

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

VLIV TECHNOLOGIE VÝROBY NA CHUTNOST SÝRŮ EIDAMSKÉHO
TYPU

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. ANDREA URBANOVÁ

BRNO 2009



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

VLIV TECHNOLOGIE VÝROBY NA CHUTNOST SÝRŮ EIDAMSKÉHO TYPU

INFLUENCE OF PRODUCING TECHNOLOGY ON FLAVOUR OF EDAM CHEESE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

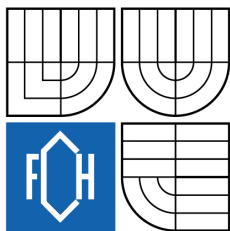
Bc. ANDREA URBANOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2009



Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0264/2008** Akademický rok: **2008/2009**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Bc. Andrea Urbanová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin (N2901)
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)
Vedoucí diplomové práce: **Ing. Eva Vítová, Ph.D.**
Konzultanti diplomové práce:

Název diplomové práce:

Vliv technologie výroby na chutnost sýrů eidamského typu

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled o:
 - technologii výroby sýrů eidamského typu
 - vzniku a vývoji aroma a chuti v průběhu výroby
2. Pomocí metody SPME-GC identifikujte a kvantifikujte aromatické látky ve vzorcích sýrů
3. Pomocí vybraných sensorických metod zhodnoťte chutnost sýrů
4. Sledujte změny obsahu aromatických látek a změny chutnosti během výroby sýrů

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2009

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

Bc. Andrea Urbanová
Student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.10.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá problematikou chutnosti (flavouru) sýrů eidamského typu, tj. přírodní tvrdé sýry s nízkodohřívanou syřeninou. Vzorky poskytl mlékárna MILTRA B s. r. o. Městečko Trnávka.

Na flavouru sýrů se podílí celá řada aromaticky aktivních látek. Z chemického hlediska se jedná o těkavé sloučeniny zahrnující alkoholy, aldehydy, ketony, nižší mastné kyseliny, estery, laktony, terpeny a další. Jejich obsah se v průběhu zrání vlivem proteolytických a lipolytických změn zvyšuje a vytváří tak aroma charakteristické pro daný typ sýra.

Na vybraném eidamském sýru (30 % tuku v sušině) byl sledován s pomocí metody HS-SPME/GC vývoj těchto komponent. K zachycení aromatických látek bylo použito vlákno CARTM/PDMS 85 µm. Vzorky byly odebírány od mléka na výrobu sýru až po technologicky zralý sýr. Celkem bylo identifikováno 30 sloučenin, jejich obsah se v průběhu zrání zvyšoval. K nárůstu došlo po lisování a zejména pak v druhé polovině doby zrání.

Pro porovnání byly vzorky eidamského sýru od fáze zrání také hodnoceny sensoricky. K posouzení organoleptických vlastností (vzhled, textura, chuť, aroma) byl použit ordinální stupnicový a profilový test. Sensorická kvalita se během zrání zlepšovala, výrazné změny však nebyly zachyceny vzhledem k jemné chuti a vůni eidamského sýru dané celkově nízkým obsahem aromaticky aktivních látek.

ABSTRACT

This work deals with the problem of flavour of Edam cheeses, i.e. natural hard cheese with low heat curd. The samples came from dairy MILTRA B s. r. o. Městečko Trnávka.

A number of aroma active substances contribute to flavour of cheese. From the chemical point of view they are volatile compounds, including alcohols, aldehydes, ketones, fatty acids, esters, lactones, terpenes etc. Their content increases during ripening by influence of proteolytic and lipolytic changes and creates aroma, which is characteristic for type of cheese.

The development of these components was monitored in chosen Edam cheese (30 % fat in dry matter) by headspace-SPME/GC method. The fiber CARTM/PDMS 85 µm was used for extraction of aroma compounds. The samples were taken from cheesemilk up to technologically ripe cheese. In total 30 aromatic compounds were identified, their content increased during ripening. The first increase was observed after pressing and then especially in second part of ripening. For comparison Edam cheese samples were also sensorially evaluated during ripening. The ordinal scale and profile tests were used for evaluation of organoleptic properties (appearance, texture, taste, aroma). The sensory quality was improved during ripening, but significant changes were not observed with regard to fine taste and smell of Edam cheese given by globally low content of aroma active compounds.

KLÍČOVÁ SLOVA

Eidamské sýry, SPME, GC, aroma, chuť

KEYWORDS

Edam cheese, SPME, GC, aroma, taste

URBANOVÁ, A. *Vliv technologie výroby na chutnost sýrů eidamského typu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 96 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Ing. Evě Vítové, Ph.D. za cenné rady a připomínky a za vedení diplomové a své rodině za podporu během psaní této práce.

OBSAH

1. ÚVOD	- 7 -
2. TEORETICKÁ ČÁST	- 8 -
2.1. Charakteristika sýrů eidamského typu	- 8 -
2.1.1. Složení a nutriční hodnota sýrů	- 9 -
2.1.1.1. Mléčné bílkoviny	- 9 -
2.1.1.2. Mléčný cukr	- 10 -
2.1.1.3. Mléčný tuk	- 11 -
2.1.1.4. Minerální látky	- 11 -
2.1.1.5. Vitamíny	- 11 -
2.1.1.6. Aromaticky aktivní látky	- 12 -
2.2. Technologie výroby sýrů eidamského typu	- 15 -
2.2.1. Mléko na výrobu sýrů	- 15 -
2.2.2. Úprava mléka před sýřením	- 15 -
2.2.2.1. Pasterace	- 15 -
2.2.2.2. Homogenizace	- 17 -
2.2.2.3. Aplikace přídatných a pomocných látek	- 18 -
2.2.3. Sýření	- 19 -
2.2.3.1. Syřidla, syřidlové preparáty	- 20 -
2.2.4. Zpracování sýřeniny, krájení a lisování	- 21 -
2.2.5. Solení sýrů	- 23 -
2.2.5.1. Sůl pro výrobu sýrů	- 23 -
2.2.6. Zrání sýrů	- 24 -
2.2.7. Uskladnění zralých sýrů	- 25 -
2.3. Vznik a vývoj aroma a chuti v průběhu výroby	- 26 -
2.3.1. Cukry	- 26 -
2.3.2. Bílkoviny	- 28 -
2.3.3. Tuky	- 30 -
2.3.4. Ostatní sloučeniny	- 33 -
2.4. Metoda stanovení aromatických látek	- 34 -
2.4.1. SPME	- 34 -
2.4.2. Plynová chromatografie	- 35 -
2.5. Senzorická analýza	- 37 -
2.5.1. Způsoby sensorického hodnocení	- 38 -
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 40 -
3.1. Chemická analýza	- 40 -
3.1.1. Přístroje	- 40 -
3.1.2. Pracovní pomůcky	- 40 -
3.1.3. Plyny	- 40 -
3.1.4. Použité chemikálie	- 41 -
3.1.5. Podmínky SPME/GC analýzy	- 42 -
3.1.6. Vzorky	- 43 -
3.1.7. Analýza aromatických látek ve vzorcích	- 43 -
3.1.8. Vyhodnocení výsledků SPME/GC analýzy	- 45 -
3.2. Senzorická analýza	- 46 -

