



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

AROMATICKÝ PROFIL SÝROVÝCH ANALOGŮ

AROMA PROFILE OF CHEESE ANALOGUES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

ŠÁRKA SOUČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2011



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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0607/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Šárka Součková	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	Ing. Eva Vítová, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Kateřina Sklenářová	

Název bakalářské práce:

Aromatický profil sýrových analogů

Zadání bakalářské práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - složení a vlastnosti sýrových analogů
 - technologie výroby
- Pomocí metody SPME-GC identifikujte a kvantifikujte aromatické látky ve vzorcích sýrových analogů
- Porovnejte aromatický profil jednotlivých vzorků

Termín odevzdání bakalářské práce: 6.5.2011

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

Šárka Součková
Student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce řeší problematiku tavených sýrových analogů. Co to vlastně jsou sýrové analogy, jejich chemické složení a vlastnosti. Cílem bylo proměřit několik vzorků sýrových analogů s přídavkem různých druhů rostlinných tuků a identifikovat a kvantifikovat obsažené těkavé aromaticky aktivní látky. Aromatické látky byly ze vzorků izolovány pomocí metody Solid phase microextraction (SPME), bylo použito vlákno s polární stacionární fází CARTM/PDMS, zachycené látky byly stanoveny plynovou chromatografií.

Vyhodnocované sýrové analogy se navzájem lišily druhem obsaženého tuku. V rozdílných množstvích bylo celkem identifikováno 27 aromaticky aktivních látek. Nejvíce sloučenin, celkem 24, obsahoval sýrový analog se slunečnicovým olejem a naopak nejmenší počet aromatických látek, 16, byl zjištěn u sýrového analogu s kokosovým tukem. Co se týká množství aromaticky aktivních látek, největší koncentrace byla zjištěna u analogu s kokosovým tukem a nejnižší u sýrového analogu s palmovým tukem. V nejvyšší koncentraci byl ve všech vzorcích nalezen ethanol.

Lze tedy říci, že jednotlivé analogy se lišily typem a množstvím aromatických látek v závislosti na použitém tuku.

ABSTRACT

This Bachelor's thesis deals with the issue of processed cheese analogues. It will explain what they are, their chemical composition and properties. The aim is to examine a number of cheese analogue samples with added various types of vegetable fats and identify and quantify the volatile aroma active substances present. Aroma compounds were isolated from samples using the Solid Phase Microextraction (SPME), a fiber with polar stationary phase (CARTM/PDMS) was used and the captured substances were then determined by gas chromatography.

The evaluated cheese analogues varied in the type of the contained fat. In total 27 aroma active compounds in different amounts were identified. Cheese analogue with sunflower oil contained the most compounds (24) and the smallest number of aroma substances (16) has been detected in the cheese analogue with coconut fat. The highest concentration of aromatic compounds was found in the analogue with coconut fat and lowest in the cheese analogue with palm fat. Ethanol occurred in all types of analogues in the largest concentration. In conclusion it can be argued that the various analogues varied in the type and the amount of aromatic compounds, depending on the type of fat used.

KLÍČOVÁ SLOVA

sýrové analogy, SPME, GC

KEYWORDS

cheese analogues, SPME, GC

SOUČKOVÁ, Š. *Aromatický profil sýrových analogů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 61 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala paní Ing. Evě Vítové, Ph.D. a Ing. Kateřině Sklenářové za ochotu, laskavost, odborné i cenné rady, které mi usnadnily vypracování této bakalářské práce.

Obsah

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Sýrařství	8
2.1.1	Historie sýrařství.....	8
2.1.2	Rozdělení sýrů	8
2.2	Charakteristika analogů tavených sýrů	10
2.2.1	Klasifikace	10
2.3	Suroviny na výrobu sýrových analogů	12
2.3.1	Tuky.....	12
2.3.2	Mléčné proteiny	15
2.3.3	Rostlinné proteiny.....	16
2.3.4	Škroby.....	16
2.3.5	Tavicí soli	17
2.3.6	Hydrokoloidy.....	18
2.3.7	Příchutě.....	19
2.3.8	Vitamíny a minerální látky	19
2.4	Technologie výroby analogů tavených sýrů	19
2.4.1	Formulace směsi	21
2.4.2	Předmixování.....	21
2.4.3	Tavení	22
2.4.4	Přídavek regulátorů kyselosti	22
2.4.5	Homogenizace	23
2.4.6	Balení, chlazení a uskladnění	23
2.5	Značení sýrových analogů	24
2.6	Aromatické látky.....	24
2.6.1	Vznik aromaticky aktivních látek.....	25
2.7	Stanovení aromatických látek	27
2.7.1	Metody používané při izolaci aromatických látek.....	28
2.7.2	SPME.....	28
2.7.3	Plynová chromatografie.....	28
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	29
3.1	Laboratorní vybavení	29
3.1.1	Přístroje.....	29

3.1.2	Plyny.....	29
3.1.3	Chemikálie.....	29
3.1.4	Pracovní pomůcky	30
3.2	Analyzované vzorky	31
3.2.1	Výroba vzorků	31
3.2.2	Příprava vzorků k analýze	31
3.2.3	Podmínky SPME/GC analýzy	31
3.2.4	Podmínky GC analýzy.....	32
3.2.5	Vyhodnocení výsledků	32
3.2.6	Statistické zpracování výsledků.....	32
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	33
4.1	Stanovení aromaticky aktivních látek metodou SPME/GC.....	33
4.1.1	Porovnání obsahu aromatických látek v jednotlivých sýrových analozích....	36
5	ZÁVĚR.....	49
6	Seznam použitých zdrojů	51
7	Seznam použitých zkratk.....	54
8	Seznam příloh.....	55

1 ÚVOD

Sýr je obecný název pro skupinu fermentovaných mléčných výrobků, vyráběných po celém světě. Nejoblíbenější je u nás eidam. První na světě jsme ovšem ve spotřebě tavených sýrů. Česko má také vlastní sýr s ochrannou známkou původu - Olomoucké tvarůžky, někdy také nazývané olomoucké syrečky. Tento měkký zrající sýr žluté barvy se silným aromatem se vyrábí už od roku 1876 v Lošticích u Mohelnice.

Můžeme najít více jak 1000 variant sýrů, mimo jiné i tavené sýry. Ty se vyrábí tavením přírodních sýrů. Nespočetné varianty tavených sýrů vznikají přidáním chuťových přísad (koření, bylinky, šunka, zelenina). Jako správný mléčný výrobek se také sýry deklarují jako zdroj vápníku, důležitý pro správný vývoj kostí, dále hořčíku, zinku a fosforu. Obsahují vitamíny A, B1, B2, B6, B12, E, a důležité esenciální aminokyseliny, které jsou nezbytné pro výstavbu a regeneraci tkání.

V poslední době se někteří konzumenti snaží vyhledávat výrobky s nižší energetickou hodnotou, tzn. s nižším obsahem tuku a také nižší cenou. Na tyto požadavky reagovaly firmy tím, že se snaží vyrábět výrobky s různým obsahem tuku a některé firmy tím, že vyvinuly výrobky, které by mohly sýry nahradit. Takovéto výrobky označujeme jako sýrové analogy (imitace, náhražky). Jedná se především o nahrazení mléčných tuků rostlinnými. Vzhledem k tomu, že mléčné výrobky mají charakteristickou mléčnou, smetanovou a sýrovou chuť, je pro výrobce analogu nejtěžší zamaskovat příchut' po margarínech a zvýraznit jejich fádňější chuť. Problémy jsou v případě analogů také s texturními charakteristikami, jako je konzistence, elasticita, drobivost apod. Výroba analogů, náhražek nebo imitací sýrů se stala novodobým trendem v mlékárenství. Tento trend se nevyskytuje pouze u nás v České republice, ale je přítomen po celém světě. Nejčastějšími náhražkami sýrů jsou balené tavené plátkové sýry. Tyto výrobky neobsahují mléko, ale jsou vyrobeny z rostlinných tuků, bílkovin a umělých barviv.

Cílem této práce bylo pomocí metody SPME ve spojení s plynovou chromatografií proměřit několik vzorků sýrových analogů a porovnat jejich tzv. aromatický profil.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Sýrařství

2.1.1 Historie sýrařství

Většina odborníků se domnívá, že první sýr byl vyroben na Středním východě, když se začala domácí zvířata chovat na mléko. Sýr byl znám již Sumerům tisíc let před naším letopočtem. Později sýr vyráběli Řekové a Římané [1]. Římané v době císařství znali přinejmenším 12 druhů sýra a také věděli, jak sýr správně vyudit nebo solit. Pochutnávali si také na "zahraničních" druzích sýrů. K oblíbeným patřily hlavně germánské. Ti se specializovali na "kyselé" sýry [2]. V době antiky sýr dodával mužům sílu do boje, býval obětován bohům a také byl považován za afrodisiakum. Známý Hypokrates prý doporučoval sýr na léčbu zánětů. Římsí vojáci dostávali pravidelné příděly sýra, z toho důvodu byla při každé pevnosti postavena také sýrárna. V té době se výroba sýru stala uměním a řemeslem a rychle se zdokonalila. Byl objeven proces zrání a bylo známo, že určité podmínky během uskladňování či zpracování velmi významně ovlivňují to, jakou chuť a vůni budou sýry mít. Sýr se vyskytoval na stolech bohatých i chudých. Největší rozvoj sýrů byl zaznamenán ve středověku, kdy bylo vyrobeno mnoho druhů sýra. Mnoho současných sýrů se začalo profilovat ve středověku. V Itálii vznikla roku 879 gorgonzola, v roce 1200 pak sýr grana a v roce 1579 parmigiano (parmazán). Francouzi znali již dlouhou dobu sýry jako roquefort (vznikl v roce 1070) a cantal. Sýr gouda z Goudy vznikl v roce 1697 [3]. Sýr byl velmi důležitou potravinou během postních dnů, kdy se nesmělo jíst maso. Byl vyráběn hlavně jednotlivými řády a církevními institucemi, snad proto, aby zpestřily svůj jídelníček. Ze středověku se nám dochovalo mnoho receptů, protože jeptišky a mniši, kteří vyráběli sýr, uměli psát a číst. Sýr byl velice žádaný a stal se velmi důležitou komoditou při obchodování. Během renesance ale ztratil svoji oblibu, jelikož byl považován za nezdravý. Svoji popularitu znovu získal v 19. století, kdy bylo zjištěno, že zrání sýrů způsobují mikroorganismy. V 50. letech 19. století francouzský mikrobiolog Louis Pasteur objevil pasterizační proces a tím jednou provždy posunul výrobu sýra. Pasterizace má za následek zničení převážné vegetativní mikroflóry. Hlavní výhodou pasterizace je zdravotní nezávadnost mléka, které slouží na výrobu sýrů. Pasterizační proces umožnil výrobu sýrů ve větším množství a výroba se přesunula z malých tradičních mlékáren do velkých průmyslových závodů. Výroba sýrů je dodnes velmi variabilní a její receptury jsou velmi střeženým tajemstvím, které si každý výrobce pečlivě chrání [1].

2.1.2 Rozdělení sýrů

Sýr je bílkovinný koncentrát z mléka, který se vyrábí okyselením nebo enzymovým srážením za spolupůsobení mikroorganismů. Sýr vzniká odstraněním vody ze sraženiny a podléhá chemickým a fyzikálním změnám účinkem přítomné mikroflóry. Oba dva vlivy působí na chuťové změny a podstatně prodlužují trvanlivost v porovnání s čerstvým mlékem. Bílkovinou složkou sýra je kasein, který se sráží při sýření.

Syrovátkou se odstraňuje ze syroviny podstatná část mléčného cukru, ve vodě rozpustných vitamínů a minerálních látek i ve vodě rozpustná syrovátková bílkovina. Činností mikroorganismů vzniká velký počet produktů látkové přeměny, které dodávají každému sýru jeho charakteristickou chuť [4].

V praxi se používá mnoho hledisek rozdělení sýrů, mohou to být tato: [5,6,7,8]

Podle druhu použitého mléka

- kravské
- ovčí
- kozí
- jiné

Podle použité suroviny

- přírodní sýry – vyráběné přímo z mléka
- tavené sýry – vyrobené dalším zpracováním přírodních sýrů
- syrovátkové – vyrobeny se zahuštěné syrovátky
- sýry, ve kterých je mléčný tuk nahrazen rostlinnými tuky (tzv. plněné sýry)
- imitace sýrů – jsou vyráběny rekonstrukcí jednotlivých složek mléka

Podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (% VVTPH)

- extratvrdý – méně než 47,0 včetně
- tvrdý – 47,0 až 54,9
- polotvrdý – 55,0 až 61,9
- poloměkký – 62,0 až 68,0 včetně
- měkký – více než 68,0

Podle obsahu tuku v sušině (v % hmotnostních)

- vysokotučný – více než 60 včetně
- plnotučný – 45 až 59
- polotučný – 25 až 44
- nízkotučný – 10 až 24
- odtučněný – méně než 10

Podle způsobu srážení

- kyselé sýry – mléko se sráží působením kyseliny mléčné, která je produktem bakterií mléčného kysání
- sladké sýry – při srážení mléka syřidlem se získá sýřenina – základ k výrobě sýrů

Při dalším dělení sýrů podle způsobu výroby se zvláště přihlíží ke způsobu zpracování sýřeniny a zrání sýrů. Sýry je možno rozdělit do těchto skupin:

Kyselé sýry

- zrající (Olomoucké tvarůžky)
- nezrající (tvarohy)

Sladké sýry

- čerstvé sýry nesolené (pomazánky, krémový sýr) a solené (Cottage)
- zralé tvarohovité sýry (Brynza)
- měkké a pod mazem zrající sýry (Romadúr)
- plísňové sýry s plísní v těstě (Zlatá Niva, Niva, Gorgonzola) a s plísní na povrchu (Kamadet)
- sýry pařené (Jadel, Mozzarella)
- sýry s pařeným těstem (Blatácké Zlato)
- bílé sýry v solném nálevu (Akawi)
- sýry s lisovanou a nízkodohřívanou sýřeninou (Madeland, Madeland light, Jihočeský uzený sýr, Eidamská cihla)
- sýry s lisovanou a vysokodohřívanou sýřeninou (Primator, Moravský bochník)

2.2 Charakteristika analogů tavených sýrů

Sýrové analogy jsou produkty, u nichž mléčný tuk, mléčná bílkovina nebo obě složky jsou částečně nebo zcela nahrazeny nemléčnou složkou, nejčastěji rostlinného původu. Nahrazení mléčného tuku rostlinnými tuky způsobuje typické texturní defekty, nedostatečné aroma a chuť výrobku, zhoršuje tavicí vlastnosti. Na druhé straně však přispívá ke zdravějšímu poměru nasycených a nenasycených tuků a ke snížení obsahu cholesterolu. Texturní defekty mohou být minimalizovány vhodnou volbou a kombinací surovin, kdy vznikají analogy téměř identické chuti a struktury jako mají pravé sýry.

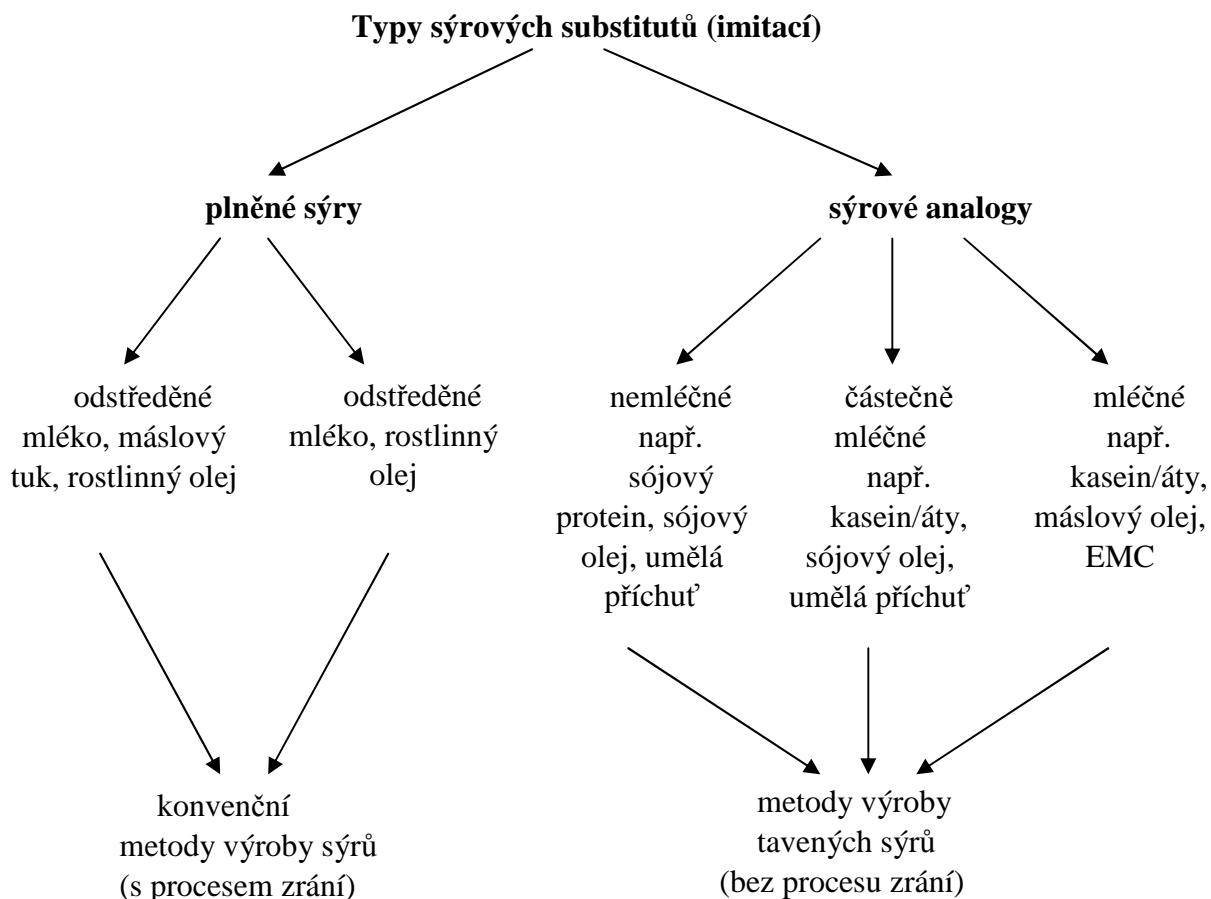
Technologický proces výroby sýrových analogů se velmi podobá výrobě klasických tavených sýrů. Zahrnuje výběr ingrediencí, jejich homogenizaci, tavení, přidání emulgátorů a aditiv, balení a chlazení. Největší vliv na konečné vlastnosti taveného sýra mají emulsifikační soli, které zajišťují uniformní distribuci částic a tím se podílejí na tvorbě struktury a konzistence sýra. Velkou roli hraje také přidání příchutí a jejich zvýrazňovačů, bez kterých by analogy neměly téměř žádnou sýrovou chuť [7,9].

Sýrové analogy se čím dál více používají vzhledem k jejich nákladové efektivnosti. Jejich výroba je jednoduchá a nahrazení vybrané mléčné složky levnějšími rostlinnými produkty snižuje jejich cenu. Díky tomu, že obsahují méně tuku, nasycených tuků, cholesterolu a kalorií jsou stále více u spotřebitelů oblíbené [10].

2.2.1 Klasifikace

Sýrové náhražky a sýrové imitace jsou synonyma. Existují dva základní typy procesů pro výrobu sýrových analogů (viz obr. 1). První používá tekuté mléko a zahrnuje tradiční metody při výrobě sýrů. Tyto produkty jsou označovány jako plněné sýry. Druhý způsob výroby je ten, kdy analog vzniká smícháním různých surovin, spolu s využitím technik podobné těm pro výrobu tavených sýrů. Dnes většina je sýrových analogů vyrobena procesem míchání [10].

Pro výrobu sýrových analogů se užívá tukových a/nebo proteinových zdrojů jiných než z přírodního mléka společně s napodobením systému příchutí co nejbližších přírodním sýrům. [12,6]



Obr. č. 1: Odlišné typy sýrových substitutů [10]

Sýrové analogy (CA) mohou být rozděleny na mléčné, částečně mléčné a nemléčné, kde tuk a/nebo proteiny jsou z mléčných nebo rostlinných zdrojů. Nejčastěji se vyrábí částečně mléčné sýrové analogy, u kterých je tuk nahrazen rostlinným olejem, např. sojovým, palmovým nebo řepkovým. Protein má mléčný základ, kde se obvykle používá rennet kasein a/nebo kaseináty. U nemléčných sýrových analogů je tuk i protein nahrazen rostlinnými surovinami, tyto typy však nemají prakticky žádný komerční význam. Mléčné analogy nejsou produkovány, kvůli jejich cenové nákladnosti.

Růst v odvětví hotových jídel v posledních letech se odráží v růstu poptávky po sýrech jako složkách potravin. Drcený, na kostičky, plátky a dokonce i tekutý sýr byl vyvinut k uspokojení potřeb moderního potravinářského průmyslu a stále získává na popularitě. Tržby z prodeje sýrových analogů jsou úzce spojeny s vývojem v oblasti „pohodlí“ potravin. Sýrové imitace se stále více používají vzhledem k jejich nákladové efektivnosti, spočívající především v jednoduchosti jejich výroby a nahrazení vybraných mléčných složek levnějšími rostlinnými produkty. Sýrové analogy rozšiřují nabídku a snižují náklady [10].

Sýrové analogy mají mnoho potenciálních výhod, a tak se zvyšuje jejich přijatelnost u zpracovatelů potravin i spotřebitelů. V USA jsou obecně vyrobeny tak, aby byly nutričně rovnocenné, nebo v některých případech mají dokonce nutriční výhody oproti přirozeným sýrům. (např. obsahem vitamínů a minerálů). Také bylo zjištěno, že sýrové analogy obsahují

menší množství solí a nasyčených tuků, což může vést k změnám vzhledu, konzistence, chuti, tavicích vlastností a dalších atributů [10].

2.3 Suroviny na výrobu sýrových analogů

Analogy sýra nejsou vyrobeny přímo z mléka (nebo dehydratovaného mléka), ale jsou vyrobeny smícháním různých jedlých olejů nebo tuků, vody, kaseinu, kaseinátů a dalších přísad a pomocí tepla, mechanického zpracování a přidáním tavicí soli jsou zpracovány do hladké homogenní směsi. Jednotlivé složky jsou uvedeny v tabulce č. 1 [12].

2.3.1 Tuky

Žádoucí složení, texturu a tavicí vlastnosti dávají sýrovým analogům hlavně tuky. U analogů bývá mléčný tuk nahrazován rostlinnými oleji. Výrobek má vyšší obsah nenasycených mastných kyselin, snížený obsah cholesterolu a také nižší cenu. Mezi nejčastěji používané tuky patří máslo, sušený mléčný tuk, přírodní nebo částečně hydrogenovaný sojový olej, kukuřičný olej a palmový olej [12].

Sýrové analogy se sníženou kalorickou hodnotou a sníženým obsahem živočišného tuku se vyrábí s použitím nestravitelné nebo málo stravitelné tukové substance. Mezi nejčastěji používané nízkokalorické tukové materiály patří polyestery polyolů mastných kyselin, cukr a cukerné alkoholy. Vyrábí se i sýrové analogy s téměř nulovým obsahem tuku [10].

2.3.1.1 Mléčný tuk

Mléčný tuk je významným zdrojem energie, vitamínů, podílí se na výstavbě buněčných membrán a uděluje organoleptické vlastnosti výrobku. Je základním zdrojem kalorické hodnoty mléka a vyznačuje se vysokou, až 99% stravitelností.

