka; různá písmena označují statisticky významný rozdíl ($p < 0.05$) mezi vzorky



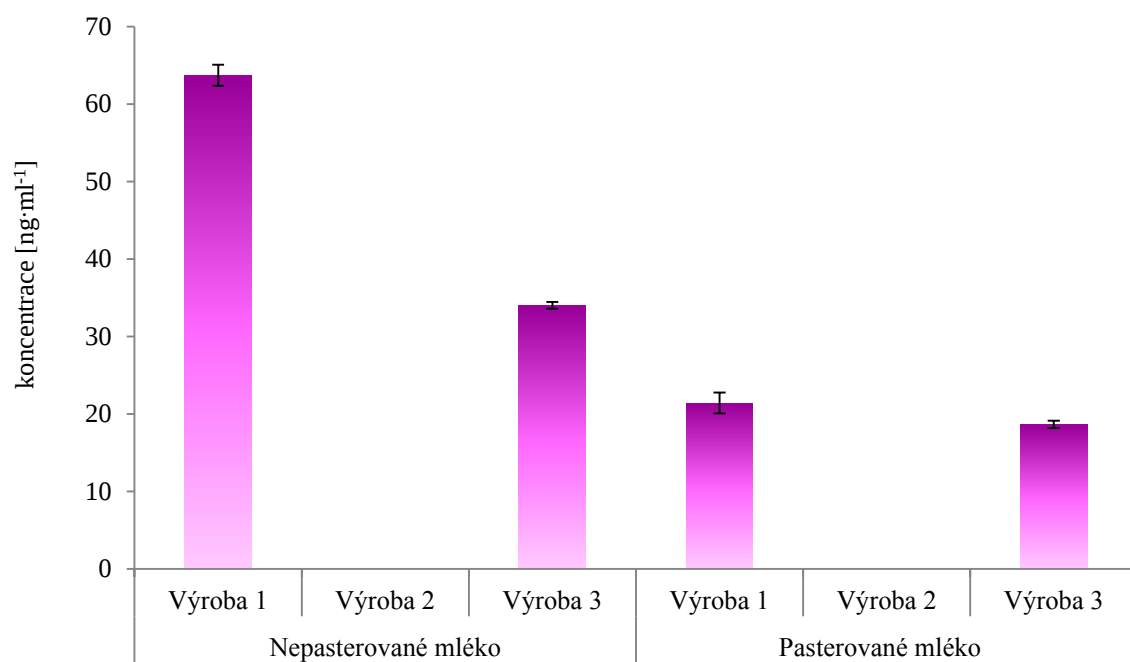
Graf 3: Srovnání celkového obsahu aldehydů ve vzorcích mléka



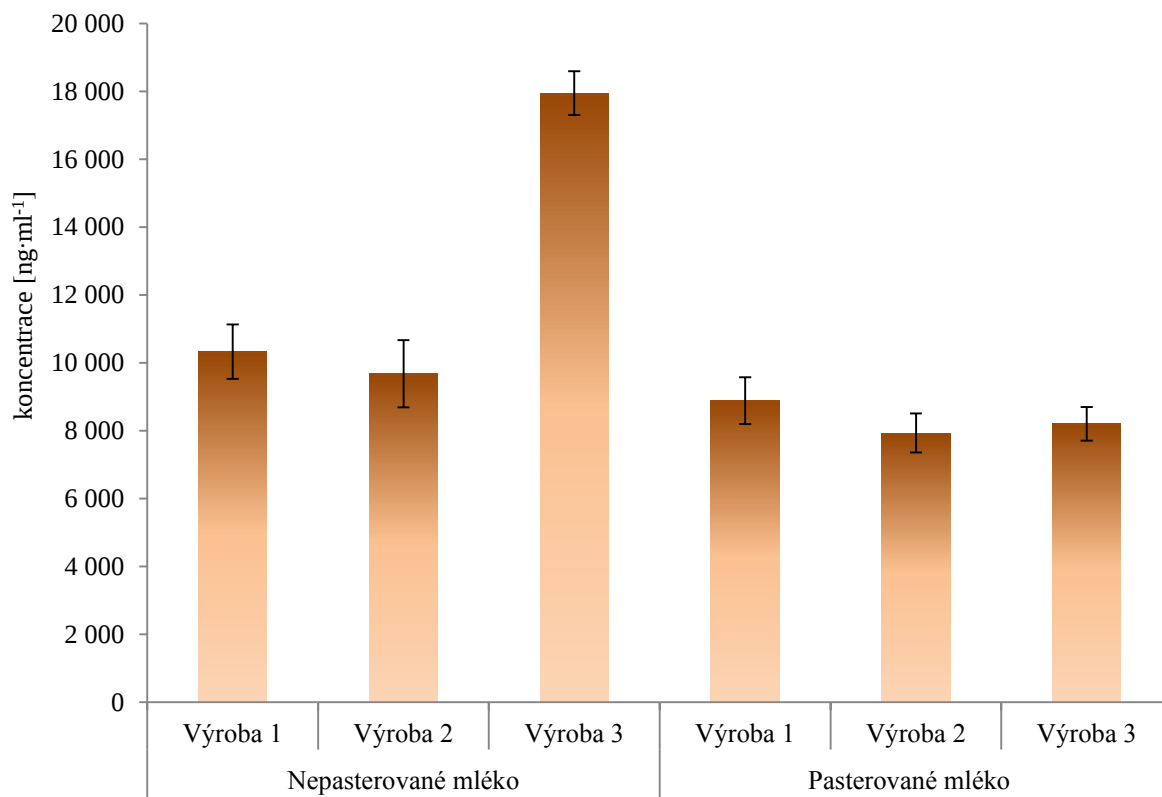
Graf 4: Srovnání celkového obsahu ketonů ve vzorcích mléka



Graf 5: Srovnání celkového obsahu alkoholů ve vzorcích mléka



Graf 6: Srovnání celkového obsahu esterů ve vzorcích mléka



Graf 7: Srovnání celkového obsahu kyselin ve vzorcích mléka

4.1.2.3 Vliv pasteračního záhřevu na obsah SAL ve vzorcích sýrů

Z pasterovaného mléka všech tří výroby byl standardním technologickým postupem vyroben sýr eidamského typu (kap. 3.2), který byl následně analyzován okamžitě po výrobě, resp. 48 hodin po zabalení (vzorky označeny jako „nezralý Eidam“), a po 2 měsících zrání (vzorky označeny jako „zralý Eidam“).

V případě nezralých sýrů ve vzorku 1 bylo identifikováno 20 sloučenin, ve vzorku 2 celkem 20 a ve vzorku 3 celkem 19 sloučenin (graf 8). Jednalo se prakticky o tytéž sloučeniny, lišil se opět jen jejich obsah. Celkový obsah identifikovaných těkavých látek se pohyboval v rozsahu cca 515–731 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra (tabulka 6).

Mezi vzorky byly nalezeny rozdíly v obsahu SAL (graf 9). U všech tří výroby došlo podle očekávání k výraznému zvýšení počtu i obsahu SAL oproti použitému mléku.

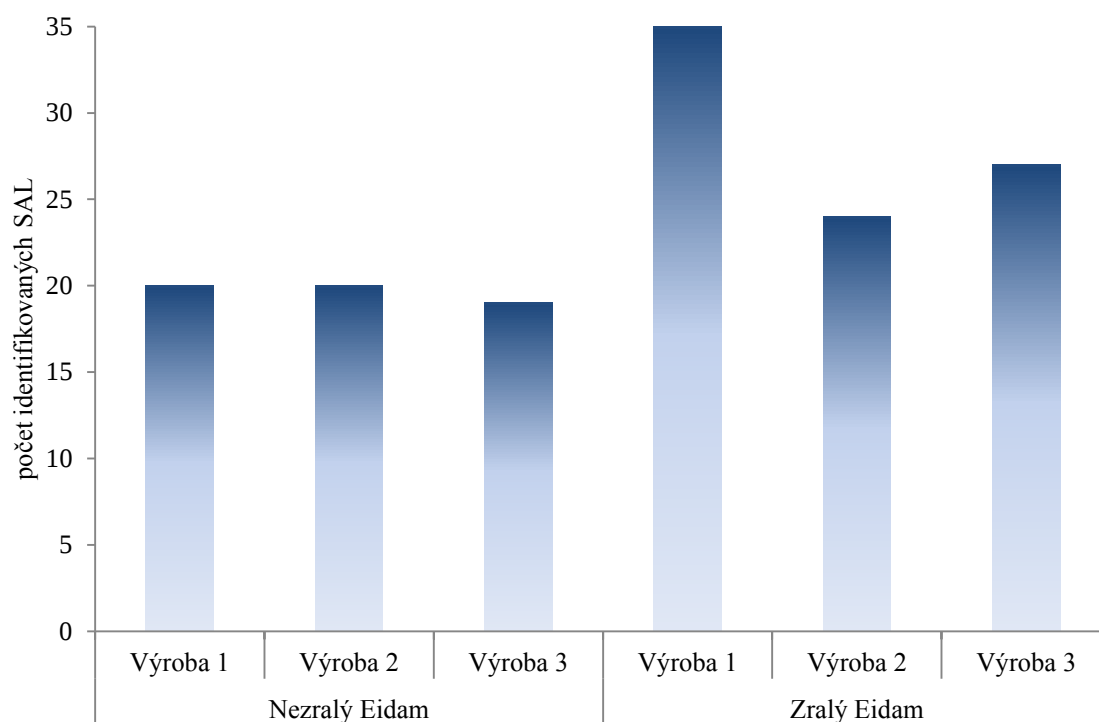
Ve vzorku 1 (pasterace 65 °C, 30 min) byl nalezen mírně nižší celkový obsah SAL (514,86 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$); ve vzorku 2 (80 °C, 30 s) a 3 (74 °C, 30 s) byl celkový obsah SAL obdobný (721,63 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a 730,94 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Tento trend zhruba kopíruje i obsah jednotlivých chemických skupin, s výjimkou ketonů, jichž byl nalezen vysoký obsah ve vzorku 2 (graf 11) díky vysoké koncentraci butan-2,3-dionu a 3-hydroxybutan-2-onu. V této fázi není vliv různého pasteračního záhřevu na obsah a složení identifikovaných sloučenin výrazně patrný. Rozdíly se výrazněji projevují až u vzorků zralých sýrů.

Ve vzorku 1 zralých sýrů bylo identifikováno 35 sloučenin, ve vzorku 2 celkem 24 a ve vzorku 3 celkem 27 sloučenin (graf 8). Celkový obsah identifikovaných těkavých látek se pohyboval v rozsahu cca 5 631–9 223 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra. Složení vzorku 2 a 3 bylo velmi podobné, obsahovaly prakticky tytéž sloučeniny, lišil se opět jen jejich obsah (graf 9; tabulka 7).

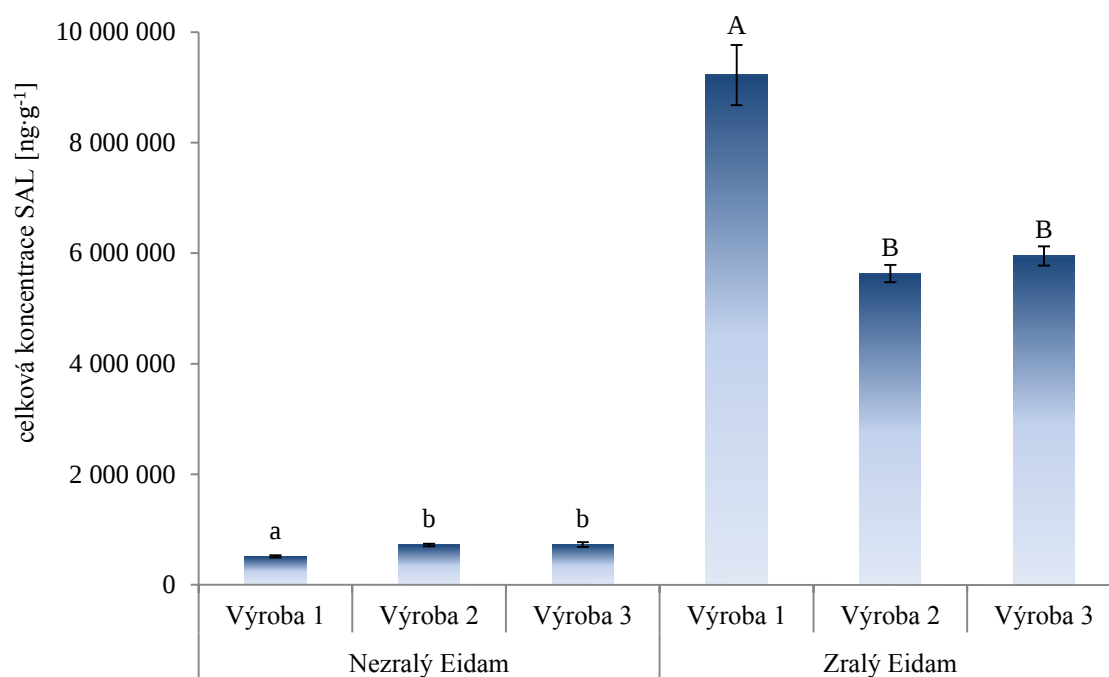
Mezi vzorky byly nalezeny významné rozdíly v obsahu SAL (graf 9). U všech tří výroby došlo podle očekávání ke zvýšení počtu a výraznému zvýšení obsahu SAL oproti sýrům nezralým. Právě v průběhu zrání sýrů dochází k tvorbě SAL jako důsledek proteolytických a na ně navazujících změn [36].

Ve vzorku 1 (pasterace 65 °C, 30 min) byl nalezen nejvyšší celkový obsah SAL (9 223,20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). K výraznému zvýšení obsahu, pravděpodobně díky dlouhotrvajícímu záhřevu, došlo hlavně u aldehydů (ethanal), alkoholů (propan-2-ol, ethanol, 2-methylpropanol a 3-methylbutanol) a kyselin (propanová, 3-methylbutanová, ethanová, 2-hydroxypropanová, hexanová a dekanová). Zajímavé je, že tady dochází k opačnému trendu jako u pasterovaného mléka a nezralých sýrů, kde byl naopak nalezen nejnižší obsah SAL ve vzorku 1.

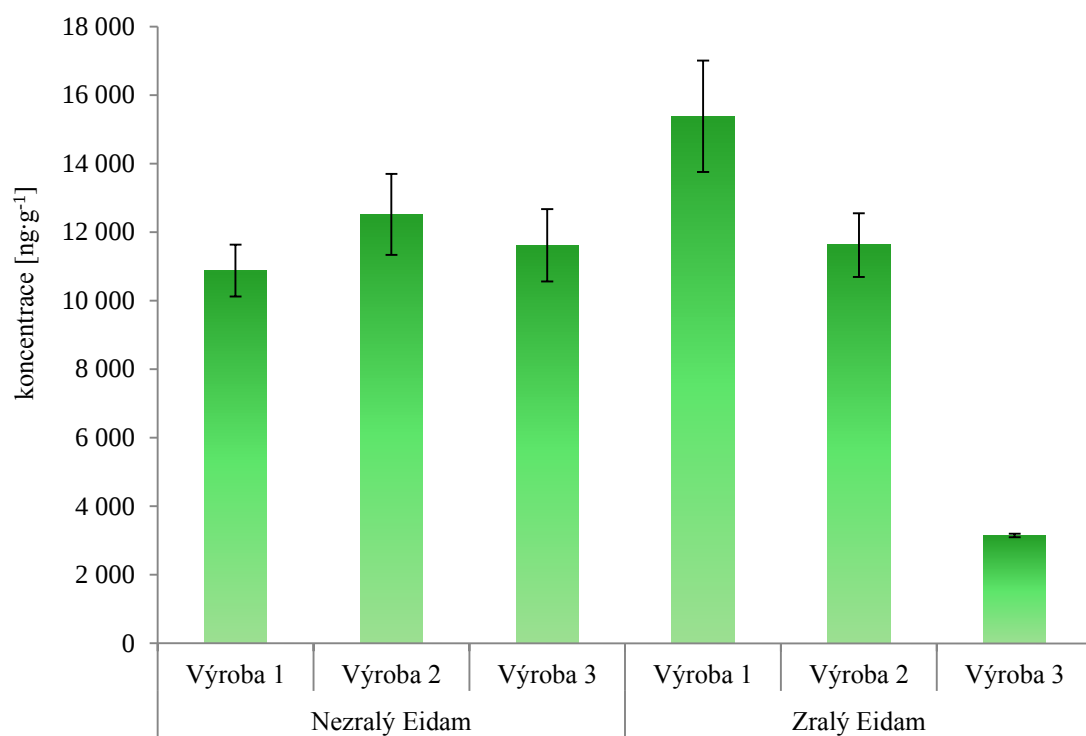
Mezi vzorky 2 a 3 není významný rozdíl, stejně jako v případě nezralých sýrů; ve vzorku 2 (80 °C, 30 s) a 3 (74 °C, 30 s) byl celkový obsah SAL (5 630,62 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a 5 950,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) podstatně nižší než u vzorku 1.