3.2.1.	Pracovní pomůcky a zařízení.....	- 46 -
3.2.2.	Vzorky	- 46 -
3.2.3.	Senzorické hodnocení.....	- 46 -
3.2.4.	Statistické vyhodnocení výsledků senzorické analýzy.....	- 47 -
4.	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	- 48 -
4.1.	Stanovení aromatických látek pomocí SPME/GC	- 48 -
4.1.1.	Výsledky SPME/GC analýzy	- 49 -
4.2.	Senzorické hodnocení eidamského sýru	- 66 -
4.2.1.	Ordinální stupnicový test.....	- 66 -
4.2.2.	Profilový test.....	- 68 -
4.2.2.1.	Profilové hodnocení chuti	- 68 -
4.2.2.2.	Profilové hodnocení vůně	- 68 -
4.2.2.3.	Metoda slovního popisu.....	- 71 -
5.	ZÁVĚR.....	- 74 -
6.	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	- 75 -
7.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	- 79 -
8.	PŘÍLOHY.....	- 80 -

1. ÚVOD

Sýry patří již celá staletí do našeho jídelníčku. První doklady o jejich výrobě pocházejí už z doby 5 000 - 6 000 let před naším letopočtem. Podávají se jako hlavní jídla, dezerty i chuťovky. Vyrábějí se v celé řadě variací, které se od sebe liší jak chutí, tak konzistencí a složením. Na českém trhu patří mezi nejoblíbenější a nejvíce konzumovaný druh eidamský sýr. Prodává se jak v kusové, tak v porcované, plátkové, strouhané nebo ochucené formě.

Sýry jsou potravinou živočišného původu. Patří z k nejhodnotnějším potravinám z pohledu svého složení. Bílkoviny obsažené v sýrech jsou plnohodnotné, neboť obsahují všechny pro život nepostradatelné aminokyseliny – označované jako esenciální. Mléčné proteiny se vyznačují suplementárním účinkem, což je schopnost vyrovnávat deficit esenciálních aminokyselin. Mléčný tuk obsahuje z výživového hlediska důležité polynenasycené mastné kyseliny (linolová, linoleová a arachidonová). Doprovodnými látkami lipidů jsou steroly. Nejvýznamnějším zástupcem je cholesterol, který se podílí na tvorbě biomembrán buněk. Kromě vitamínů obsahují sýry i značné množství minerálních látek, zejména vápníku. Mléčný cukr – laktosa – je v sýrech téměř rozložen, proto je sýr také vhodnou potravinou pro jedince s onemocněním zvaným laktosová intolerance.

Cílem této diplomové práce je sledovat vývoj chutnosti vybraného sýru eidamského typu. Práce podrobně popisuje postup výroby s důrazem na proces zrání, při němž v důsledku řady biochemických pochodů dochází ke vzniku různých aromaticky aktivních látek, ovlivňujících celkovou chutnost těchto sýrů. Přítomnost a vývoj aromatických látek je sledována pomocí vybrané analytické metody od počátku výroby až po technologickou zralost sýru. Pro porovnání je eidamský sýr od fáze zrání hodnocen také senzorycky. Posuzovány jsou organoleptické vlastnosti jako vzhled, textura, chuť a aroma.

2. TEORETICKÁ ČÁST

Sýry jsou trvanlivé mléčné výrobky bohaté na bílkoviny a tuk. Převážně se vyrábí z kravského, ovčího a koziho mléka. Získávají se zpracováním sraženiny (sýřeniny) mléka, jehož cílem je oddělení přebytku syrovátky a získání dostatečně odvodněné hmoty, která se po formování, případně lisování, solení a obvykle několikaměsíčním zrání stává produktem s charakteristickou vůní a chutí, typickou konzistencí a vysokou výživnou hodnotou [1].

Výroba sýrů patří k nejnáročnějším mlékárenským technologiím. Má návaznost na krátkodobou trvanlivost mléka a sezónní přebytky mléka v letním a podzimním období. Umožňuje vytvářet bílkovinné rezervy pro zimní a jarní období, kdy je produkce mléka nižší. Během výroby podléhají všechny složky mléka řadě fyzikálně-chemických a biochemických změn [2, 3].

Podle mezinárodní normy FAO/WHO¹ je sýr definován jako čerstvý nebo vyzrálý výrobek získaný odpovídajícím odvodněním sraženiny mléka, smetany, odstředěného nebo částečně odstředěného mléka anebo směsi některých, případně všech těchto surovin [1, 2].

2.1. Charakteristika sýrů eidamského typu

Eidamské sýry patří v rámci skupiny přírodních sýrů podle obsahu sušiny mezi sýry tvrdé (obsah vody do 45 %) a podle hlavních technologických znaků do skupiny sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou. Vyznačují se přihříváním a dosoušením sýrového zrna při nízkých teplotách (teplota zpracování nepřekročí hodnotu 40 °C) za současného přidavku teplé prací vody (20 – 40 % z množství odpuštěné syrovátky podle obsahu tuku v sušině sýra). Dalším znakem je tvorba ok v sýrovém těstě [2, 4].

Eidamské sýry mají historický původ v Holandsku, kde se začaly vyrábět již v 11. století. První sýr eidamského typu, gouda, získal svůj název podle města Gouda v jižním Holandsku. Mladé sýry mají tuhé, světle žluté těsto, poseté malými nepravidelnými nebo několika většími sýrovými oky. Chuť je velmi jemná, mírně fondánová či oříšková. Během zrání kůra sílí, těsto tmavne a zejména na okrajích tvrdne. Chuť se mění v mnohem výraznější a plnější. Sýry, které zrají déle než dva roky, chutnají skoro jako sladový bonbon [5].

Eidam, jehož název je zkomoleninou holandského Edammer kaas a pochází z města Edam v severním Holandsku je nasládlý polotuhý plnotučný sýr vyráběný z pasterovaného kravského mléka. Původní tvar je koule. Hranolovité či salámové sýry jsou již místní tvarové variace. Má jemnou, nepřiliš slanou chuť. Ve srovnání s jinými sýry je téměř bez zápachu. Barva eidamu je nažloutlá, přílišná bledost ukazuje na nedostatečnou zralost. Doba zrání eidamu se pohybuje od čtyř týdnů až po deset měsíců. Delší dobou zrání lze docílit vyšší trvanlivosti. Obsah tuku v sušině bývá 40 % nebo 45 %. Eidam s nižším obsahem tuku (20 % či 30 %) je považován za české specifikum. Obsah sušiny v eidamu by měl být 52 % (u 30 % obsahu tuku) či 56 % (u 45 % obsahu tuku) [4, 6].

Z Holandska se rozšířila výroba po celé Evropě, kde sýry získaly charakteristické znaky a jakostní varianty, které nakonec vedly k vlastním národním druhům sýrů eidamského typu. V tomto směru dosáhli velkého úspěchu Dánové, kteří vytvořili vlastní druhy jakostních sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou a s tvorbou ok v těstě, označované názvy ostrovů (Danbo, Elbo, Fynbo, Molbo, Tybo). Ve Finsku se nazývá gouda sýr Airisto, v Rumunsku sýr Olanda. U nás se vyrábí především eidamská cihla o váze 2,2 – 2,8 kg a gouda o váze 5 – 6 kg, dále také

¹ FAO/WHO – Světová organizace pro zemědělství a výživu / Světová zdravotnická organizace

malé množství eidamské koule o váze 2 kg, domácí varianty eidamského sýra – normální a uzený salámový sýr a eidamský blok o váze 12 kg na porcování pro tavírny [4].