V mléčném tuku dominují triacylglyceroly, které tvoří asi 98,4 % z celkových tuků. Dále jsou v něm zastoupeny mono- a diacylglyceroly a volné mastné kyseliny. Podle zastoupení dělíme mastné kyseliny na tzv. majoritní a minoritní (méně jak 1 %). Z celkového zastoupení tvoří 2/3 nasyčené mastné kyseliny a 1/3 nenasycené mastné kyseliny, ze kterých jsou nejznámější linolová, linolenová a arachidonová. Vlastnosti mléčného tuku ovlivňuje kyselina myristová, palmitová, stearová a olejová. Typický je i vysoký podíl nízkomolekulárních mastných kyselin (máselná, kapronová, kaprylová), které se podílejí na výsledné charakteristické vůni a chuti mléčného tuku [14,15]. Další složkou tuku je glycerol.

Na povrchu tukových kapek se nachází aktivní fosfolipidová dvojvrstva. Jako aktivní látka přispívá na jejich povrchu ke stabilizaci a emulgaci. Významnou složkou jsou tedy dále fosfolipidy, které tvoří v mléčném tuku asi 1 %. Tyto látky jsou součástí všech buněk, zvláště nervových tkání. Mléčné fosfolipidy obsahují hlavně lecitin (30 %), kefalin (45 %) a sfingomyelin (25 %). [14] Lecitin je antagonistou cholesterolu. Pomáhá stabilizovat poměr mezi frakcemi LDL a HDL lipoproteinů, přispívá k prevenci onemocnění jater a stimuluje nervový systém [15].

Dále mléčný tuk obsahuje steroly. Nejdůležitější je cholesterol, který tvoří v mléčném tuku 0,01 až 0,015 %. Vyskytuje se i v membránách tukových kapek. V organismu se zúčastňuje buňkového metabolismu (při tvorbě žlučových kyselin a steroidních hormonů). V menší míře se v mléčném tuku vyskytuje ergosterol (prekurzor vitamínu D) a tokoferoly (vitamín E) [14,17].

Z uhlovodíků se v mléčném tuku vyskytují hlavně skvalen a karotenoidy. Karotenoidy jsou žlutá a červená barviva rozpustná v tucích. Největší význam má β -karoten, prekurzor vitamínu A [14].

Sušený mléčný tuk je velmi čistý mléčný prášek obsahující méně než 1 % vlhkosti a minimálně 99,9 % mléčného tuku. Nízký obsah vlhkosti umožňuje dlouhou trvanlivost, při vhodném zabalení může být uskladněn i po několik měsíců při pokojové teplotě [6].

2.3.1.2 Rostlinné tuky

Jako náhražka mléčného tuku se používá sójový, arašídový, palmový, bavlníkový, kokosový a kukuřičný olej. Různé rostlinné oleje dávají sýrům konzistenci, která je vhodná pro určité užití. Sójový olej uděluje sýrovým analogům tvrdost a přilnavost, ale snižuje jejich soudržnost a pružnost. Opačný efekt dává sójový olej a máslový tuk.

Rostlinné oleje na rozdíl od mléčného tuku neobsahují cholesterol, čili pokud při výrobě není použit máslový olej, vznikají sýry, které neobsahují cholesterol [10].

Surový olej se získává extrakcí rozpouštědlem se semen a/nebo plodů.

Sójový olej se vyrábí ze sójových bobů. Ty obsahují asi 20 % oleje, z kterého asi polovina připadá na kyselinu linolovou. Dále obsahují kyselinu olejovou (21 %), palmitovou (10 %), linolenovou (8 %) a stearovou (4 %).

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

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

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

Kokosový olej obsahuje nejvíce kyselinu laurovou (45 %) a dále pak kyseliny kaprylovou, kaprinovou a myristovou [4,15].

Tabulka č. 1: Ingredience používané při výrobě sýrových analogů [12]

Typ ingredience	Hlavní funkce/efekt	Příklady
Tuky	dávají žádoucí složení, strukturu a tavní charakteristiky; máslový olej předává mléčnou příchuť	máslo, sušený mléčný tuk, přírodní nebo částečně hydrogenovaný sójový olej, kukuřičný olej, palmový olej
Mléčné proteiny	dávají žádoucí složení, polotvrdou strukturu s dobrou oddělitelností, tekoucí a natahovací charakteristiku při zahřívání; asistují při vytváření fyzikálně-chemické stability	kasein, kaseinátů, syrovátkový protein
Rostlinné proteiny	dávají požadované složení, nízké náklady na kasein; zřídka používány komerčně kvůli poškození produktu	sójový protein, protein z burského oříšku, pšeničný protein
Škroby	náhražka za kasein, snížení nákladů	přírodní a modifikované formy škrobu z kukuřice, rýže, brambor
Stabilizátory a emulsifikační soli	asistují při vytváření fyzikálně-chemické stability, působí na strukturní a funkční vlastnosti	sodné citráty a fosfáty
Hydrokoloidy	zvyšují stabilitu produktu, ovlivňují strukturní a funkční vlastnosti	karagenany, jedlé gummy, např. xanthanová, arabská
Kyseliny	pomáhají kontrolovat pH finálního produktu	organické kyseliny např. mléčná, octová, citrónová, fosforečná
Příchutě a jejich zvýrazňovače	zdůraznění chuti	enzymově modifikované sýry, NaCl, kvasnicové extrakty, extrakty z kouře
Sladící činidla	přidávají sladkost, zvláště v produktech určených pro děti	dextrosa, kukuřičný sirup, hydrolyzované škroby, hydrolyzovaná laktosa
Barviva,	propůjčují žádoucí barvu	annatto, syntetická barviva
Konzervační činidla	prodlužují trvanlivost, omezují růst plísní	nisin, propionát vápenatý, sodný, sorbany
Vitamínové a minerální přípravky	zlepšují nutriční hodnotu	železo, zinek, hořčík, vitamin A, riboflavin B ₂ , thiamin B ₁ , kys. listová B ₁₀

2.3.2 Mléčné proteiny

Hlavním proteinem v kravském mléce je kasein. Obvykle tvoří asi 75 až 80 % všech mléčných bílkovin, zbytek tvoří různé syrovátkové bílkoviny. Kasein je velmi významný jako zdroj aminokyselin, vápníku a fosfátů. Obsah bílkovin v mléce činí v průměru 3,4 % (z toho 2,8 % kaseinu, 0,5 % albuminu a 0,1 % globulinu) [8]. Kasein je tedy hlavním proteinovým zdrojem i mléčných a částečně mléčných sýrových analogů. Frakce kaseinu jsou vázány do micel a tyto micely kromě kaseinových frakcí (α -kasein, β -kasein, κ -kasein a γ -kasein) obsahují dále vápník, hořčík, citáty a fosfáty [17].

2.3.2.1 Kasein

Kasein existuje v mléku jako komplex kaseinátu vápenatého a fosfátu vápenatého. Vyrábí se z mléka za použití technologických pomocných látek, promýváním a sušením. Podle použitého způsobu srážení se rozlišuje kyselý a sladký kasein. Při výrobě kyselého kaseinu se sníží hodnota pH odstředěného mléka na izoelektrický bod ($\text{pH} = 4,6$) kaseinu přidáním kyseliny (sírová, mléčná). Okyselené mléko se zahřeje na teplotu od 35 do 50 °C, přitom se kasein vysráží jako hrubozrnná sraženina. Kasein se promyje, aby se odstranily zbytky syrovátky, která se mechanicky odděluje od kaseinu, odstředováním se sníží obsah vody asi na 50 % a potom se kasein vysuší při 100 °C na 12% vlhkost. Usušený kasein se roztřídí na jednotlivé frakce a rozemele. Sladký kasein (rennet kasein) se získá srážením mléka syřidlem (na bázi chymozinu a pepsinu). Přitom jsou požadavky na jakost mléka podstatně vyšší než při výrobě kyselého kaseinu. Postup srážení se velmi podobá výrobě sýrů. Získaná sýřenina se drobí a potom zahřeje asi na 65 °C a další zpracování je stejné jako u kyselého kaseinu. Rennet kasein uděluje sýrovým analogům lepší lepivost a roztažnost [4].

2.3.2.2 Kaseináty

Kaseináty se vyrábějí zpracováním kaseinu s Na, K, Ca nebo jinými sloučeninami kyseliny uhličitě a citrónové. Na rozdíl od kaseinu jsou rozpustné ve vodě a tím mají význam při obohacování potravin bílkoviny. Nejčastěji se vyrábí kaseinát sodný, který má vynikající emulgační schopnosti, výbornou pěnovost, vysokou vaznost vody a vysokou nutriční hodnotu [7]. Vápenaté kaseináty jsou také široce používané při výrobě sýrových analogů. Při použití kaseinátu sodného místo vápenatého dochází ke zvýšení pH, snížení pevnosti, zvyšuje se stupeň emulsifikace a kaseinové disociace [10].

Kasein a z něho odvozené sloučeniny kaseináty se využívají v potravinářství jako plniva a zjemňovače při imitaci párků, u polévek a vývarů. Často se používají, aby nutričně obohatily jídla jako přídatná látka, díky vysokému obsahu bílkoviny, nízkému obsahu laktosy a jemné chuti. Mezi tato nutričně obohacená jídla patří např. vysokoproteinové práškové nápoje, obohacené sušenky a cereálie, směsi pro kojence a nutriční tyčinky. Další využití je u náhražky smetany do kávy, omáček, zmrzliny, salátových dresinků, zpracovaného masa a uzenin, pekařské polevy a cukrářských krémů [18].

2.3.2.3 Syrovátkové bílkoviny

Zůstávají v syrovátce po vysrážení kaseinu. Syrovátka je vedlejší produkt při výrobě sýrů, tvarohů a kaseinů. Ze syrovátky se získávají ultrafiltrací, při které se odstraní nízkomolekulární látky (laktosa, minerální látky) nebo okyselením a následným zahřátím na 90 °C. Nejvíce jsou zde zastoupeny β -laktoalbuminy a albuminy (α -laktoalbumin a sérový

albumin). Syrovátkové bílkoviny jsou používány jako doplňky stravy, hlavně pro sportovce, protože obsahují esenciální aminokyseliny a 100% stravitelné bílkoviny [4].

Syrovátkové proteiny se v CA příliš často nevyužívají kvůli negativnímu dopadu na tekutost.

2.3.3 Rostlinné proteiny

Rostlinné proteiny jako sójový, bavlníkový, protein z burského oříšku nebo hrachu jsou používány jako celkové nebo částečné náhrady kaseinu, avšak způsobují běžné vady, jako jsou snížená elasticita, přilnavost, zhoršená tekutost a roztažnost.

Sójové mléko nebo sójový protein hrají důležitou roli v mlékárenském průmyslu jako levná náhrada mléčného proteinu. Při používání sójového proteinu se musí dávat pozor, protože sójový protein je značně odlišný v molekulárních a funkčních vlastnostech. Sójové proteiny mají větší velikost molekul než mléčné proteiny, obsahují komplexní kvartérní struktury a oproti kaseinu to nejsou fosfoproteiny.

Na zvýšení funkčních vlastností pro potravinářské účely jsou využívány různé modifikace s proteasami [10].

2.3.4 Škroby

Škrob ($C_6H_{10}O_5$)_n je zásobní polysacharid, který je nerozpustný ve vodě a rostliny jej využívají, aby uskladnily přebytek glukosy. Kromě těchto polysacharidických látek obsahují jednotlivé škroby i malé množství průvodních látek, jakými jsou lipidy a proteiny, a zhruba 10 až 20 % vody.

Škrob se skládá ze dvou polymerů amylosy a amylopektinu. Amylosa je složena z glukosových monomerních jednotek spojených α -1,4 vazbami a je rozpustná ve vodě. Amylopektin se od amylosy liší tím, že není rozpustný ve vodě. Amylosa obsahuje jednotky D-glukosy, navzájem vázané vazbou α (1,4), přičemž tento řetězec má strukturu šroubovice, do jehož nitra lze vázat až 20 % jodu. Toho se využívá v analytické chemii při důkazech jodu. Amylopektin obsahuje také D-glukosu vázanou vazbou α (1,4), na rozdíl od amylosy však připadá na každých 20 až 25 glukosových jednotek jedno rozvětvení, kdy se nový řetězec váže způsobem α (1,6). Amylopektin i amylosa spolu vytvářejí micelární strukturu škrobových zrn [20].

Škroby nacházejí obrovské uplatnění v potravinářství, ve farmacii a v jiných průmyslových oborech. Podle surovin, ze kterých jsou vyrobené, rozeznáváme škrob bramborový, kukuřičný, pšeničný, rýžový a jiné. Pokud jsou tyto škroby pouze izolované a dále se neupravují, nazýváme je nativními škroby. Pro použití v technických oborech se škroby částečně chemicky upravují, hydrolyzují, esterifikují a podobně. Tím se zlepší jejich vlastnosti, jako je stálost proti tepelným výkyvům, nabobtnávání [19,20].

Kromě nativních škrobů existují ještě modifikované škroby, které vznikají úpravou vlastností nativních škrobů. Obecně se modifikované škroby rozdělují do dvou skupin. Rozštěpené škroby (oxidované škroby, dextríny, tepelně upravené škroby, ozářené škroby) a substituované škroby a kopolymery škrobu (étery škrobu, estery škrobu, síťované škroby, blokové polymery škrobu, kopolymery škrobu) [4].

Přírodní i modifikované škroby se používají v sýrových analogiích k částečnému nebo úplnému nahrazení kaseinu. Nejčastěji se používá kukuřičný škrob, dále se používá škrob bramborový, rýžový, pšeničný nebo škrob z voskové kukuřice. S rostoucím obsahem škrobu se mění textura sýrů z měkkého na křehký/tuhý a snižuje se mobilita vody. Sýr se rozpouští a tvrdost je ovlivněna vodní mobilitou. Matrice, ve které je větší vodní mobilita, produkuje

dobře se tavící, měkký sýr, zatímco sýry, u kterých je voda méně mobilní, jsou tuhé (nepoddajné) a netavitelné [21].

Škroby se obvykle přidávají v množství 2-4 %, aby nahradily přibližně 10-15 % celkového kaseinu. Použitý druh škrobu a množství amylosy rozhoduje o výsledných vlastnostech sýrového analogu. Škroby s vysokým obsahem amylosy (kukuřičný, bramborový, pšeničný) zvyšují pevnost a křehkost, ale způsobují horší roztíratelnost a tavitelnost sýrových analogů. Rýžový škrob, který obsahuje málo amylosy, redukuje tvrdost [22].

2.3.5 Tavicí soli

Tavicí neboli emulsifikační soli (ES) jsou široce používány při výrobě sýrových analogů. Hlavní úlohou tavicích solí je zabránit rozdělení směsi na tři fáze během zahřívání. A to na volný tuk na povrchu, vodní fázi uprostřed a bílkovinu vysráženou na dně. Tavicí soli zabráňují srážení bílkovin a také zajišťují výměnu Ca^{2+} iontů za Na^+ nebo K^+ . Rozpouštějí Ca-parakaseinát, oddělují vápník a dispergují proteiny. Oddělení vápníku probíhá iontovou výměnou obvykle za vzniku Na-kaseinátu. ES mají vliv na chemickou, fyzikální a mikrobiologickou kvalitu produktu, kontrolují a stabilizují pH a významně ovlivňují strukturu po ochlazení [16].

ES jsou sodné soli kyseliny mléčné, citronové, ortho-, pyro a polyfosforečné. Jsou přípustné v množství do 4 %, když se použijí ve směsích, do 3 % se připouští fosfáty bez příměsí ostatních tavicích solí[4].

Určení tavicí směsi solí závisí na pH, na ostatních přidávaných surovinách, na konzistenci finálního produktu, na způsobu balení a také na typu balícího zařízení a druhu obalu [7,15].

Používají se především sodné soli fosforečnanů (viz tab. 2), které mají schopnosti odštěpovat z prostředí a vázat na sebe monovalentní a polyvalentní kationty kovů, ovlivňují tvorbu gelu a zvyšují vaznost vody bílkovin. Draselné soli fosforečnanů se nepoužívají, neboť mohou ve finálním výrobku způsobit hořkou příchut', která by tyto produkty u spotřebitelů diskvalifikovala[27].

Tabulka č. 2: Struktura fosfátů používaných při výrobě CA [23]

Skupina	Struktura
monomery, orthofosfáty kyselina fosforečná dihydrogenorthofosforečnan draselný hydrogenfosforečnan didraselný orthofosforečnan tridraselný dihydrogenorthofosforečnan sodný hydrogenfosforečnan sodný orthofosforečnan trisodný	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{MO}-\text{P}-\text{OM} \\ \\ \text{OM} \end{array}$

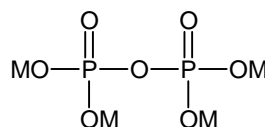
Polymery, lineární polyfosfáty

difosforečnan tetradraselný

difosforečnan disodný

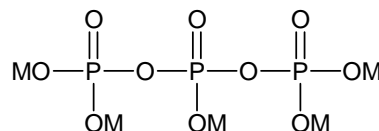
difosforečnan trisodný

difosforečnan tetrasodný

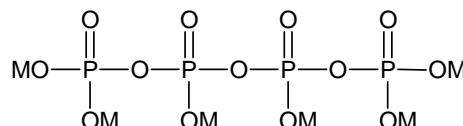


trifosforečnan pentadraselný

trifosforečnan pentasodný



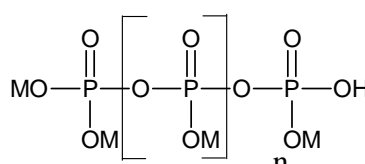
tetrapolyfosforečnan sodný



hexamethafosforečnan sodný

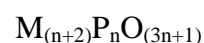
(grahamova sůl)

rozpuštěné polyfosforečnany sodné



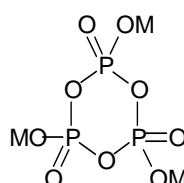
nerozpuštěné polyfosforečnany sodné

(Madrellsova sůl)

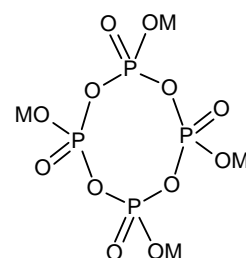


cyklické polyfosfáty

trimethafosforečnan sodný



tetramethafosforečnan sodný



M: kovový iont (Na, K)

2.3.6 Hydrokoloidy

Hydrokoloidy jsou biopolymery obvykle sacharidické nebo bílkovinné povahy, které mají schopnost ovlivnit strukturu a stabilitu potravinářských gelů. Jedná se o vysokomolekulární látky, které zpravidla vykazují vysokou vaznost vody a řada z nich je schopna vytvářet za určitých podmínek uspořádané trojrozměrné matrice – gely.

Hydrokoloidy jsou využívány při výrobě sýrových analogů na zpevnění struktury v případě velkého obsahu vody nebo řídké konzistence, kvůli například nevhodné ES směsi. Zlepšují roztíratelnost a vařící vlastnosti (tavitelnost, tekutost). Jsou používány především jedlé gemy

(arabská, xantinová, guarová), karagenany, přírodní i modifikované škroby, pektiny a karboxymethylcelulosa [23].

2.3.7 Příchutě

Sýrové analogy mají tu nevýhodu, že jejich chuť nemůže dosáhnout chuti skutečných sýrů, je slabá a nevýrazná. Proto je nutno používat různé chuťové zvýrazňovače a příchutě, aby se chuť sýrových analogů přiblížila chuti jejich přírodních protějšků. Některé jsou umělé, zatímco jiné mohou být přírodního původu, jako např. enzymově modifikované sýry (EMC). Jsou definovány jako koncentrované sýrové příchutě produkované enzymaticky z různě starých sýrů. Hlavní zdroj jejich příchuti tvoří mastné kyseliny, které se uvolňují při lipolýze. Přidáním enzymu nebo mikroorganismu po tepelném ošetření a zrání při přijatelné teplotě mohou vznikat sýrové imitace v podstatě jakékoli příchuti. Různé příchutě sýrových analogů mohou také vznikat použitím proteolytického mikrokoka, lipasy a dalších chuťových kultur.

Chuť je nejdůležitější vlastnost, která ovlivňuje přijatelnost CA obsahujících sójové mléko. Sójové boby nelze použít, kvůli jejich chuti. Fermentované sójové boby mají výrazně lepší chuť a texturu ve srovnání s nefermentovanými, které jsou používány k nahrazení odtučněného sušeného mléka v krémových CA [12].

2.3.8 Vitamíny a minerální látky

Vitamíny patří k základním složkám lidské potravy. V lidském organismu mají vitamíny funkci katalyzátorů biochemických reakcí. Podílejí se na metabolismu cukrů, tuků a bílkovin. Organismus si, až na nějaké výjimky, nedokáže vitamíny sám vyrobit, proto musejí být přijímány potravou. Při nedostatku vitamínů, tzv. hypovitaminose, se mohou objevovat poruchy funkcí organismu, nebo i velmi vážná onemocnění. Vitamíny jsou nutné pro udržení mnohých tělesných funkcí a jsou schopny posilovat a udržovat imunitní reakce. Sýry obsahují vitamíny A, B1, B2, B6, B12, E.

Minerální látky jsou pro organismus nezbytné (esenciální), musí být součástí výživy, protože organismus si je nedokáže sám vytvořit. Minerální látky se podílejí na výstavbě tělesných tkání, podmiňují stálý osmotický tlak v tělesných tekutinách, regulují, aktivují a kontrolují metabolické pochody a jsou důležité pro vedení nervových vzruchů. Uplatňují se jako aktivátory nebo součásti hormonů a enzymů. Snižují rizika onemocnění civilizačními chorobami. V sýrech můžeme najít zdroj vápníku, důležitý pro správný vývoj kostí, dále hořčíku, zinku a fosforu [24].