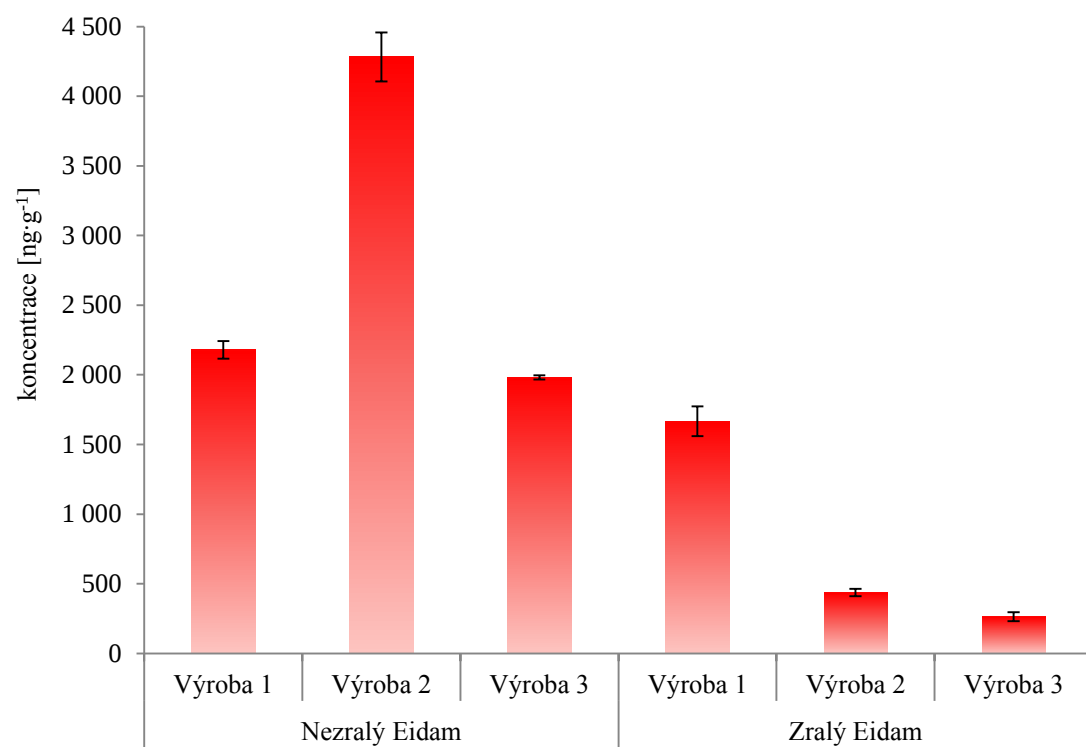
Graf 8: Srovnání celkového počtu identifikovaných senzoricky aktivních látek ve vzorcích přírodních sýrů



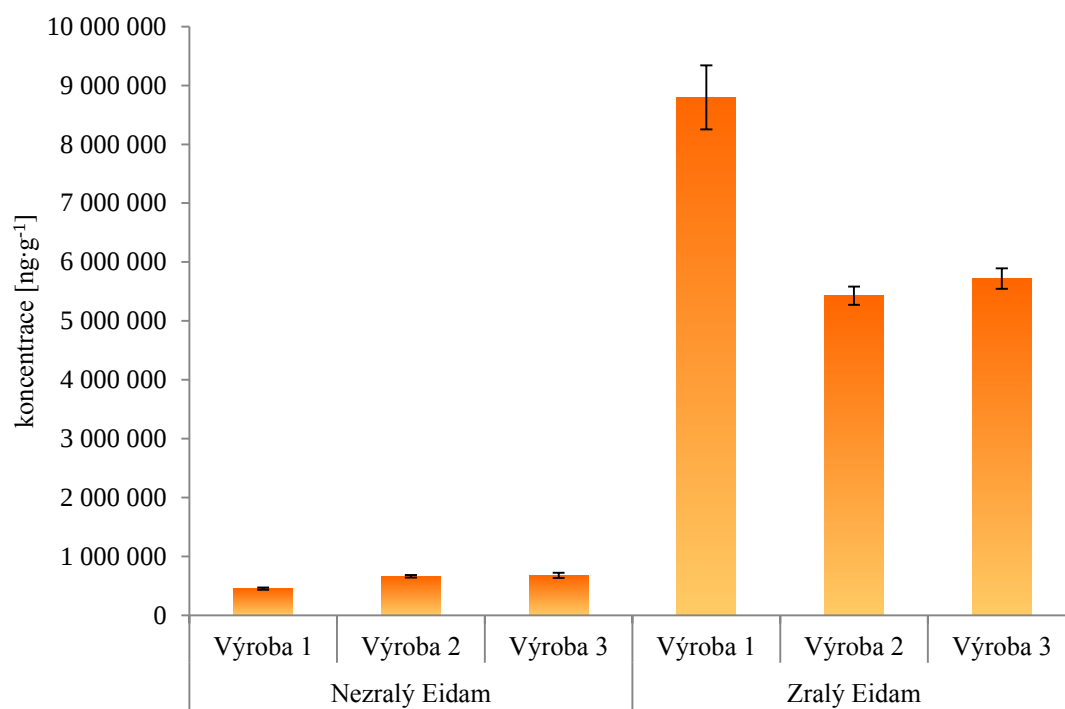
Graf 9: Srovnání celkového obsahu identifikovaných senzoricky aktivních látek ve vzorcích přírodních sýrů; různá písmena označují statisticky významný rozdíl ($p < 0.05$) mezi vzorky



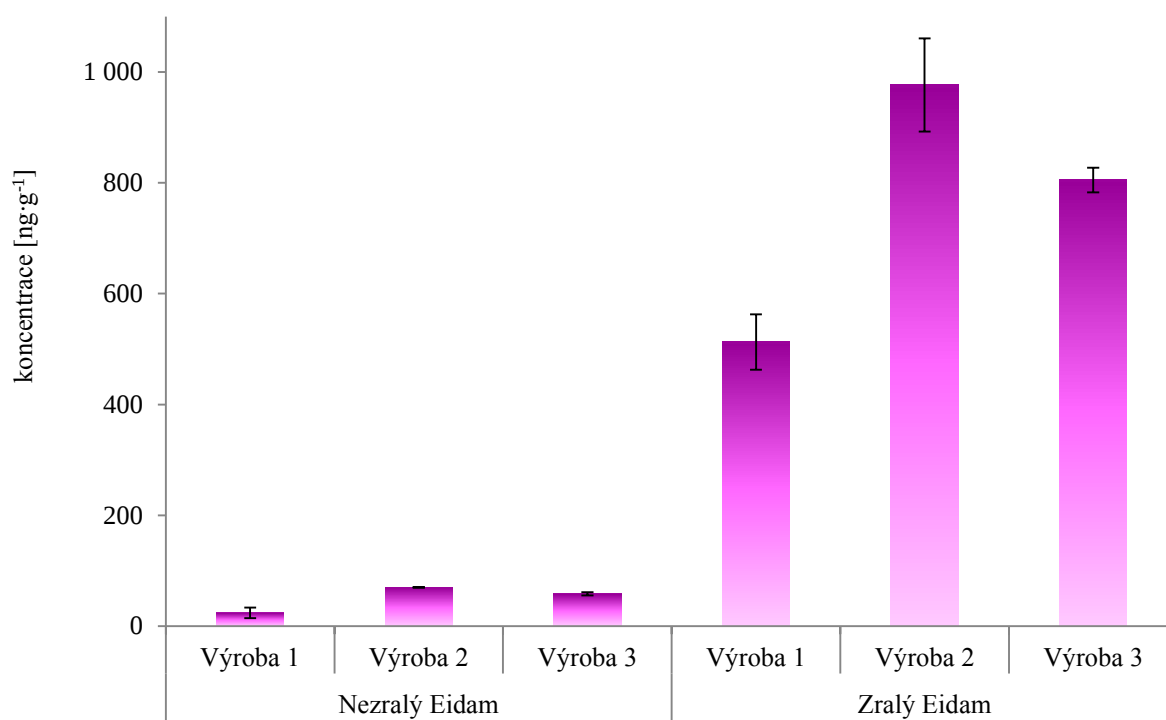
Graf 10: Srovnání celkového obsahu aldehydů ve vzorcích přírodních sýrů



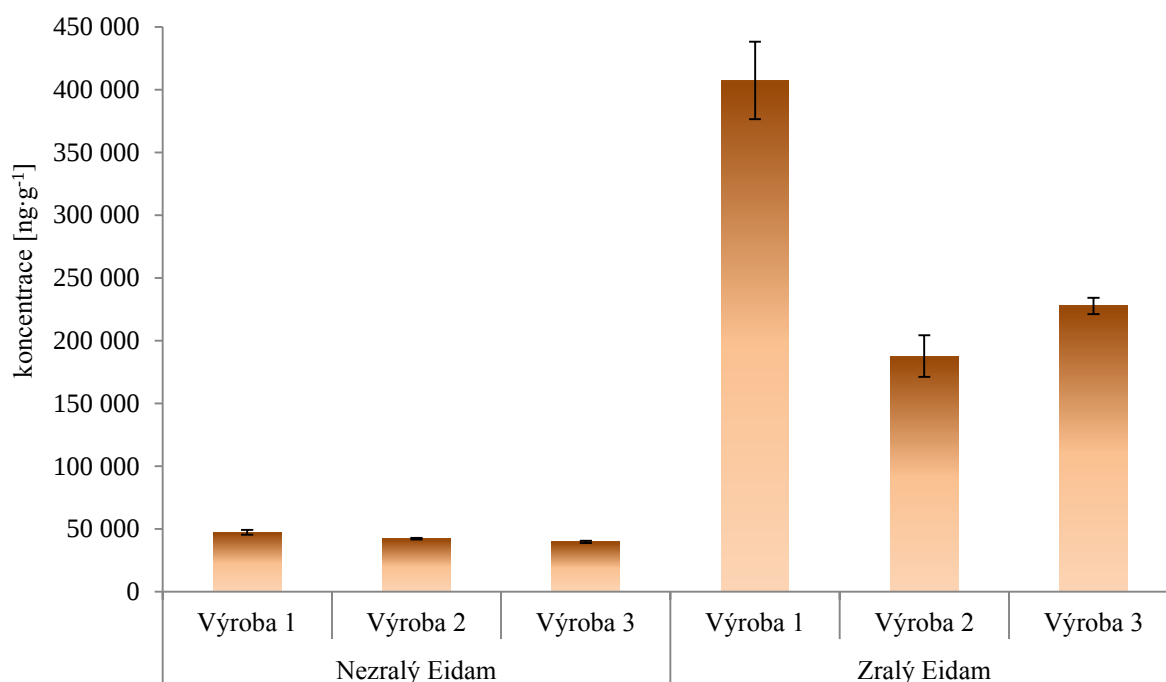
Graf 11: Srovnání celkového obsahu ketonů ve vzorcích přírodních sýrů



Graf 12: Srovnání celkového obsahu alkoholů ve vzorcích přírodních sýrů



Graf 13: Srovnání celkového obsahu esterů ve vzorcích přírodních sýrů



Graf 14: Srovnání celkového obsahu kyselin ve vzorcích přírodních sýrů

4.1.2.4 Vliv pasteračního záhřevu na obsah SAL ve vzorcích tavených sýrů

Ze zralých sýrů všech tří výroby byly standardním technologickým postupem vyrobeny sýry tavené (kap. 3.2), které byly následně analyzovány po 3 měsících skladování. Z každé výroby byly vyrobeny tři série tavených sýrů (označeny A, B a C), které se lišily dobou tavení (tabulka 2).

Ve vzorku A1 bylo identifikováno 22 sloučenin, ve vzorku A2 24 sloučenin a A3 20 sloučenin. Ve vzorku B1 bylo identifikováno 21 sloučenin, ve vzorku B2 24 sloučenin a B3 23 sloučenin. Ve vzorku C1 bylo identifikováno 30 sloučenin, ve vzorku C2 24 sloučenin a C3 23 sloučenin. Jednalo se prakticky o tytéž sloučeniny, lišil se opět jen jejich obsah. Celkový obsah identifikovaných těkavých látek se pohyboval v rozsahu cca 3 713–4 968 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra (tabulky 8–10).

U všech výroby došlo podle očekávání k výraznému snížení celkového počtu i obsahu SAL oproti použitému sýru.

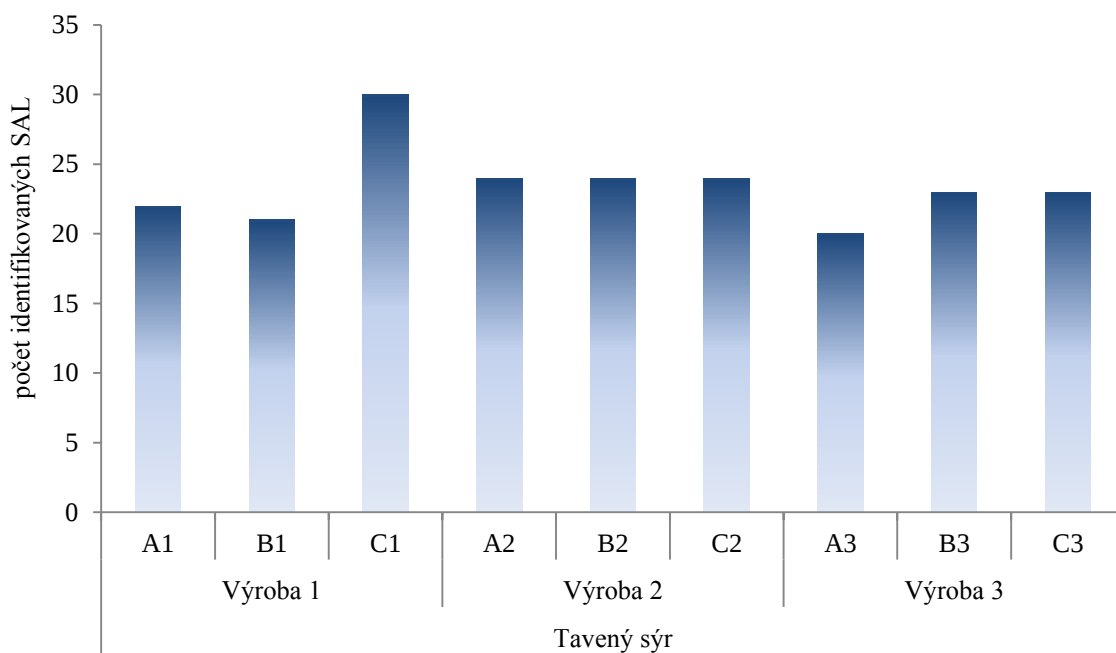
Mezi vzorky z tavby A (85 °C, 1 min) byly nalezeny významné rozdíly v obsahu SAL (graf 16). Ve vzorku A1 byl nalezen celkový obsah SAL 4 435,68 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; ve vzorku A2 4 252,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a nejvyšší obsah ve vzorku A3 4 967,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Mezi vzorky z tavby B (85 °C, 5 min) byly nalezeny významné rozdíly v obsahu SAL (graf 16). Ve vzorku B1 byl nalezen významně nižší obsah SAL 3 712,76 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, ve vzorku B2 4 499,76 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a ve vzorku B3 4 416,04 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

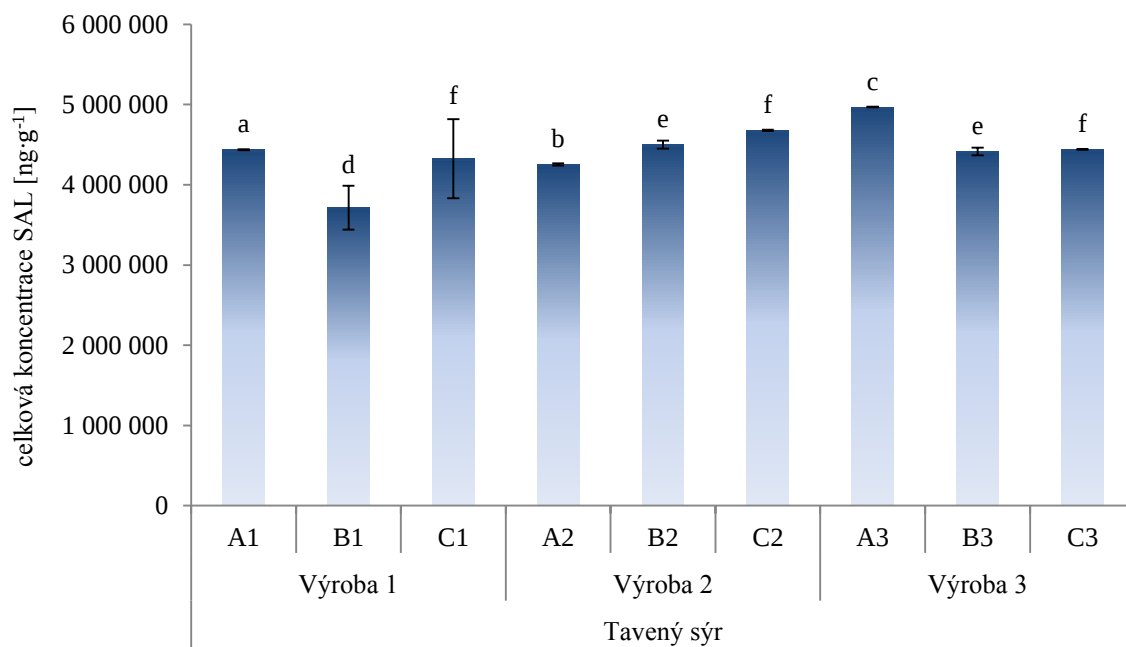
Mezi vzorky z tavby C (85 °C, 10 min) nebyly nalezeny významné rozdíly v obsahu SAL (graf 16). Ve vzorku C1 byl nalezen celkový obsah SAL 4 325,79 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; ve vzorku C2 4 676,40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a ve vzorku C3 4 440,94 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Jak je patrné z uvedených výsledků, nelze určit jednoznačný trend; v této fázi není vliv různého pasteračního záhřevu na obsah a složení identifikovaných sloučenin výrazně patrný

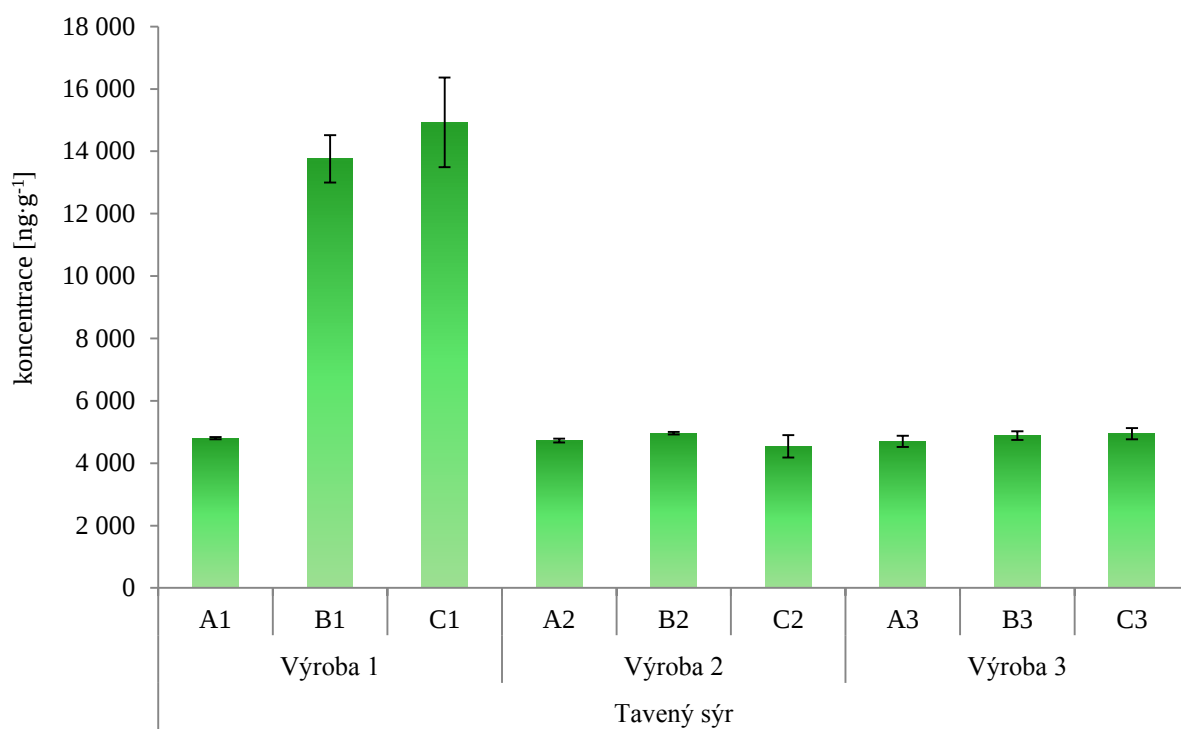
a budou se zde pravděpodobně více projevovat rozdíly následkem dalšího (tavicího) záhřevu (viz kap. 4.1.2.4)