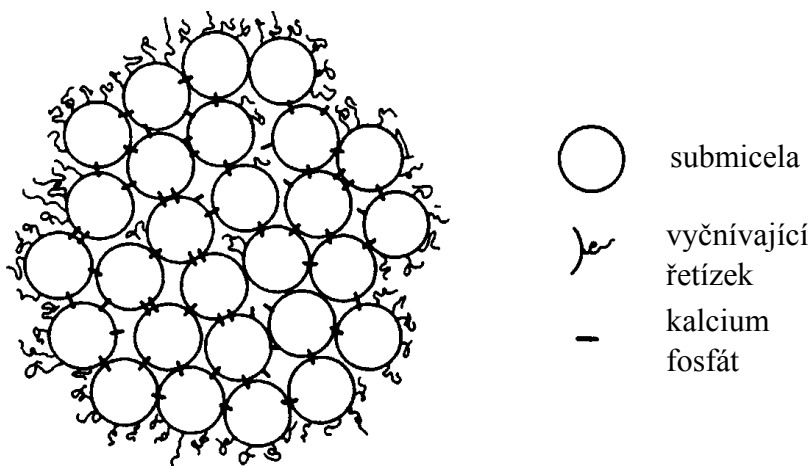
2.1.1. Složení a nutriční hodnota sýrů

Sýry jsou složenou potravinou živočišného původu. Obsahují všechny živiny a látky, které organismus potřebuje k získávání energie i ke stavbě a obnově tkání [7]. Jsou také zdrojem některých vitamínů a velkého množství minerálních látek.

2.1.1.1. Mléčné bílkoviny

Kravné mléko obsahuje průměrně 3,5 % bílkovin [8]. Bílkoviny obsažené v sýrech jsou plnohodnotné, neboť obsahují všechny pro život nepostradatelné aminokyseliny – označované jako esenciální. Zpracováním a zráním sýru se bílkoviny částečně štěpí na jednodušší peptidy, aminokyseliny a základní sloučeniny a zvyšuje se tak jejich stravitelnost [9].

Nejdůležitější bílkovinou je kasein. V mléce je ve formě koloidního roztoku, čímž způsobuje z největší části bílé zbarvení mléka. Z chemického hlediska řadíme kasein mezi fosfoproteiny, protože obsahuje fosfor ve formě kyseliny fosforečné. Je chemicky vázán na vápník a fosforečnan vápenatý, s nímž tvoří komplexní sloučeninu kalciumfosfát, která není příliš stabilní a v mléce se udržuje jen díky spolupůsobení albuminu a některých organických i anorganických solí (kyselina citronová, fosforečná). Shluky těchto částic tvoří micely nesoucí záporný náboj (obrázek 2.1) [10].



Obrázek 2.1 Model micely kaseinu [11, 12]

Kaseinový komplex se skládá ze třiceti druhů molekul – frakcí, které se liší jak aminokyselinovým složením, molekulovou hmotností, obsahem vápníku a fosforu, tak fyzikálně-chemickými vlastnostmi (tabulka 2.1). Třídění kaseinu na jednotlivé frakce se řídí rozpustností v močovině a roztoku CaCl_2 a citlivostí k vápenatým iontům [13, 14]:

- α_s -kaseiny: hlavní složka kaseinové frakce, obsahuje kaseiny α_{s1} a α_{s2} , oba ve čtyřech genetických variantách A, B, C, D.
 - α_{s1} -kaseiny: obsahují osm fosfoserinových zbytků; v přítomnosti vápenatých iontů tvoří nerozpustnou vápenatou sůl; fragmenty α_{s1} -kaseinu se považují za γ -kasein.

α_{s2} -kaseiny: mají podobnou strukturu jako α_{s1} , ale nejsou tak citlivé k vápenatým iontům.

- β -kasein: řadí se stejně jako α -kaseiny mezi fosfoproteiny, neboť obsahuje pět fosfoserinových zbytků; vykazují asociačně-disociační vlastnosti; genetické varianty A (A^1 , A^2 , A^3), B, C, D, Bz; za produkty degradace považujeme γ -kaseiny.
- χ -kasein: se vyskytuje ve dvou genetických variantách A, B; molekuly se vyskytují jako trimery a vyšší oligomery spojené vzájemně disulfidovými vazbami; v molekulách jsou přítomny sacharidy ($D\text{-Galp}^1$, $D\text{-GalpNAc}^2$, NeuAc^3); s vápenatými ionty tvoří rozpustné soli stabilizující α_{s1} -kasein a β -kasein v mléce.
- γ -kasein: varianty A^1 , A^2 , A^3 a B, kaseiny R, S a TS.

Tabulka 2.1: Vlastnosti frakcí kaseinu [12, 13, 14]

Frakce	Zastoupení jednotlivých frakcí v % (vztaženo na odstředěné mléko)	Molekulová hmotnost [Da]	Izoelektrický bod [pH]
α_s	45 – 55	23 000	4,1
β	25 – 35	23 983	5,2 – 5,8
χ	8 – 15	19 038	4,5
γ	3 – 7	30 650	5,8 – 6,0

Kaseiny tvoří v mléce asi 80 % mléčných proteinů. Zbylých 20 % doplňují syrovátkové, též sérové proteiny [15]. β -laktoglobulin, α -laktalbumin, který je podobný kaseinu, ale schází mu fosfor, a minoritní bílkoviny zahrnující frakce např. mikroglobulinu a laktoferinu obsahující vázané železo. Hrají důležitou úlohu pro stav ostatních součástí mléka, účinkem syřidla se nemění a jsou vyplavovány ze syřeniny spolu se syrovátkou [2, 6].

2.1.1.2. Mléčný cukr

Převážný podíl v sacharidovém zastoupení mléka tvoří laktosa [7]. Je to disacharid složený ze dvou hexos – D-glukosy a D-galaktosy. Molekuly jsou spojené β -1,4-glykosidickou vazbou mezi aldehydickou skupinou na C1 na galaktose a C4 na glukose. Aldehydická skupina na glukose udává laktose redukční charakter. Vyskytuje se ve dvou základních izomerických formách. α -forma vykazuje vysokou specifickou otáčivost. Jednotlivé formy na sebe mohou navzájem přecházet [8]. Liší se také rozpustností ve vodě. V krystalickém stavu se vyskytuje laktosa jako hydrát s jednou molekulou vody nebo jako bezvodý anhydrid [16].

Laktosa je charakterizovaná mírnou, čistou chutí bez příchů. V porovnání s ostatními cukry se vyznačuje mnohem menší sladivostí [6].

Laktosa je nejen důležitým zdrojem energie, ale hraje významnou roli v metabolismu vápníku. Tvorbou snadno vstřebatelného laktátu se zvyšuje jeho využití. Mléčný cukr může také napomáhat tvorbě cerebrosidů a syntéze některých vitamínů ve střevním traktu [16].

¹ D-Galp – D-galaktopyranosa

² D-GalpNAc – N-acetyl-D-galaktosamin

³ NeuAc – N-acetylneuraminová kyselina

Za pomoci chromatografických analytických metod byly nalezeny v mléce další oligosacharidy. Mnohé z nich s navázanými aminoskupinami např. lakto-N-tetrosa, N-acetylglukosoamin [17].

Laktosa je v sýrech obsažena v malém množství a ve většině případů je zcela převedena na kyselinu mléčnou a další produkty kvašení [2]. Proto je energetický a nutriční význam laktosy u sýrů téměř zanedbatelný [7].