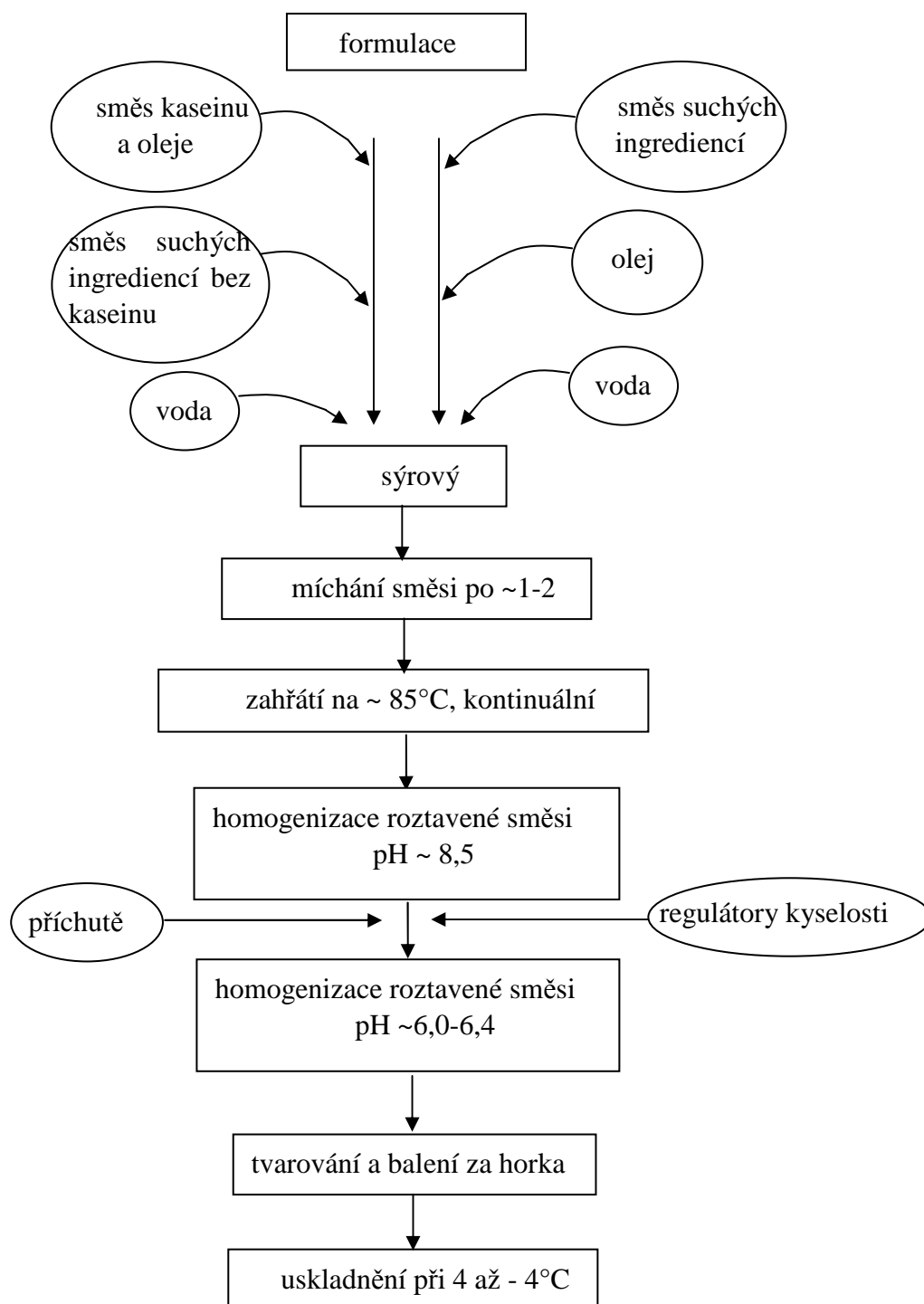
Minerální přípravky (MgO, ZnO, Fe) a vitamíny (A, B2, B1, B10) se přidávají v malém množství do analogů tavených sýrů v konečném kroku přípravy, aby zlepšily jejich nutriční hodnotu [12].

2.4 Technologie výroby analogů tavených sýrů

Výroba sýrových analogů je velmi podobná výrobě tavených sýrů. Výrobní metody jednotlivých sýrových analogů se různí, typická výrobní procedura však zahrnuje následující kroky [23]:

- Současné smíchání požadovaného množství vody a suchých ingrediencí (kasein, ES)
- Přidání oleje a zahřívání při teplotě asi 85 °C použitím přímé parní injekce
- Nepřerušované míchání směsi do vzniku homogenní tekuté hmoty (obvykle 5-8 minut)

- Přidání chuťových přísad (např. EMC), regulátorů kyselosti (kyselina citrónová)
- Míchání směsi po dobu 1-2 minut
- Balení za horka, chlazení a skladování



Obrázek č. 2: Popis výrobního postupu sýrového analogu Mozzarely. Odlišné postupy pro přípravu a přidání ingrediencí jsou ukázány jako **a** a **b**

2.4.1 Formulace směsi

Tabulka č. 3: Typická formulace směsi pro přípravu analogu Mozzareilly [25]

Ingredience	Přidané množství [%]
kasein a kaseináty	18-24
rostlinný olej	22-28
škrob	0,0-3
emulsifikační soli	0,5-2
příchuť a jejich zvýrazňovače	0,5-3
stabilizátory	0,0-0,5
kyseliny	0,20-0,036
barviva	0,04
konzervační činidla	0,1
voda a kondenzáty	45-55

V tabulce č.3 je uvedena typická formulace směsi surovin pro přípravu analogu sýra Mozzarella. Jako hlavní protein se u CA používají kaseináty nebo rennet kasein. Rennet kasein bývá užíván při výrobě polotvrdých sýrů nebo tavených sýrových analogů, kde způsobuje lepší vláknitost a roztažnost než kyselý kasein nebo sodné a vápenaté kaseináty [23].

Různé složky směsi jsou voleny tak, aby se dosáhlo požadované struktury, barvy, vzhledu, chutě a trvanlivosti při přijatelných nákladech.

Pořadí přidávání přísad se mění s praktikami továrny, dále závisí na hydratačních vlastnostech kaseinu, na typu a množství přidávaného škrobu, druhu vařiče, celkovém designu, době vaření a konečných vlastnostech produktu.

Jestliže jsou vyžadovány CA s dobrou tekutostí, část oleje se přidává při pokročilém stupni vaření (např. po kaseinové hydrataci), jestliže je kaseinová hydratace pomalá a je použit vařič s vysokým stříhem [26].

2.4.2 Předmixování

Předmixování ingrediencí není při výrobě sýrových analogů používáno příliš často. Obvykle zahrnuje míchání zahřátého oleje a kaseinu v horizontálních mixérech s motorizovaným jedno nebo dvoubřítým šroubem nebo lopatkou trvajícím asi 1 hodinu [26].

Tento proces redukuje výrobní čas v tavičce během zpracování a tím zvyšuje výkonnost. Také zabraňuje přímému kontaktu kaseinu a vody, ke kterému dochází při přímém přidání ingrediencí do vařiče. Tím se minimalizuje riziko přítomnosti kousků nerozpuštěného kaseinu v konečném produktu, obzvláště když kaseinové částice rychle hydratují s vodou, kdy vytvářejí lepkavou plastickou hmotu, která se lepí na suchý kasein a vytváří nepropustnou vrstvu.

Předmixovaná směs kaseinu a oleje je pumpována do vařiče obsahujícího vodu, emulsifikační soli a další ingredience. Jestliže se předmixování nepoužije, ingredience jsou přidávány za stálého míchání přímo do vařiče [26].

2.4.3 Tavení

Složení směsi pro tavení závisí zejména na požadavcích, které jsou kladeny na výsledný produkt.

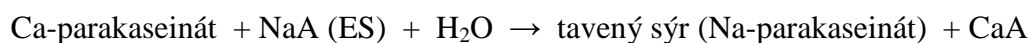
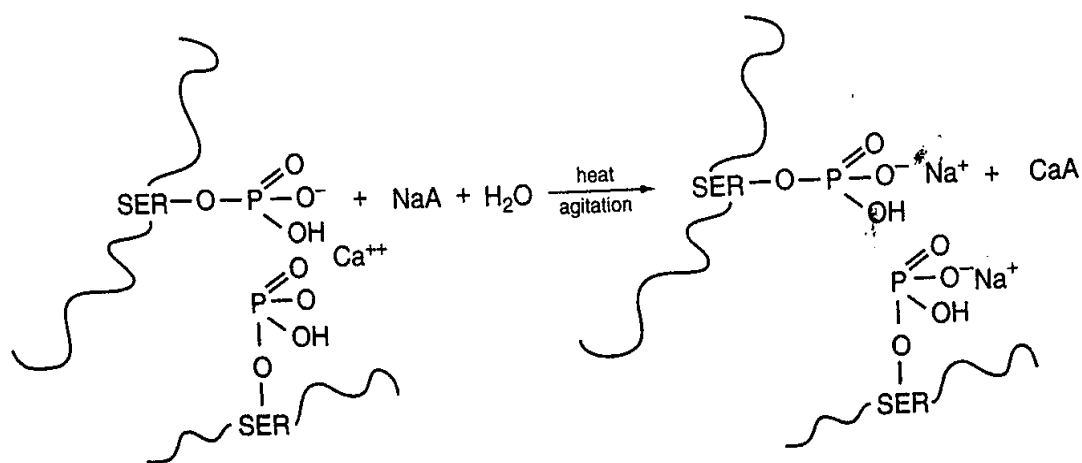
Tavení je nejdůležitější fází výroby tavených sýrů a stejně tak i CA. Důležitou roli hraje především teplota, doba působení, rychlost míchání a přítomnost tavicích solí.

Tavení probíhá v tavičkách, které jsou vybaveny míchadlem, zařízením pro přímý a nepřímý ohřev parou a zařízením pro registraci teploty [26]. Tavení musí probíhat za stálého míchání, aby emulsifikační činidla byla stále v kontaktu se směsí ingrediencí.

Současně s ohřevem se zapíná i vývěva, která vytváří podtlak 0,04 až 0,05 MPa, a tím zkracuje dobu záhřevu na danou teplotu. Doba tavení je asi 10 až 15 minut při teplotě 85 °C [8].

Tavení přispívá k uniformní distribuci všech ingrediencí, rozpuštění emulsifikačních solí, jejich interakci s rennet kaseinem a k následné formaci Na-parakaseinátu z Ca-parakaseinátu, k rozptýlení tuku na kapénky a vytvoření stabilní emulze oleje ve vodě. Také dochází k inaktivaci potenciálních patogenních sporotvorných mikroorganismů a tím se také prodlužuje trvanlivost výrobku.

Vzniklá tavenina musí být hladká, lesklá, nesmí uvolňovat kapénky tuku, musí mít požadovanou viskozitu, nesmí se trhat ani lepit na obal [6].



Obrázek č. 3: Chemická reakce během výroby taveného sýra [27]

2.4.4 Přídavek regulátorů kyselosti

Kyseliny jsou u analogů tavených sýrů používány, aby zvýšily pH na hodnotu která je požadována v konečném produktu.

Přídavek kyseliny na konci výroby zajišťuje vysoké pH (až 9) ve směsi během zpracování, což je žádoucí ve výrobě CA, kde je hlavní přísadou nerozpustný rennet kasein.

Vysoké pH během zpracování přispívá k vyšší oddělitelnosti vápníku z rennet kaseinu účinkem emulsifikačních solí. Oba faktory zprostředkovávají přeměnu Ca-parakaseinu na Na-parakasein, který váže vodu a emulguje rostlinný olej [23].

Ca-parakaseinát + NaA (ES) + H₂O → tavený sýr (Na-parakaseinát) + CaA

Výsledné pH u roztíratelných tavených sýrů by mělo být v rozmezí nejlépe od 5,8 až 6 a u polotuhých a tuhých tavených sýrů 5,6 až 5,7. Tavený sýr s nižším pH je pevnější než stejný výrobek s pH vyšším [6].

Mohou být používány kyselina adipová, citrónová, mléčná, octová, fosforečná, nebo jejich směs [12].

2.4.5 Homogenizace

Horká tekutá hmota může projít procesem homogenizace. Tato operace má několik účinků:

- napomáhá při dalším míchání a zmenšuje velikost hrubých částí, nebo nerozpustných částic
- přispívá k lepší homogenitě, hladkosti a jemnosti konečného produktu
- podporuje jemnější rozptýlení tukových kuliček
- podporuje houstnutí

K homogenizaci se používají homogenizátory, což jsou vysokotlaká pístová čerpadla, která pracují pod tlakem asi 25 MPa a protlačují tuk úzkou štěrbinou nebo dýzou homogenizační hlavy [23].

Homogenizace zlepšuje konzistenci, strukturu, vzhled a chuť tavených sýrů. Provádí se pouze u směsi s větším obsahem tuku, protože zvyšuje výrobní náklady a náklady na údržbu. V případě přidávání různých aditiv, jsou přidávány do směsi až po homogenizaci, aby si zachovaly svoji původní formu [23].

2.4.6 Balení, chlazení a uskladnění

Tavené sýry i sýrové analogy se v České republice balí většinou do hranolovitých nebo trojúhelníkových forem předem vyložených hliníkovou folií, která je z vnitřní strany lakovaná. Moderní baličky jsou již vybaveny strojními mechanismy umožňujícími fólii zavařit, což má podstatný vliv na trvanlivost tavených sýrů [27].

V současné době se však ve světě používají i jiné obalové materiály, jako např. laminované hliníkové obaly, tuby, plasty, kelímky, sklenice, kovové konzervy apod. [27].

Všechny obalové materiály musí být zdravotně nezávadné a nesmí dodatečně ovlivnit organoleptické vlastnosti sýra, nesmějí propouštět světlo, vzduch, vodní páry, cizí pachy a musí být odolné proti růstu mikroorganismů [4,8].

Je důležité, aby se tavenina balila co nejdříve po utavení (teplota by neměla klesnout pod 60 až 70 °C, čímž se sníží kontaminace mikroorganismy).

V případě, že pro výrobu tavených sýrů byl použit kontinuální způsob, je důležité zajistit aseptické balení, aby byla zachována sterilita výrobku. Pozornost by měla být rovněž věnována obalovým materiálům, neboť zejména jejich mechanická odolnost a bariérové vlastnosti přímo předurčí trvanlivost, byť i sterilovaného produktu [27].

Metoda a intenzita chlazení závisí na typu taveného sýra. Bloky jsou chlazeny pomalu a roztíratelné tavené sýry by měli být chlazeny co nejrychleji. Rychlost chlazení ovlivňuje výslednou konzistenci sýrů. Čím pomaleji se chladí, tím tužší je konzistence [6].

Zabalovaný tavený sýr nebo CA se skladuje při 4 až 8 °C [27].

Tavené sýry nejvyšší kvality mají trvanlivost několik měsíců. Trvanlivost závisí také na obalu. Trvanlivost sýrů zabalených do plastických folií je 3 až 4 měsíce. Sýry uložené v kovových konzervách nebo tubách můžou mít trvanlivost vyšší [6].

2.5 Značení sýrových analogů

Různé produkty s rostlinnými náhražkami mléka byly v 50. letech minulého století vnímány jako méněcenná alternativa cenné potravině. V dnešní době však analogy získaly zcela jiné postavení. Z různých výživově-zdravotních důvodů se někdy naopak staly vyhledávanými. Aby spotřebitelé nevnímali analogy jako podvod, k tomu dnes slouží stále důkladnější požadavky na označování. Výrobky, které svým složením nebo způsobem výroby, neodpovídají předpisu, nesmějí být jako takové označovány. Problém bývá, že výrobci, a ještě častěji podniky veřejného, stravování používají v nabídce např. výraz sýrový, ikdyž na pizzu či sendvič nebyl použit sýr (z mléka) ale analog [28].

Nejčastěji z ekonomických důvodů je v některých výrobcích v různé míře nahrazena mléčná složka, obvykle tuk, rostlinnou alternativou. Legislativa toto umožňuje, ale takový výrobek již nelze označit jako sýr, protože sýr je nařízením 1234/2007 definován jako výrobek z mléka, ale je nabízen např. pod názvem „potravinářský výrobek“. Existují alternativy s rostlinnou složkou pro mozzarella, eidam, tavené sýry apod., které často svým názvem, grafikou obalu i tvarem připomínají původní výrobky. Spotřebitel by tedy měl věnovat pozornost údajům na obalu, aby měl informaci o tom, co ve skutečnosti nakupuje [29].

Klamavé označení sýrových náhražek je například označení:

- Eidam Alternative - takto se už výrobek nesmí nazývat, protože Eidam je druhové označení skupiny polotvrdých sýrů holandského typu;
- Nový eidam – ten samý příklad;
- Cihla na smažení – jasně klamavý název, protože „cihla“ je mezi potravinami jednoznačné označení pro sýr – respektive jeho tvar;
- Lidový smažák – opět zavádějící název s ohledem na to, že každý si pod hovorovým označením „smažák“ jednoznačně vybaví správné označení „smažený sýr“, a už je to klamavé jméno;

Dalším příkladem jsou analogy tavených sýrů. Dnes jsou vyráběny některé náhražky tavených sýrů pod obchodní značkou, která se dříve používala pro tavený sýr, např. JAVOR. V deklaracích na obalu je sice správně uvedeno: Tavený výrobek, ale na přední straně obalu, kde je uvedeno obchodní jméno, je napsáno pouze „Jemný tavený“. Tím, že výrobce nepoužil slovo SÝR, sice nic neporušil, ale takovéto neúplné označení je přinejmenším zavádějící a spotřebitel si ho může vyložit různě. A navíc to, že je výrobek v obalu typickém pro tavené sýry a je mezi nimi i nabízen v obchodě, vede k tomu, že spotřebitel jen málokdy zjistí, že kupuje vlastně analog [30].

2.6 Aromatické látky

Vzhledem k tomu, že experimentální část této práce je zaměřena na stanovení tzv. aroma profilu, v této kapitole je stručně popsán vznik a význam sensoricky, resp. aromaticky aktivních látek v sýrech a možnosti jejich stanovení.

Nejvýznamnějším psychickým faktorem ve výživě člověka je sensorická neboli smyslová jakost, která zásadně ovlivňuje druh a množství konzumované potravy a také její využitelnost. Sensorickou jakost potravin určují přítomné sensoricky aktivní látky. Jsou to látky, které vnímáme smysly, tedy čichem, chutí, zrakem a často také hmatem. K nejvýznamnějším sensoricky aktivním látkám proto patří:

- látky vonné (ovlivňují vůni potravin)
- látky chuťové (udílejí potravinám chuť)

- barviva (látky propůjčující potravinám barvu)
- látky ovlivňující vzhled a fyzikální vlastnosti potravin, které označujeme termínem textura

Termín aromatické látky zahrnuje veškeré vonné a chuťové látky působící na čichové a/nebo na chuťové receptory, tedy látky vyvolávající dojem vůně a / nebo chuti. Komplexní sensorický vjem chuti a vůně se dnes označuje často anglickým termínem *flavour*. Analogicky se pro označení změněné, nepřírozené vůně nebo chuti v důsledku nejrůznějších vlivů nejčastěji používá anglický termín *off-flavour*, z českých termínů se užívá cizí aróma, příchuch, příchut', pachut' apod. [31].

Aromatické látky jsou směsi sloučenin různých skupin organických, zpravidla těkavých látek. Bývají přirozenou složkou potravin, nebo vznikají během zpracování potravin enzymovými a chemickými reakcemi [6].

Zatím bylo v sýrech zjištěno asi 600 těkavých látek, ale pravděpodobně jen malá část je zodpovědná za flavour sýru. V mnoha případech mají zastoupené těkavé látky jen malý nebo žádný aromatický význam.

2.6.1 Vznik aromaticky aktivních látek

Je známo, že nejvíce aromaticky aktivních látek vzniká různými chemickými změnami, které se odehrávají v sýrech v průběhu zrání.

Hlavní cesty ke vzniku aromatických sloučenin v sýrech jsou metabolismus laktátu a laktosy, lipolýza a proteolýza. V závislosti na druhu sýra, mikroflóre a podmínkách zrání (teplota, vlhkost vzduchu) může být laktát metabolizován mnoha směry a vznikají různé sloučeniny, které přispívají k chuti sýru. Lipolýzou nebo oxidací lipidů vznikají látky jako volné mastné kyseliny, estery, laktony a ketony s nízkou prahovou hodnotou aroma. Proteolýzou kaseinu vznikají volné aminokyseliny a peptidy, které dotvářejí pozadí chuti různých druhů sýrů. Avšak volné aminokyseliny jsou také důležitými prekurzory pro řadu katabolických reakcí, které produkují těkavé sloučeniny nezbytné pro chuť [32].

Na základě chemické analýzy byly identifikovány různé skupiny těkavých látek důležitých pro chuť a aroma sýrů. Zejména jsou to aldehydy, alkoholy, mastné kyseliny, estery, ketony a sírné sloučeniny [33].

2.6.1.1 Aldehydy

Aldehydy jsou přechodnými sloučeninami v sýrech, protože jsou rychle redukovány na alkoholy nebo oxidovány na odpovídající kyseliny [33].

Vznikají buď transaminací z aminokyselin, β -oxidací nenasycených mastných kyselin nebo tzv. Streckerovou degradací. Aldehydy s rozvětveným řetězcem vznikají degradací aminokyselin enzymovými procesy, nebo také neenzymaticky (Streckerovou reakcí), např. 2-methylpropanal, 2-methylbutanal a 3-methylbutanal jsou tvořeny z valinu, izoleucinu a leucinu. Aldehydy s rovnými řetězci jako jsou n-butanal, n-pentanal, n-hexanal a n-nonanal jsou v sýrech běžně obsaženy. Jsou charakterizovány příjemnou vůní po zelené trávě a bylinách. Mnohé sloučeniny jsou výsledkem β -oxidace nenasycených mastných kyselin. Aldehydy s rovným řetězcem mohou způsobovat off-flavour, jestliže jsou obsaženy ve velké koncentraci [32]. Dalšími hojně se vyskytujícími látkami jsou nonanal a fenylacetaldehyd (ten vzniká degradací fenylalaninu) [33].

2.6.1.2 *Alkoholy*

Alkoholy lze formálně považovat za první stupeň oxidační řady uhlovodíku [31]. Jako aromatické látky se uplatňují hlavně volné primární alkoholy a jejich estery. S biosyntézou alkoholů jsou spojeny různé metabolické dráhy jako metabolismus laktosy a aminokyselin, methyl-keťonová redukce a degradace linolové a linoleové kyseliny.

Hojně se vyskytující alkohol s charakteristickým žampionovým aroma je okt-1-en-3-ol [33]. Tento alkohol má nízkou hranici vnímatelnosti a navíc v přítomnosti okt-1-en-3-onu je intenzita jeho aroma ještě zvyšována. To je typický příklad synergického působení, tj. že intenzita aroma látek s podobnými aromatickými vlastnostmi se sčítá [33].

Fenylethanol patří mezi nejčastější aromatické alkoholy [33].

2.6.1.3 *Ketony*

Podobně jako aldehydy se také ketony mohou vyskytovat jako primární složky potravin nebo mohou vznikat sekundárně při různých procesech [31].

Mnohé ketony se vyznačují charakteristickou vůní, houbovou, plesnivou nebo ovocnou, a proto se uplatňují jako žádoucí, nebo také nežádoucí složky různých aromat. Jsou hlavní složkou mléčných produktů.

Důležitým ketonem je okt-1-en-3-on, který má charakteristické žampionové aroma a pochází z drah kyseliny linolové a linoleové [33].

Nejdůležitějším diketonem je butan-2,3-dion (diacetyl) vyznačující se silným máslovým zápachem a jeho vznik z citrátu je způsoben především činností bakterií mléčného kvašení [30]. Redukcí diacetylu může vznikat 3-hydroxy-2-butanon (acetoin) [34].

2.6.1.4 *Estery*

Estery jsou běžné těkavé látky v sýrech. Vznikají esterifikací probíhající mezi krátkými až středně dlouhými řetězci mastných kyselin a primárními a sekundárními alkoholy [33]. Aroma většiny esterů vyskytujících se v sýru je popsáno jako sladké, ovocné a květinové. Zejména ethylester je znám pro svoji schopnost tvořit ovocný charakter sýra. Dále tyto sloučeniny přispívají k aroma sýra minimalizací hořkosti a ostrosti způsobené mastnými kyselinami a aminy [33].

Z esterů se v sýrech nejvíce vyskytují ethylbutanoát, fenylacetát a ethyl-2-methylpropanoát [33].

2.6.1.5 *Laktony*

Laktony jsou cyklické estery. Vznikají hydrolýzou hydroxymastných kyselin triacylglycerolů (běžné složky mléčného tuku) a následnou laktonizací [33].

γ - a δ -laktony jsou důležité pro výsledné aroma svým ovocným aroma a nízkým prahem vnímatelnosti. Jsou spojovány hlavně s výraznou broskvovou, meruňkovou a kokosovou vůní [33].

K nejčastějším laktonům patří δ -dekalakton, δ -dodekalakton a δ -oktalakton [33].