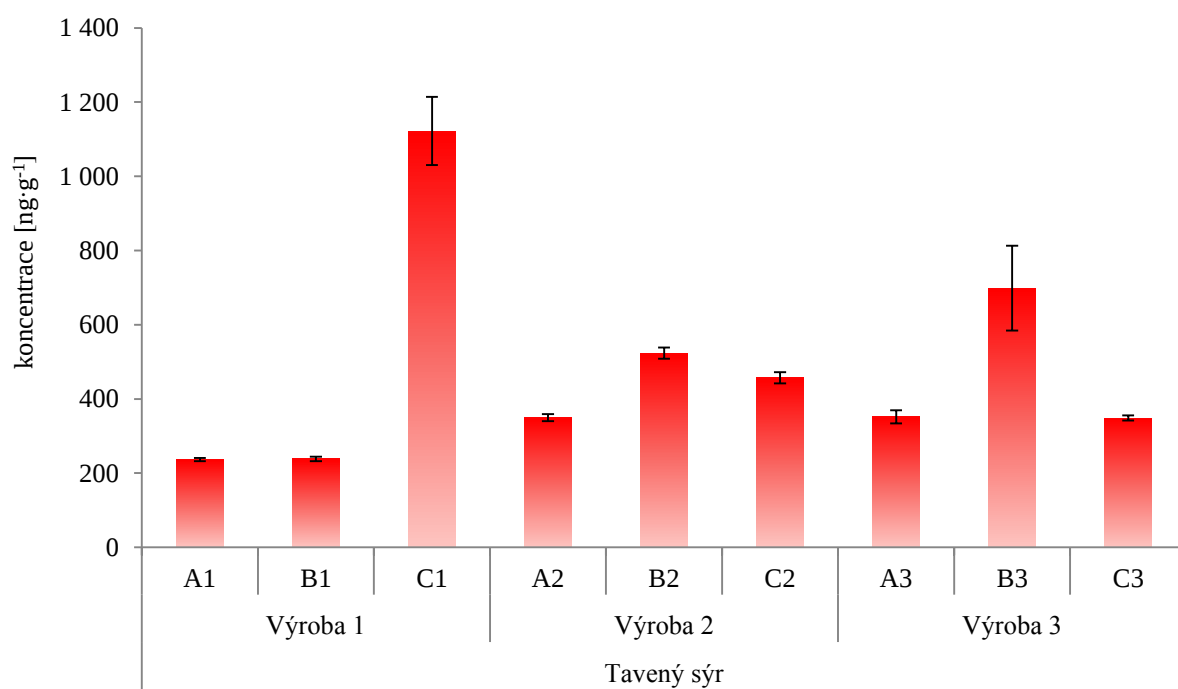
Graf 15: Srovnání celkového počtu identifikovaných sensoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů



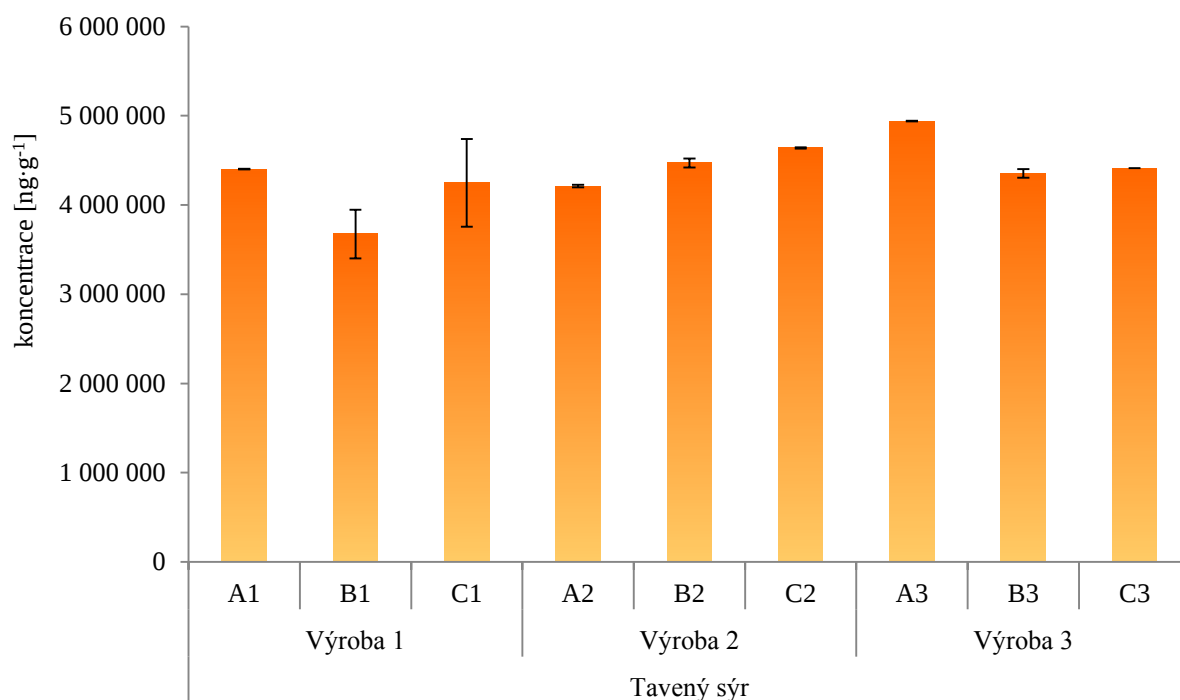
Graf 16: Srovnání celkového obsahu identifikovaných sensoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů; různá písmena označují statisticky významný rozdíl ($p < 0.05$) mezi vzorky (a–c tavba A; d–e tavba B; f tavba C)



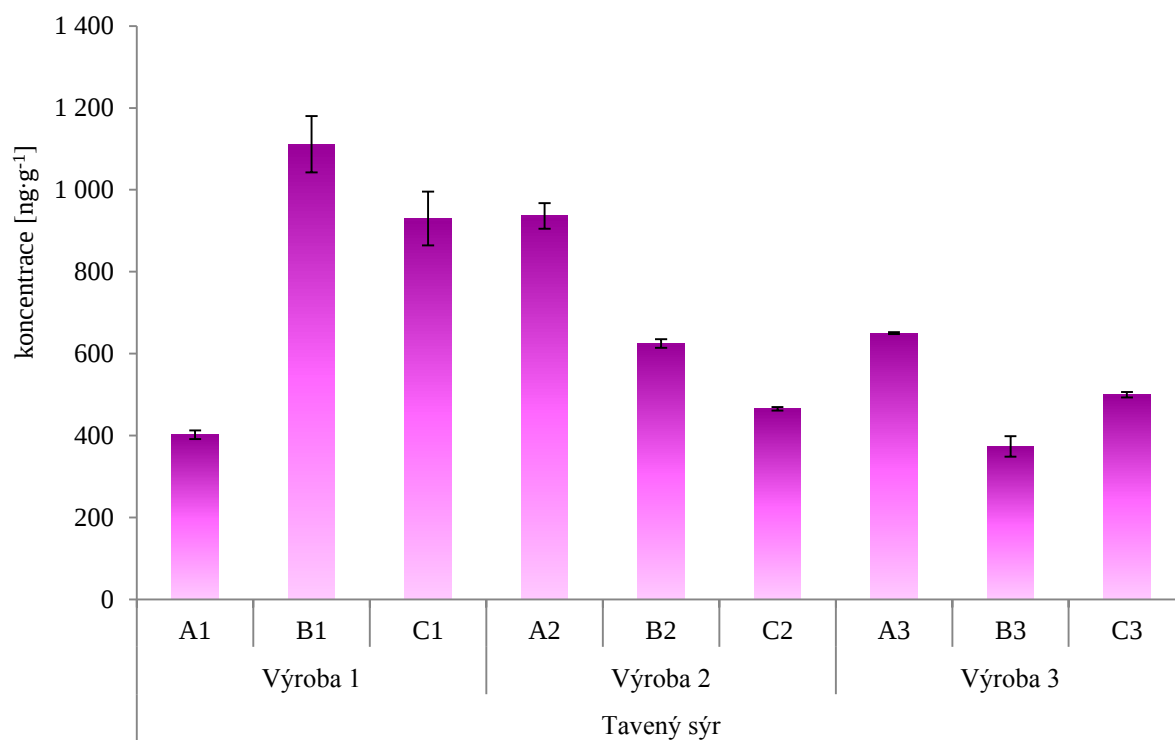
Graf 17: Srovnání celkového obsahu aldehydů ve vzorcích tavených sýrů



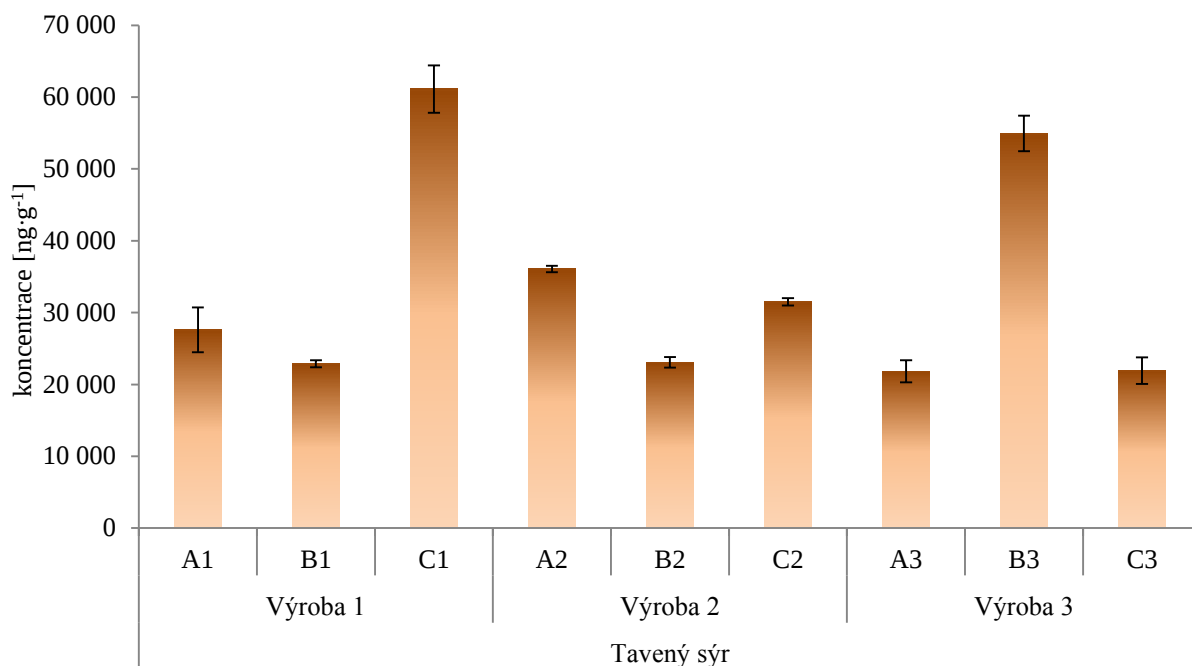
Graf 18: Srovnání celkového obsahu ketonů ve vzorcích tavených sýrů



Graf 19: Srovnání celkového obsahu alkoholů ve vzorcích tavených sýrů



Graf 20: Srovnání celkového obsahu esterů ve vzorcích tavených sýrů

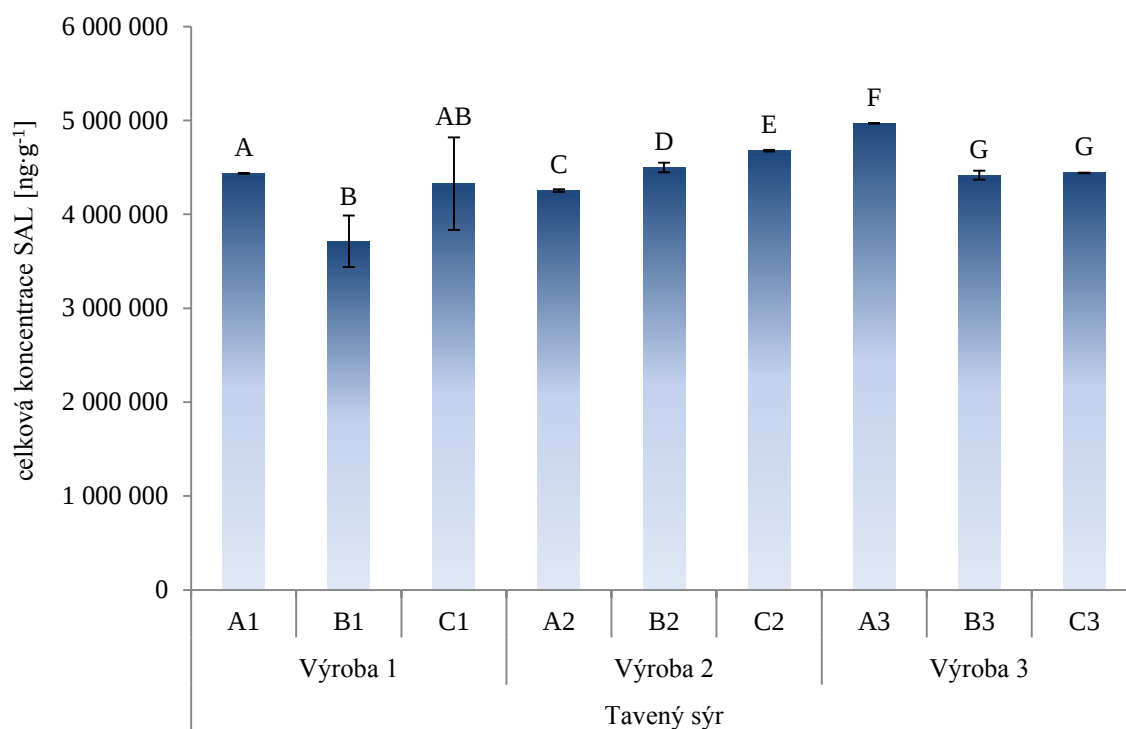


Graf 21: Srovnání celkového obsahu kyselin ve vzorcích tavených sýrů

4.1.2.5 Vliv tavicího záhřevu na obsah SAL ve vzorcích

Kromě různé pasterace mléka jako původní základní suroviny byl u tavených sýrů zkoumán také vliv procesu tavení na obsah SAL. Jak již bylo zmíněno, byly vyrobeny tři výroby tavených sýrů; všechny byly taveny při teplotě 85 °C, avšak po různou dobu (1, 5 a 10 min). Nejvyššímu tepelnému namáhání tedy byly vystaveny vzorky C.

Mezi vzorky nebyly výrazné rozdíly v počtu identifikovaných sloučenin (graf 15), ale byly nalezeny významné rozdíly v obsahu SAL (graf 16-a). Jak je patrné z grafu 16-a, nelze však určit jednoznačný trend; u výroby 1 a 3 byl nalezen nejvyšší obsah SAL ve vzorku A (4 435,68 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a 4 967,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), u výroby 2 byl ve vzorku A obsah SAL naopak nejnižší (4 252,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Podobně variabilní trend byl zaznamenán i u jednotlivých chemických skupin (viz grafy 17–21).



Graf 16-a: Srovnání celkového obsahu identifikovaných senzoricky aktivních látek ve vzorcích tavených sýrů; různá písmena označují statisticky významný rozdíl ($p < 0.05$) mezi vzorky (A–B výroba 1; C–E výroba 2; F–G výroba 3)

4.1.2.6 Změny obsahu SAL v průběhu výroby přírodních a tavených sýrů

V grafech v příloze 1–7 jsou přehledně shrnuty změny obsahu SAL v průběhu výroby všech vzorků přírodních a tavených sýrů.

Jednotlivé výsledky z průběhu výroby sýrů vyšly podle našich očekávání. V mléce byl stanoven nejmenší počet i obsah senzoricky aktivních látek (příloha 1 a 2).

Ve vzorcích nezralých sýrů byl počet i obsah stanovených sloučenin oproti mléku výrazně vyšší, což je způsobeno pravděpodobně podstatně vyšší sušinou sýrů. Měřené vzorky byly na počátku zrání, obsahovaly tedy pravděpodobně pouze sloučeniny, které se nacházely v použité surovině (mléko), a dále látky, které vznikly v průběhu výroby díky fermentaci laktosy [32, 33]. V nezralých sýrech se navíc objevily butan-2,3-dion, 3-hydroxybutan-2-on, butanol, pentan-1-ol a kys. 2-methylpropanová.

Teprve během zrání sýrů začínají hlavní, tzv. sekundární procesy (především proteolýza a lipolýza), jejichž výsledkem je tvorba těkavých senzoricky aktivních látek, což se nám potvrdilo, protože u zralých sýrů byl stanoven nejvyšší počet i obsah senzoricky aktivních látek [32–34, 36]. Ve zralých sýrech se navíc objevily pentanal, hexanal, hexan-1-ol, oktan-1-ol, methylethanoát a kyseliny 2-hydroxypropanová, hexanová a dekanová.

U tavených sýrů došlo k poklesu počtu i obsahu stanovených sloučenin, což bylo pravděpodobně zapříčiněno použitou vysokou tavicí teplotou [63]. Konkrétně došlo ke ztrátě hexanal, oktan-1-olu, dekan-1-olu, heptan-2-olu, methylethanoátu, ethyldekanoátu a kyselin 2-hydroxypropanové, hexanové a dekanové a výraznému snížení kyselin 3-methylbutanové a ethanové. Naopak pravděpodobně vlivem záhřevu [63] došlo k výraznému zvýšení obsahu

propanalu a ke vzniku pentan-2-onu, heptan-2-onu, 2-methylbutan-1-olu, pentan-2-olu, nonan-2-olu, propylethanoátu.

Co se týče obsahu jednotlivých chemických skupin (grafy v příloze 3–7) výsledky jsou překvapivě velmi různorodé a nelze vyvodit jednoznačné závěry. Obsah aldehydů byl nejvyšší ve mléce a v průběhu výroby klesal. Ve významném množství se ve vzorcích nacházely pouze ethanal a propanal (většinou $> 1 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Obsah ketonů byl nejvyšší u nezralých sýrů, původně ve mléce byl obsah nízký, u zralých a tavených sýrů byl zaznamenán opět výrazný pokles. Z hlediska množství byl nejvýznamnější butan-2-on a 4-methylpentan-2-on ($> 0,1 \mu\text{g.g}^{-1}$), které se nacházely už v syrovém mléce; butan-2,3-dion a 3-hydroxybutan-2-on se objevily až v sýrech ($> 0,4 \mu\text{g.g}^{-1}$) a v tavených sýrech opět došlo k jejich výraznému poklesu ($< 0,15 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Obsah alkoholů i esterů v průběhu výroby narůstal, nejvyšší obsah byl stanoven u zralých sýrů. Ve významném množství se nacházely ethanol, butan-2-ol, 2-methylpropanol, 3-methylbutanol, propan-2-ol ($> 1 \mu\text{g.g}^{-1}$); ve zralých sýrech došlo k výraznému nárůstu především ethanolu. Estery se ve všech vzorcích nacházely v nízkých koncentracích ($< 80 \text{ ng.g}^{-1}$), v nejvyšším množství se nacházel ethyletanoát ($> 0,3 \mu\text{g.g}^{-1}$), který vznikl až ve zralých sýrech a zůstal i v sýrech tavených.