2.1.1.3. Mléčný tuk

Tuk je hlavním zdrojem energie, je nezbytný pro vstřebávání některých vitamínů, má ochrannou funkci.

V mléce se tuk nachází ve formě malých kuliček o průměru 3 – 4 μm . Skládá se převážně z triacylglycerolů, v malém množství se zde také vyskytují fosfolipidy, steroly, volné mastné kyseliny a mono- a diacylglyceroly [6].

Je tvořen zejména kyselinou palmitovou, stearovou a olejovou. Zaujímají 85 % kyselin mléčného tuku, mohou se vyskytovat ve vazbě s glycerinovým zbytkem. Zbytek tvoří celá řada kyselin, z nichž nejdůležitější jsou kyselina myristová, laurová, kaprinová, kaprylová, kapronová, máselná, linolová a linolenová [17, 18].

Ve zralých sýrech zůstává tuk, až na malé výjimky (sýry plísňové), nerozložen. Obsah tuku také ovlivňuje konzistenci a zlepšuje chuť sýru [7]. Příčinou štěpení tuku na jednotlivé kyseliny mohou být bakteriální enzymy (fytolipasy), zoolipasy nebo oxidační změny způsobené mikroorganismy [15].

2.1.1.4. Minerální látky

Minerální látky hrají důležitou roli ve funkci těla člověka. Podílejí se na stavbě organismu, jsou součástí enzymů, udržují osmotický tlak, pH atd. V sýrech se koncentrují téměř všechny kationy mléka (tabulka 2.2) [7]. Velký význam má obsah vápníku, který řadíme mezi biogenní prvky. Jeho obsah je zcela závislý na technologickém zpracování. Čím je menší vliv mléčného kysání při zpracování sýřeniny a větší vliv syřidlového srážení, tím je vyšší obsah vápníku. S obsahem vápníku souvisí i množství fosforu v sýrech [2].

2.1.1.5. Vitamíny

Vitamíny řadíme mezi esenciální látky. Protože si je lidské tělo nedokáže syntetizovat, je třeba je přijímat potravou. Jsou významnými biokatalyzátory.

Z vitamínů rozpustných v tucích je v sýrech přítomen hlavně vitamín A, který je důležitou složkou zrakového pigmentu rhodopsinu a jeho nedostatek se projevuje poruchami růstu a šeroslepostí, a vitamín D, jehož deficit způsobuje křivici neboli rachitis a je důležitý pro metabolismus sloučenin vápníku a fosforu.

U vitamínů rozpustných ve vodě je to pak vitamín B₁, těžký nedostatek vede k onemocnění beri-beri, B₂ a B₁₂, který je důležitý pro správnou funkci nervového systému. Během zrání se obsah vitamínů skupin B mění vlivem mikroorganismů, které je spotřebovávají i syntetizují [2, 7, 11, 19].

Tabulka 2.2: Obsah minerálních látek v mléce a v sýrech eidamského typu [11, 20]

Minerální látky	Obsah v 1 l mléka	Obsah mg/100 g EIDAM	Obsah mg/100 g GOUDA
Vápník	1,2 – 1,4 g	770	740
Hořčík	0,10 – 0,13 g	39	38
Sodík	0,50 g	1,020	910
Draslík	1,45 – 1,50 g	97	91
Fosfáty	2,10 g	530	490
Chloridy	1,00 g	–	–
Sírany	0,10 g	–	–
Bikarbonáty	0,20 g	–	–
Citráty	2,00 g	–	–
Laktáty	0,02 g	–	–
Zinek	1,0 – 6,0 mg	2,2	1,8
Křemík	0,87 – 2,27 mg	–	–
Hliník	50 – 1000 µg	–	–
Bór	100 – 400 µg	–	–
Železo	300 µg	0,4	0,1
Bróm	180 – 250 µg	–	–
Jód	10 – 80 µg	–	–
Měď	15 – 170 µg	–	–
Molybden	20 – 150 µg	–	–
Mangan	12 – 25 µg	–	–
Kobalt	0,2 – 1,4 µg	–	–

2.1.1.6. Aromaticky aktivní látky

Vůně, chuť, barva a textura jsou důležité organoleptické vlastnosti potravin. Hlavní definice schválená Britským Institutem pro Standardizaci popisuje tzv. chutnost (flavour) jako kombinaci chutě a vůně, doplněnou pocitem bolesti, chladu, tepla a vnímání dotykem během konzumace [6].

Pro konzumenta mají organoleptické vlastnosti běžně větší význam než jiné důležitější atributy (např. obsah vitamínů), neboť je vnímá jako první informaci, která výrazně přispívá k vytvoření celkového dojmu o dané potravinářské surovině, potravině nebo pokrmu [14].

Chutnost sýru je výsledkem rovnováhy celé řady sloučenin vznikajících v průběhu zrání [21]. Někteří autoři zkoušeli urychlit zrání sýrů a tím vznik charakteristického aroma. Garde například použil některé netypické mléčné bakterie, aby urychlil tvorbu flavouru [22].

Obsah aromaticky aktivních látek v různých typech sýrů studovali mnozí autoři. Carunchia pomocí plynové chromatografie v kombinaci s olfaktometrií sledoval sloučeniny zodpovědné za květinové aroma [23]. Některé aromaticky aktivní látky identifikované v sýrech jsou uvedeny v tabulce 2.3.

Tabulka 2.3: Některé aromaticky aktivní látky identifikované v sýrech [6, 21, 24, 25]

AROMATICKÉ LÁTKY	CHARAKTERISTICKÉ AROMA
Aldehydy	
Acetaldehyd	Ostré, vonící po zeleni
Hexanal	Připomínající nezralé ovoce, zeleň
Oktanal	Čerstvě řezané trávy, připomínající pomeranč
Nonanal	Čerstvě řezané trávy, připomínající pomeranč
3-methylbutanal	Připomínající slad
Fenylacetaldehyd	Připomínající med
Benzaldehyd	Hořké mandle, sladké
Ketony	
Propan-2-on	Acetonové
Butan-2-on	Acetonové
Pentan-2-on	Ovocné, acetonové
Hexan-2-on	Květinové, ovocné
Heptan-2-on	Typické pro plísňový sýr, Roquefort
Oktan-2-on	Ovocné, plesnivé
Nonan-2-on	Ovocné, plesnivé
Undekan-2-on	Ovocné, plesnivé
Tridekan-2-on	Ovocné, vonící po zeleni
Oktan-3-on	Houbové, vonící po zeleni
Oktan-1,5-dien-3-on	Připomínající vůni listů pelargonie, půdň
Okt-1-en-3-on	Houbové
Acetoin	Máselné
Biacetyl	Máselné
Acetofosfát	Po pomerančových květech
Damascenon	Připomínající dřevo
Alkoholy	
Ethanol	Jemné, etherové
Oktan-2-ol	Připomínající zeleň
Oktan-1-en-3-ol	Silně houbové
Okt-1,5-dien-3-ol	Půdň, pelargoniové
2-methylpropanol	Alkoholové
3-methyl-butan-1-ol	Květinové, ovocné, alkoholové
Fenol	Květinové, lékařské
Fenyl-2-ethanol	Květinové, po růžích vonící
2-methylisoborneol	Plesnivé, půdň
Sírné sloučeniny	
Methanthiol	Připomínající vařené zelí
Dimethylsulfid	Po zelí
Dimethyldisulfid	Kvěťákové, česnekové, typické pro velmi zralý sýr
2,3-dithiopentan	Česnekové
2,4-dithiopentan	Česnekové
2,3,4-trithiohexan	Typické pro velmi zralý sýr