2.6.1.6 *Furany*

Furany jsou známy jako velmi výrazné aromatické sloučeniny. Pro jejich příjemnou chuť a vůni jsou vyráběny synteticky v průmyslovém měřítku a jsou široce užívány jako aromatické látky pro potraviny a nápoje a také přispívají k aroma sýrů.

Ze známých furanů furaneol, silně přispívá k flavouru sýrů s nízkým obsahem tuku a oříškovým aroma [33].

Vznikají v průběhu zpracování Maillardovými reakcemi.

2.6.1.7 Sírné sloučeniny

Těkavé sírné sloučeniny hrají důležitou roli pro chuť sýrů. Sírné sloučeniny vznikají degradací methioninu a jsou výsledkem štěpení vazeb mezi uhlíkem a sírou. Tyto sloučeniny se vyznačují silným česnekovým pachem a nízkým prahem vnímatelnosti. Jejich vůně je dále označována jako květáková, typická po zelí a brokolici. Nejčastěji se vyskytující sírnou sloučeninou v sýru je 3-methylthiopropenal (methional), který vzniká Streckerovou degradací a vyznačuje se chutí po vařených bramborách. Další důležitou sírnou sloučeninou je methanthiol, který je prekurzorem dalších sírných sloučenin jako např. dimethyldisulfidu. Ten je tvořen z methioninu [33].

2.6.1.8 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou převládající složky flavouru různých druhů sýrů. Nejsou aromatickými složkami jen sami o sobě, ale jsou prekurzory methylketonů, alkoholů, laktonů a esterů. Volné mastné kyseliny obsahující 4 a více uhlíkových atomů mohou vznikat lipolýzou mléčného tuku nebo rozkladem aminokyselin. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem lze odvodit od derivátů ketonů, esterů a aldehydů oxidací.

Velmi důležité je pH sýru, které výrazně ovlivňuje koncentraci prchavých mastných kyselin. Pouze volné protonované formy jsou pachově aktivní a přispívají tak k sýrovému aroma [33].

Je známo, že mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (>12C) nehrají tak velkou roli v chuti vzhledem k jejich vysokému prahu vnímání. Mastné kyseliny s řetězcem krátkým nebo středně dlouhým (C₄-C₁₂) mají mnohem nižší práh vnímání a proto také charakteristické aroma. Například kyselina octová a propionová mají typickou octovou vůni. Kyselina máselná má zase příchut' po žluklém sýru [33].

2.7 Stanovení aromatických látek

Jedinečná chuť různých druhů sýrů je výsledkem komplexní rovnováhy mezi těkavými a netěkavými chemickými sloučeninami [32]. Relativně jednoduchý flavour může mít 50 až 200 složek. Charakterizace aroma zahrnuje izolaci, identifikaci a kvantifikaci těkavých látek z reprezentativního vzorku [6].

K určení sloučenin zodpovědných za chuť potravin je nezbytné použít vhodnou metodu pro izolaci aromatických látek. Je nutné vybrat takovou metodu, která umožní extrakci všech sloučenin a zároveň nebude měnit profil charakteristických těkavých látek. Dalším problémem izolace aromatických látek je jejich přítomnost v široké škále koncentrací od ng·kg⁻¹ do mg·kg⁻¹ a jejich vonné prahy, které jsou často nižší než detekční limity GC detektorů [6].

Těkavé sloučeniny jsou především analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí (GC-MS) nebo olfaktometrií (metoda měření pachu, GC-O). GC-MS je metoda použitelná pro identifikaci a kvantifikaci aromatických látek, ale nedokáže stanovit, které sloučeniny jsou voňavé a které ne. Metoda GC-O umožňuje vyšetření jak aktivity, tak vůně a je kombinací chromatografu s lidskýmnosem jako detektorem [33].

2.7.1 Metody používané při izolaci aromatických látek

Pro extrakci, izolaci a chromatografickou injekci těkavých složek sýrů bylo navrženo několik technik.

- přímá extrakce rozpouštědly
- superkritická fluidní extrakce (SFE)
- mikroextrakce tuhou fází (SPME)
- simultánní destilace a extrakce (SDE)
- dynamická a statistická headspace

V této práci byla použita metoda mikroextrakce s tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií (SPME-GC) [33].

2.7.2 SPME

Pro izolaci aromaticky aktivních látek byla použita metoda SPME (mikroextrakce tuhou fází). Je jednoduchá, rychlá, používá malých objemů vzorků, je šetrná k životnímu prostředí a přitom dostatečně citlivá a vhodná k extrakci vonných látek z potravin. Tato metoda byla objevena Pawliszynem [35] a byla aplikována hlavně na extrakci těkavých a polotěkavých organických škodlivin ve vodě. V poslední době je však stále více využívána při analýze aroma a nežádoucích pachů potravin, např. v mléčných výrobcích, ovoci, zelenině a nápojích [35].

U této metody není analyt extrahován ze vzorku úplně, ale pouze do dosažení rovnováhy mezi koncentrací analytu ve vzorku, v headspace nad vzorkem a v polymeru pokrývajícím SPME vlákno. Velmi důležitá je volba SPME vlákna, které zachytává výpary aromatických látek. Vychází se především z polarit, kdy nepolární analyty jsou mnohem účinněji extrahovány vlákny s nepolárním povrchem a naopak [36].

Nejčastěji se používá křemenné vlákno pokryté sorpční vrstvou. Toto vlákno je umístěno v duté ocelové jehle, která jej chrání před mechanickým poškozením. Touto jehlou se propíchne septum v zátce vialky a poté se vlákno vsune do kapalného vzorku (direct immersion DI-SPME) nebo do prostoru nad jeho hladinou (headspace HS-SPME). Po dosažení sorpční rovnováhy se vlákno opět zasune dovnitř, je vytaženo z vialky a přeneseno do injektoru chromatografu [36,37].

Existuje řada studií, která se zabývala stanovením aromaticky aktivních látek v sýru pomocí metody SPME. Např. Delgado [32] stanovil ve španělském měkkém sýru v různých stádiích zrání celkem 46 sloučenin. Použil metodu SPME-GC-MS (SPME-GC ještě ve spojení s hmotnostní spektrometrií MS). Dále Delgado ve spolupráci s Crespe, Cavem a Ramírezem [38] studovali těkavé sloučeniny v syrovém kozím sýru, který byl podroben vysokotlakému ošetření. Metodou SPME-GC-MS identifikovali přes 50 látek, z toho 12 kyselin, 16 alkoholů, 5 esterů, 8 ketonů a 9 další neurčitých sloučenin. Dále Pinho [39] studoval aromaticky aktivní látky v polotvrdém sýru Terrincho a metodou headspace mikroextrakce pevnou fází ve spojení s GC-MS identifikoval 82 sloučenin. Januszkiewicz [40] pracoval na optimalizaci HS-SPME-GC-MS metody, když zkoumal aromaticky aktivní látky v komerčním čedaru a enzymově modifikovaném čedaru.

2.7.3 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je separační metoda založená na rozdílu v distribuci látek mezi dvě nemísitelné fáze: mobilní (pohyblivou) fází je nosný plyn, pohybující se skrz nebo podél stacionární (nepohyblivé) fáze, která je umístěna v koloně. Složky vzorku, které jsou unášeny nosným plynem, mohou být stacionární fází zachytávány, a proto se při pohybu

zadržují. Čím silněji jsou složky poutány ke stacionární fázi, tím více se zadržují. Tím se postupně složky od sebe separují. Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující vodík, dusík, helium nebo argon [36].

V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek [36].

P. M. G. Curioni a J. O. Bosset se zabývali klíčovými vůněmi v různých druzích sýrů, jako čedaru, mozzarella, gorgonzola a dalších. Jednotlivé skupiny aromatických látek, jako alkoholy, aldehydy, ketony, kyseliny, furany, estery, laktony a další určovali pomocí plynové chromatografie a olfaktometrie [33].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení

3.1.1 Přístroje

- Plynový chromatogram TRACE GC (thermoQuest Italia S.p.A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB-WAX (30 m × 0,32 mm × 0,5 μm)
- Počítač
- Vodní lázeň Julabo LABORTECHNIK GMBH, typ TW12
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202, Itálie
- Chladnička s mrazničkou AMICA, model AD 250

3.1.2 Plyny

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

3.1.3 Chemikálie

- Benzylalkohol pro syntézu, MERCK Německo;
- Butanová kyselina p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Butan-1-ol p. a., LACHEMA Brno;
- Butan-2-ol p. a., REONAL Maďarsko;
- Butan-2-on, LACHEMA Brno;
- Butan-2,3-dion pro syntézu, MERCK Německo;
- Dekan-1-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Dekan-2-on, MERCK Německo;
- Dekanová kyselina p.a. 99%, SERVA Feibiochemica Heidelberg Německo;
- Dodekan-2-on, MERCK Německo;
- Ethanal pro biochemii, MERCK Německo;
- Ethanol, Lach:Ner s.r.o. Česká republika;
- Ethanová kyselina 99%, Lach:Ner s.r.o. Česká republika;
- Ethylbutanoát pro syntézu, MERCK Německo;
- Ethyldekanoát pro syntézu, MERCK Německo;
- Ehyloktanoát pro syntézu, MERCK Německo;

- Fenylethanal 90%, SIGMA ALDRICH Německo;
- Fenylethanol pro syntézu, MERCK Německo;
- Fenylmethanal, REACHIM Rusko;
- Heptanal 95%, SIGMA ALDRICH Německo;
- Hexanal 98%, SIGMA ALDRICH Německo;
- Heptan-2-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Heptan-2-on pro syntézu, MERCK Německo;
- Limonen, ALFA AESAR Německo;
- Methanol LACH:NER s.r.o. Česká republika;
- N-oktanol p. a., LACHEMA Brno;
- Nonanal, MERCK Německo;
- Nonan-2-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Nonan-2-on pro syntézu, MERCK Německo;
- N-propanol p. a., LACHEMA Brno;
- Octan butylnatý p. a., LACHEMA Brno;
- Octan ethylnatý p. a., LACHEMA Brno;
- Octan methylnatý pro syntézu, MERCK Německo;
- Octan propylnatý purum, BRUXELUS Belgie;
- Oktanal, MERCK Německo;
- Oktanová kyselina p. a., REACHIM Rusko;
- Okt-1-en-3-ol purum, FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Oktan-2-ol p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Pentanal pro syntézu, MERCK Německo;
- Pentan-1-ol p. a., LACHEMA Brno;
- Pentan-2-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Pentan-2-on syntézu, MERCK Německo;
- Propanal pro syntézu, MERCK Německo;
- Propanová kyselina pro syntézu, MERCK Německo;
- Propan-2-ol p. a., LACHEMA Brno;
- Tridekan-2-on, MERCK Německo;
- Undekan-2-on pro syntézu, MERCK Německo;
- 2-hydroxypropanová kyselina purum., SIGMA ALDRICH Německo;
- 2-methyl-1-butanol, SIGMA ALDRICH Německo;
- 2-methylpropanová kyselina pro syntézu, MERCK Německo;
- 2-methylpropan-1-ol p. a., LACHEMA Brno;
- 2-methylpropan-2-ol p. a., LACHEMA Brno;

3.1.4 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno s polární stacionární fází CARTM/PDMS o tloušťce filmu 85 μm , SUPELCO
- Vialky (objem 4 ml) se šroubovacím uzávěrem a septem kaučuk-teflon
- Mikropipety BIOHIT PROLINE (objem 0,5 - 1000 μl), FINNPIPETTE (objem 0,2 - 2 μl), špičky, držák na pipety
- Parafilm PECHINEY PLASTIC PACKAGING, nůžky, Petriho misky, špachtle
- Běžné laboratorní sklo

3.2 Analyzované vzorky

Vzorky určené k analýze byly utaveny 17. 3. 2011 na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně. Jako základní surovina byla použita 30% eidamská cihla vyrobená v mlékárně v Kroměříži (Kromilk a.s.), různé druhy tuků, jako máslo, kokosový tuk, palmový tuk, mléčný tuk a slunečnicový olej, tavicí soli a pitná voda. Obsah sušiny byl 40 % a obsah tuku v sušině (TVS) byl 50 %. Přesné složení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce č. 4.

Tabulka č. 4: Složení jednotlivých vzorků CA

	Tuky použité na výrobu CA				
	Máslo	Kokosový tuk	Palmový tuk	Mléčný tuk	Slunečnicový olej
Eidamská cihla [kg]	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Tuk [kg]	0,120	0,101	0,100	0,101	0,098
Pitná voda [kg]	0,25	0,26	0,26	0,26	0,27
Tavicí soli [kg]	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019
Sušina [%]	40,11	40,26	40,19	40,26	40,16
Tuk [%]	20,08	19,99	19,90	19,99	20,08
tuk v sušině [%]	50,06	49,99	49,51	49,67	49,99

3.2.1 Výroba vzorků

Vzorky byly vyrobeny tak, že jednotlivé suroviny byly rozkrájeny na menší kousky a dány do tavicího kotle. Poté se přidala voda a tavicí soli. Směs se nepřímo ohřála (pláštěm) na 90 °C a při této teplotě byla udržována 1 minutu. Roztavená hmota byla za horka plněna do plastových kelímků a uzavřena. Potom se nechaly jednotlivé sýrové analogy samovolně vychladnout a uskladnily se při teplotě 6 °C až do analýzy.

Fotografie sýrových analogů jsou uvedeny v příloze č. 6

3.2.2 Příprava vzorků k analýze

Do vialky o objemu 4 ml byl navážen vždy 1 g sýrového analogu. Vzorek sýru byl umístěn co nejvíce na dno, aby nedošlo ke kontaktu sýru s SPME vláknem. Poté byla vialka uzavřena vzduchotěsným teflon-kaučukovým septem, omotána parafilmem a umístěna do vodní lázně vytemperované na 35 °C, aby došlo k ustanovení rovnováhy mezi vzorkem a headspace prostorem. Po 30 minutách ve vodní lázni bylo do headspace prostoru nad vzorkem vsunuto SPME vlákno a dalších 20 minut docházelo k extrakci aromatických látek. Po těchto 20 minutách bylo vlákno zasunuté do ocelové jehly přesunuto do injektoru plynového chromatografu, kde byl analyt tepelně desorbován a nesen na GC kolonu.

3.2.3 Podmínky SPME/GC analýzy

- Hmotnost vzorku: 1,00 g;
- teplota vodní lázně: 35 °C;
- temperování vialky se vzorkem: 30 minut;

- doba extrakce: 20 minut;
- žádná prodleva mezi extrakcí a desorpcí;
- teplota desorpce 250 °C;
- doba desorpce 20 minut.

3.2.4 Podmínky GC analýzy

- Plynový chromatogram TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie);
- nosný plyn, dusík, průtok 0,9 ml.min⁻¹;
- dávkovač splitless – ventil uzavřen po dobu 5 minut;
- teplota injektoru 250 °C;
- teplotní program: 40 °C, 1 minuta, vzestupný gradient 5 °C za minutu do 200 °C; s výdrží 7 minut;
- kolona: kapilární DB-WAX o rozměrech 30 m × 0,32 mm × 0,5 μm;
- detektor: plamenově ionizační (FID), teplota 220 °C, průtok vodíku 35 ml/min, průtok vzduchu 350 ml/min, make – up dusíku 30 ml/min;
- celková doba analýzy: 40 minut.

Podmínky SPME/GC analýzy byly voleny obdobně jako u předchozích diplomových a bakalářských prací[6].

3.2.5 Vyhodnocení výsledků

Těkavé aromatické látky byly identifikovány a kvantifikovány pomocí standardů. Srovnáním retenčních časů jsme mohli stanovit, které sloučeniny jednotlivé vzorky obsahují. Kvantifikace byla provedena na základě porovnání plochy píků analyzovaného vzorku a standardů o známých množstvích a za stejných podmínek.

3.2.6 Statistické zpracování výsledků

Výsledky měření byly vyhodnoceny pomocí tabulkového procesoru Excel 2007.

Koncentrace aromatických látek byla stanovena pomocí známé koncentrace a známých ploch píků standardů podle vztahu:

$$c = \frac{c_s \cdot A}{A_s} \quad (1)$$

Kde c a A jsou koncentrace a plocha píku analyzované látky a c_s , A_s jsou koncentrace a plocha píku standardu

Výsledky opakovaných měření jsou vlivem náhodilých chyb rozmístěny okolo střední hodnoty, kterou můžeme pouze odhadnout pomocí experimentálních dat. Nejlepším odhadem je aritmetický průměr, který se vypočítá jako součet změřených hodnot dělený celkovým počtem měření podle vztahu:

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

Kde n je počet analýz, x_i (pro $i = 1, 2, 3 \dots n$) jsou jednotlivé naměřené hodnoty.

Rozdíl hodnoty výsledků a průměrné hodnoty střední hodnoty vyjadřuje směrodatná odchylka:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

Kde n je počet analýz, x_i (pro $i = 1, 2, 3 \dots n$) jsou jednotlivé naměřené hodnoty a \bar{x} je aritmetický průměr.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Stanovení aromaticky aktivních látek metodou SPME/GC

Metodou mikroextrakce pevnou fází byly izolovány aromatické látky, které byly následně detekovány plynovou chromatografií. Celkem bylo proměřeno 5 vzorků sýrových analogů, které obsahovaly různé druhy tuku (kokosový tuk, palmový tuk, mléčný tuk, máslo a slunečnicový olej.

Každý vzorek byl proměřen třikrát. Vzorky byly v průběhu měření uchovávány v chladničce, aby nedocházelo k případným změnám v obsahu aromaticky aktivních látek. Podmínky analýzy jsou uvedeny v kapitolách 3.2.3 a 3.2.4.

Získané aromatické látky byly identifikovány na základě porovnání jejich retenčních časů a retenčních časů standardů. Jednotlivé standardy, jejich retenční časy a plochy píků jsou uvedeny v tabulce č. 4.

Vypočítané koncentrace extrahovaných aromaticky aktivních látek jsou uvedeny v tabulce č. 5. v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sýra ve formě aritmetického průměru a směrodatné odchylky.

Obrázky chromatogramů jsou v přílohách 1 až 6.

Tabulka č. 5: Seznam použitých standardů k identifikaci aromaticky aktivních látek

Triviální název	Systematický název	Retenční časy [min]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]
acetaldehyd	ethanal	3,737	780,00	43577760
propionaldehyd	propanal	4,368	810,00	35979730
aceton	propan-2-on	4,657	790,00	26649690
methylacetát	octan methylnatý	4,738	18,60	23312260
ethylacetát	octan ethylnatý	5,493	4,50	24272130
ethylmethylketon	butan-2-on	5,823	8,00	75960370
methanol	methanol	5,833	1580,00	14948440
terc.butanol	2-methylpropan-2-ol	5,867	790,00	17649510
isovaleraldehyd	3-methylbutan-1-al	5,982	25,15	20667990
isopropanol	propan-2-ol	6,367	786,00	13704580
ethanol	ethanol	6,497	810,00	38997420
propylacetát	octan propylnatý	7,115	8,46	43102460
pentanal	pentanal	7,167	5,27	70161950
diacetyl	butan-2,3-dion	7,183	49,50	26381400
methylpropylketon	pentan-2-on	7,242	8,10	28137000
methylisobutylketon	4-methylpentan-2-on	7,862	8,89	34218770
sek. Butanol	butan-2-ol	8,345	484,80	25940380
ethylbutyrát	ethylbutanoát	8,390	3,52	30619660
propanol	propanol	8,663	112,00	17151990
butylacetát	octan butylnatý	9,275	3,52	46107000
kapronaldehyd	hexanal	9,520	2,50	65298540
isobutanol	2-methylpropan-1-ol	9,993	720,00	19192170
pentan-2-ol	pentan-2-ol	10,797	113,40	30940880
butanol	butanol	11,538	48,60	20597740
heptan-2-on	heptan-2-on	11,980	0,10	11763000
heptaldehyd	heptanal	12,107	1,63	56322940
limonen	limonen	12,128	1,68	34861510
2-methylbutan-1-ol	2-methylbutan-1-ol	12,950	8,20	21208320
isoamylalkohol	3-methylbutan-1-ol	13,152	64,80	28282840
n-amylalkohol	pentan-1-ol	14,132	243,00	30925730
Oktanal	oktanal	14,853	3,28	59587880
acetoin	3-hydroxybutan-2-on	15,438	20,00	31544040
heptan-2-ol	heptan-2-ol	15,815	8,20	11128810
hexan-1-ol	hexan-1-ol	16,698	2,12	19757550
nonan-2-on	nonan-2-on	17,618	16,40	72949220
Nonanal	nonanal	17,698	1,65	135841200
oktan-2-ol	oktan-2-ol	18,340	1,64	40097640
ethylkaprylát	ethyloktanoát	18,512	1,31	25166190
okt-1-en-3-ol	okt-1-en-3-ol	19,088	0,27	54350650
kyselina octová	kyselina ethanová	19,183	1365,00	22041590
2-dekanon	dekan-2-on	20,110	0,55	8922110
nonan-2-ol	nonan-2-ol	20,727	0,08	27891860

benzaldehyd	fenylmethanal	21,198	1,05	39993440
kyselina propionová	kyselina propanová	21,267	992,00	35548910
n-oktanol	n-oktanol	21,750	1,40	31125000
kyselina isomáselná	kyselina 2-methylpropanová	21,975	500,18	30511020
undekan-2-on	undekan-2-on	22,697	8,30	29787910
kyselina máselná	kyselina butanová	23,392	482,00	40603960
ethylkaprinát	ethyldekanoát	23,435	1,74	21244590
fenylacetaldehyd	fenylethanal	23,955	34,30	60432310
kyselina isovalerová	kyselina 3-methylbutanová	24,330	93,00	17255970
dekan-1-ol	dekan-1-ol	26,307	1,66	20216890
kyselina mléčná	kyselina 2-hydroxypropanová	26,328	12090,00	26434040
2-tridekanon	tridekan-2-on	27,305	0,0005	11711120
fenylethanol	fenylethanol	27,648	2,53	38060240
benzylalkohol	benzylalkohol	29,037	25,00	22095120
kyselina kaprylová	kyselina oktanová	32,343	4,55	11960900
kyselina kaprinová	kyselina dekanová	37,080	0,58	45850690

Tabulka č. 6: Obsah aromaticky aktivních látek v analozích tavených sýrů obsahujících různé druhy tuků.