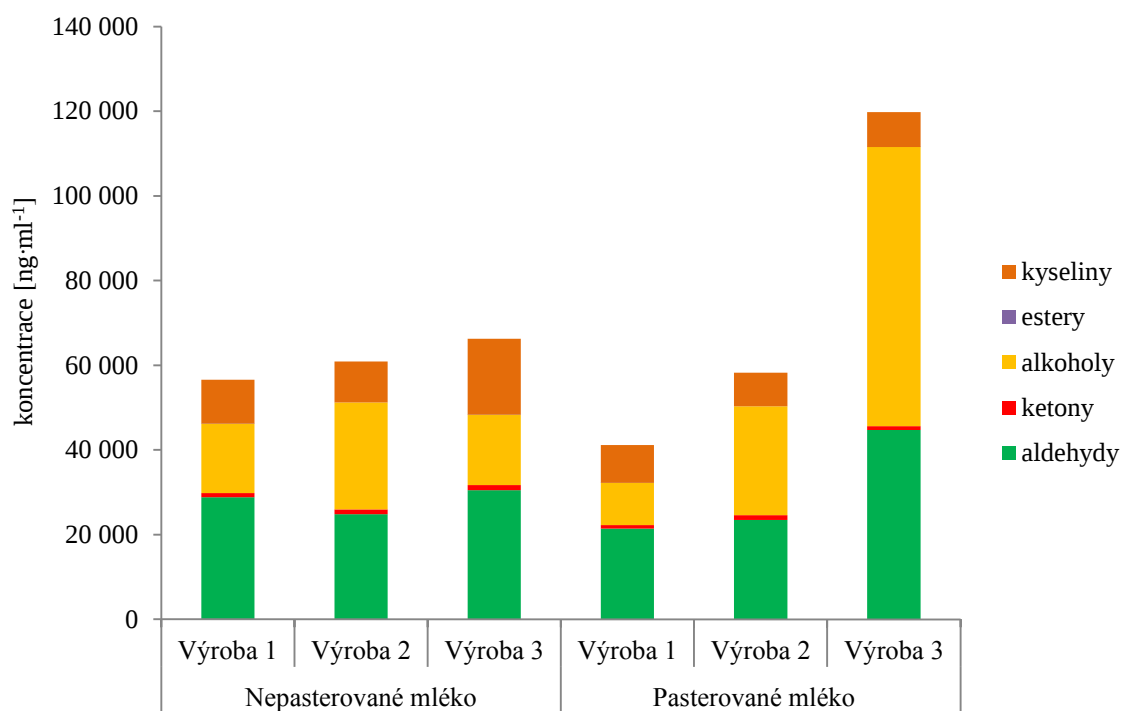
Nejvyšší obsah kyselin byl stanoven u zralých sýrů, v původním mléce byl jejich obsah minimální, stejně tak došlo k významnému poklesu u sýrů tavených. Všechny identifikované kyseliny se nacházely ve vzorcích v poměrně vysokém množství ($> 1 \mu\text{g.g}^{-1}$), u všech došlo k významnému nárůstu obsahu ve zralých sýrech; u tavených sýrů došlo následně opět k výraznému poklesu kyselin 3-methylbutanové a ethanové a ztrátě kyselin 2-hydroxypropanové, hexanové a dekanové.

Ostatní sloučeniny byly ve vzorcích přítomny v zanedbatelném množství ($< 0,1 \mu\text{g.g}^{-1}$).

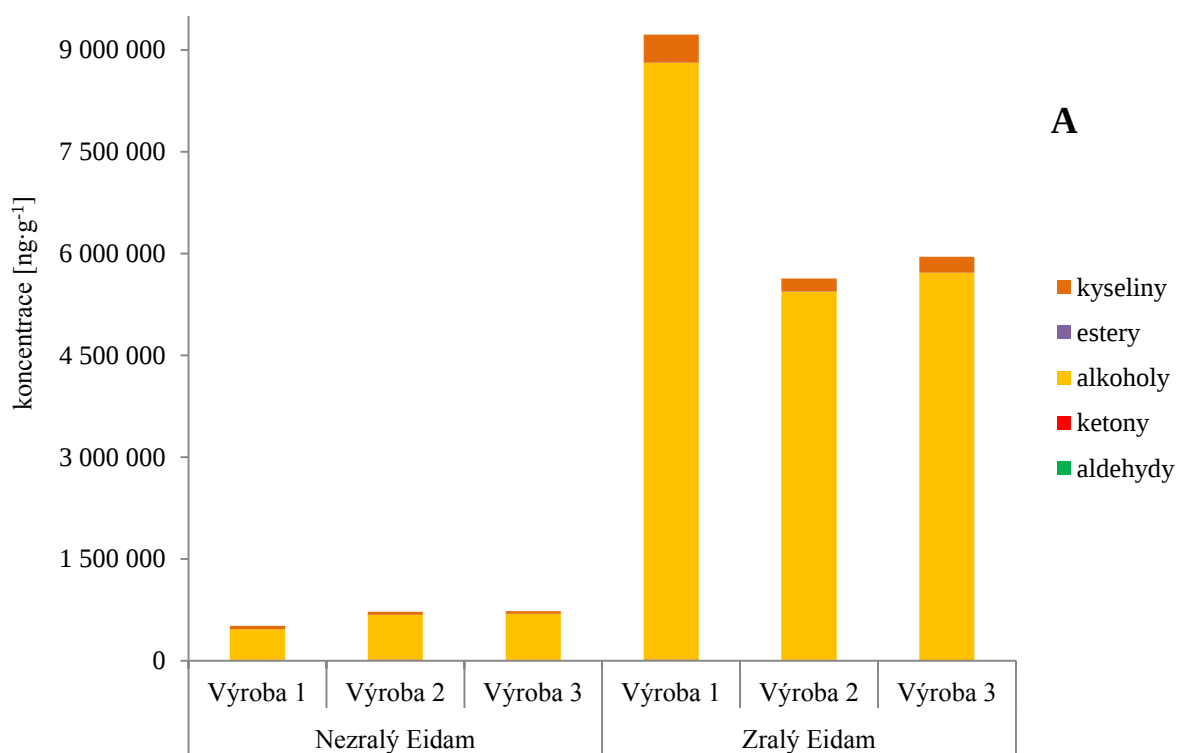
Pokud se zaměříme na použitý pasterační záhřev (resp. pasterační efekt), tak zde opět není vidět žádný výrazný trend. Použitý pasterační záhřev pravděpodobně ovlivňuje různé sloučeniny různým způsobem.

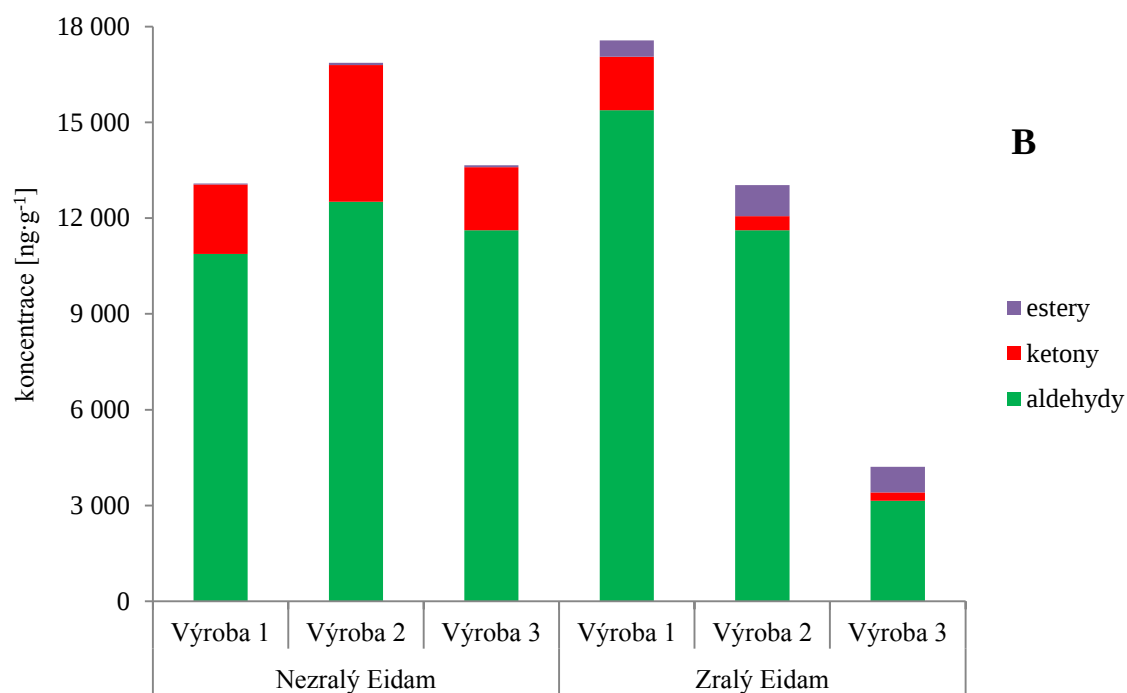
4.1.3 Srovnání celkového zastoupení jednotlivých chemických skupin

Z pohledu jednotlivých chemických skupin byly ve všech vzorcích nejvíce zastoupeny alkoholy, z nichž značný obsah zaujímá ethanol, který pravděpodobně vznikl fermentací laktosy [32, 34]. Druhou nejvíce zastoupenou skupinou byly ve vzorcích mléka aldehydy a následně karboxylové kyseliny. Ve vzorcích sýrů byly jako druhé nejvíce zastoupeny karboxylové kyseliny, ovšem v porovnání s alkoholy byla jejich koncentrace značně nižší. Ostatní skupiny jako ketony a estery byly zastoupeny spíše v nižších koncentracích (grafy 22–24).

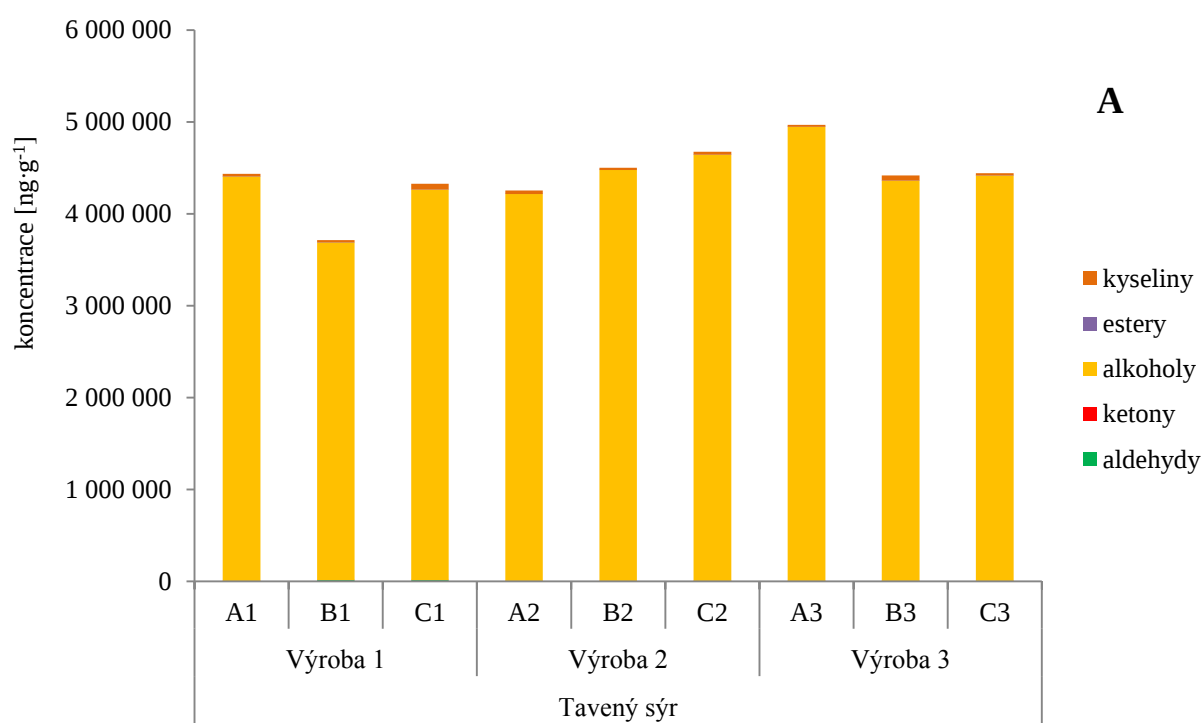


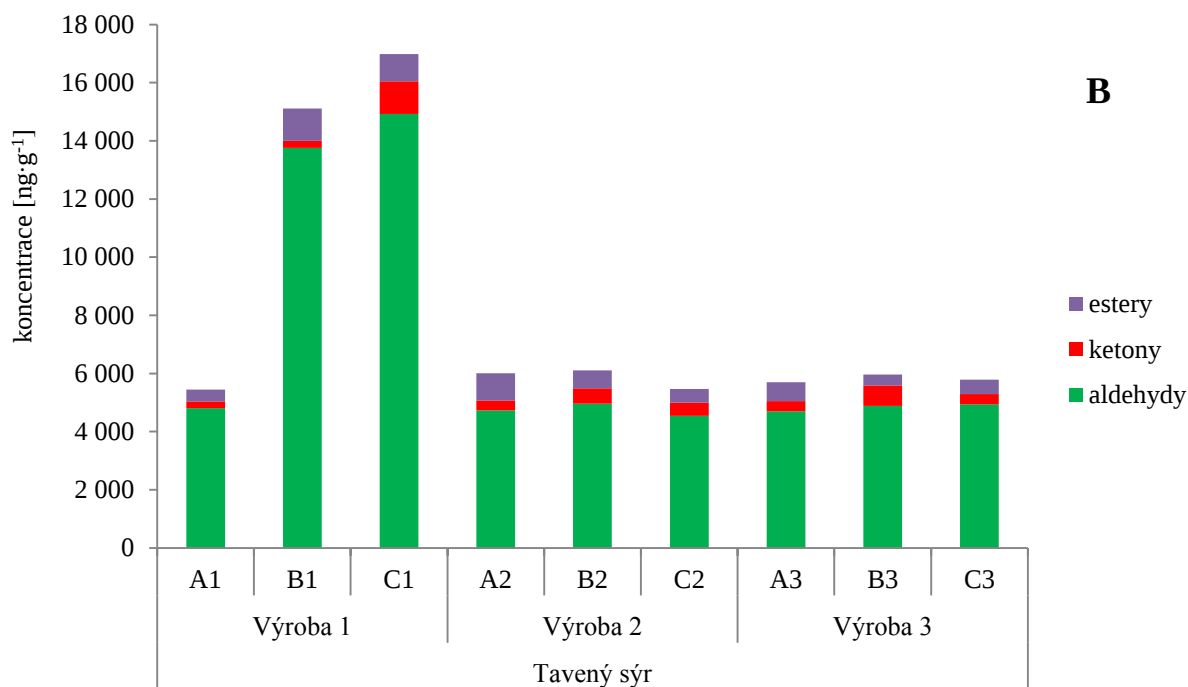
Graf 22: Srovnání celkového zastoupení jednotlivých chemických skupin ve vzorcích mléka





Graf 23: Srovnání celkového zastoupení jednotlivých chemických skupin ve vzorcích přírodních sýrů (A – všechny skupiny, B – bez alkoholů a kyselin)





Graf 24: Srovnání celkového zastoupení jednotlivých chemických skupin ve vzorcích tavených sýrů (A – všechny skupiny, B – bez alkoholů a kyselin)

4.1.4 Výsledky PCA analýzy

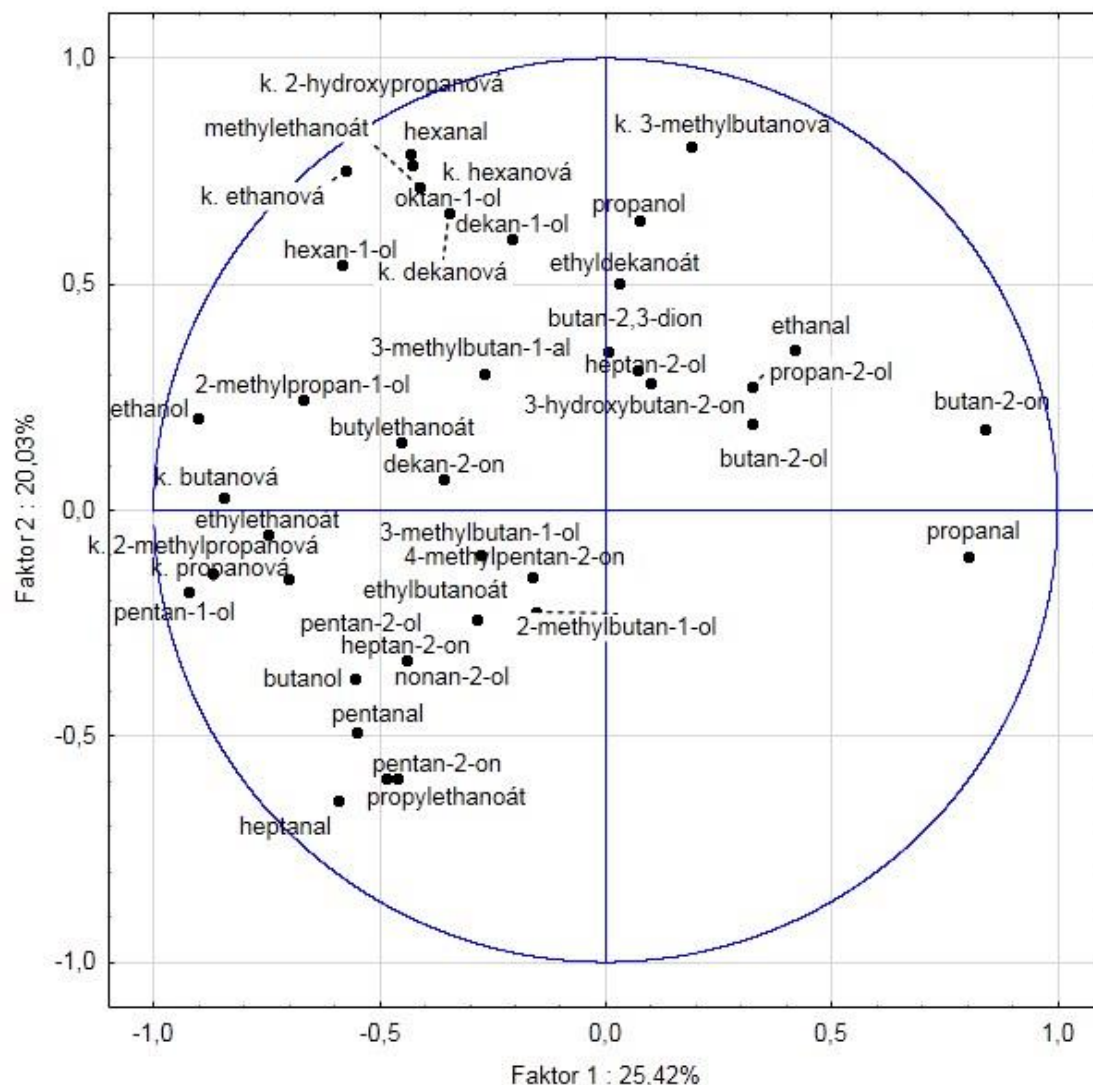
Výsledky byly na závěr podrobeny statistickému testování s použitím metody PCA. Analýza hlavních komponent (PCA) je vícerozměrná statistická metoda, pomocí níž lze zredukovat počet původních dat, a přesto umožňuje vysvětlit variabilitu a závislost původních proměnných. Cílem PCA je transformace dat z původních znaků či proměnných x_j , $j = 1, \dots, m$, do menšího počtu latentních (skrýtych) proměnných y_j . Nové proměnné mají vhodnější vlastnosti, je jich výrazně méně, vystihují téměř celou proměnlivost znaků a jsou vzájemně nekorelované. Tyto latentní proměnné se nazývají hlavní komponenty (PC) [58].