Methylthioacetát	Připomínající zralý květák
Laktony	
γ -butyrolakton	Ostré, páchnoucí, vonící po pryži, máslové
δ -oktalakton	Kokosové, vínové, kozlí, zvířecí
γ -oktalakton	Ovocné, kokosové
δ -dekalakton	Broskvové, vonící po kokosovém mléku
γ -dekalakton	Broskvové, meruňkové
δ -dodekalakton	Připomínající čerstvé ovoce, broskvové, hruškové, švestkové
γ -dodekalakton	Broskvové, máselné, připomínající pižmo
Mastné kyseliny	
Octová kyselina	Octové, ostré
Propionová kyselina	Octové, ostré, žluklé, sýrové
Máselná kyselina	Žluklé, sýrové
Isomáselná kyselina	Jemné, připomínající pot a hnijící jablka
Isovalerová kyselina	Po hnijícím ovoci, jemné, ovocné, připomínající pot
Hexanová kyselina	Ostré, typické pro plísňové sýry
Oktanová kyselina	Voskové, mýdlové, kozlí, plesnivé, žluklé, ovocné
4-methyloktanová kyselina	Voskové, kozlí, ovčí
4-ethyloktanová kyselina	Kozlí
Dekanová kyselina	Žluklé
Estery	
Ethylacetát	Připomínající rozpouštědlo, ananasové
Ethylpropanoát	Ananasové
Ethylbutanoát	Ananasové
Ethylhexanoát	Ananasové, banánové
Ethyloktanoát	Meruňkové, vínové
Ethyldekanoát	Ovocné
Propylbutanoát	Ananasové, banánové
Butylacetát	Ananasové
Isoamylpropanoát	Meruňkové, ananasové
Isoamylbutanoát	Meruňkové, ananasové
2-fenylethylacetát	Květinové, vonící po růžích
2-fenylethylpropanoát	Květinové, ovocné
Fenylethylbutyrát	Květinové, vonící po růžích, medové

2.2. Technologie výroby sýrů eidamského typu

Výroba tvrdých sýrů eidamského typu je založena na tvorbě sýřeniny ze sladkého mléka [26]. Proces výroby probíhá částečně biologicky (pomocí bakterií mléčného kvašení a enzymů) a částečně mechanicky (například krájením, mícháním a lisováním) [27]. Obecně lze operace při výrobě sýrů rozdělit na několik částí – tepelné ošetření mléka, úprava mléka před zpracováním, sýření, zpracování sýřeniny, formování a lisování, solení a zrání [26].

Schéma technologie výroby eidamských sýrů je uvedeno na obrázku 2.2.

2.2.1. Mléko na výrobu sýrů

Na mléko určené pro výrobu sýrů se kladou vysoké požadavky na jeho jakost. Sýřitelnost, tj. schopnost srážet se syřidlem a tvořit sýřeninu požadovaných vlastností, a prokysávací schopnost, je přímo závislá na složení a obsahu živin v mléce [26].

Mléko s nevhodným složením má snížený obsah kaseinu, kyseliny fosforečné a vápníku, následkem čeho je sýření ztížené a sýřenina příliš měkká [1].

Při výrobě sýrů se také dbá na mikrobiální čistotu mléka. Testuje se na nepřítomnost bakterií máselného kvašení, hnilobných a plynotvorných, které mohou následně potravinu znehodnotit nebo způsobit alergie a nemoci u lidí [26].

Z hlediska významu fermentace, mléko nemá obsahovat dokazatelné množství cizorodých látek, zejména antibiotik, jejichž přítomnost může brzdit rozvoj bakterií mléčného kvašení [1].

2.2.2. Úprava mléka před sýřením

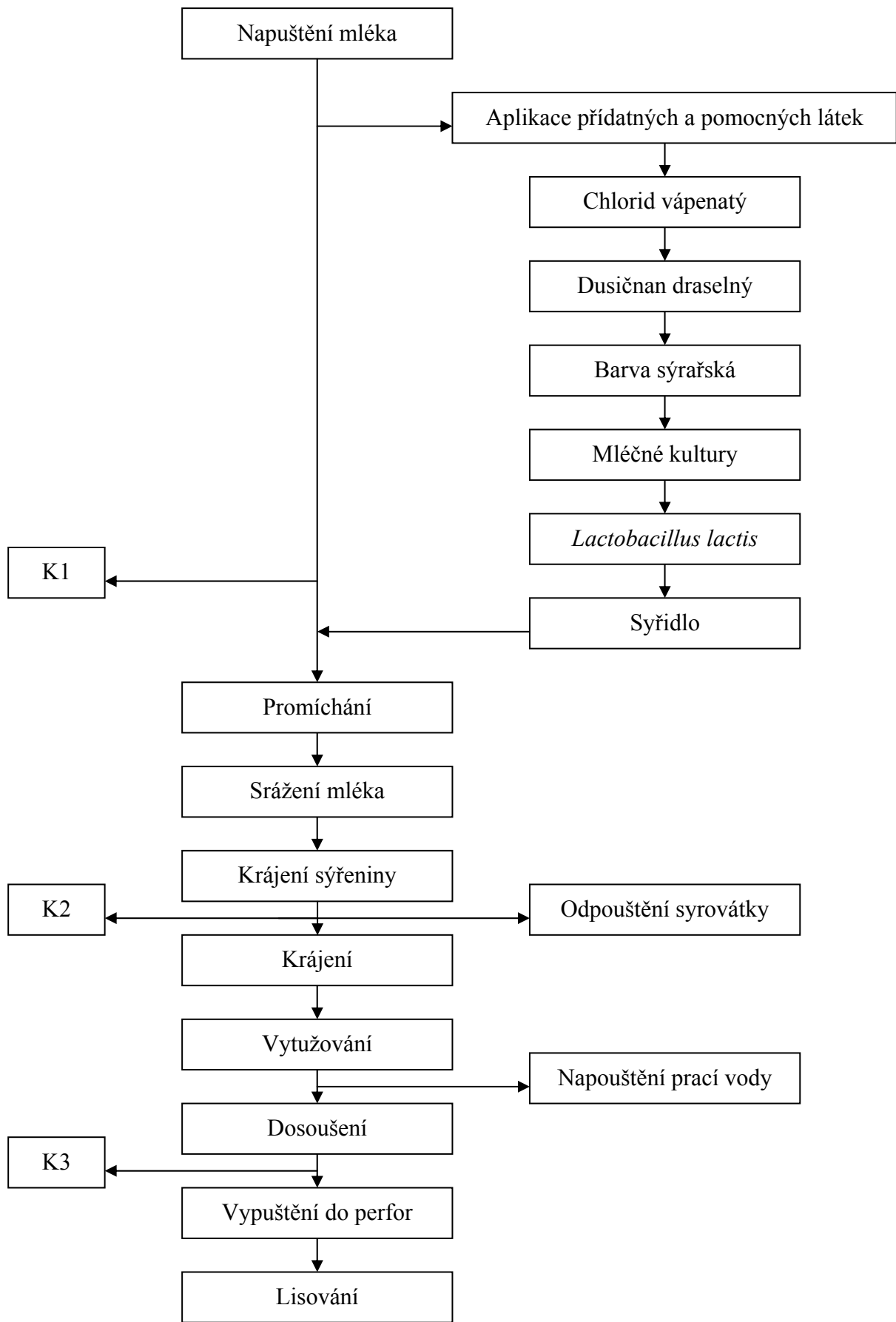
Shodně s klasickými zásadami výroby sýru se při dodávání suroviny do mlékárny dvakrát denně mléko z večerní dodávky nechává do rána odstát při teplotě 15 °C. Tím se dosahuje mírného rozmnožení bakterií mléčného kvašení a částečného usazení smetany, kterou je možné odebrat a tak snížit obsah tuku v mléce. Zralé mléko se potom smíchá s čerstvým mlékem. Proces přírodního zrání mléka se dá nahradit přidávkem kyselých kultur streptokoků a tyčinek mléčného kvašení [1].