Sloučenina	Koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	Máslo	Kokosový tuk	Palmový tuk	Mléčný tuk	Slunečnicový olej
ethanal	82,887 \pm 4,182	33,950 \pm 8,318	21,003 \pm 2,500	86,106 \pm 8,150	6,418 \pm 6,334
propanal	-	-	-	-	2,855 \pm 0,291
propan-2-on	14,227 \pm 1,409	-	4,398 \pm 1,068	10,606 \pm 1,033	6,690 \pm 0,306
butan-2-on	0,096 \pm 0,002	0,163 \pm 0,008	0,059 \pm 0,008	0,074 \pm 0,012	0,119 \pm 0,012
ethanol	358,473 \pm 12,083	327,415 \pm 3,772	298,491 \pm 15,051	321,123 \pm 0,208	340,577 \pm 7,583
pentanal	-	-	-	0,019 \pm 0,001	-
4-methylpentan-2-on	0,111 \pm 0,094	0,168 \pm 0,004	0,113 \pm 0,008	-	0,209 \pm 0,018
butan-2-ol	16,722 \pm 0,362	131,075 \pm 2,339	-	1,980 \pm 0,028	-
ethylbutanoát	-	-	0,144 \pm 0,011	0,004 \pm 0,003	0,212 \pm 0,044
octan butylnatý	-	-	-	-	0,005 \pm 0,000
hexanal	-	-	0,006 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,022 \pm 0,001
butanol	0,203 \pm 0,004	0,231 \pm 0,002	0,315 \pm 0,039	0,311 \pm 0,003	0,280 \pm 0,028

heptan-2-on	-	-	-	-	0,001 ± 0,000
heptanal	0,012 ± 0,000	0,007 ± 0,000	0,005 ± 0,002	0,004 ± 0,004	0,012 ± 0,003
3-methylbutan-1-ol	0,430 ± 0,077	0,421 ± 0,133	0,030 ± 0,001	0,115 ± 0,090	0,666 ± 0,069
pentan-1-ol	2,311 ± 0,105	1,735 ± 0,081	-	1,495 ± 1,061	2,573 ± 0,817
oktanal	-	-	0,022 ± 0,006	0,002 ± 0,001	0,003 ± 0,000
hexan-1-ol	-	-	-	0,006 ± 0,001	0,005 ± 0,001
3-hydroxybutan-2-on	0,137 ± 0,001	0,248 ± 0,007	0,244 ± 0,003	0,202 ± 0,008	0,182 ± 0,007
kyselina ethanová	98,956 ± 8,782	151,682 ± 2,753	146,980 ± 5,218	146,110 ± 2,426	161,929 ± 6,748
fenylmethanal	-	-	-	0,005 ± 0,002	0,003 ± 0,000
n-oktanol	0,015 ± 0,002	0,022 ± 0,000	0,021 ± 0,000	0,023 ± 0,000	0,021 ± 0,01
undekan-2-on	0,053 ± 0,009	0,068 ± 0,001	0,080 ± 0,002	0,095 ± 0,008	0,076 ± 0,003
kyselina butanová	1,235 ± 0,287	-	-	-	2,218 ± 0,216
ethyldekanoát	-	0,014 ± 0,001	0,012 ± 0,000	0,013 ± 0,002	-
fenylethanal	0,105 ± 0,002	0,074 ± 0,001	0,083 ± 0,005	0,076 ± 0,014	0,094 ± 0,015
dekan-1-ol	0,012 ± 0,001	0,018 ± 0,002	0,009 ± 0,003	0,011 ± 0,006	0,013 ± 0,001
Celková koncentrace	575,987	647,289	472,015	568,388	525,183

4.1.1 Porovnání obsahu aromatických látek v jednotlivých sýrových analozích

Jednotlivé sýrové analogy se lišily obsaženým druhem tuku, tudíž v každém analogu byly stanoveny různé aromatické látky a v různých koncentracích.

Největší množství aromatických látek (AL) obsahoval CA s kokosovým tukem, celkem 647,289 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Z celkových 16 látek bylo identifikováno 7 alkoholů, 4 ketony, 3 aldehydy, 1 masná kyselina a 1 ester.

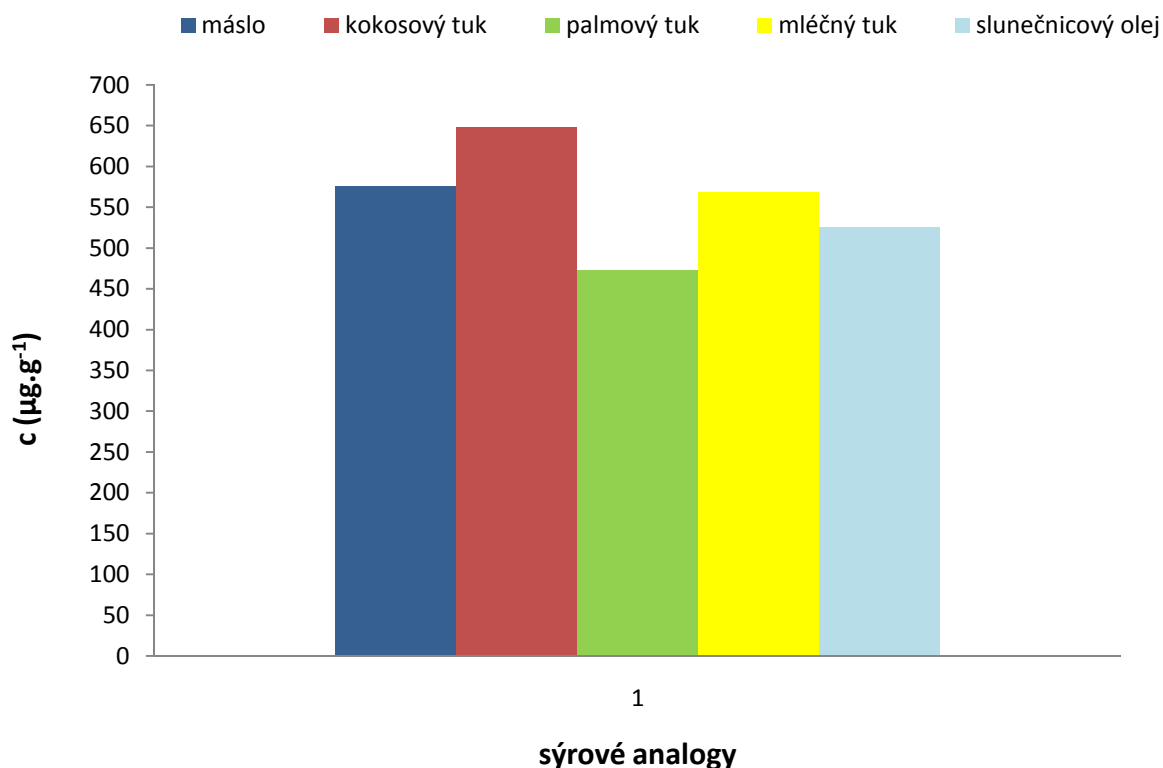
Druhou největší koncentraci aromaticky aktivních látek obsahoval sýrový analog, který obsahoval máslo, celkem 575,987 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. V tomto analogu bylo identifikováno 17 AL, z toho 7 alkoholů, 5 ketonů, 3 aldehydy a 2 masné kyseliny.

Analog, který obsahoval mléčný tuk, měl celkovou koncentraci aromaticky aktivních látek 568,388 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Bylo u něj identifikováno celkem 22 aromaticky aktivních látek, a to 8 alkoholů, 4 ketony, 7 aldehydů, 1 masnou kyselinu a 2 estery

Nejvyšší počet, celkem 24 AL obsahoval analog s obsahem slunečnicového oleje. Celková koncentrace látek ale nebyla nejvyšší, byla až na čtvrtém místě 525,183 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Bylo zde zjištěno 7 alkoholů, 6 ketonů, 7 alkoholů, 2 masné kyseliny a 2 estery.

Nejnižší celkovou koncentraci aromaticky aktivních látek obsahoval analog s obsahem palmového tuku. Ta činila 472,015 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Bylo nalezeno 5 alkoholů, 5 ketonů, 5 aldehydů, 1 mastná kyselina a 2 estery, což dává dohromady 18 látek.

Porovnání celkového množství AL jednotlivých sýrových analogů je znázorněno v grafu č. 1



Graf č. 1: Celková koncentrace aromaticky aktivních látek v různých druzích sýrových analogů

Vzhledem k tomu, že obsah různých sloučenin se ve vzorcích liší v rozsahu několika řádů, byly zjištěné aromatické látky rozděleny podle koncentrace do několika skupin.

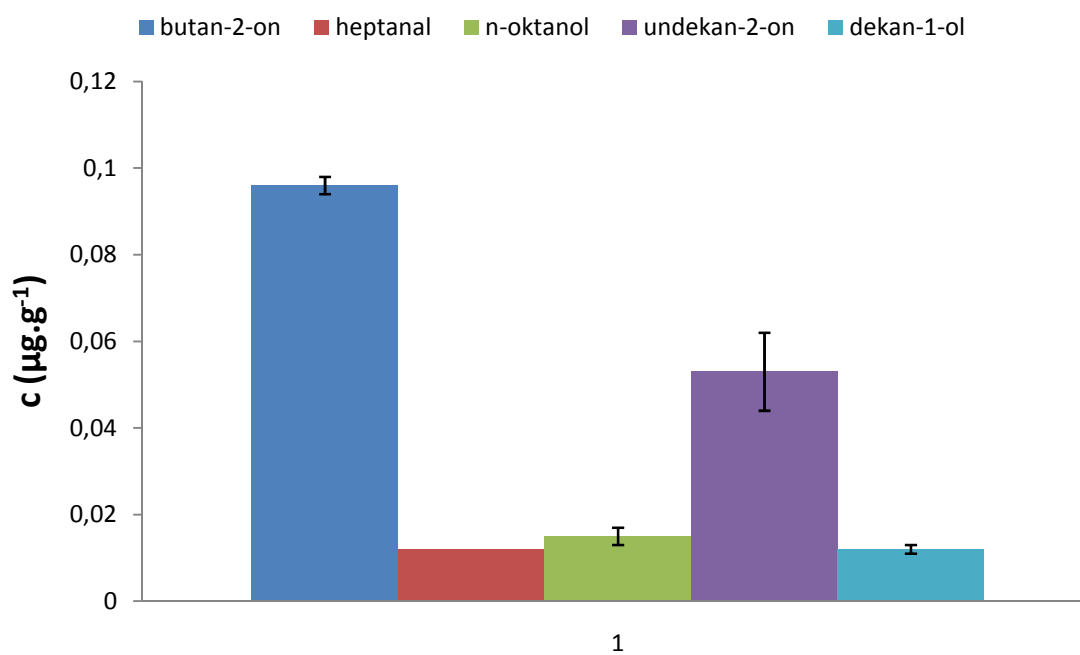
- V grafu č. 2-6 jsou uvedeny aromaticky aktivní látky s koncentrací nižší jak $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
- V grafech č. 7-11 jsou AL s koncentrací od $0,1- 3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
- V grafech č. 12-16 jsou AL s koncentrací vyšší jak $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

4.1.1.1 Srovnání aromaticky aktivních látek v CA s koncentrací menší jak $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Z grafů můžeme vyčíst, že nejvíce látek o velmi nízké koncentraci je v případě CA s mléčným tukem (celkem 13 sloučenin), hned za ním je CA se slunečnicovým olejem.

Některé látky jsou sice jen ve velmi malé koncentraci, za to ale například heptanal, n-oktanol, undekan-2-on a dekan-1-ol jsou zastoupeny ve všech pěti druzích sýrových analogů. Naproti tomu propanal, octan butylnatý a heptan-2-on jsou látky, které byly identifikovány v malých koncentracích pouze ve slunečnicovém oleji. Látky, které se vyskytly alespoň ve 3 druzích CA, jsou butan-2-on, hexanal, oktanal, ethyldekanoát a fenylethanal.

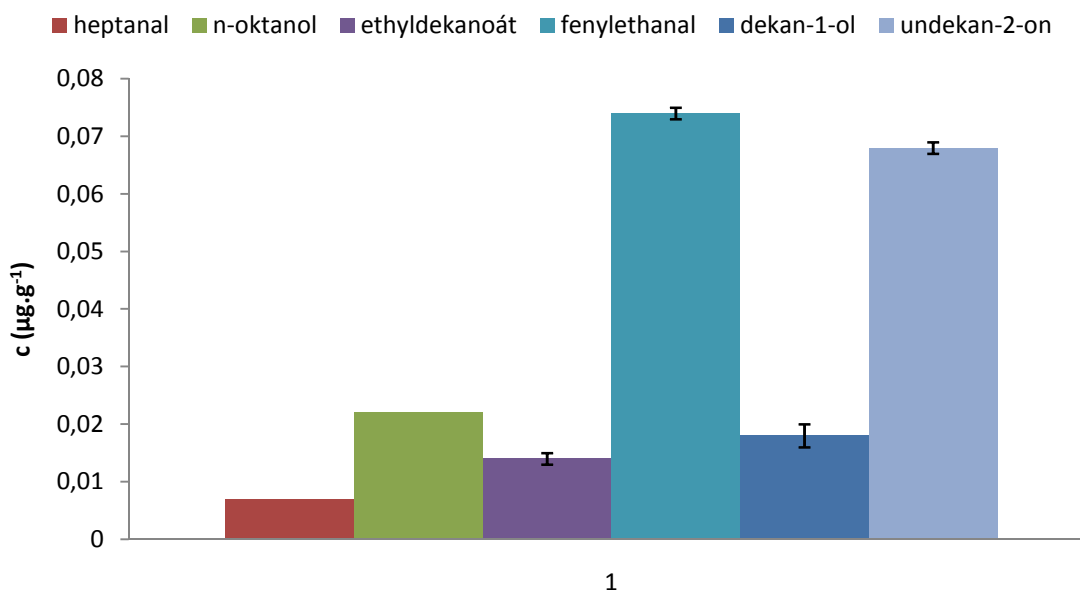
CA-máslo



koncentrace nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Graf č. 2: Aromaticky aktivní látky s koncentrací nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu s máslem

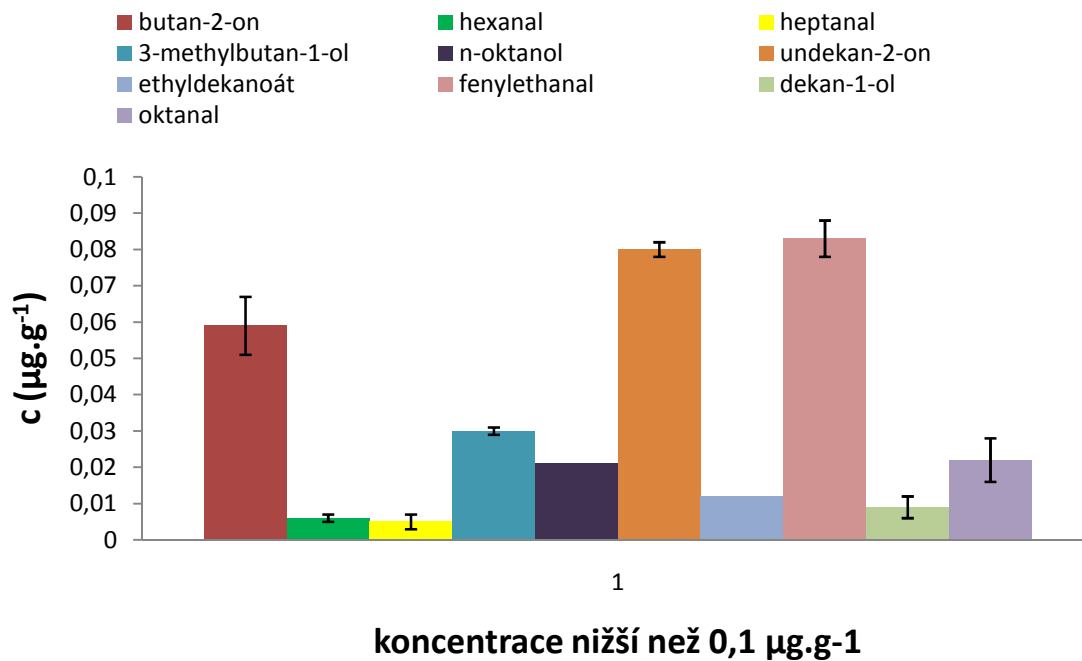
CA-kokosový tuk



koncentrace nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

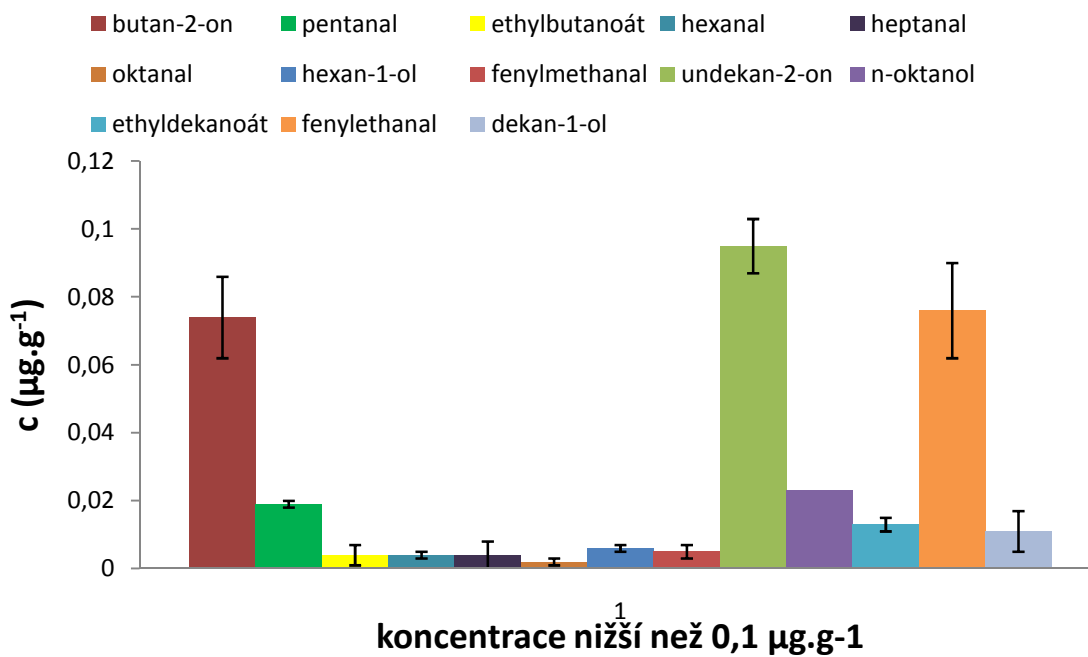
Graf č. 3: Aromaticky aktivní látky s koncentrací nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu s kokosovým tukem

CA-palmový tuk



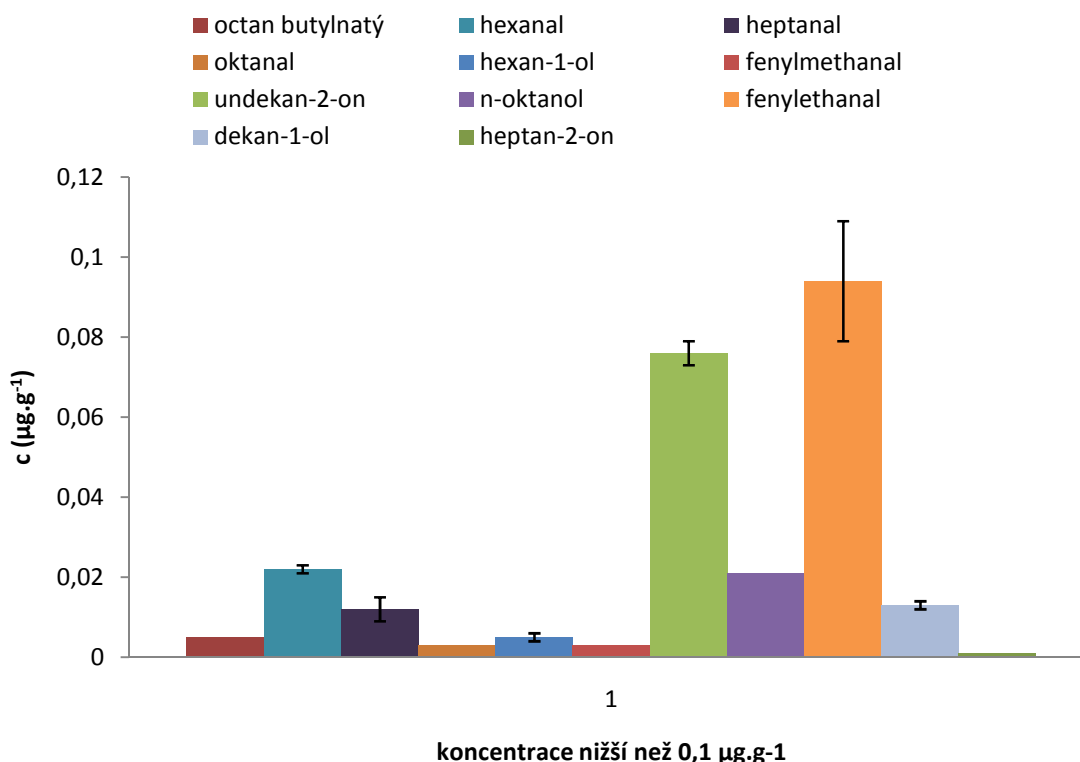
Graf č. 4: Aromaticky aktivní látky s koncentrací nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu s palmovým tukem

CA-mléčný tuk



Graf č. 5: Aromaticky aktivní látky s koncentrací nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu s mléčným tukem

CA-slunečnicový olej



Graf č. 6: Aromaticky aktivní látky s koncentrací nižší než $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu se slunečnicovým olejem

4.1.1.2 Srovnání aromaticky aktivních látky s koncentrací od $0,1$ do $3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Z grafů znázorňujících látky v rozmezí koncentrací $0,1$ až $3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, můžeme vyčíst, že např. butan-2-on je u CA s kokosovým tukem a slunečnicovým olejem ve vyšší koncentraci než u ostatních CA, ve kterých byl v koncentraci menší jak $0,1$. Naopak ethanol a propan-2-on jsou ve slunečnicovém oleji v menší koncentraci než u ostatních CA.

Také byla v rozmezí těchto koncentrací objevena látka propanal, která nebyla u ostatních CA identifikována vůbec.

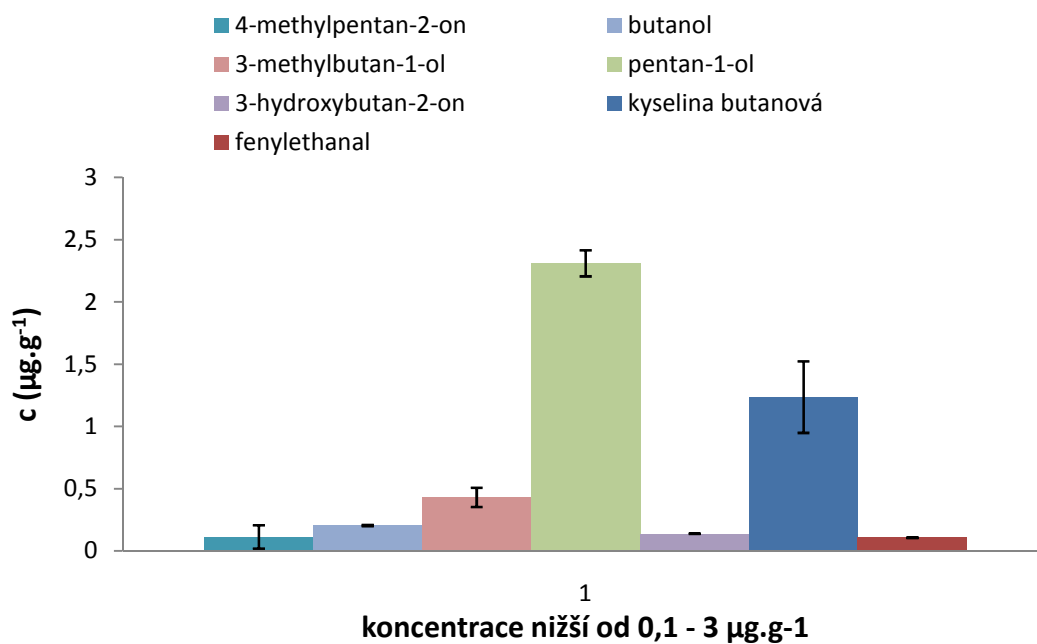
4-methylpentan-2-on byl identifikován ve všech typech sýrových analogů kromě CA s mléčným tukem.