Pro statistické zpracování byly použity výsledky měření všech vzorků - průměrné hodnoty ($n = 3$) obsahu všech identifikovaných sloučenin (zdrojová matice dat: 21 vzorků x 42 sloučenin). K interpretaci dat byly využity grafické metody – tzv. graf komponentních vah, který zobrazuje sledované znaky (sloučeniny) a rozptylový diagram komponentního skóre, který zobrazuje objekty (tj. vzorky). Vzorky umístěné blízko sebe jsou si podobné, vzorky vzdálené jsou odlišné [58]. V grafu na obr. 12 je znázorněna projekce proměnných (identifikovaných sloučenin), v grafu na obr. 13 projekce vzorků do faktorové roviny PC1 x PC2.

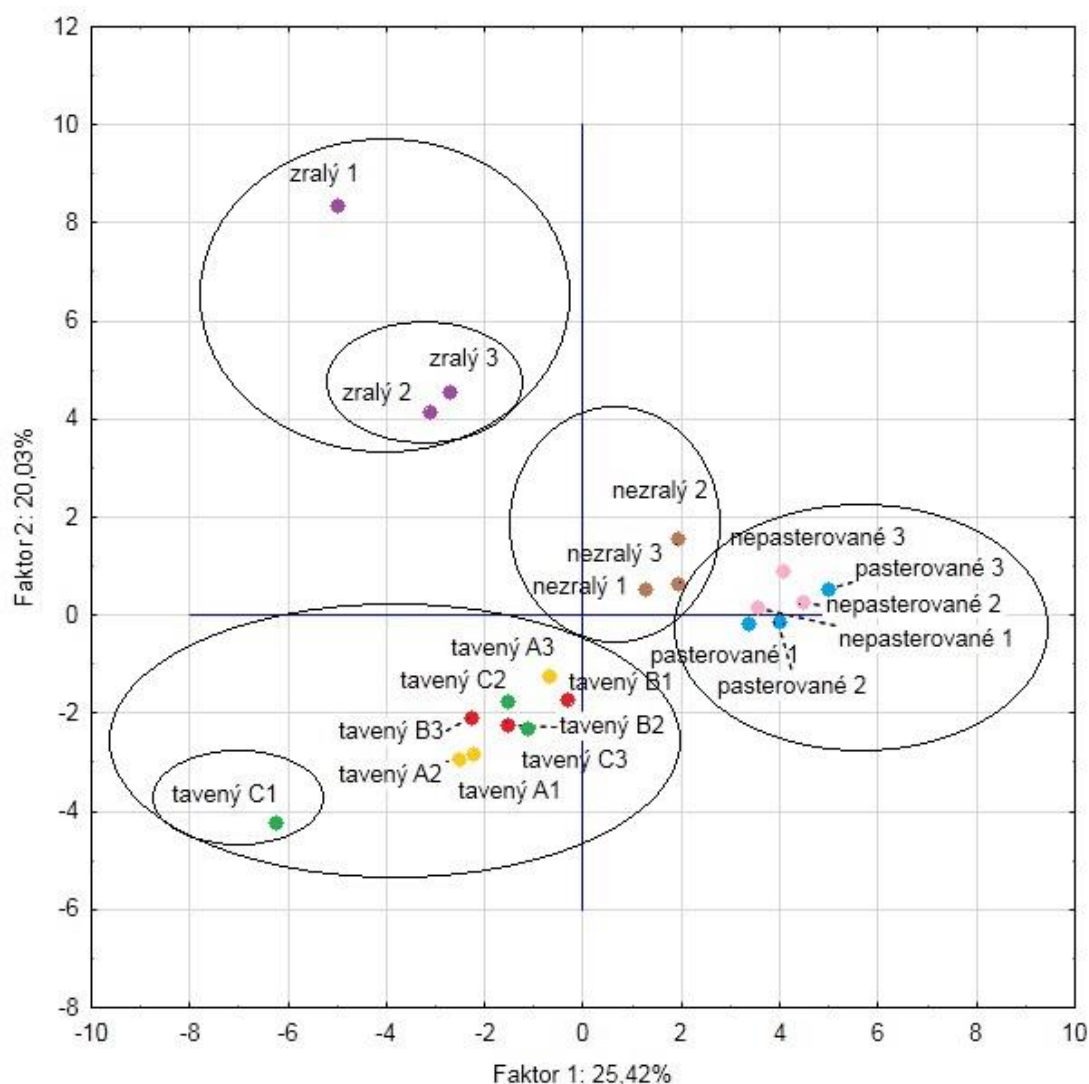
Cílem bylo zjistit, zda lze od sebe odlišit jednotlivé vzorky na základě obsahu identifikovaných sloučenin.

První dvě komponenty vysvětlují pouze 45,4 % celkového rozptylu původních proměnných; první čtyři komponenty kumulativně vysvětlují 64,3 % celkové variability systému. Pro konstrukci první hlavní komponenty se ukázaly být nejdůležitějšími parametry propanal (0,80), butan-2-on (0,84), ethanol (-0,90), 2-methylpropan-1-ol (-0,67), pentan-1-ol (-0,92), ethylethanoát (-0,75), kys. propanová (-0,70), kys. 2-methylpropanová (-0,87)

a kys. butanová (-0,84); pro konstrukci druhé hlavní komponenty hexanal (0,77), methylethanoát (0,72), kys. ethanová (0,75), kys. 2-hydroxypropanová (0,79) a kys. 3-methylbutanová (0,81); pro konstrukci třetí hlavní komponenty 4-methylpentan-2-on (-0,75). Sloučeniny s vysokou mírou proměnlivosti a tedy důležité pro rozlišení vzorků leží v grafu na obr. 12 daleko od počátku, sloučeniny s malou důležitostí leží blízko počátku.



Obr. 12: Graf komponentních vah všech identifikovaných sloučenin



Obr. 13: Rozptylový diagram komponentního skóre – diferenciace jednotlivých vzorků; značení vzorků viz tabulky 1 a 2 – výroba 1–3, tavba A–C.

Mezi jednotlivými vzorky existují významné rozdíly v obsahu identifikovaných sloučenin. V grafu na obr. 13 jsou zřetelně odděleny vzorky zralých sýrů (umístěné v levé horní části) a nezralých sýrů (v pravé horní části). U zralých sýrů, v souladu s předchozím zjištěním, je oddělen vzorek z výroby 1 (tj. podrobený nejvyššímu pasteračnímu účinku).

Vzorky pasterovaného a nepasterovaného mléka tvoří shluk v pravé části grafu a nelze je tedy od sebe odlišit, stejně tak všechny vzorky tavených sýrů tvoří shluk v levé dolní části grafu a také není možné je odlišit podle obsahu identifikovaných sloučenin. Výjimku tvoří tavený sýr C1, který leží odděleně od ostatních vzorků. Jedná se o sýr, který byl celkově vystaven nejvyššímu tepelnému namáhání (nejvyšší pasterační i tavící účinek).

5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá monitoringem senzoricky aktivních látek v průběhu výroby přírodních sýrů eidamského typu a tavených sýrů.

Senzoricky aktivní látky jsou zodpovědné za celkové aroma a chutnost sýrů. Jsou to těkavé látky patřící do různých chemických skupin, například alkoholů, aldehydů, ketonů, esterů, nižších mastných kyselin, terpenů, laktonů a dalších. Pro jejich stanovení byla zvolena metoda SPME/GC/FID, tedy izolace pomocí mikroextrakce pevnou fází a následně identifikace a kvantifikace pomocí plynové chromatografie. Metoda SPME je ve srovnání s klasickými extrakčními technikami jednoduchá, rychlá, nevyžaduje použití rozpouštědla a díky těmto výhodám je v současné době často používána.

Modelové vzorky byly vyrobeny ve spolupráci s Ústavem technologie potravin na technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně standardním technologickým postupem. V průběhu celé výroby, tj. syrové (nepasterované) mléko $\Rightarrow$ tavený sýr, byly odebrány vzorky pro analýzu. Tato diplomová práce zahrnuje výsledky měření nepasterovaného mléka, pasterovaného mléka, nezralých sýrů měřených okamžitě (resp. 48 hodin) po výrobě, zralých sýrů po 2 měsících zrání a tavených sýrů po 3 měsících skladování. Byly analyzovány tři série vzorků (výroby); jednotlivé výroby se od sebe lišily použitým pasteračním zahřevem mléka (65 °C, 30 min; 80 °C, 30 s; 74 °C, 30 s) a následně použitým tavicím zahřevem (85 °C, 1 min; 85 °C, 5 min; 85 °C, 10 min).

Celkem bylo ve vzorcích identifikováno 42 těkavých sloučenin, z toho 6 aldehydů, 7 ketonů, 15 alkoholů, 6 esterů a 8 kyselin. Mezi vzorky byly nalezeny významné rozdíly jak v počtu identifikovaných sloučenin, tak v jejich celkovém obsahu i v obsahu jednotlivých chemických skupin.

Změny identifikovaných sloučenin v průběhu výroby sýrů byly v souladu s naším očekáváním. V mléce byl nalezen nejmenší počet i obsah senzoricky aktivních látek. Ve vzorcích nezralých sýrů byl počet i obsah stanovených sloučenin oproti mléku výrazně vyšší, což je způsobeno pravděpodobně podstatně vyšší sušinou sýrů; u zralých sýrů došlo k dalšímu výraznému nárůstu počtu i obsahu sloučenin jako důsledek jejich tvorby během zrání. U tavených sýrů došlo opět k poklesu počtu i obsahu stanovených sloučenin pravděpodobně účinkem použité tavicí teploty.

Nejvyšší pasterační účinek byl dosažen kombinací 65 °C 30 min (výroba 1). Tato výroba se lišila od ostatních dvou, mezi nimiž naopak byly rozdíly většinou malé nebo zanedbatelné. Vliv pasteračního účinku na obsah a složení identifikovaných sloučenin se nejvíce projevil u vzorků zralých sýrů, kde byl u výroby 1 nalezen nejvyšší celkový obsah ze všech vzorků.

Co se týče aplikovaného tavicího zahřevu nelze určit jednoznačný trend, nicméně z provedené PCA analýzy vyplývá, že kombinace dlouhodobé pasterace mléka s déletrvajícím zahřevem během tavení má vliv na obsah a složení identifikovaných sloučenin v taveném sýru.

Výsledky této práce přispívají ke kompletní charakterizaci aromatického profilu sýrů eidamského typu a jejich potenciálního využití jako suroviny pro výrobu tavených sýrů.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů*. 2016.
2. Frankhauser, D., B. *Frankhauser's cheese page* [online]. 2007, poslední revize 21. 8. 2012 [cit. 2016-11-27]. Dostupné z: <http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Cheese/CHEESE.HTML>.
3. *Sýry v lidské výživě* [online]. [cit. 2016-11-27]. Dostupné z: http://www.viscojis.cz/teens/index.php?option=com_content&view=article&id=134%3A125&catid=.
4. KADLEC, P. *Technologie potravin II*. Praha: VŠCHT, 2002. ISBN 80-708-0510-2.
5. MCSWEENEY., P. L. H. *Cheese problems solved*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-184-5690-601.
6. Co je mléko vlastně zač?. *Jíme hlavou* [online]. 2013 [cit. 2016-11-27]. Dostupné z: <http://www.jimehlavou.cz/cz/mleko-a-mlecne-vyroby/Emag/DetailClanku/ic-6/co-je-mleko-vlastne-zac.html>.
7. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5903-8.
8. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5903-8.
9. FOX, P. F. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 3rd ed. London: Elsevier, 2004. ISBN 01-226-3651-1.
10. PARK, Y. W. *Bioactive components in milk and dairy products*. 3rd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2009. ISBN 08-138-1982-2.
11. O'BRIEN, R. D. *Fats and oils: formulating and processing for applications*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2009. ISBN 978-1-4200-6166-6.
12. Macromolecules of life: Carbohydrates and Lipids. *IUPUI Department of biology* [online]. 2004 [cit. 2016-11-29]. Dostupné z: <http://www.biology.iupui.edu/biocourses/N100/2k4ch3carbolipidnotes.html>.
13. FOX, P. F. *Advanced dairy chemistry*. 2nd ed. London: Elsevier, 1997. ISBN 04-126-3020-6.
14. FORMAN, L. a kolektiv. *Mlékárenská technologie II*. Praha: VŠCHT, 1996. ISBN 80-7080-250-2.
15. Lactose. *Food Science* [online]. 2014 [cit. 2016-11-29]. Dostupné z: <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/lactose>.
16. SIMPSON, B. K. *Food biochemistry and food processing*. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-081-3808-741.
17. Milk proteins. *Food-Info* [online]. 2014 [cit. 2016-11-29]. Dostupné z: <http://www.food-info.net/uk/protein/milk.htm>.

18. MILLER, G. D., J. K. JARVIS a L. D. MCBEAN. *Handbook of dairy foods and nutrition*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. ISBN 08-493-2828-4.
19. FOX, P. F. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg, MD: Aspen Publishing, 2000. ISBN 08-342-1260-9.
20. TUNICK, M. *The science of cheese*. New York: Oxford University Press, 2014. ISBN 01-999-2230-6.
21. OLŠANSKÝ, Č. a V. KNĚŽ. *Výroba tvrdých sýrů eidamského a ementálského typu*. Praha: CAZ-VÚPP, 1971. Technické publikace.
22. Gouda [online]. Poslední revize 19. 9. 2013 [cit. 2016-12-18]. Dostupné z: [http://cs.wikipedia.org/wiki/Gouda_\(s%C3%BDr\)](http://cs.wikipedia.org/wiki/Gouda_(s%C3%BDr)).
23. ROGINSKI, H., J. W. FUQUAY a P. FOX. *Encyclopedia of dairy sciences*. New York: Academic Press, 2003. ISBN 01-222-7235-8.
24. FARKYE, N. Y. Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*. 2004, 57(2-3), 91-98. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2004.00146.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2004.00146.x>.
25. JANŠTOVÁ, B. *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. ISBN 80-730-5635-6.
26. HOLKO, I. ed. *Sýry - Zlín - 2012: perspektivy výroby sýrů a hodnocení jejich jakosti: mezinárodní konference: sborník příspěvků: Zlín, 15. listopadu 2012*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2012. ISBN 978-80-7454-231-2.
27. LAW, B. A. a A. Y. TAMIME. *Technology of cheesemaking*. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell, 2010. ISBN 978-140-5182-980.
28. OBERMAIER, O. a V. ČEJNA. *Sýry a tvarohy*. Praha: Sdružení českých spotřebitelů pro Českou technologickou platformu pro potraviny, 2013. Jak poznáme kvalitu?. ISBN 978-80-87719-06-0.
29. KAPOOR, R. a L. E. METZGER. Process Cheese: Scientific and Technological Aspects - A Review. *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*. 2008, 7(2), 194-214. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2008.00040.x. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1541-4337.2008.00040.x>.
30. PISKA, I. a J. ŠTĚTINA. Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*. 2004, 61(4), 551-555. DOI: 10.1016/S0260-8774(03)00217-6. ISSN 02608774. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877403002176>.
31. BUŇKA, F., M. ČERNÍKOVÁ, K. HLADKÁ a L. BUŇKOVÁ. Základní charakteristika tavených sýrů a jejich analogů. *Potravinářská revue*. 2010, (6), 29-32.
32. MCSWEENEY, P. L.H. a M. SOUSA. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*. 2000, 80(3), 293-324. DOI: 10.1051/lait:2000127. Dostupné z: <http://www.edpsciences.org/10.1051/lait:2000127>.

33. YVON, M. a L. RIJNEN. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal*. 2001, **11**(4-7), 185-201. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00049-8. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601000498>.
34. MARILLEY, L. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*. 2004, **90**(2), 139-159. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00304-0. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160503003040>.
35. CURIONI, P. M. G. a J. O. BOSSET. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*. 2002, **12**(12), 959-984. DOI: 10.1016/S0958-6946(02)00124-3. ISSN 09586946. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694602001243>.
36. SOUSA, M. J., Y. ARDÖ a P. L. H MCSWEENEY. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*. 2001, **11**(4-7), 327-345. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00062-0. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601000620>.
37. WEIMER., B. C. *Improving the flavour of cheese*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-184-5690-076.
38. HINSHAW, J. V. Headspace Sampling. *LC-GC North America* [online]. 2011, **29**(10), 914-918 [cit. 2017-03-27]. ISSN 15275949. Dostupné z: <http://www.chromatographyonline.com/headspace-sampling>.
39. QIAN, M. a G. REINECCIUS. Static Headspace and Aroma Extract Dilution Analysis of Parmigiano Reggiano Cheese. *Journal of Food Science*. 2003, **68**(3), 794-798. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb08244.x. ISSN 0022-1147. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2003.tb08244.x>.
40. QIAN, M. a G. REINECCIUS. Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. *Flavour and Fragrance Journal*. 2003, **18**(3), 252-259. DOI: 10.1002/ffj.1194. ISSN 0882-5734. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.1194>.
41. ATTAIE, R. Quantification of volatile compounds in goat milk Jack cheese using static headspace gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 2009, **92**(6), 2435-2443. DOI: 10.3168/jds.2008-1732. ISSN 00220302. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030209705582>.
42. PÉRÈS, CH., CH. DENOYER, P. TOURNAYRE a J.-L. BERDAGUÉ. Fast Characterization of Cheeses by Dynamic Headspace-Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2002, **74**(6), 1386-1392. DOI: 10.1021/ac011053h. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac011053h>.
43. FRANK, D., P. O'RIORDAN, D. ZABARAS a P. VARELIS. Cheddar cheese volatile profiling using dynamic headspace and gas chromatography-mass spectrometry olfactometry. *Australian Journal of Dairy Technology*. 2006, **61**(2), 105-107.