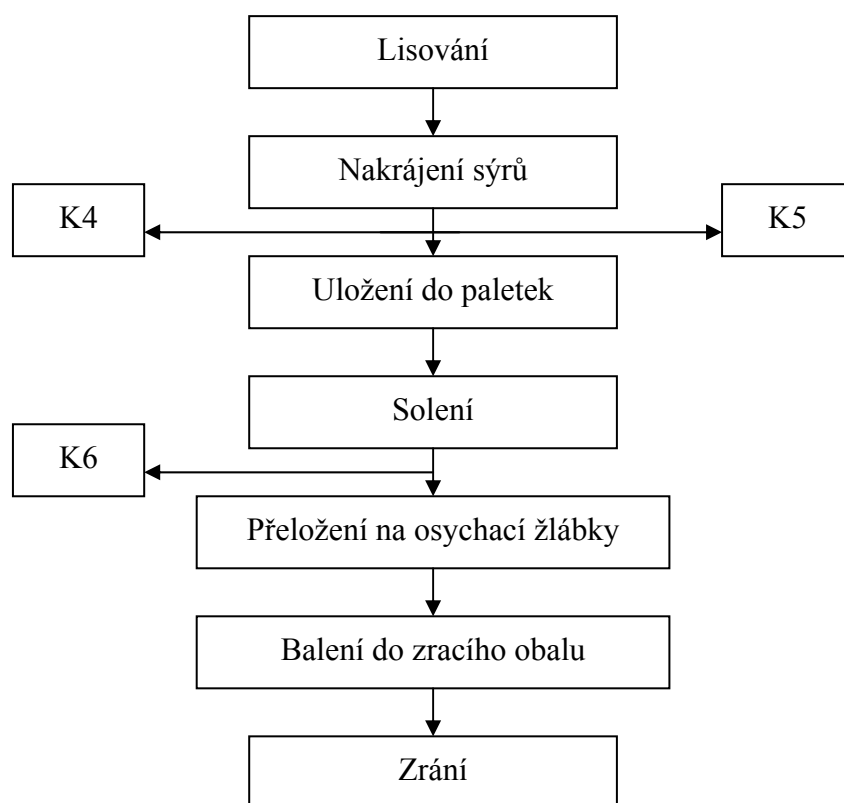
Další část procesu ošetřování mléka je standardizace neboli snižování tuku na požadovanou úroveň obsahu tuku v sušině odstředováním.

2.2.2.1. Pasterace

Primárním účelem pasterace je zničit patogenní mikroorganismy přítomné v mléce, zejména koliformní bakterie, kyselé streptokoky, kvasinky a plísně [27, 28]. Pasterace mléka použitého pro výrobu sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou se provádí 30 s při teplotě 75 – 78 °C [1]. Oproti pasteraci vysoké (UHT) nenastávají závady v chuti a vůni, obsah vitamínů a povaha syrového mléka zůstávají z největší části zachovány [9].

Další z používaných metod odstraňování mikroorganismů je baktofugace. Baktofugace je postup fyzikálního oddělování bakterií z mléka v odstředivkách s vysokým zrychlením ($90\,000 - 100\,000 \text{ m.s}^{-2}$). Využívá rozdílu hustoty mikroorganismů ($1,3 \text{ g.cm}^{-3}$) a mléčných komponent ($1,03 \text{ g.cm}^{-3}$) [29]. Mléko se nejprve zahřeje na pasterační teplotu v deskovém výměníku tepla, čímž se jednak usnadní vylučování spor, jednak se usmrtí vegetativní stadia a formy mikrobů. Pak se mléko žene přes centrifugu, kde se plynule rozděluje na 97 – 98 %





Obrázek 2.2: Schéma výroby eidamských sýrů [30]

K¹ – vzorek mléka na kyselost SH² + pH³; K2 – vzorek syrovátky nezvodněné na kyselost SH + pH; K3 – vzorek syrovátky zvodněné na kyselost SH + pH; K4 – vzorek sýru na kyselost SH + pH; K5 – vzorek sýru na mikrobiologické zkoušky; K6 – vzorek sýru na kyselost SH + pH a sušinu.

podílu, který je prakticky prostý mikrobů, a na zbývající 2 – 3 % baktofugátu, obsahujícího spory. Ten se vysteriluje zahřátím na teplotu 130 až 140 °C po dobu 3 až 4 s vstřikem přímé páry, a vrací se k hlavnímu podílu mléka [31]. Účinek je závislý na teplotě při baktofugaci, výkonu baktofugy a rychlosti použité při odstředování [29].

Mikrofiltrace je také velmi efektivní způsob odstraňování mikroorganismů z mléka. Zatím se příliš neúčívá. Mléko se vede přes kaolínové filtry, kde se mikroorganismy kvantitativně zachytí [31].

2.2.2.2. Homogenizace

V posledních letech se mléko současně s pasterací, nebo před ní, homogenizuje. Cílem je zmenšení velikosti tukových kuliček pod 1 μm [32]. V mléce, proháněném za horka pod tlakem velice těsným prostorem, se tříští tukové kuličky na tak drobné kapičky,

¹ K – označení kontrolních bodů výroby

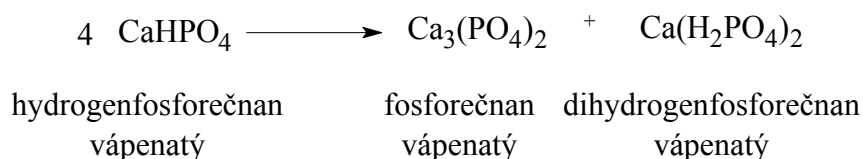
² SH – titrační kyselost, tj. spotřeba ml standardního roztoku NaOH (c = 0,25 mol.l⁻¹) k neutralizaci 100 ml (100 g) výrobku.

³ pH – záporný dekadický logaritmus koncentrace [H₃O]⁺ iontů: pH = - log(a(H₃O⁺))

že pak nepřekonají odpor mléčného plasma a nevystupují k povrchu [9]. Vlivem tohoto úkonu se sýří o 25 – 50 % rychleji a současně se snižuje tučnost syrovátky. Homogenizace mléka se používá i proto, že sýry méně vylučují tuk při zahřívání a tím poměrně rychle získávají plnou vůni [1].