Butanol a 3-hydroxybutan-1-ol jsou společné pro všech 5 druhů sýrových analogů a i jejich koncentrace v analogích je velmi podobá pohybuje se od $0,137 - 0,315 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Látka, vyskytující se pouze v této oblasti koncentrace je kyselina butanová (kyselina máselná), která byla identifikována v CA obsahujících máslo a slunečnicový olej.

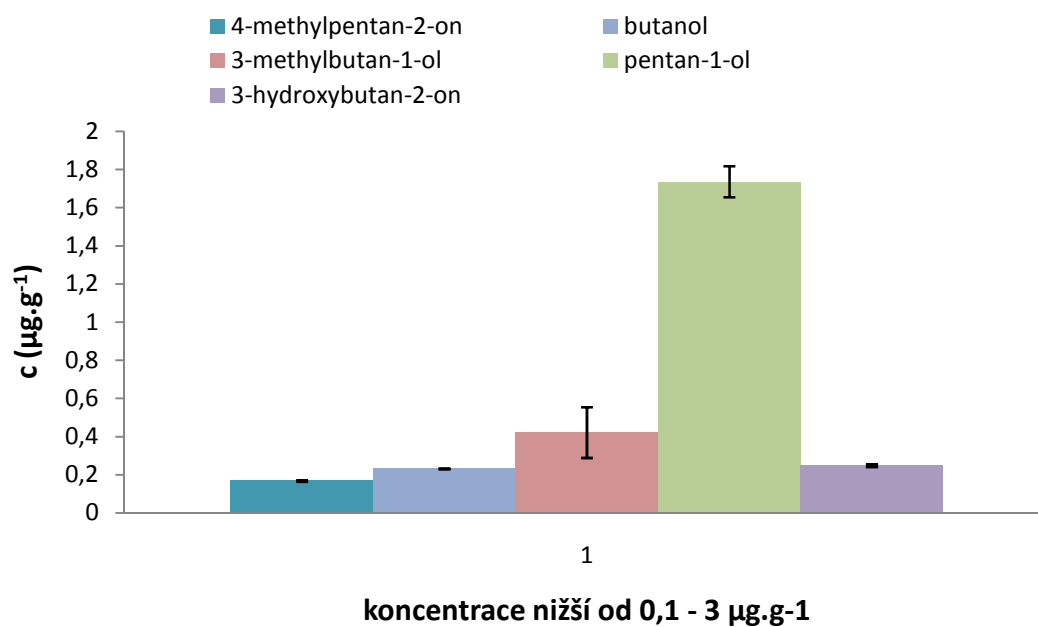
3-methylbutan-1-ol byl zastoupen v tomto intervalu koncentrací ve všech CA kromě palmového oleje, kde byl nalezen jen ve velmi nízké koncentraci.

CA-máslo



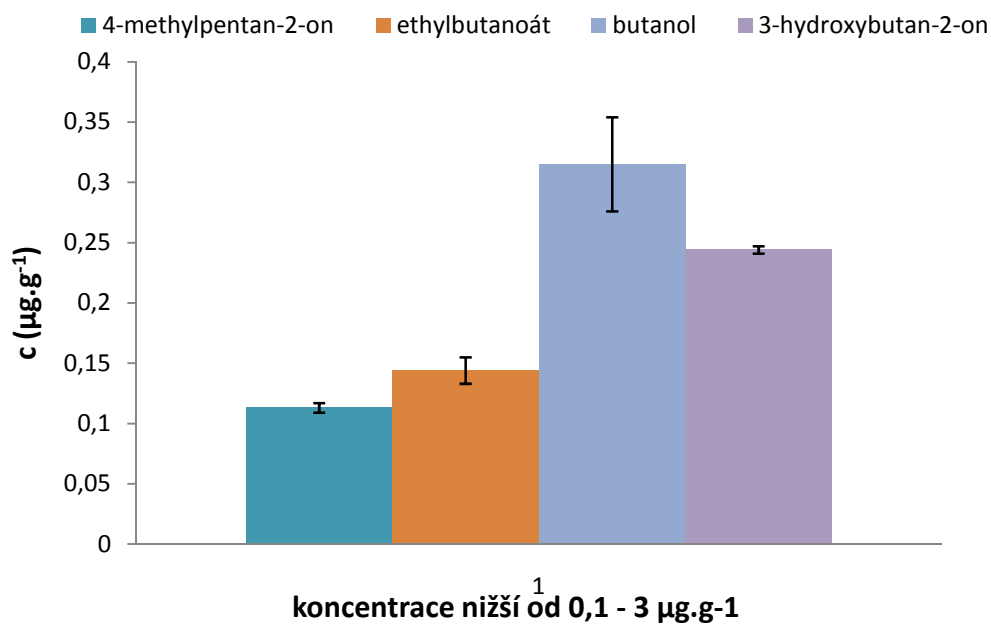
Graf č. 7: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 0,1 do 3 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s máslem

CA-kokosový tuk



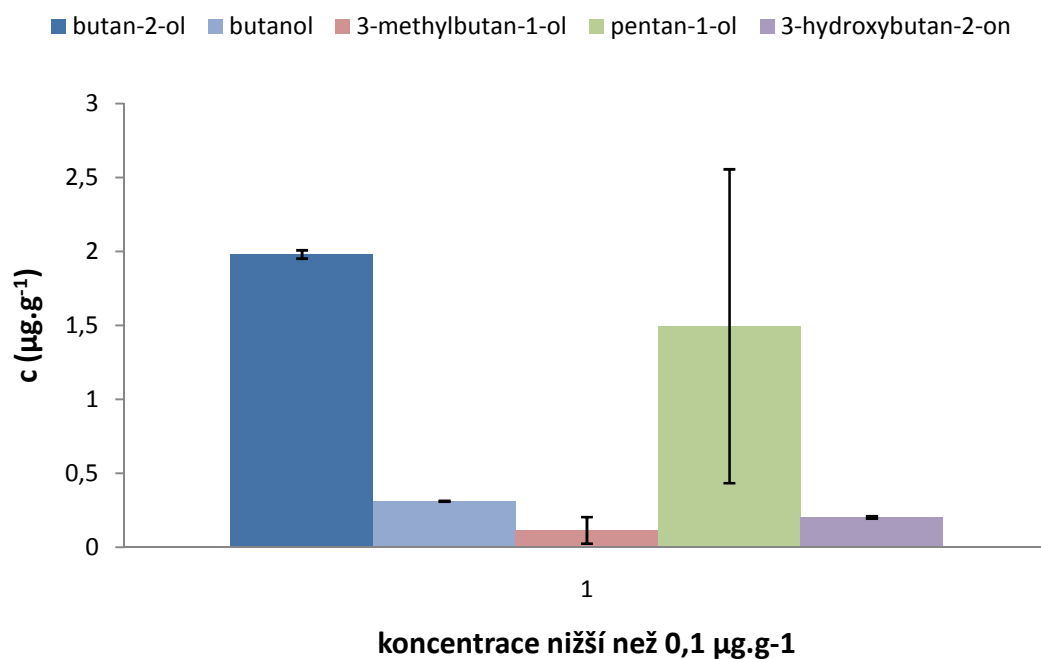
Graf č. 8: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 0,1 do 3 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s kokosovým tukem

analog-palmový tuk



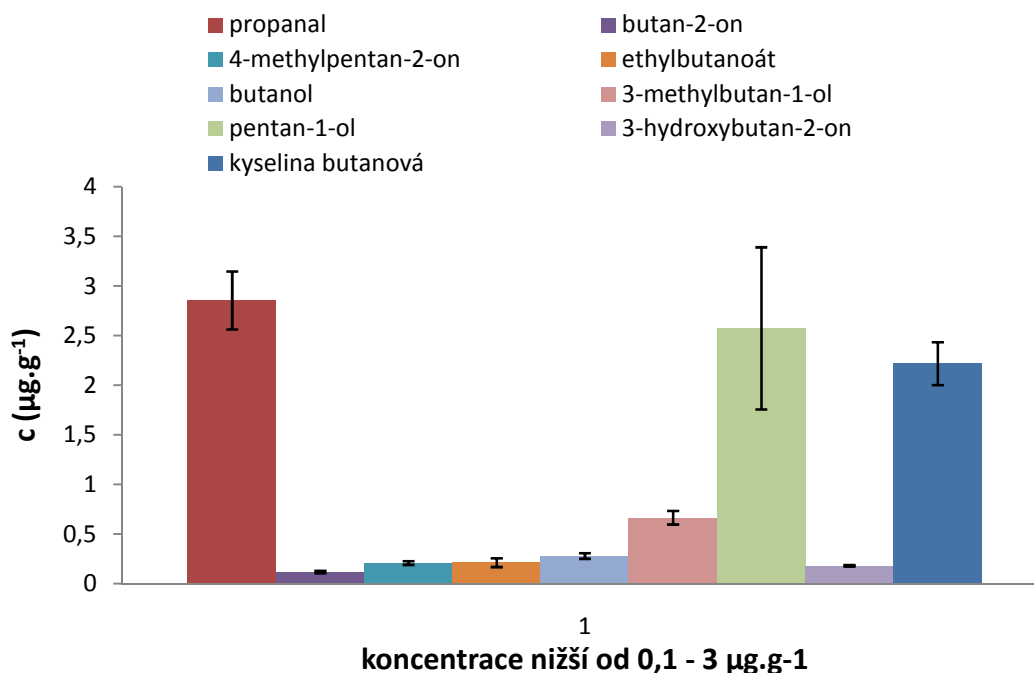
Graf č. 9: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 0,1 do 3 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s palmovým tukem

CA-mléčný tuk



Graf č. 10: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 0,1 do 3 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s mléčným tukem

CA-slunečnicový olej



Graf č. 11: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 0,1 do 3 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu se slunečnicovým olejem

4.1.1.3 Aromaticky aktivní látky s koncentrací vyšší jak 10 µg.g⁻¹

Kromě výše byly v CA identifikovány i látky s velmi vysokými koncentracemi. Pouze 4 látky jsou zastoupeny v sýrových analozích o koncentraci vyšší jak 10 µg.g⁻¹. Ethanal neboli acetaldehyd, který je ve vysokých koncentracích obsažen ve všech CA nejvíce potom u CA s máslem a mléčným tukem.

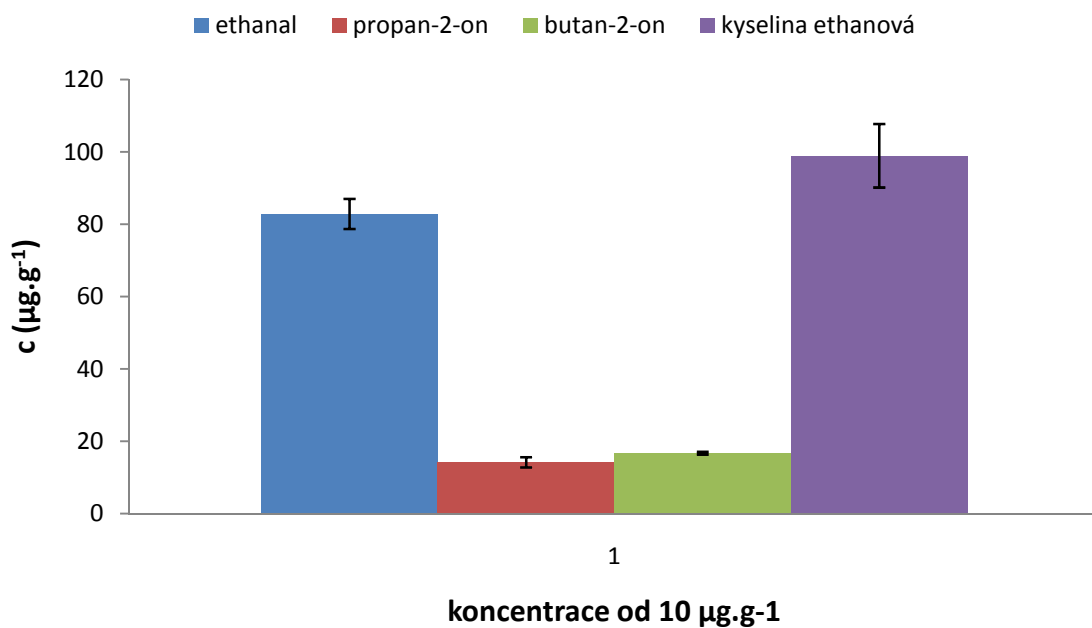
Dále ethanol, jehož koncentrace v jednotlivých vzorcích sýrových analogů byla největší ze všech identifikovaných látek. Protože jeho koncentrace dosahovala až 300 µg.g⁻¹, není zahrnut do jednotlivých grafů, aby nezhoršoval jejich názornost. Zjištěné hodnoty jsou následující, CA s máslem: 358,473 µg.g⁻¹, CA s kokosovým tukem: 327,415 µg.g⁻¹, CA s palmovým tukem: 298,491, CA s mléčným tukem: 321,123 a CA se slunečnicovým olejem: 340,577 µg.g⁻¹

Butan-2-ol byl ve vysoké koncentraci zastoupen v CA s máslem a kokosovým tukem.

Kyselina ethanová byla také identifikována ve všech sýrových analozích ve velkém množství.

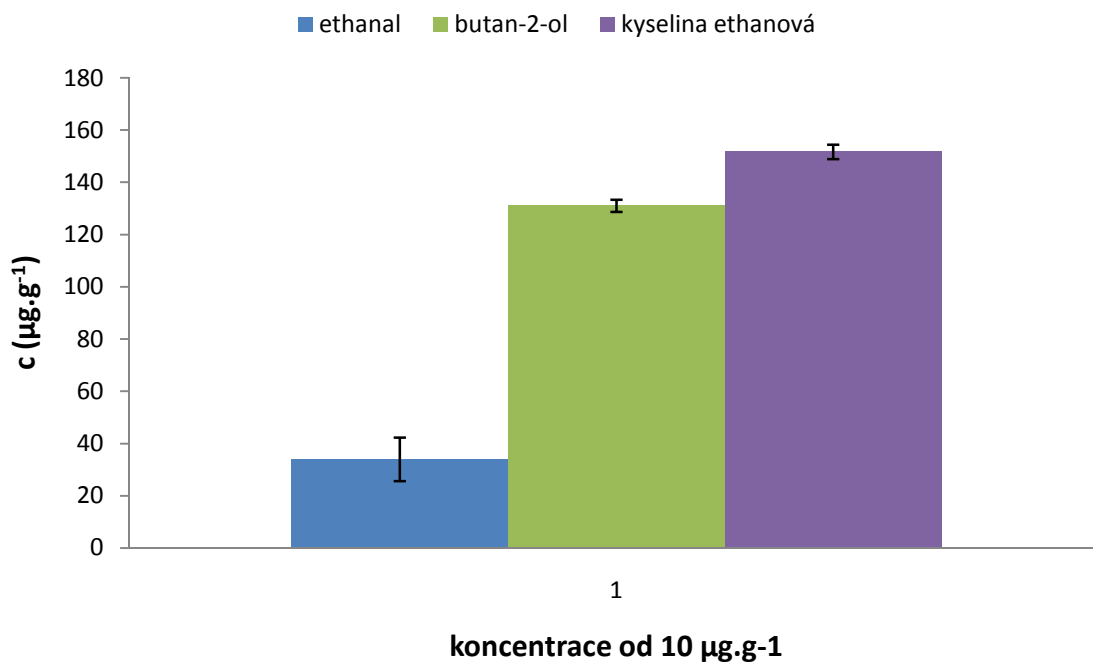
Porovnáním jednotlivých výsledků, dostáváme závěr, že významnou roli v aroma CA hrají hlavně alkoholy a ketony, jejichž zastoupení je největší. Sýrové analogy mají mnoho sloučenin společných, což je dáno tím, že všechny mají za společný základ 30% eidamskou cihlu. Rozdíly jsou tedy pravděpodobně důsledkem různých použitých tuků.

CA-máslo



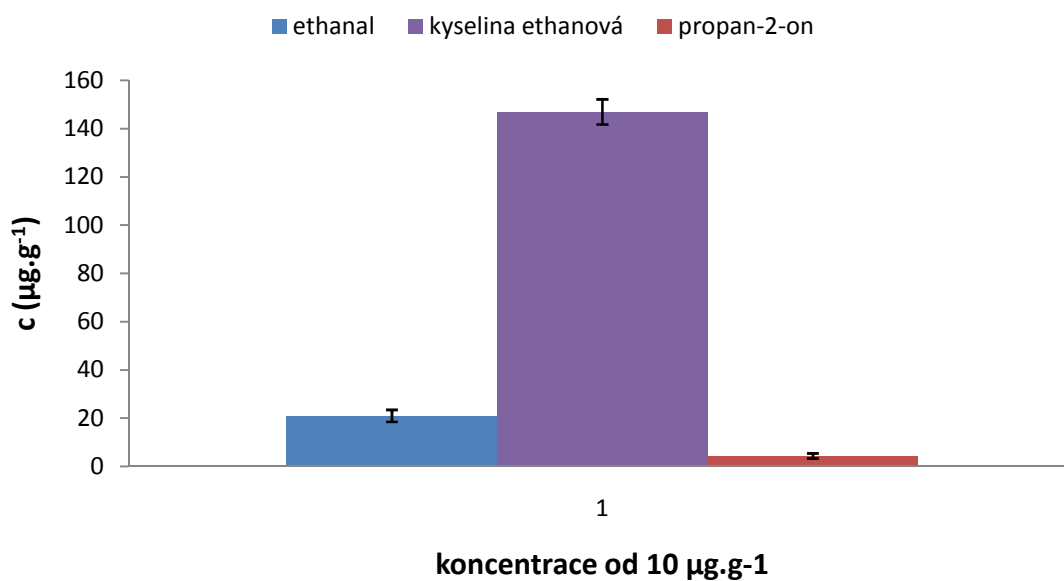
Graf č. 12: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 10 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s máslem

CA-kokosový tuk



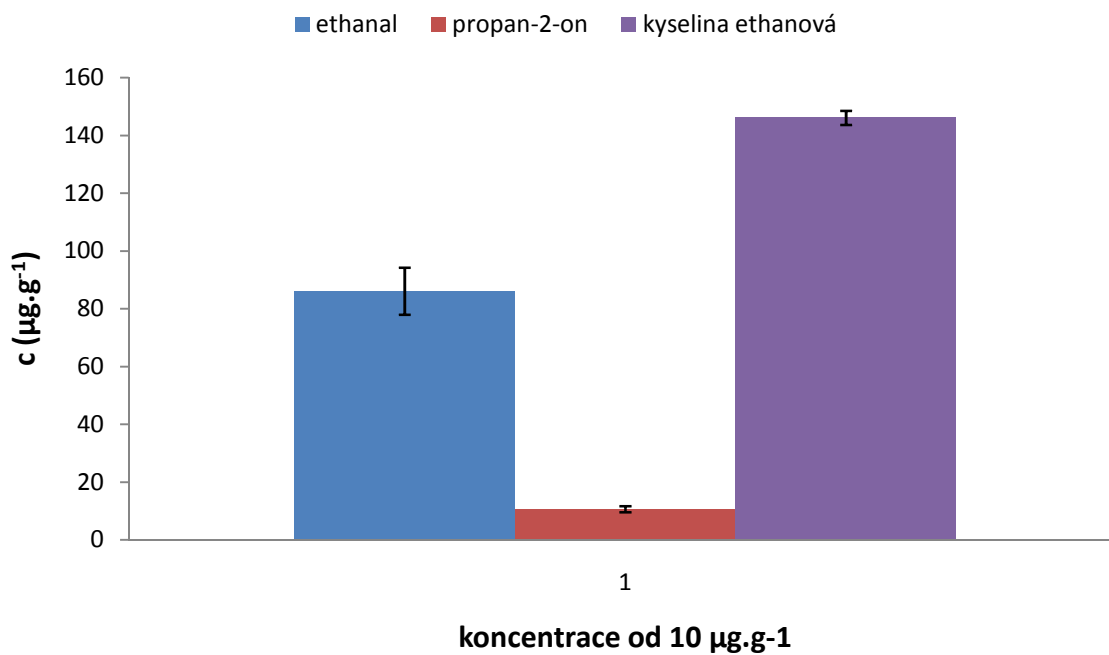
Graf č. 13: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 10 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s kokosovým tukem

CA-palmový tuk



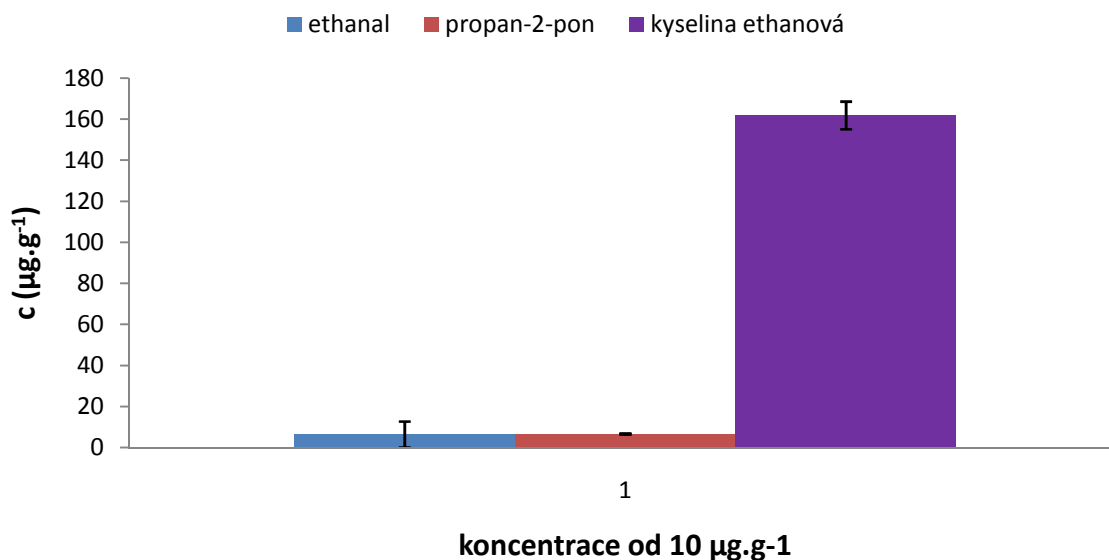
Graf č. 14: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu s palmovým tukem

CA-mléčný tuk



Graf č. 15: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ v sýrovém analogu s mléčným tukem

CA- slunečnicový olej



Graf č. 16: Aromaticky aktivní látky s koncentrací od 10 µg.g⁻¹ v sýrovém analogu s mléčným tukem

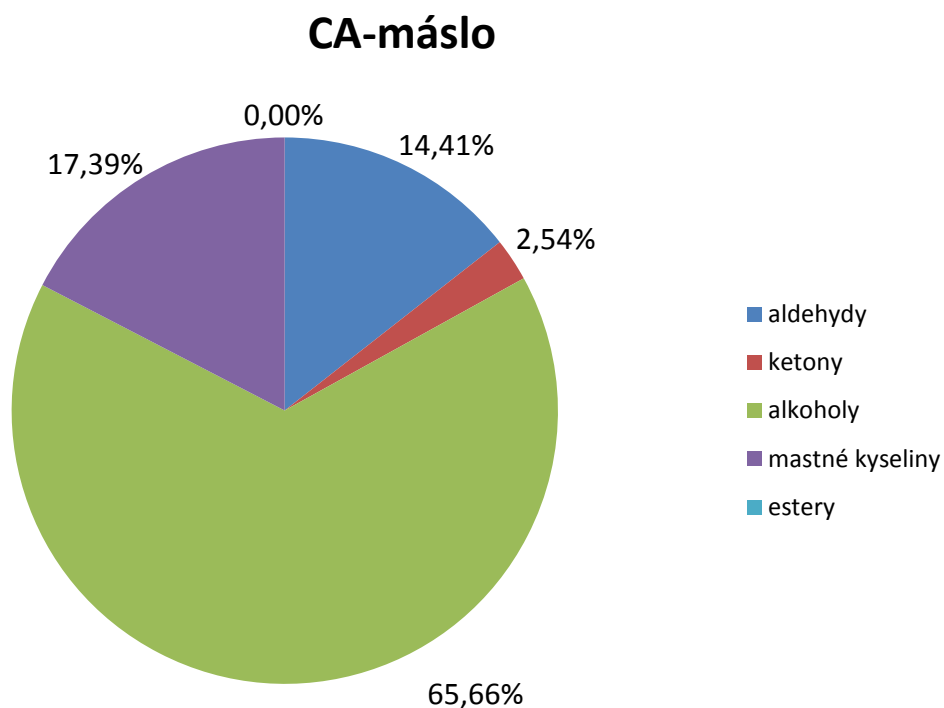
4.1.1.4 Srovnání jednotlivých skupin AL

Z výšečových grafů (č. 17-21) je patrné, že v nejvyšší koncentraci jsou u všech typů CA zastoupeny alkoholy. CA s kokosovým tukem obsahuje dokonce 71 % a nejméně alkoholů, 57 %, je v CA s mléčným tukem. Počet identifikovaných AL, patřících do skupiny alkoholů, je také nejvyšší, na rozdíl od mastných kyselin, které v koncentraci zauímají druhé místo, avšak jsou zastoupeny jen ve velmi malém počtu. Pouze dvě nebo jedna látka tvoří asi 25 % z celkové koncentrace AL. Nejvíce mastných kyselin bylo identifikováno v CA s palmovým tukem a slunečnicovým olejem, kde tvořili asi 31 %. Naopak jen 17 % mastných kyselin obsahoval CA s máslem.