44. OPEKAR, F. *Základní analytická chemie: pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2003. ISBN 80-246-0553-8.
45. PERRY, R. H. *Perry's chemical engineers handbook*. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1997. ISBN 00-711-5448-5.
46. MARSILI, R. *Flavor, fragrance and odor analysis*. New York: Marcel Dekker, 2002. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 115. ISBN 08-247-0627-7.
47. LARRÁYOZ, P., M. ADDIS, R. GAUCH a J. O. BOSSET. Comparison of dynamic headspace and simultaneous distillation extraction techniques used for the analysis of the volatile components in three European PDO ewes' milk cheeses. *International Dairy Journal*. 2001, **11**(11-12), 911-926. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00144-3. ISSN 09586946. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601001443>.
48. SHIOTA, M., A. IWASAWA, A. SUZUKI-IWASHIMA a F. IIDA. Effects of Flavor and Texture on the Sensory Perception of Gouda-Type Cheese Varieties during Ripening Using Multivariate Analysis. *Journal of Food Science*. 2015, **80**(12), 2740-2750. DOI: 10.1111/1750-3841.13135. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.13135>.
49. CHAINTREAU, A. Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity - review. *Flavour and Fragrance Journal*. 2001, **16**(2), 136-148. DOI: 10.1002/ffj.967. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.967>.
50. CARUNCHIA WHETSTINE, M. E., K. R. CADWALLADER a M. DRAKE. Characterization of Aroma Compounds Responsible for the Rosy/Floral Flavor in Cheddar Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, **53**(8), 3126-3132. DOI: 10.1021/jf048278o. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf048278o>.
51. LIAW, I.W., R. EVAN MIRACLE, S.M. JERVIS, M.A.D. LISTIYANI a M.A. DRAKE. Comparison of the Flavor Chemistry and Flavor Stability of Mozzarella and Cheddar Wheys. *Journal of Food Science*. 2011, **76**(8), 1188-1194. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02360.x. ISSN 0022-1147. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2011.02360.x>.
52. LARRÁYOZ, P., M. CARBONELL, F. IBÁÑEZ, P. TORRE a Y. BARCINA. Optimization of indirect parameters which affect the extractability of volatile aroma compounds from Idiazábal cheese using analytical supercritical fluid extractions (SFE). *Food Chemistry*. 1999, **64**(1), 123-127. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00055-7. ISSN 03088146. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814698000557>.
53. AKYOL, I., K. SERDAROGLU, Y. GEZGINC, K. S. DAYISOYLU, M. S. EKINCI a E. OZKOSE. Redirection of Pyruvate Pathway of Lactic Acid Bacteria to Improve Cheese Quality. *Food Biotechnology*. 2009, **23**(3), 200-213. DOI: 10.1080/08905430903102562. ISSN 0890-5436. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08905430903102562>.

54. HEAVEN, M. W. a D. NASH. Recent analyses using solid phase microextraction in industries related to food made into or from liquids. *Food Control*. 2012, **27**(1), 214-227. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.03.018. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512001466>.
55. PAWLISZYN, J. *Handbook of solid phase microextraction*. Waltham, Md.: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-416017-0.
56. SOMMER, L. *Základy analytické chemie II*. V Brně: Vutium, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
57. KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
58. MELOUN, M. a J. MILITKÝ. *Kompendum statistického zpracování dat*. Vyd. 3., Praha: Karolinum, 2012, 982 s. ISBN 978-80-246-2196-8.
59. FRANK, D. C., C. M. OWEN a J. PATTERSON. Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. *LWT - Food Science and Technology*. 2004, **37**(2), 139-154. DOI: 10.1016/S0023-6438(03)00144-0. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643803001440>.
60. VERZERA, A., M. ZIINO, C. CONDURSO, V. ROMEO a M. ZAPPAL. Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for rapid characterisation of semi-hard cheeses. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2004, **380**(7-8), 930-936. DOI: 10.1007/s00216-004-2879-4.
61. URBANOVÁ, A. *Vliv technologie výroby na chutnost sýrů eidamského typu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 96 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
62. HORNÁKOVÁ, M. *Stanovení aromatických látek v tavených sýrových analozích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 37 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
63. BUŇKA, F. *Mlékárenská technologie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013. ISBN 978-80-7454-254-1.
64. TAMIME, A. Y. *Milk processing and quality management*. Malden, MA: Wiley-Blackwell Pub./Society of Dairy Technology, 2009. ISBN 978-1-4051-4530-5.

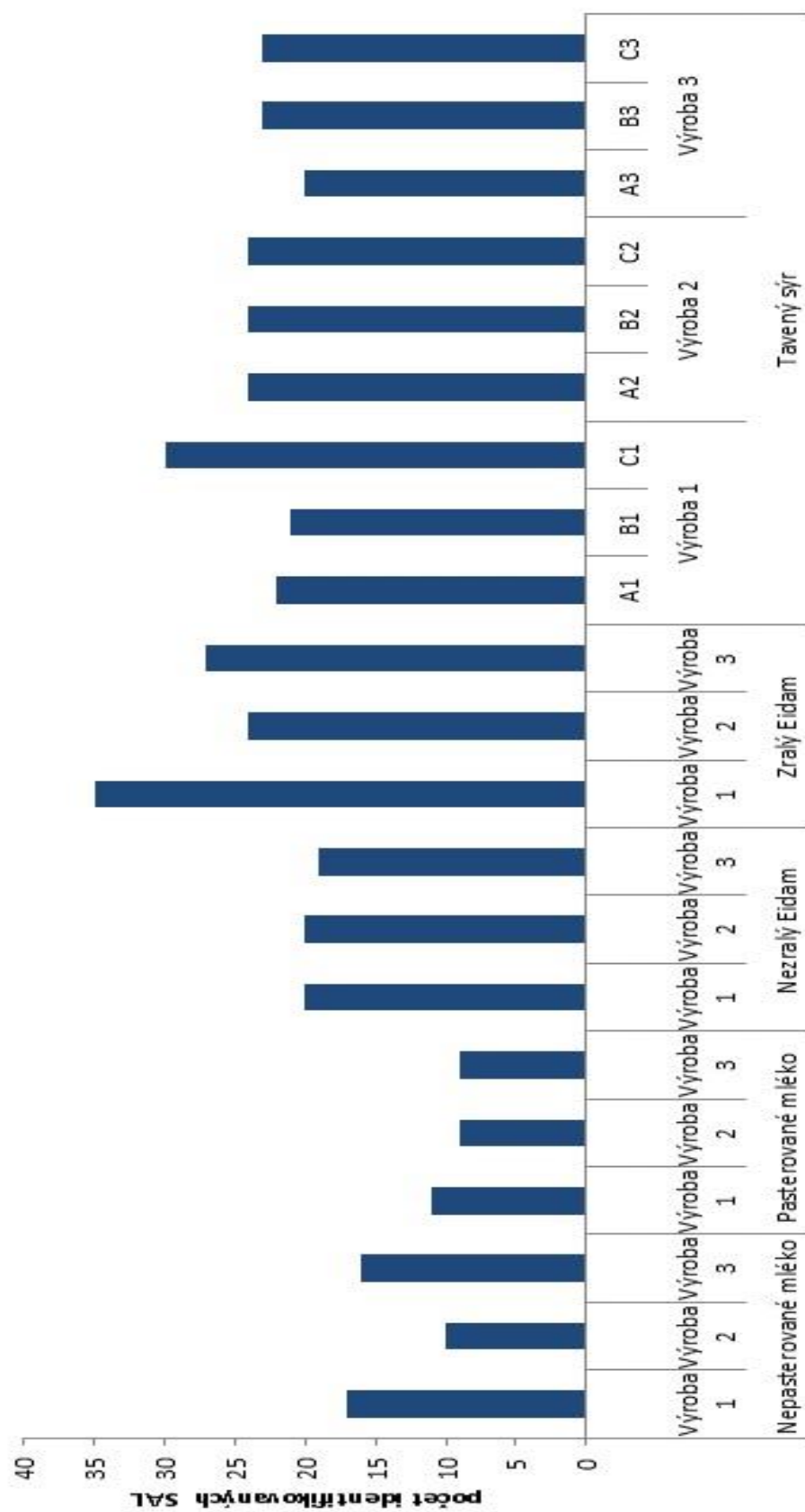
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

SAL	senzoricky aktivní látky
SPME	mikroextrakce pevnou fází
GC	plynová chromatografie
FID	plamenově ionizační detektor
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
ÚCHPBT	Ústav chemie potravin a biotechnologií
ANOVA	analýza rozptylu
PCA	analýza hlavních komponent

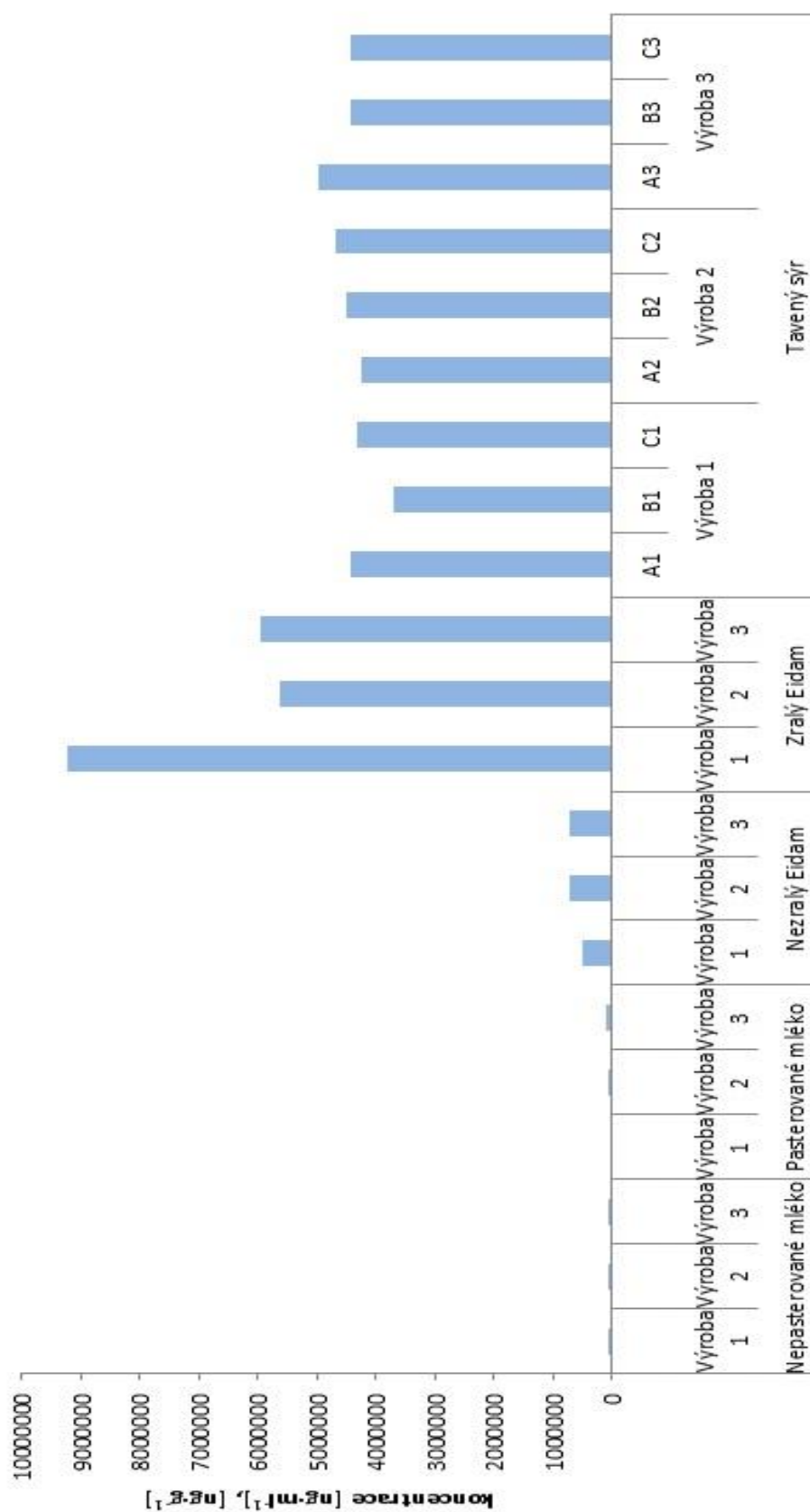
8 PŘÍLOHY

Příloha 1	Změny celkového počtu stanovených SAL v průběhu výroby
Příloha 2	Změny celkového obsahu stanovených SAL v průběhu výroby
Příloha 3	Změny celkového obsahu aldehydů v průběhu výroby
Příloha 4	Změny celkového obsahu ketonů v průběhu výroby
Příloha 5	Změny celkového obsahu alkoholů v průběhu výroby
Příloha 6	Změny celkového obsahu esterů v průběhu výroby
Příloha 7	Změny celkového obsahu kyselin v průběhu výroby
Příloha 8	Legenda k chromatogramům
Příloha 9	Chromatogram identifikovaných SAL – nepasterované mléko – výroba 1
Příloha 10	Chromatogram identifikovaných SAL – pasterované mléko – výroba 1
Příloha 11	Chromatogram identifikovaných SAL – nezralý sýr – výroba 1
Příloha 12	Chromatogram identifikovaných SAL – zralý sýr – výroba 1
Příloha 13	Chromatogram identifikovaných SAL – tavený sýr – tavba A1
Příloha 14	Chromatogram identifikovaných SAL – tavený sýr – tavba B1
Příloha 15	Chromatogram identifikovaných SAL – tavený sýr – tavba C1

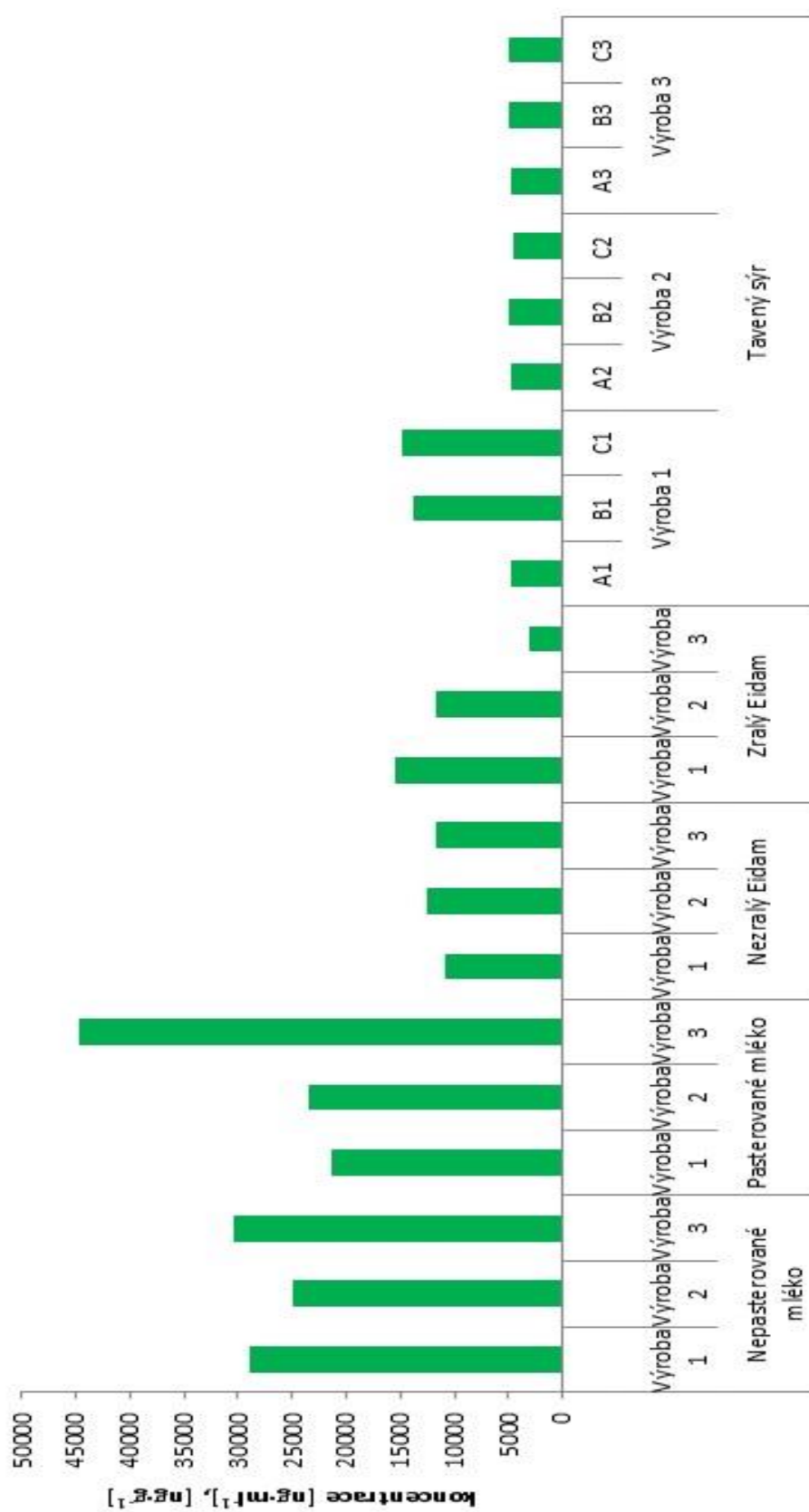
Příloha 1: Změny celkového počtu stanovených SAL v průběhu výroby



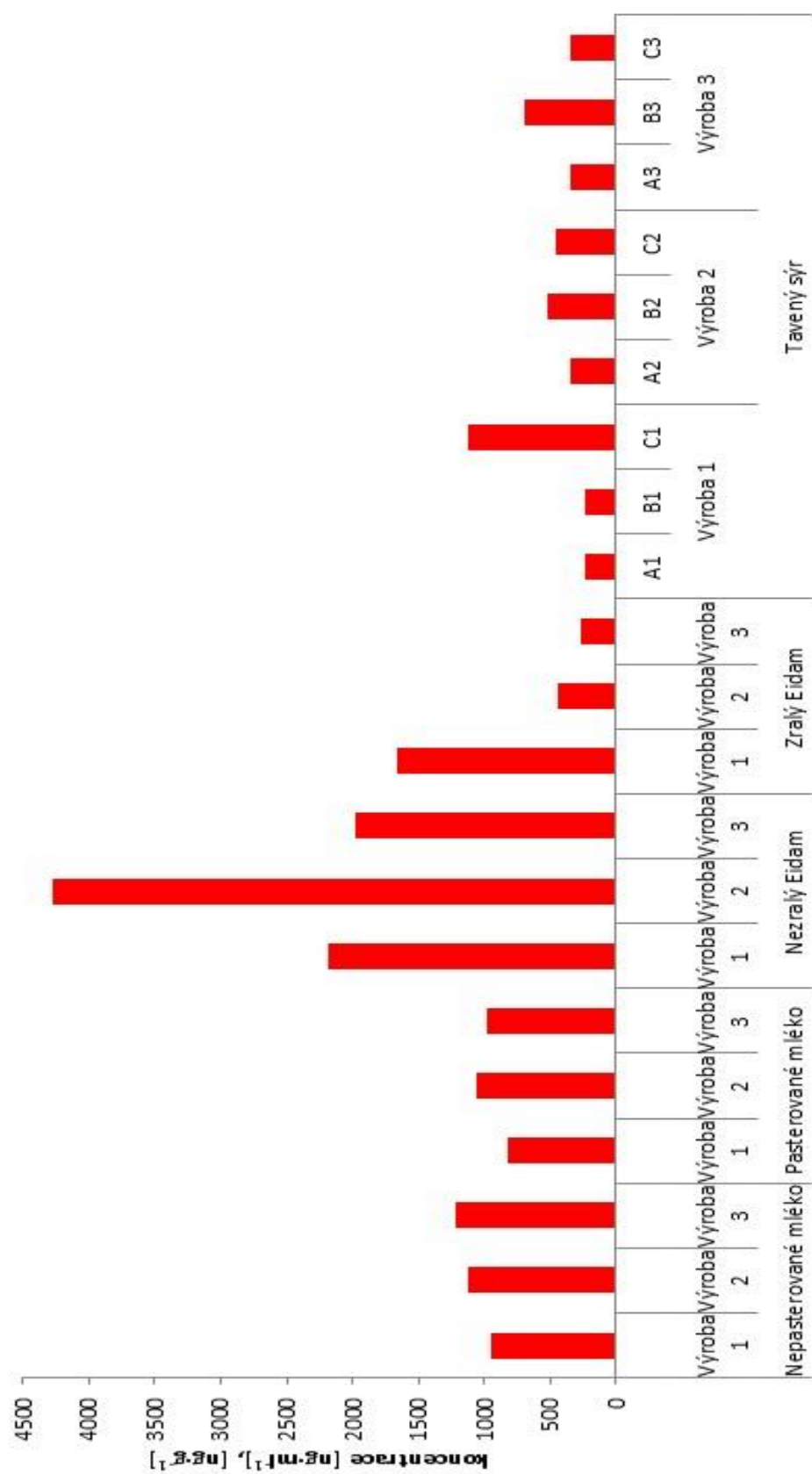
Příloha 2: Změny celkového obsahu stanovených SAL v průběhu výroby