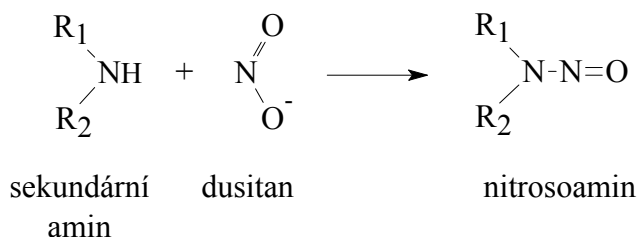
2.2.2.3. Aplikace přídatných a pomocných látek

Přestože je mléko pro výrobu sýru pasterováno převážně šetrně, dochází ke změnám v poměru koloidní a rozpustné formy vápníku a zhoršení sýřitelnosti mléka [26]. Hydrogenfosforečnan vápenatý se částečně vysráží, čímž přechází část rozpustného vápníku na nerozpustný a prodlužuje se doba srážení syřidlem [18].



Proto je k obnovení sýřitelnosti přidáván do mléka rozpustný vápník, nejčastěji ve formě chloridu vápenatého (20 g CaCl na 100 dm³ mléka). Při vyšší dávce dochází ke zhořknutí sýrů [26].

K zabránění negativnímu vlivu činnosti koliformních bakterií anebo bakterií máselného kvašení, které způsobují tzv. duření sýrů, se používá přídavek dusičnanu draselného do mléka (10 g/100 dm³). Jeho účinek spočívá v akceptování vodíku z katabolických procesů uvedených bakterií [1]. Vzhledem k riziku, které s sebou nese přítomnost dusičnanů v potravíně (reakcí kyseliny dusité a dusitanů se sekundárními aminy, které vznikají mikrobiální činností, mohou vznikat karcinogenní nitrosoaminy), se v řadě zemí uvažuje o zákazu jejich dosavadního používání. Gloria a Vale sledovali vliv aplikace dusičnanů do mléka na obsah dusičnanů, dusitanů a těkavých nitrosoaminů v ementálu a zjistili pozitivní korelaci mezi množstvím dusičnanů přidávaných do mléka a hladinou *N*-nitrosodimethylaminu a *N*-nitrosodiethylaminu [33].



Jednou z alternativ by mohl být enzym lysozym. Je schopen rozpouštět buněčné stěny grampozitivních bakterií, napadá i spory při stadiu přeměny vegetativní formy. Na kultury mléčného kvašení však nepůsobí. Mléko by také mohlo být ošetřeno přídavkem nisinu nebo peroxid-katalázovým způsobem, který u nás ze zdravotních důvodů není povolen [18, 29, 34].

Barva je důležitým atributem potravin. Slouží jako ukazatel kvality [11]. K dosažení typického zbarvení sýra se přidávaly do mléka dříve přírodní barviva jako šafrán¹, safflor², kurkuma³, orlean⁴, měsíček⁵ nebo mrkev [15]. Dnes se však převážně používá tzv. sýrařská barva. Je to alkalický roztok karotenoidu nazývaný bixin (C₂₅H₃₀O₄). Alkalický charakter roztoku barviva mu dává schopnost vázat se na kasein a zabarvit vodno-bílkovinnou fázi sýra [1].

Podmínkou zdárného průběhu celého technologického procesu je přidavek čistých mlékárenských kultur (ČMK) [1]. V jiných literaturách je najdeme pod názvem startovací kultury [35]. Tyto kultury lze charakterizovat jako ušlechtilé mikroorganismy, rozmnožené ve vhodné živné půdě, jejichž dodáním je zajištěn žádoucí směr a průběh výrobního a zráního procesu [18]. Úlohou bakterií mléčného kvašení je rychlý nástup fermentace v období úpravy mléka na sýření a zpracování sýřeniny, což podmiňuje správný proces syneréze zrn a demineralizace. Mezi primární kultury, které zajišťují proces kysání mléka i sýrů a uvolňují enzymy, podílející se na tvorbě chuti a vůně v průběhu zrání sýrů, patří především bakterie rodu *Lactococcus*, *Lactobacillus* a *Streptococcus* [26]. Rozkládají laktosu na kyselinu mléčnou, spolupůsobí v procesech prvotní degradace bílkovin na polypeptidy, hydrolyzují polypeptidy na aminokyseliny a případně je deaminují. Kromě bakterií mléčného kvašení mají velmi podstatnou úlohu bakterie propionového kvašení (rod *Propionibacterium*, *Brevibacterium*, *Penicillium*). V období zrání sýru při nízké teplotě (15 – 20 °C) rozkládají mléčnany na kyselinu propionovou, octovou a oxid uhličitý. Právě oxid uhličitý je příčinou tvorby ok a snižující se aktivní kyselost prostředí zvyšuje aktivitu proteolytických enzymů [1].

Při výrobě sýrů eidamského typu se používají zejména druhy *L. lactis* subsp. *lactis* nebo *cremoris* v kombinaci s kulturami *Leuconostoc mesentroides* subsp. *cremoris/Leuconostoc lactis* [52].

2.2.3. Sýření

Srážení mléka syřidlem se využívá při výrobě sýrů již od nepaměti. Dobrá sýřitelnost mléka závisí na jeho neporušeném složení, na obsahu kaseinových bílkovin, jejich složení a genetickém typu, na obsahu minerálních látek, jejich rovnováze s bílkovinami a formě tj. rozpustné, ionizované a koloidní formě a na přirozeném pH mléka, které s těmito faktory přímo souvisejí [2].

¹ Šafrán jsou sušené blizny staré kulturní rostliny *Crocus sativus* L. pěstované v Orientu, později v Řecku a jižní Evropě, obsahující barvivo krocetin (C₂₀H₂₄O₄).

² Safflor je jednoletá rostlina *Carthamus tinctoria* L., tvořená barvivy carthamin a saflorová žlut'. Roste hlavně ve Španělsku, Itálii, Maďarsku a Jižní Americe.

³ Kurkuma je kořen zázvorovité rostliny *Curcuma longa* L. rostoucí v Číně a Indii, jejíž součástí je barvivo kurkumim (C₂₁H₂₀O₆).

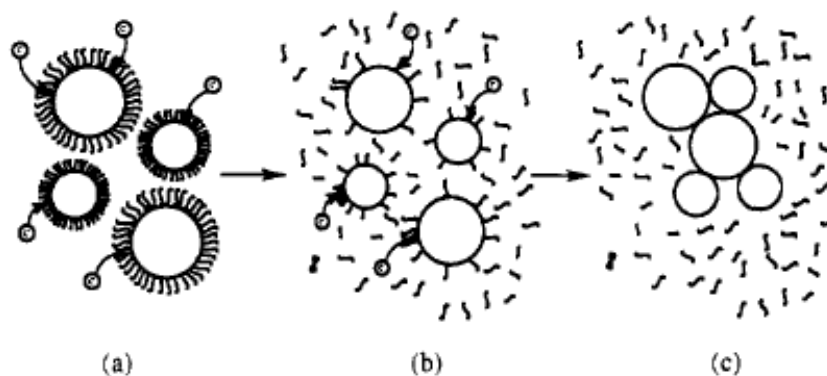
⁴ Barvivo orlean se připravuje z plodů střídavolistého orleánového keře *Bixa orleana* L. vyskytujícího se v Jižní, Střední Americe, Guayaně, Antilách a v Indii. Obsahuje dva druhy barvicích složek – orlein a bixin.

⁵ Květy *Calendula officinalis* L. červené barvivo tvořené chlesterinesterem kyseliny laurinové, myristové, palmitové a martyrové.