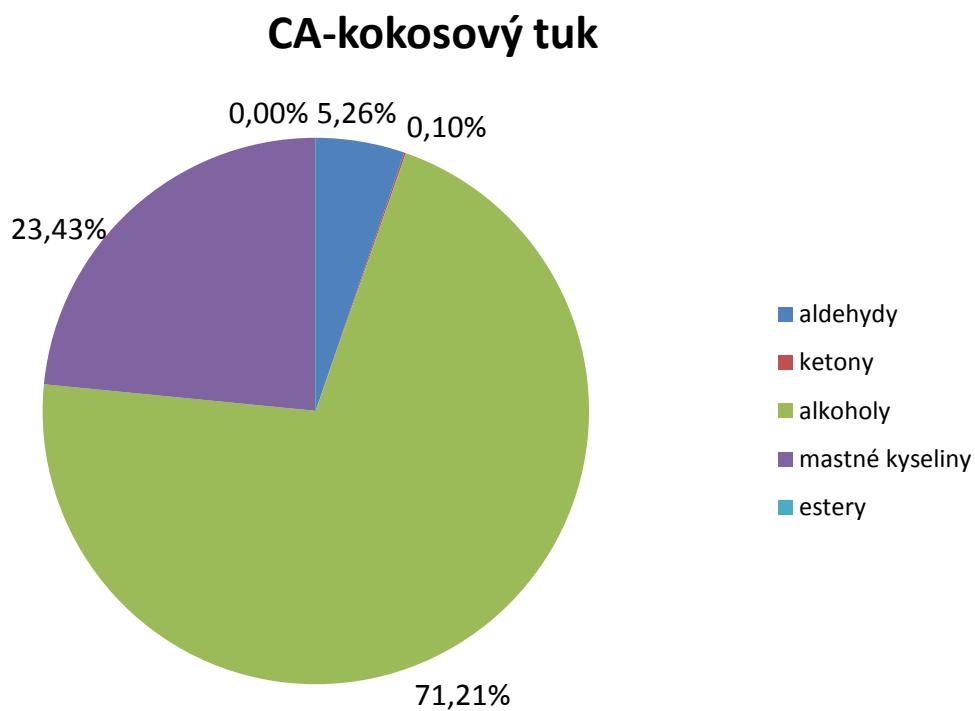
Další poměrně hodně zastoupenou skupinou jsou aldehydy. Ty jsou u různých typů CA zastoupeny v různém množství. CA s máslem a mléčným tukem obsahovaly až 15 % aldehydů, jen kolem 5 % aldehydů bylo zjištěno u CA s kokosovým a palmovým tukem a pouhých 1,79 % u CA se slunečnicovým olejem.

Množství identifikovaných ketonů se už pohybuje jen kolem 1 až 2 % a u CA s kokosovým tukem se nevyskytují skoro vůbec, zauímají pouze 0,1 %. Nejvyšší koncentraci ketonů obsahuje CA s máslem a to 2,5 %. Estery byly identifikovány ve velmi malém množství. Slunečnicový olej obsahuje 0,04 %, což je nejvíce ze všech. CA s mléčným a kokosovým tukem sice estery obsahují, ale tvoří jen 0,002 % a 0,003 %. V CA s máslem nebyly estery identifikovány vůbec.

Můžeme tedy říct, že na celkovém flavouru CA se pravděpodobně nejvíce podílejí alkoholy a mastné kyseliny. Dále chuť dotváří aldehydy a v menším množství potom ketony a estery.

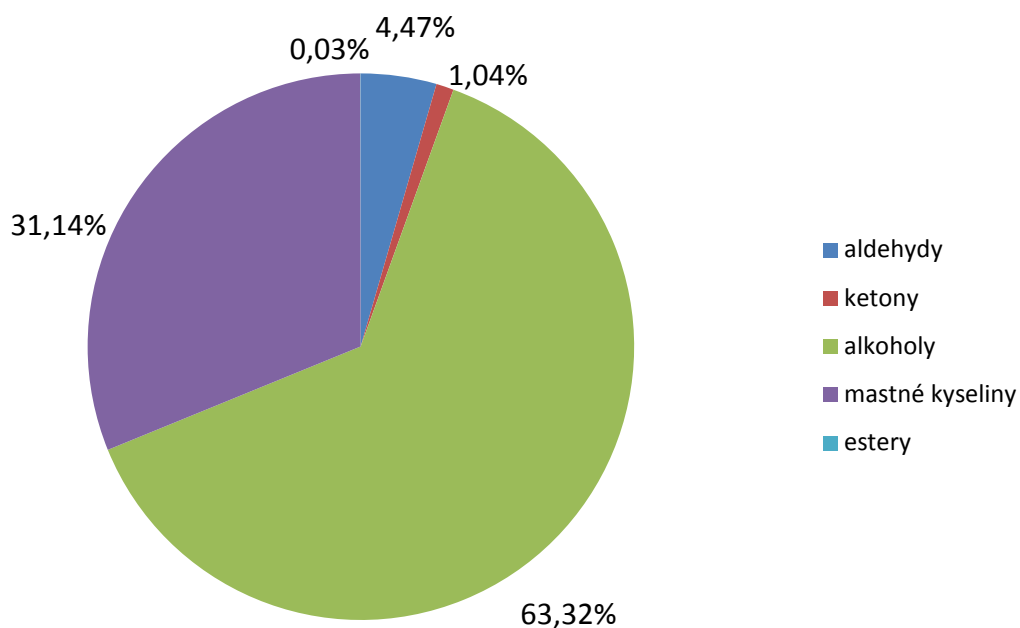


Graf č. 17: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin AL v CA s máslem



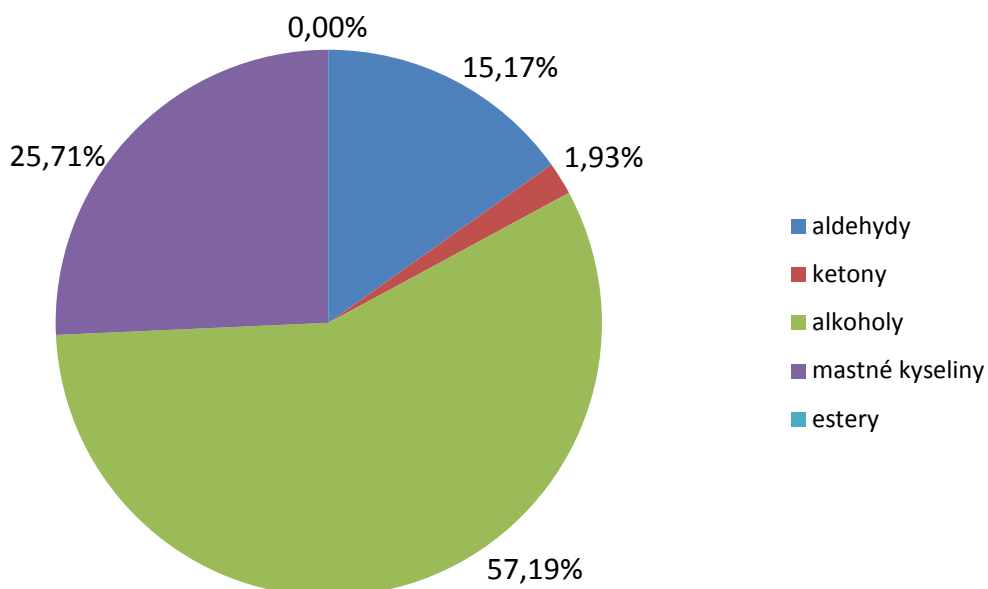
Graf č. 18: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin AL v CA s kokosovým tukem

CA-palmový tuk



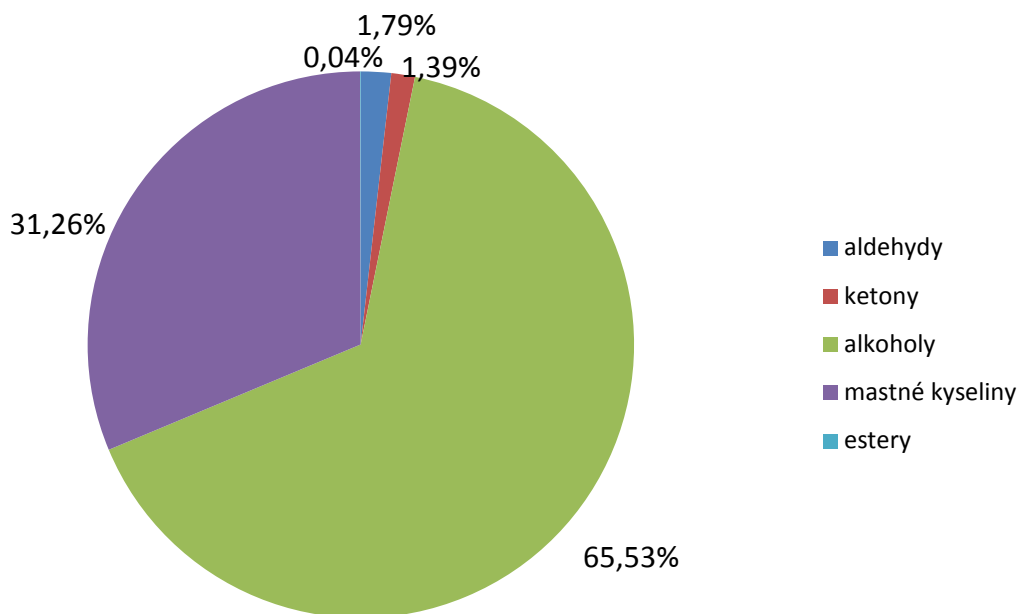
Graf č. 19: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin AL v CA s palmovým tukem

CA-mléčný tuk



Graf č. 20: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin AL v CA s mléčným tukem

CA-slunečnicový olej



Graf č. 21: Procentuální zastoupení jednotlivých skupin AL v CA se slunečnicovým olejem.

5 ZÁVĚR

Cílem teoretické části této práce bylo charakterizovat, co to jsou sýrové analogy, popsat jejich složení, vlastnosti a technologii výroby. V praktické části bylo proměřeno 5 vzorků sýrových analogů a byly identifikovány a kvantifikovány v nich přítomné aromaticky aktivní látky. Jednotlivé aromatické profily byly na závěr srovnány mezi sebou.

V teoretické části je vysvětleno, co to jsou sýrové analogy a proč jsou na trh zaváděny. Analogy jsou vlastně imitace, náhražky běžných sýrů. Jejich hlavní rozdíl spočívá ve složení. U sýrových analogů jsou mléčný tuk, mléčná bílkovina nebo obě složky částečně nebo zcela nahrazeny nemléčnou složkou, nejčastěji rostlinného původu. Toto nahrazení mléčného tuku rostlinnými způsobuje texturní defekty, nedostatečné aroma a chuť výrobku, ale na druhou stranu přispívá k lepšímu poměru nasycených a nenasycených tuků, a ke snížení obsahu cholesterolu.

Jako náhražka mléčného tuku se používá většinou sójový, arašídový, palmový, bavlníkový, kokosový a kukuřičný olej. K nahrazení mléčných bílkovin se používají rostlinné proteiny jako sójový, bavlníkový, protein z burského oříšku nebo hrachu. Jsou používány jako celkové nebo částečné náhrady kaseinu, avšak způsobují typické vady, jako jsou snížená elasticita, přilnavost, zhoršená tekutost a roztažnost. Stabilizátory a emulsifikační soli jsou přidávány k vytvoření fyzikálně-chemické stability a hydrokoloidy působí na strukturní a funkční vlastnosti. Ke zdůraznění chuti se přidávají různé příchutě a jejich zvýrazňovače.

Ve finální podobě člověk jen těžko rozezná analog od skutečného sýru.

Hlavní důvod zavádění sýrových analogů je, že náklady na výrobu i suroviny jsou mnohem nižší a díky tomu, že obsahují méně tuku, nasycených tuků, cholesterolu a kalorií jsou stále více u spotřebitelů oblíbené.

Velkým problémem sýrových analogů je jejich značení. Často se od klasického sýru moc neliší, a pokud spotřebitel není o této problematice informován, často si neuvědomuje, že kupuje analog.

Hlavním cílem práce byla identifikace a kvantifikace aromaticky aktivních látek, které hrají významnou roli v sýrových analogích, protože vytváří výslednou chuť, kterou vnímáme prostřednictvím smyslových orgánů.

Byla použita metoda mikroextrakce pevnou fází a těkavé sloučeniny byly analyzovány pomocí plynové chromatografie. AL byly identifikovány a kvantifikovány pomocí retenčních časů a koncentrací standardů.

Jako vzorky sloužily analogy tavených sýrů, které se lišily typem obsaženého tuku. Byly použity CA s máslem, kokosovým tukem, palmovým tukem, mléčným tukem a slunečnicovým olejem. Všechny vzorky byly vyrobeny na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně a vznikly smícháním a tavením 30% eidamské cihly, tuku, tavicí soli a pitné vody.

Ve vzorcích sýrů bylo metodou SPME/GC identifikováno celkem 27 sloučenin.

Největší množství AL obsahoval CA s kokosovým tukem, celkem 647,289 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Z celkových 16 látek bylo identifikováno 7 alkoholů, 4 ketony, 3 aldehydy, 1 mastná kyselina a 1 ester.

Druhou největší koncentraci aromaticky aktivních látek obsahoval sýrový analog, který obsahoval máslo, celkem 575,987 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. V tomto analogu bylo identifikováno 17 AL, z toho 7 alkoholů, 5 ketonů, 3 aldehydy a 2 mastné kyseliny.

Analog, který obsahoval mléčný tuk, měl celkovou koncentraci aromaticky aktivních látek 568,388 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Bylo u něj identifikováno celkem 22 aromaticky aktivních látek, a to 8 alkoholů, 4 ketony, 7 aldehydů, 1 mastnou kyselinu a 2 estery

Nejvyšší počet, celkem 24 AL obsahoval analog s obsahem slunečnicového oleje. Celková koncentrace látek ale nebyla nejvyšší, ale byla až na čtvrtém místě 525,183 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Bylo zde zjištěno 7 alkoholů, 6 ketonů, 7 alkoholů, 2 mastné kyseliny a 2 estery.

Nejnižší celkovou koncentraci aromaticky aktivních látek obsahoval analog s obsahem palmového tuku. Ta činila 472,015 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Bylo nalezeno 5 alkoholů, 5 ketonů, 5 aldehydů, 1 mastná kyselina a 2 estery, což dává dohromady 18 látek.

Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u etanolu, který byl identifikován u všech 5 sýrových analogů. S vysokou koncentrací byl dále nalezen ethanal a kyselina ethanová. Tyto látky byly také identifikovány u všech vzorků. Butan-2-ol byl nalezen u CA s máslem a kokosovým tukem, a v menší koncentraci i v CA s mléčným tukem. Propan-2-on byl nalezen u všech vzorků kromě CA s kokosovým tukem.

Sloučeniny, které byly identifikovány u všech sýrových analogů, ale v nižší koncentraci, jsou butan-2-on, butanol, heptanal, 3-methylbutan-1-ol, 3-hydroxybutan-2-on, n-oktanol, undekan-2-on, fenylethanal a dekan-1-ol.

Některé látky se vyskytly jen u jednoho typu sýrového analogu a to např. propanal, heptan-2-ona octan butylnatý jen u CA se slunečnicovým olejem, pentanal u CA s mléčným tukem.

Sýrové analogy se v současnosti objevují na trhu (a nejen českém) stále častěji. Velká pozornost je věnována sledování a popisu jejich textury, mnohem méně je známo o jejich flavouru. Tato práce srovnává tzv. aroma profily vybraných typů sýrových analogů a lze ji považovat za pilotní část, na kterou budou navazovat další diplomové a bakalářské práce, zaměřené na vznik, vývoj a komplexní charakterizaci flavouru sýrových analogů.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. ABRMANOVÁ A, *Analogy (náhražky) některých potravin – sýry, cukrovinky, jejich označování a nabízení v distribuční síti, informovanost prodejců i spotřebitelů (včetně provozovatelů stravovacích služeb)*. České Budějovice, 2009. 62 s. Bakalářská práce na Sociální fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Vedoucí bakalářské práce Mudr. Dagmar Smitková
2. ALPSKÉ SÝRY, [online], [citováno 18. 2. 2011], dostupné z: <http://www.alpskesyry.cz/informace.php?infomenu=5&id=21>
3. POVLTAVSKÉ MLÉKÁRNY, [online], [citováno 14. 2. 2011], dostupné z: <http://www.povltavskemlekarny.cz/historie.html>
4. DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J.: *Základy potravinářských technologií*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 1996. 512s. ISBN 80-967064-1-1
5. Stránky značky Madeta [online]. Poslední úprava 2010, [citováno 19. 1. 2011]. Dostupné z: http://www.madeta.cz/assets/files/Skola_syru/3.rozdeleni_syru.pdf
6. BRABCOVÁ, L. *Analogy tavených sýrů*. Brno, 2008. 35 s. Bakalářská práce na Fakultě chemické, Vysokého učení technického v Brně, Ústav potravinářské chemie a biotechnologií. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
7. GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. 135 s. ISBN 80-7157-342-6.
8. LUKÁŠOVÁ, J.: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. 180 s. ISBN 80-7305-415-9.
9. KRATOCHVÍL L.: *Mlékařství*. Státní pedagogické nakladatelství Praha 1972
10. BACHMANN, H-P.: Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal*. July 2001, Vol. 11, No. 4-7, pp. 505-515. ISSN 0958-6946
11. TUREK B.: *Mléko ve výživě člověka* [online]. Poslední úprava 1. 2. 2011, [citováno 6. 2. 2011]. Dostupné z: <http://www.laktea.cz/node/20>
12. GUINEE, T. P., CARIC, M., KALÁB, M.: Pasteurized Processed cheese and Substitute/Imitation cheese products. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. 2004, Vol. 2, No. 3, pp. 349-394. ISBN 0-1226-3653-8.
13. SÝRY-DRUHY SÝRŮ [online], Poslední úprava 14. 2. 2011, [citováno 14. 2. 2011], dostupné z: <http://www.rodina-finance.cz/zdrava-vyziva.212/syry-druhy-syru.20220.html>
14. UHRÍN, V., LAUKOVÁ, A., JANČOVÁ, A., PLINTOVIČ, V.: *Mlieko a mliečná žlaza*. Fakulta přírodních věd Univerzita Konštantína filozofa v nitre, 2002, 172 s. ISBN 80-8050-511-X
15. SKLENÁŘOVÁ K, *Složení mastných kyselin analogů tavených sýrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 91 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. František Buňka, Ph.D
16. LUKÁŠOVÁ, J.: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. Vydání Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. 180 s. ISBN 80-7305-415-9.
17. GAJDŮŠEK, S., KLÍČNÍK, V.: *Mlékařství*. 2., nezměněné vyd. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1993. 129 s. ISBN 80-7157-073-7

18. ARNDT, T.: [online], Poslední úprava 31. 12. 2011, [citováno 31. 12. 2010], dostupné z: <http://www.celostnimedicina.cz/kasein.htm#ixzz1C30WSRmE>
19. Kyslinka, J.: *Polysacharidy*: [online], [citováno 22. 2. 2011], dostupné z: <http://www.biotox.cz/naturstoff/chemie/ch-sach-poly.html>
20. VODRÁŽKA, Z.: *Biochemie* 2. 1. vyd. Praha: Academia, 1993. 136 s. ISBN 80-200-0441-6.
21. NORONHA, N., DUGGAN, E., ZIEGLER, G. R., O'RIORDAN, E. D., O'SULLIVAN, M.: Inclusion of Starch in Imitation Cheese; its Influence on Water Cheese Functionality. *Food Hydrocolloids*. Vol. 22, Issue 8, December 2008, s. 1612-1621, ISSN 0268-005X.
22. MOUNSEY, J. S.; O'RIORDAN, E. D. Characteristics of imitation cheese containing native or modified rice starches. *Food Hydrocolloids*. 2008, 6, s. 1160-1169, ISSN 0268-005X
23. FOX, F., McSWEENEY, P. L. H, COGAN, T. M., GUINEE, T. P.: Pasterized Processed cheese and Substitute/Imitation cheese products. *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. 2004, Vol. 2, No3, pp. 349- 394. ISBN 0-1226-3653-8
24. KVASNIČKOVÁ, A.: *Minerální látky a stopové prvky, esenciální minerální prvky ve výživě*, ÚZPI Praha, 1998
25. SCHÄR, W., BOSSET, J. O.: Chemical and Physico-chemical Changes in Processed Cheese and Ready-made Fondue During Storage. A Review. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 2002, Vol. 35, pp. 15-20. ISSN 0023-6438.
26. ROGINSKI, H., FUQUAY, J. W., FOX, P. F.: *Encyclopedia of Dairy Science*. London: Academic Press, 2002. pp. 428-434. ISBN 0-12-227235-8
27. BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L., KRÁČMAR, S.: *Základní principy výroby tavených sýrů*, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009, ročník II., s.70 ISBN 978-80-7375-336-8
28. SUKOVÁ, I. *Informační centrum bezpečnosti potravin- analogy a jejich označování*[online]. Poslední úpravy 2002 [cit. 2009-11-27]. Dostupný z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/Index.aspx?ch=549&typ=1&val=94044&ids=347>
29. Stránky ministerstva zdravotnictví,[online]. Poslední úprava 19. 2. 2008, [citováno 15. 4. 2011]. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/dokumenty/vysledky-statniho-zdravotniho-dozoru-pouzivani-nahrazek-syru_2535_1092_5.html
30. Sblog, články-sýr,[online]. Poslední úprava 21. 1. 2010, [citováno 16. 4. 2011]. Dostupné z: <http://myyrrro.sblog.cz/syr/>
31. VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin*. 2. vyd. OSSIS, 2002. 320 s. ISBN 80-86659-01-1
32. DELGADO, F. J., CRESPO, J. G., CAVA, R, PARRA, J. G., RAMIREZ, R: Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile a Spanish soft cheese P.D.O.Torta del Casar during ripening. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 118, No. 1, pp. 182-189. ISSN 0308-8146
33. CURIONI, P. M. G., BOSSET, J. O.: Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *Food chemistry*, 2010. Vol. 118. No 1, pp 182-189, ISBN 0308-8146