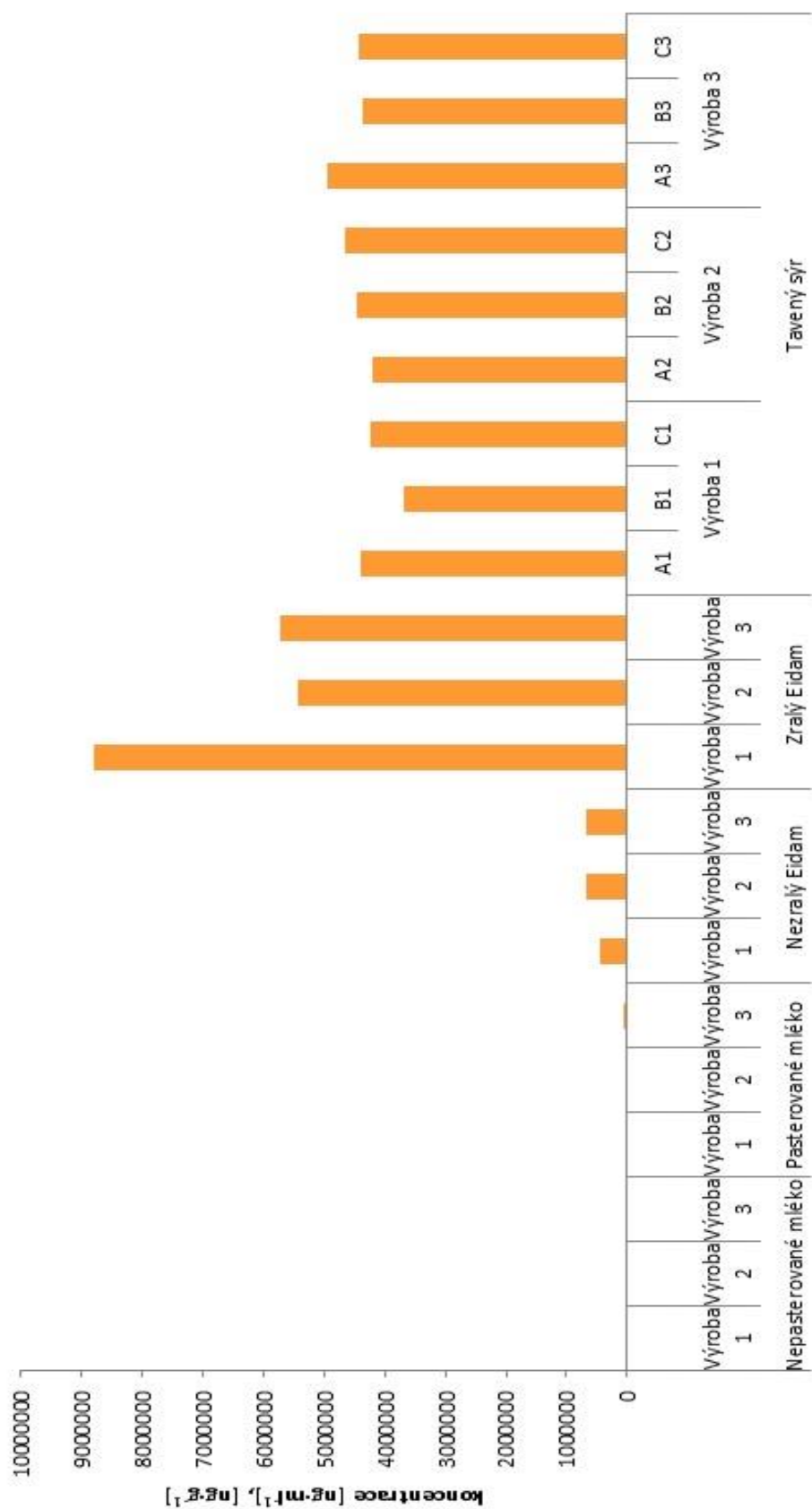
Příloha 3: Změny celkového obsahu aldehydů v průběhu výroby



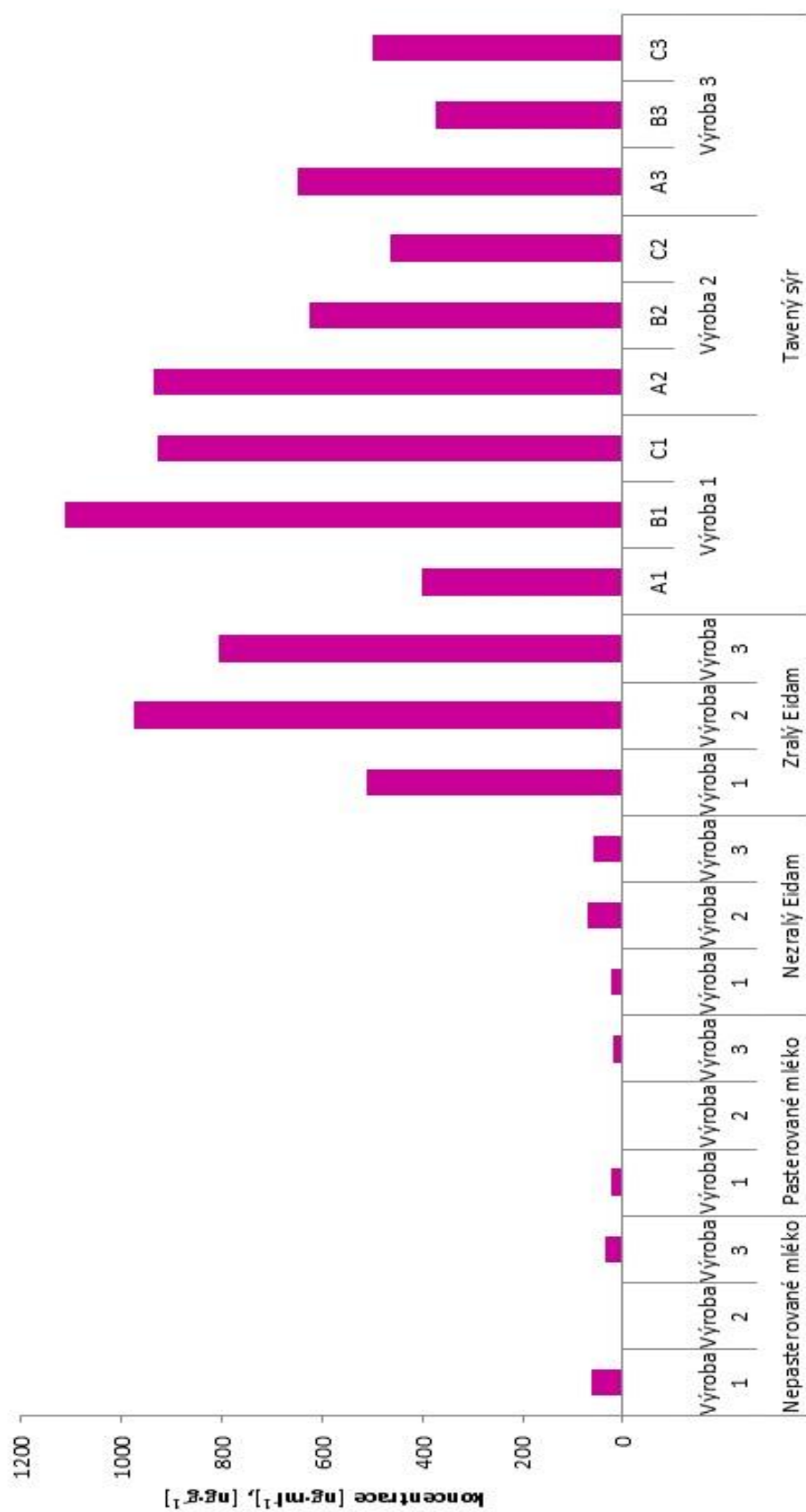
Příloha 4: Změny celkového obsahu ketonů v průběhu výroby



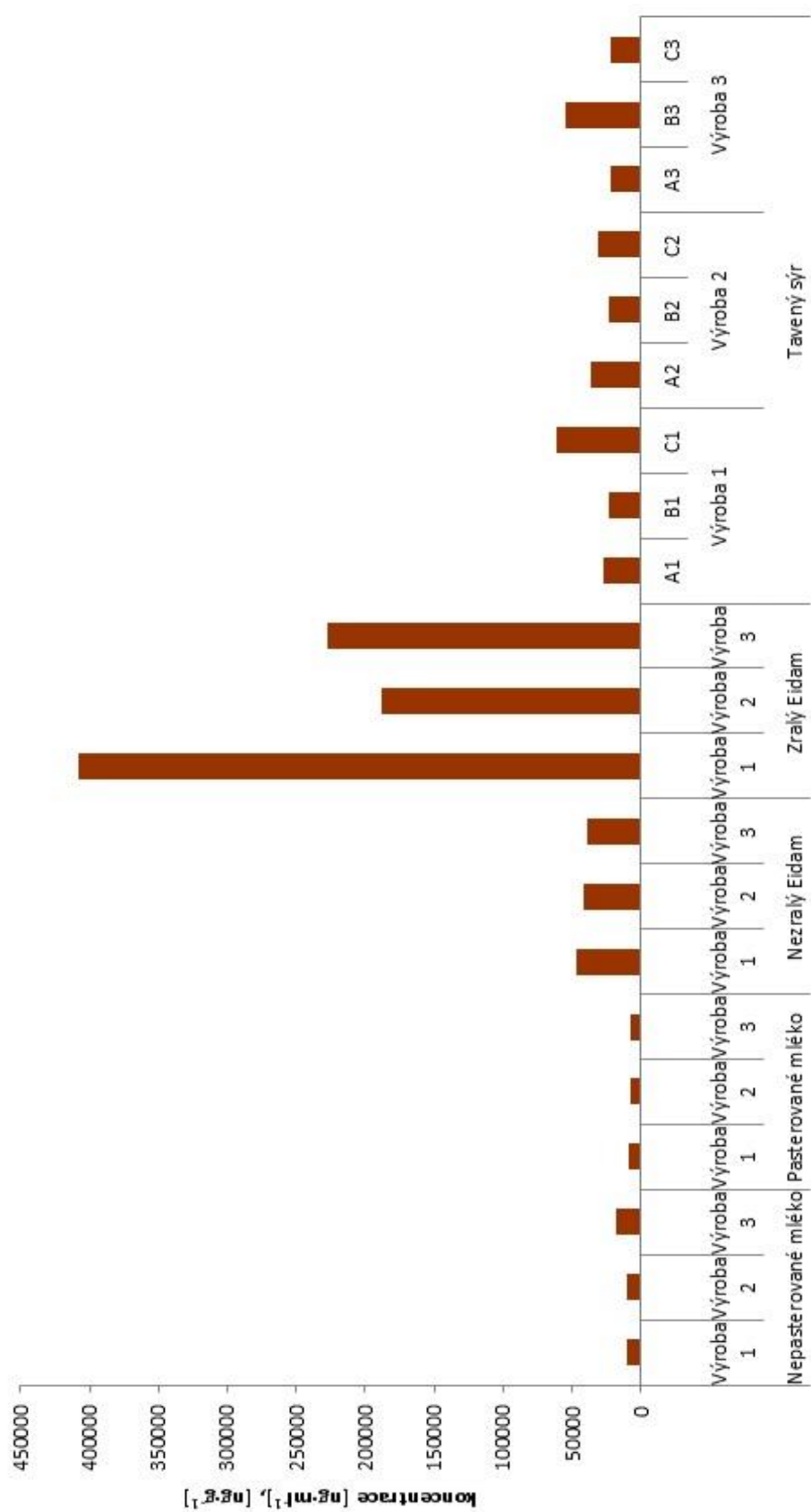
Příloha 5: Změny celkového obsahu alkoholů v průběhu výroby



Příloha 6: Změny celkového obsahu esterů v průběhu výroby



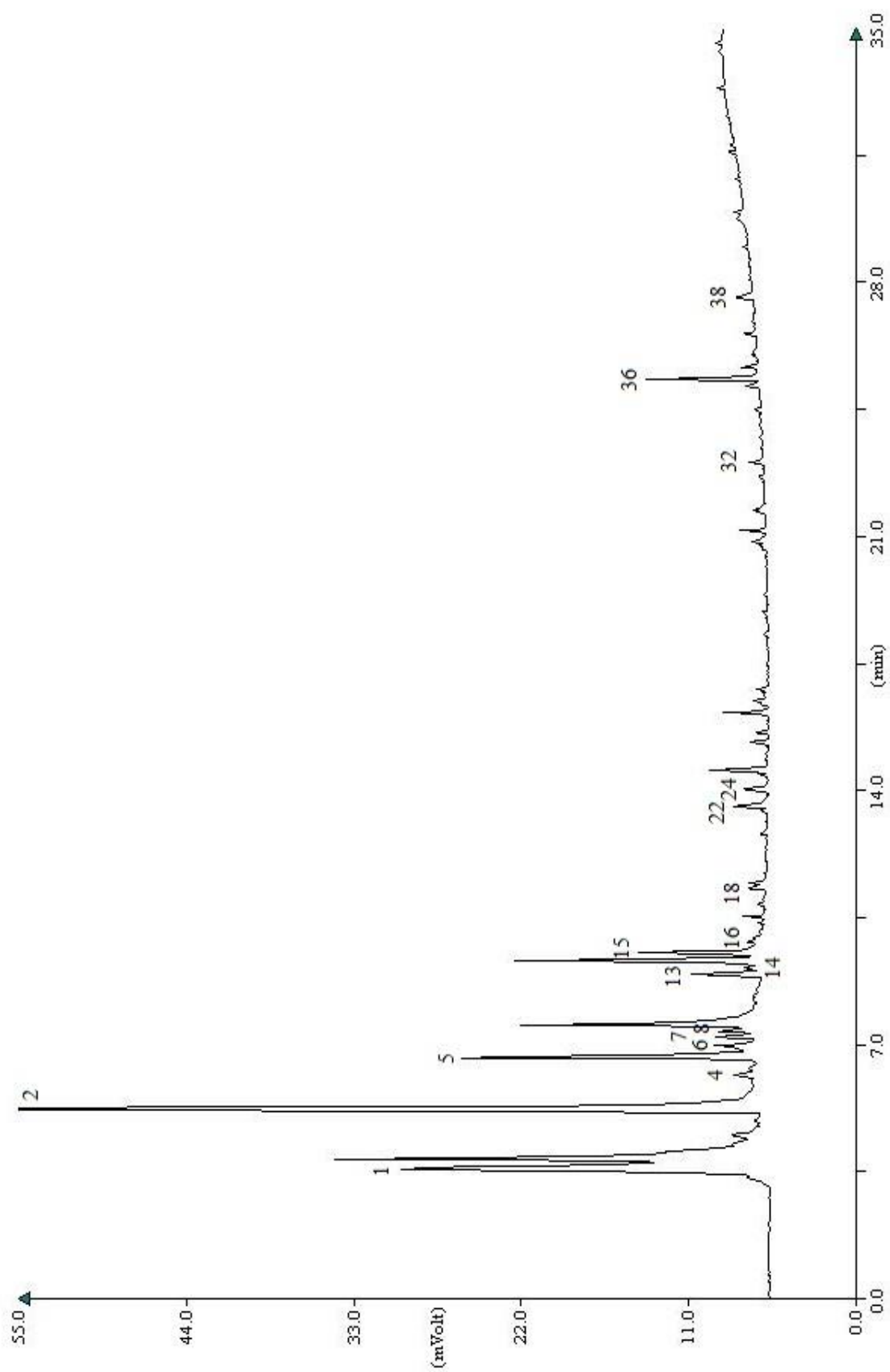
Příloha 7: Změny celkového obsahu kyselin v průběhu výroby



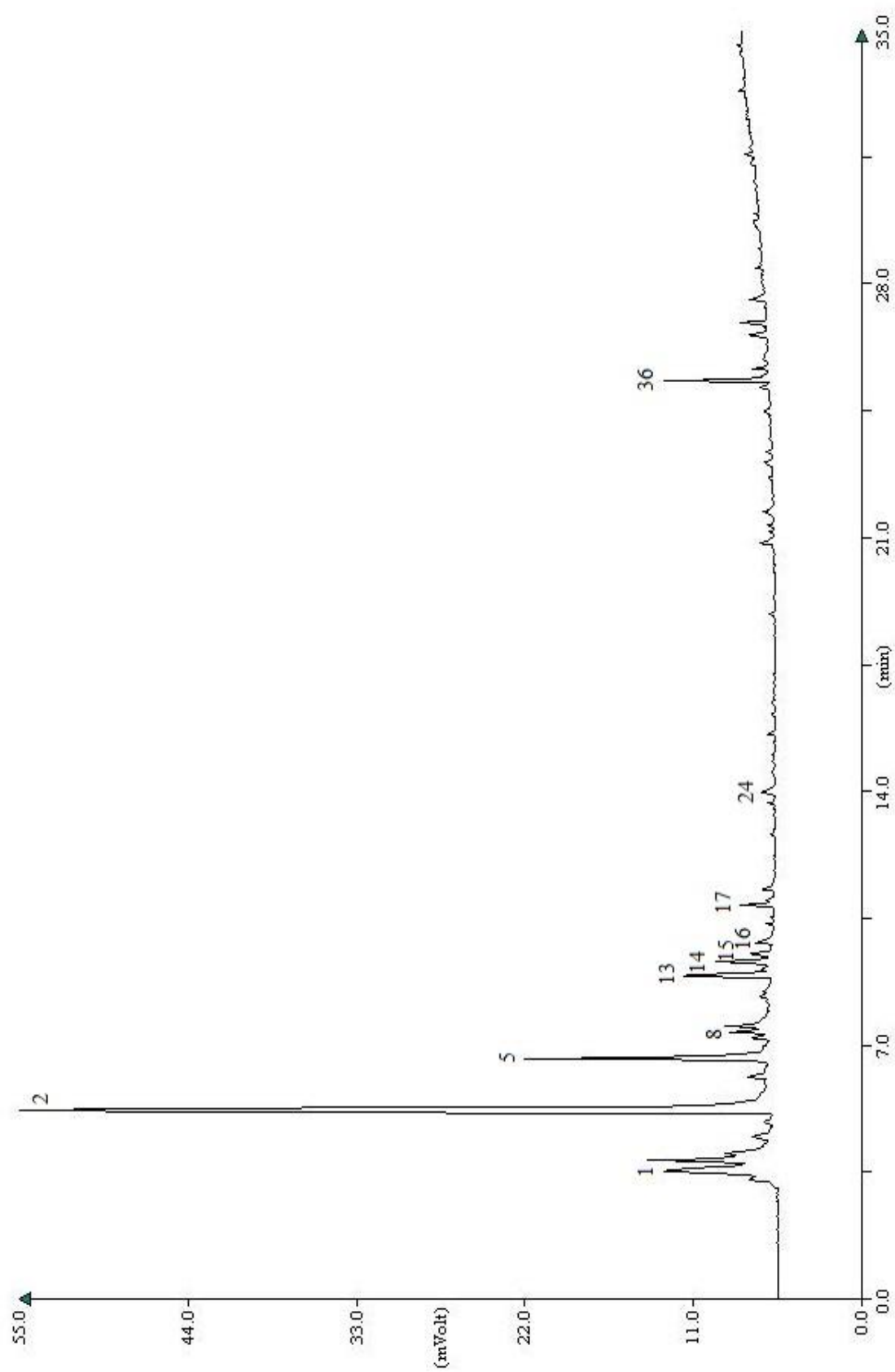
Příloha 8: Legenda k chromatogramům

Číslo píku	Sloučenina
1	ethanal
2	propanal
3	methylethanoát
4	ethylethanoát
5	butan-2-on
6	3-methylbutan-1-al
7	propan-2-ol
8	ethanol
9	butan-2,3-dion
10	propylethanoát
11	pentan-2-on
12	pentanal
13	4-methylpentan-2-on
14	butan-2-ol
15	ethylbutanoát
16	propanol
17	butylethanoát
18	2-methylpropan-1-ol
19	hexanal
20	pentan-2-ol
21	butanol
22	heptanal
23	heptan-2-on
24	3-methylbutan-1-ol
25	2-methylbutan-1-ol
26	pentan-1-ol
27	3-hydroxybutan-2-on
28	hexan-1-ol
29	k. ethanová
30	dekan-2-on
31	nonan-2-ol
32	k. propanová
33	k. 2-methylpropanová
34	oktan-1-ol
35	k. butanová
36	k. 3-methylbutanová
37	ethyldekanoát
38	dekan-1-ol
39	k. 2-hydroxypropanová
40	k. hexanová
41	k. dekanová

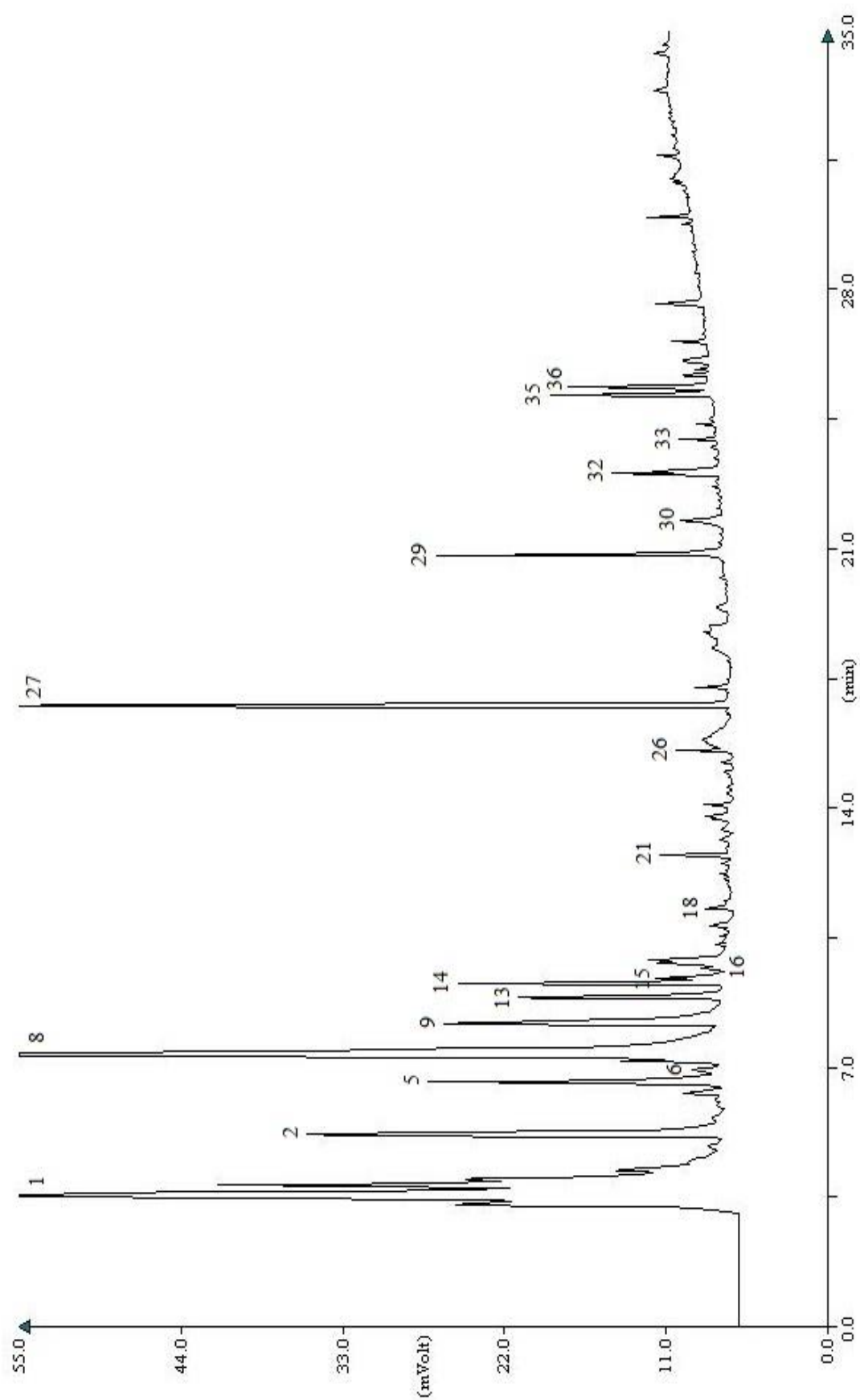
Příloha 9: Chromatogram identifikovaných SAL – nepasterované mléko – výroba 1



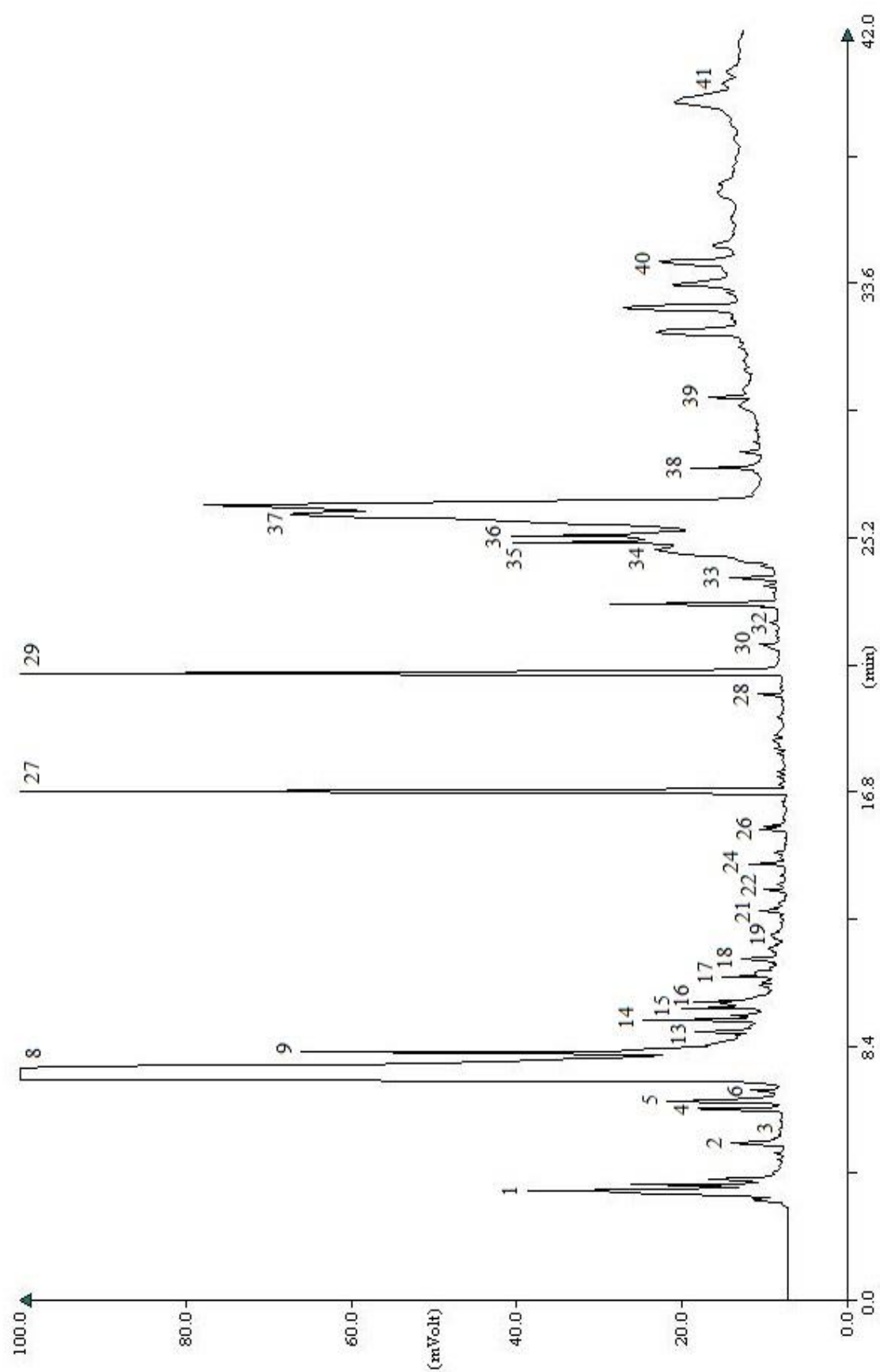
Příloha 10: Chromatogram identifikovaných SAL – pasterované mléko – výroba 1 (65 °C, 30 min)



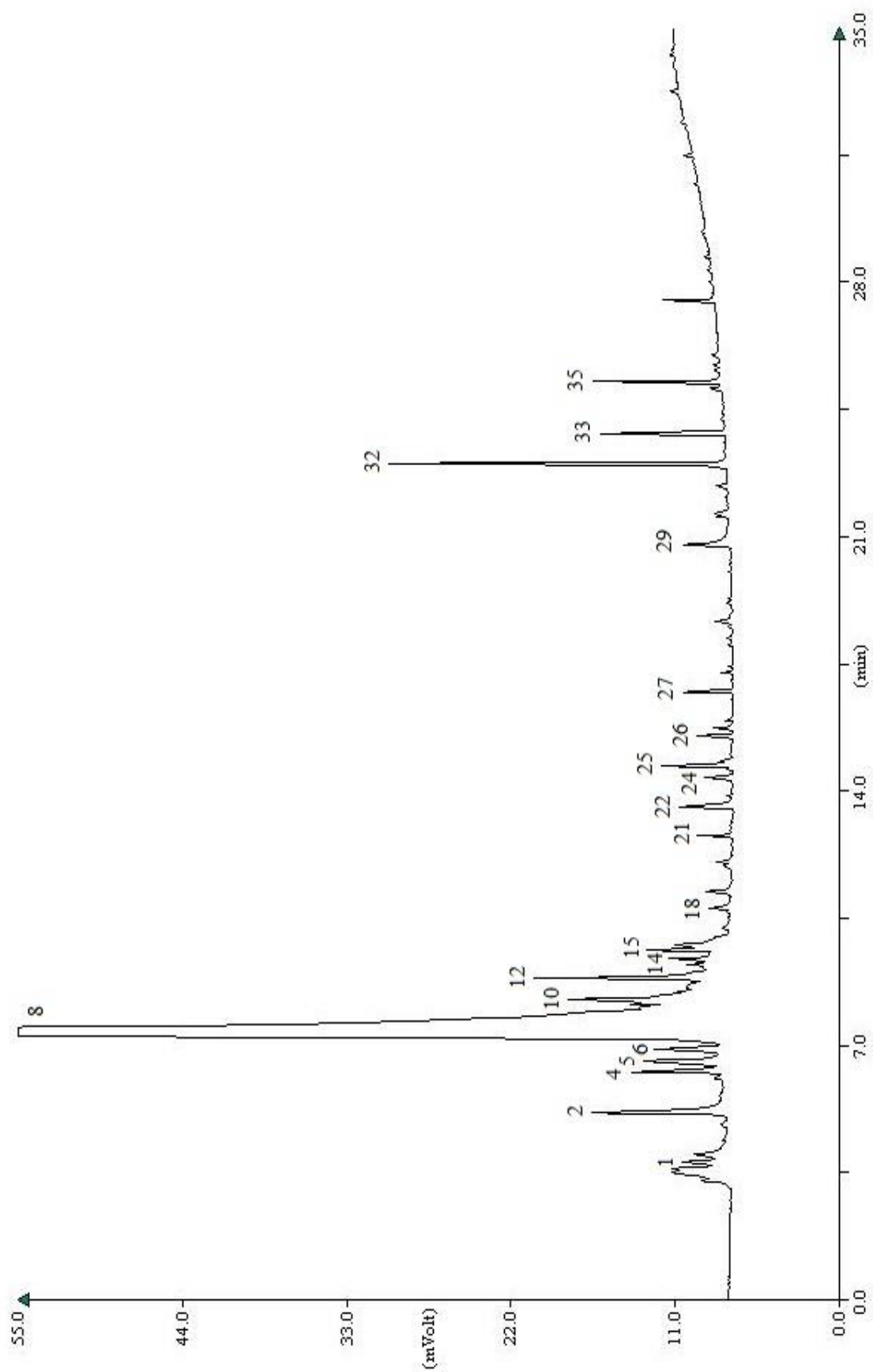
Příloha 11: Chromatogram identifikovaných SAL – nezralý sýr – výroba 1 (65 °C, 30 min)



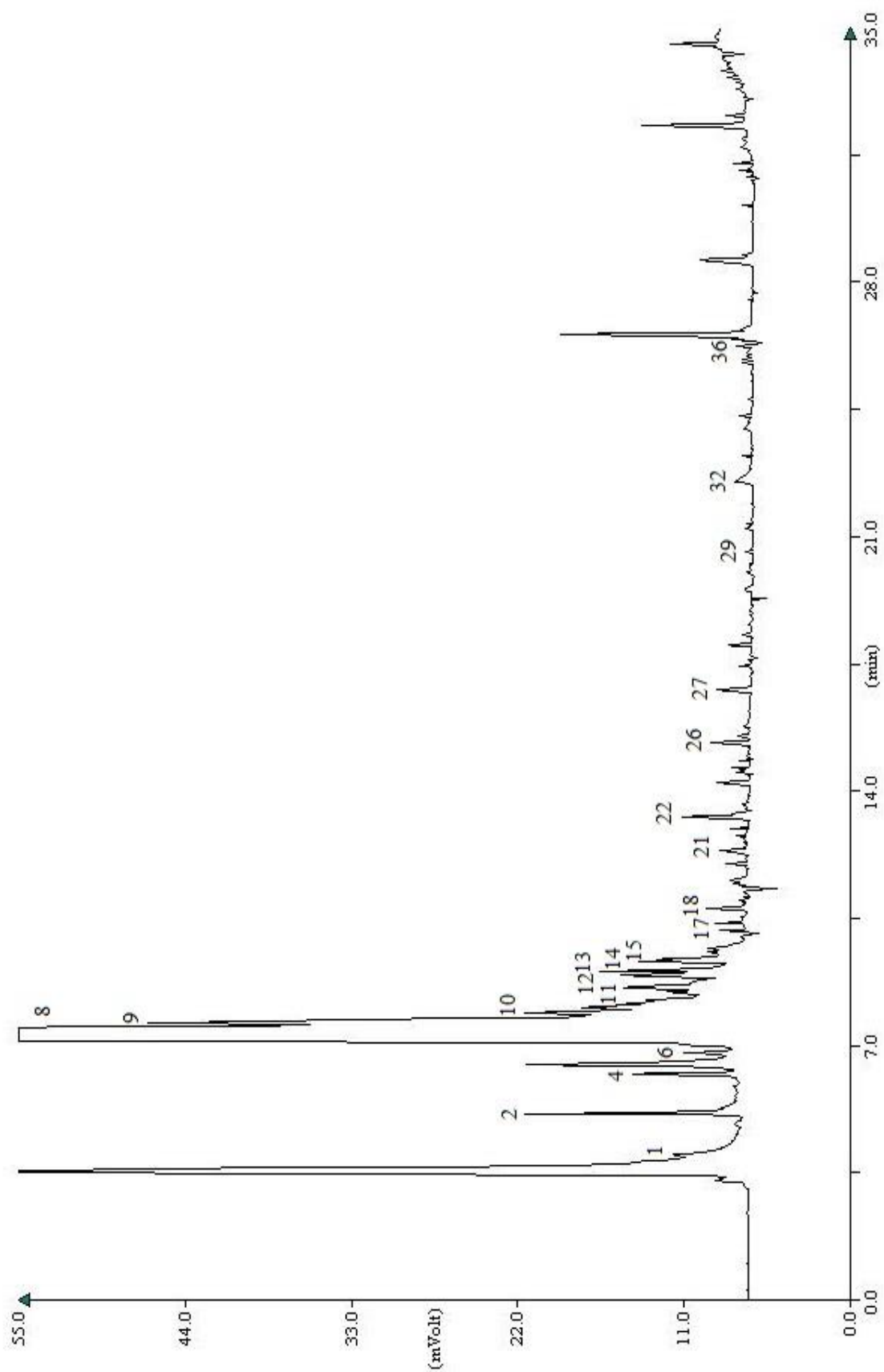
Příloha 12: Chromatogram identifikovaných SAL – zralý sýr – výroba 1 (65 °C, 30 min)



Příloha 13: Chromatogram identifikovaných SAL – tavený sýr – tavba A1 (85 °C, 1 min)



Příloha 14: Chromatogram identifikovaných SAL – tavený sýr – tavba B1 (85 °C, 5 min)



Příloha 15: Chromatogram identifikovaných SAL – tavený sýr – tavba C1 (85 °C, 10 min)