34. DIRINCK, P., De WINNE, A.: Flavour characterisation and classification of cheeses by gas chromatographic-mass spectrometric profiling. *Journal of Chromatography A*. 1999. Vol. 847, No. 1-2, pp. 203-208. ISSN 0021-9673
35. JUNTIG, L., PEN, CH., SUZUKI, O.: Solid-phase microextraction (SPME) of drugs and poisons from biological samples. *Forensic Science International*, Volume 97, Issues 2-3, 9 November 1998, Pages 93-100
36. VÍTOVÁ, E.: *Hodnocení tvorby těkavých sensoricky účinných látek mikrobiálních metabolitů a jejich charakterizace*. Disertační práce. Brno: VUT, Fakulta chemická, 2003, 110 s.
37. KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2
38. DELGADO, F. J., CRESPO, J. G., CAVA, R., RAMÍREZ, R.: Changes in the volatile profile of a raw goat milk cheese treated by hydrostatic high pressure at different stages of maturation. *International Dairy Journal*, Volume 21, Issue 3, March 2011, Pages 135-141
39. PINHO, O., FERREIRA, I. M. P. L. V. O., FERREIRA, M.: Discriminate analysis of the volatile fraction from „Terrincho“ ewe cheese: correlation with flavon characteristics. *International Dairy Journal*, Volume 14, Issue 5, May 2004, Pages 455-464

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AL – aromatické látky

CA – sýrový analog

CARTM/PDMS – CarboxenTM/polydimethylsiloxan

ES – emulsifikační soli

FID – plamenový ionizační detektor

GC – plynová chromatografie

HS-SPME – headspace SPME

MS – hmotnostní spektrometrie

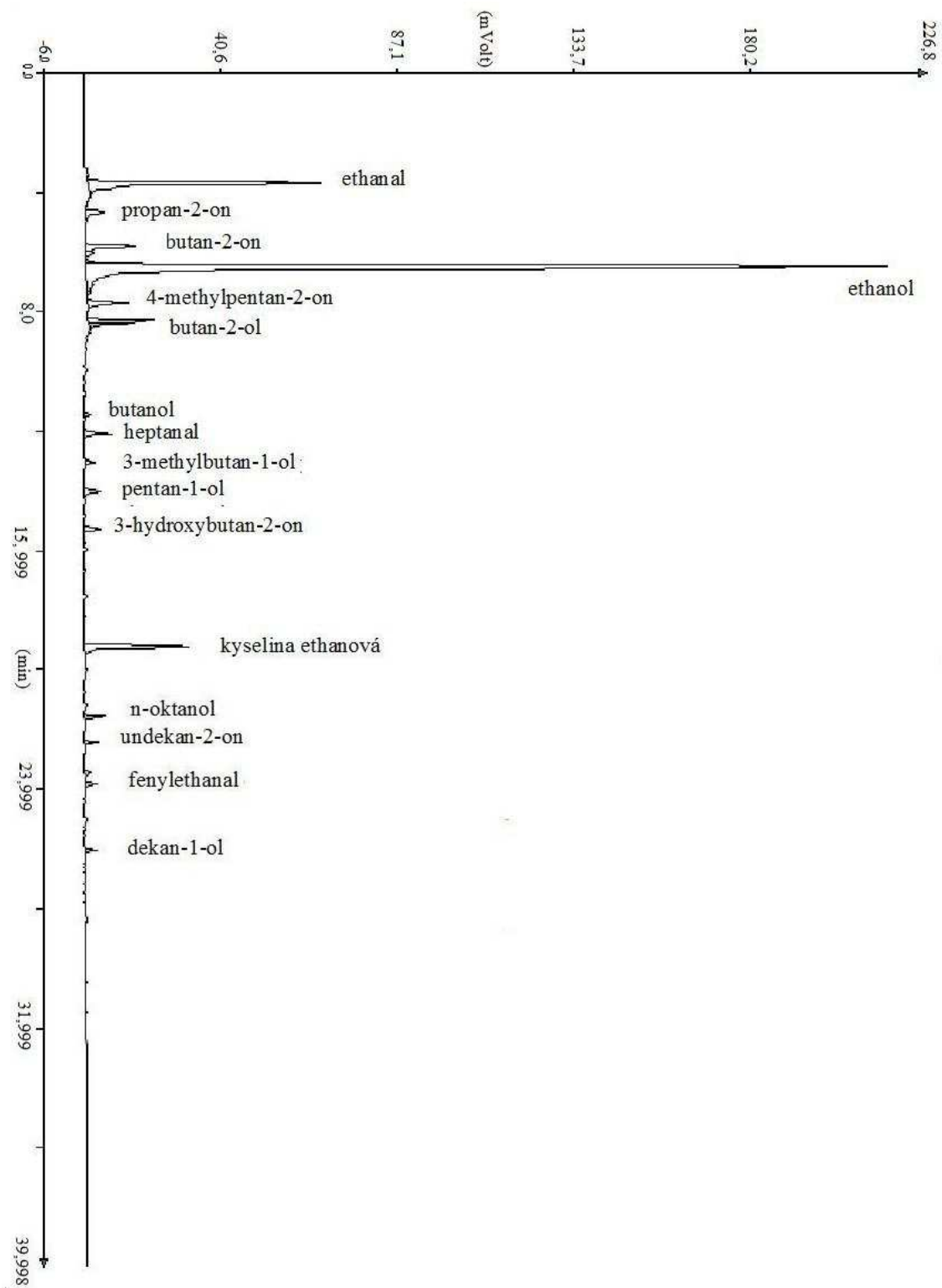
SPME – mikroextrakce tuhou fází

VVTPH – obsah vody v tukuprosté hmotě sýra

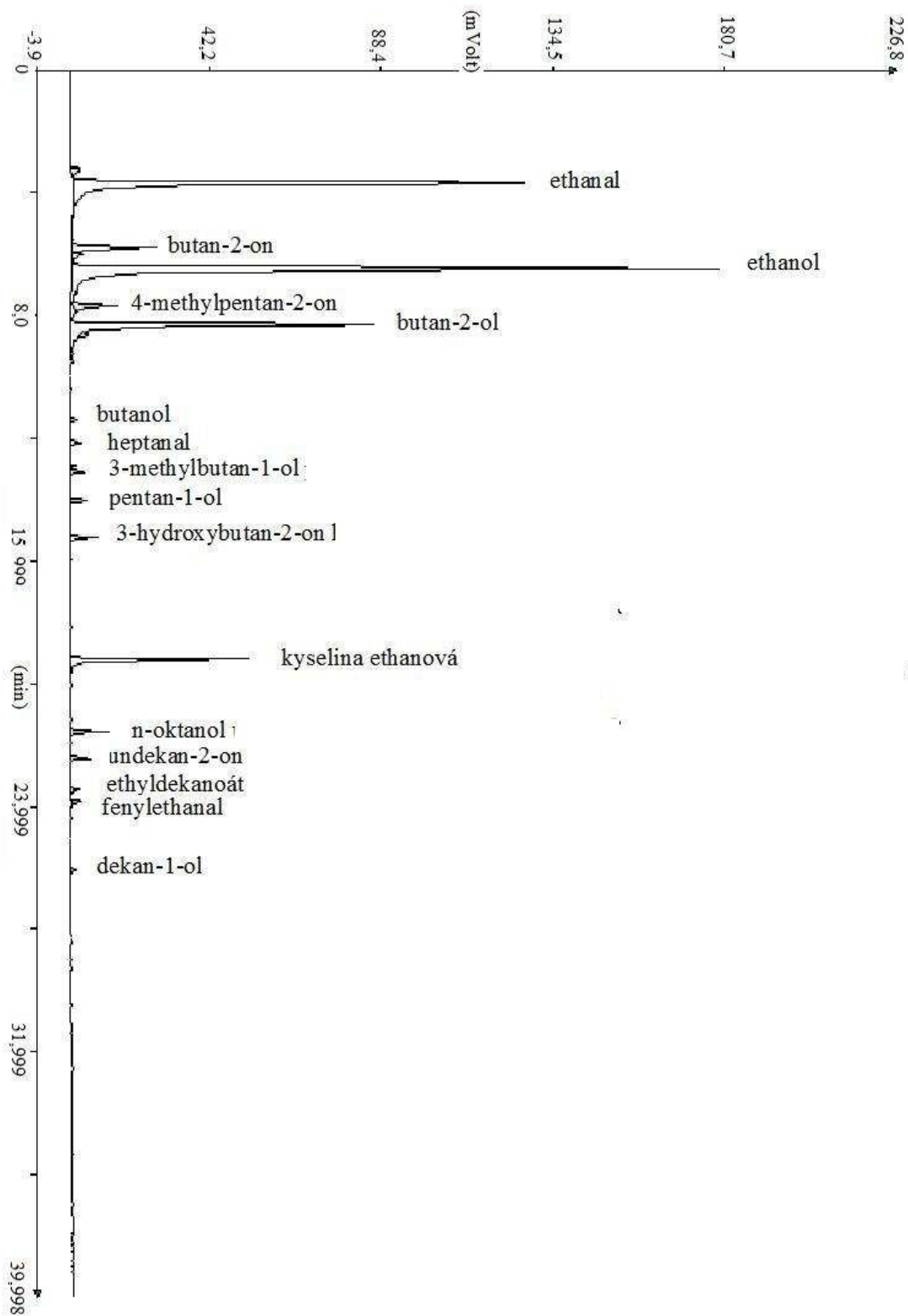
8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1 Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z másla
- Příloha 2 Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z kokosového tuku
- Příloha 3 Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z palmového tuku
- Příloha 4 Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z mléčného tuku
- Příloha 5 Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený ze slunečnicového oleje
- Příloha 6 Vzorčky tavených sýrových analogů

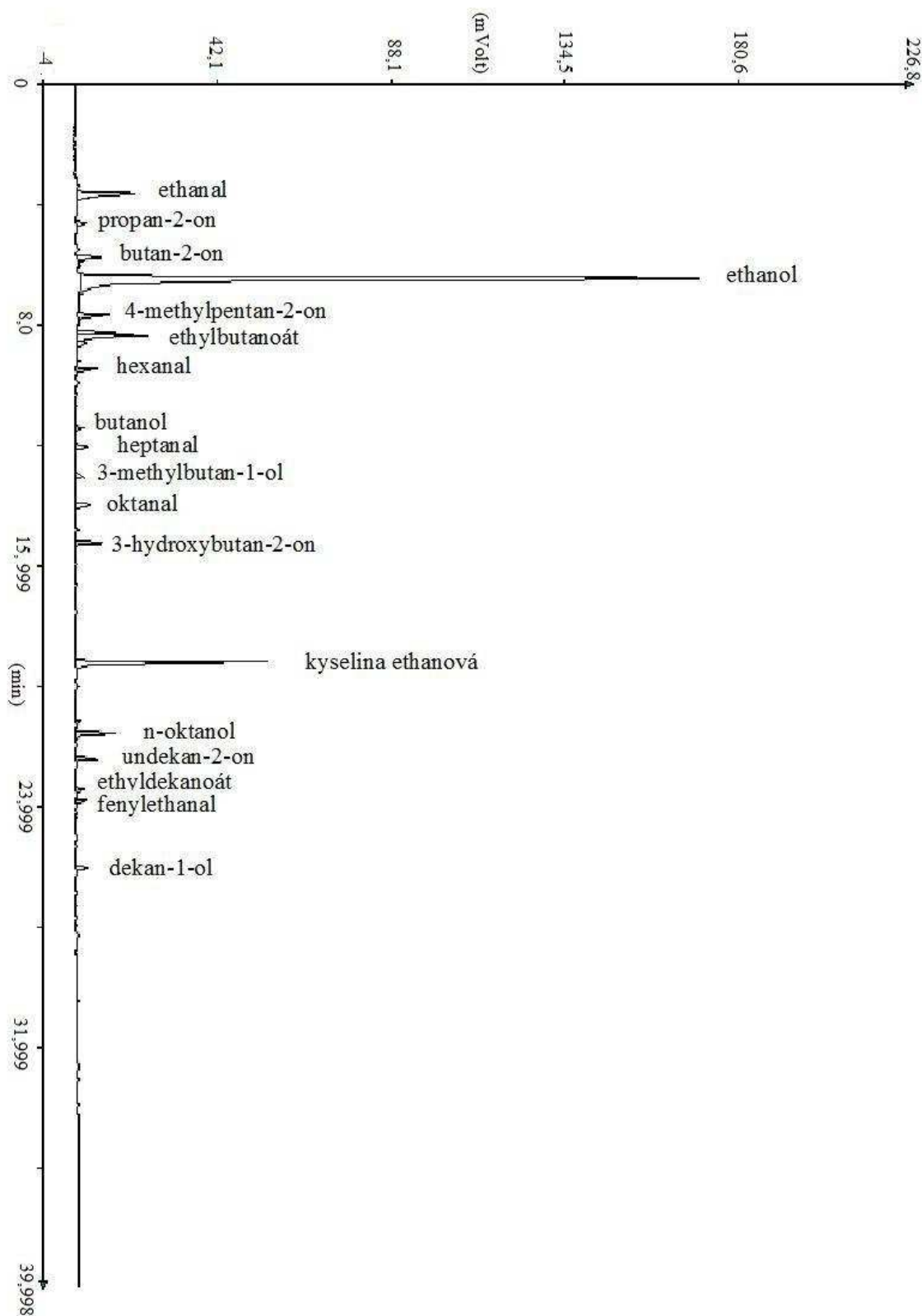
Příloha 1: Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z másla



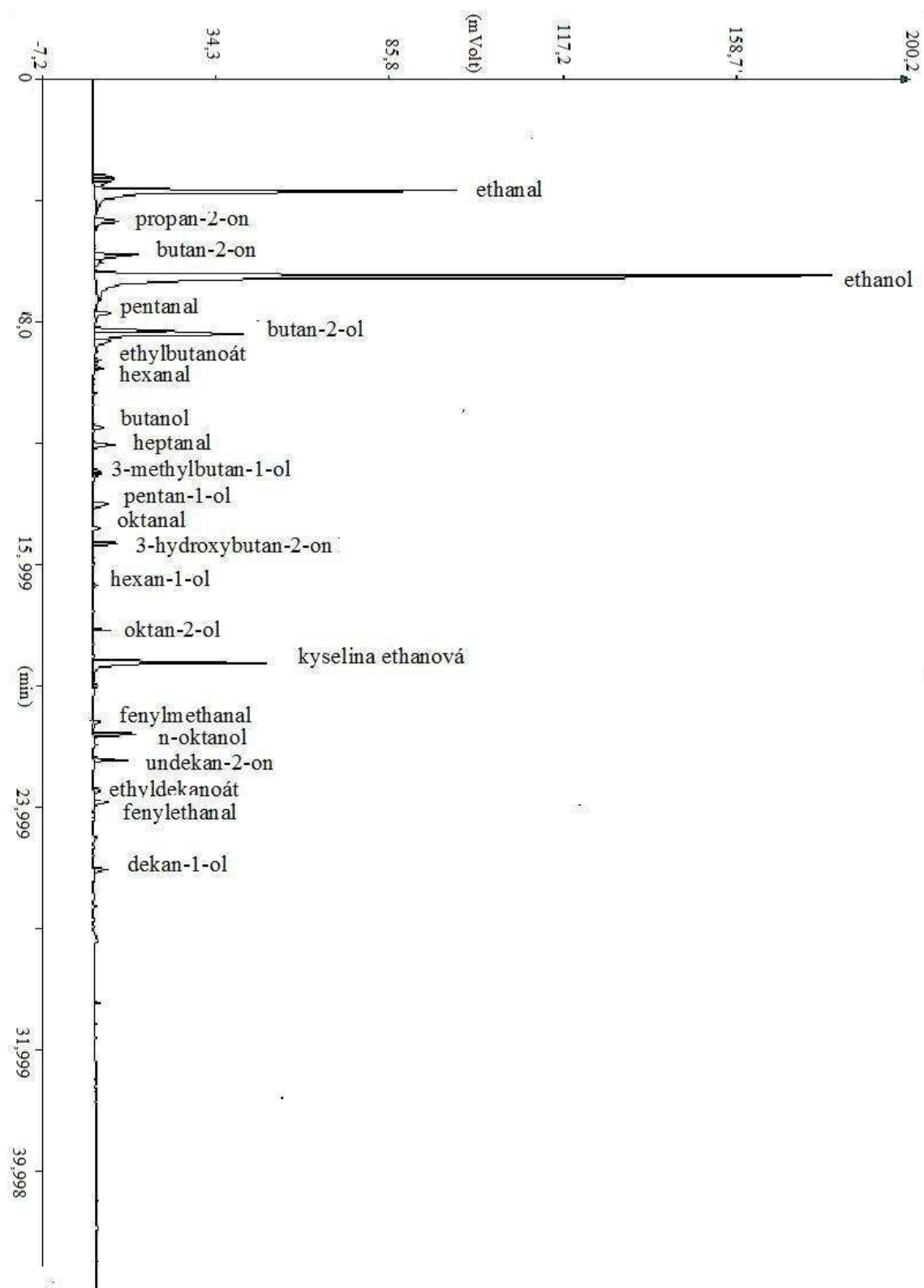
Příloha 2: Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z kokosového tuku



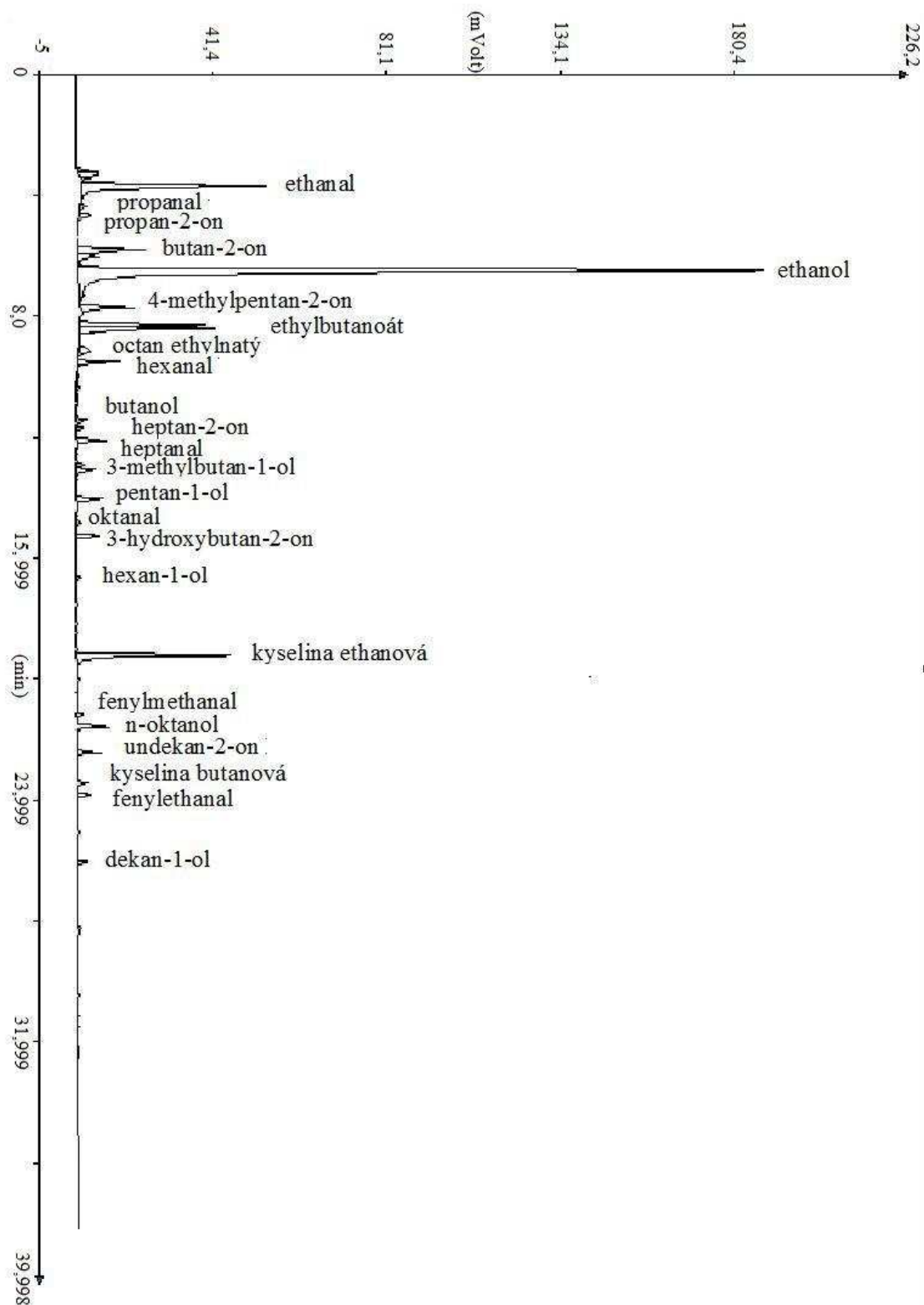
Příloha 3: Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z palmového tuku



Příloha 4: Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený z mléčného tuku



Příloha 5: Ukázka chromatogramu AL, tavený sýrový analog vyrobený ze slunečnicového oleje



Příloha 6: Vzorok tavených sýrových analogů



Vzorok tavených sýrových analogů



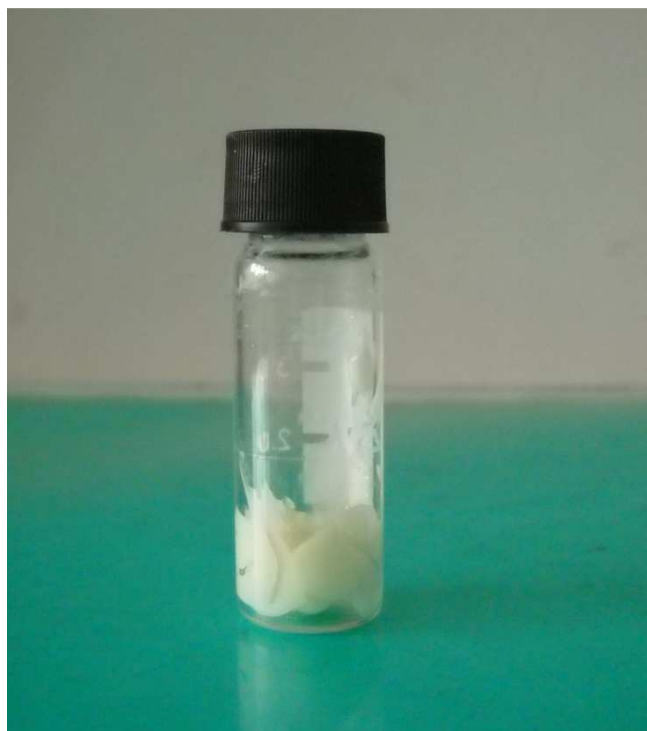
Vzorok tavených sýrových analogů



Vzorky tavených sýrových analogů



Porovnání CA s máslem (vpravo) a CA s kokosovým tukem (vlevo)- CA s máslem má barvu spíše do žluta, kdežto CA s kokosovým tukem je spíše bílý



Vialka se vzorkem sýrového analogu



SPME