Ke srážení mléka může dojít působením kyseliny mléčné (pH 4,2 – 4,6), kterou produkují mlékárenské kultury, nebo působením syřidlového enzymu (pH 6,2 – 6,5), anebo kombinací obou faktorů v různých vzájemných poměrech [26, 36].

Účinek syřidla spočívá v působení proteolytických enzymů na kasein resp. kaseinát vápenatý. Nejprve v primární fázi destabilizované kaseinové micely ztrácejí svou soudržnost. Přitom se z frakce χ -kaseinu, který působí v mléce jako ochranný koloid ostatních kaseinových frakcí, odštěpí glykomakroprotein, který přejde do syrovátky. Poklesem náboje se micely spojují v parakaseinát vápenatý. Koagulaci destabilizovaného kaseinu označujeme jako fázi sekundární (obrázek 2.3). Ve fázi terciární dochází k pomalé hydrolyze všech frakcí parakaseinu proteolytickým účinkem syřidla, která pokračuje během zrání [1, 18, 36, 37].

Vzniklá kyselina mléčná reaguje se solemi sýra a s parakaseinovým komplexem a odbourává vápník. Kyselina mléčná je vázána přítomným fosforečnanem vápenatým a oxidem vápenatým, který je uvolňován z parakaseinu vápenatého. Vzniká mléčnan vápenatý a monokalcitová sůl parakaseinu. Sůl bobtná ve vodě a tím způsobuje dobré spojování sýrových zrn a vytvoření konzistence sýrové hmoty. Při nadbytku kyseliny mléčné však dochází k příliš rychlému odbourávání vápníku, fosfoparakaseiny bobtnají málo a sýrovina se špatně pojí [21].



Obrázek 2.3: Schéma tvorby sýřeniny [8]:

(a) kaseinové micely začíná atakovat proteolytický enzym; (b) odštěpuje se χ -kasein; (c) dochází k agregaci

Na průběh sýření má rozhodující vliv teplota. Je závislá na typu syřidla, avšak technologické rozmezí u sýrů je 30 – 33 °C. Dalším faktorem je koncentrace syřidlových enzymů. Při malé dávce je sraženina měkká a při příliš vysoké dávce tuhá. Oba tyto stavy vedou ke ztrátám tuku a bílkovin. Optimální kyselost mléka připraveného na sýření je pH 6,2 – 6,5 dle druhu sýra a systému mechanizace výroby [26].

2.2.3.1. Syřidla, syřidlové preparáty

Syřidlo je proteolytický enzym podobný pepsinu, který za přítomnosti vápenatých solí způsobuje koagulaci čerstvého mléka bez změny jeho kyselosti [1].

Jako syřidla se používají proteiny s optimem proteolýzy v kyselé oblasti pH. Hlavním požadavkem na syřidlové enzymy je úzká substrátová specifita a vysoká schopnost koagulace sladkého mléka, při pomalu pokračující proteolýze [26].

Na trhu je celá řada proteinas, ale jen málo odpovídá uvedeným požadavkům. Podle povahy aktivních center proteiny rozdělujeme na [26]:

Serinové – trypsin, chymotrypsin, elastasa

Cysteinové – Papin, ficin, bromelin

Metaloproteinové – aminopeptidasy, karboxypeptidasy, neutální proteiny

Aspartátové – chymosin, pepsin, bystricin, mikrobiální proteiny

Jako přírodní syřidlo se používá výtažek z žaludků mladých telat, jeho účinnou složkou je enzym chymosin [26, 27]. Protože přírodních syřidel je nedostatek, sráží se sýry alternativně látkami, které se získávají z plísní nebo rostlin, např. šťávou z artyčoku. V posledních letech je také dostupný chymosin získaný genově inženýrskými postupy [27]. Gen telecího chymosinu se klonuje do mikroorganismu, který je pak schopen tento enzym produkovat. Po izolování z kultury a důkladném vyčištění je enzym možno využít [29]. Sýry takto vyrobené jsou přijatelné i pro vegetariány, kteří odmítají sýry srážené syřidly živočišného původu [27].

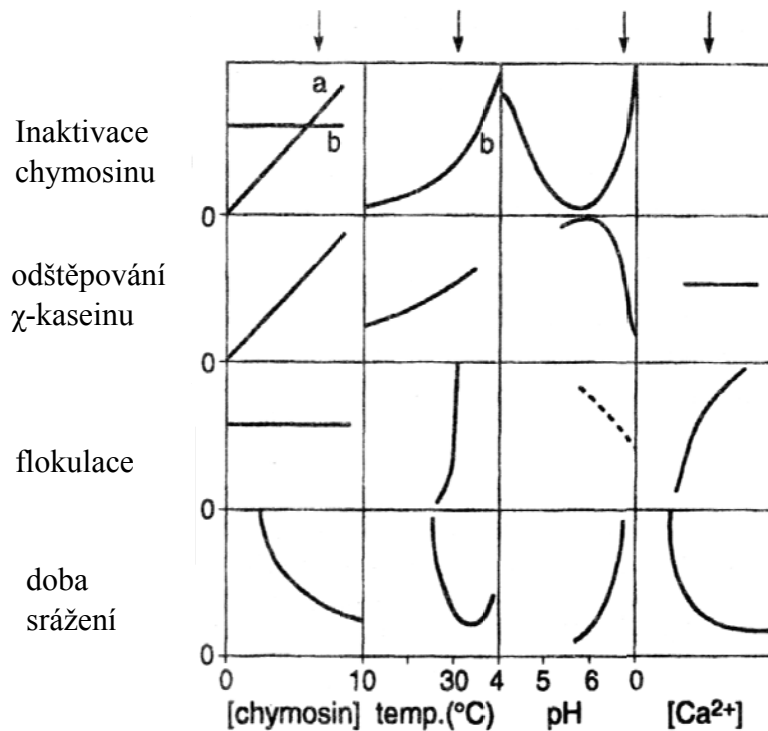
2.2.4. Zpracování sýřeniny, krájení a lisování

Sýřenina je stejnorodá rosolovitá hmota, ve které se disperzní prostředí – syrovátka nachází v mikroporézní struktuře gelu [1]. Její zpracování je u tvrdých sýrů náročné. Vyžaduje vlastní krájení, odpouštění syrovátky s příp. napouštěním prací vody, přihříváním a dosoušením [26].

Ve skutečnosti je zpracování sýřeniny dáno spolupůsobením činitelů mechanické, tepelné a biochemické podstaty [1]. Sýřenina podléhá stárnutí, snižuje se hydratační schopnost kaseinu, a smršťováním ze sebe vytlačí syrovátku kromě vázané a kapilární vody [1, 26]. Cílem zpracování je získání dostatečného množství odvodněného parakaseinátu vápenatého tak, aby se v něm zachytil podle možností všechn tuk [1]. U všech sýrů je rozhodující dodržování časového harmonogramu zpracování (tabulka 2.4) včetně průběhu teploty a pH (obrázek 2.4) [26].

Zpracování sýřeniny začíná krájením, kdy se sýřenina rozdrobí na požadovaný stupeň. Pro tvrdé sýry je velikost zrna několik milimetrů. Důležité je, aby proces krájení probíhal rovnoměrně, nezpůsoboval rozbití sýřeniny a tím ztrátu tuku a kaseinu. Syrovátka má být podle možnosti čirá. Stupeň zákalu poukazuje na zvýšené ztráty tuku a rozptýleného parakaseinu [1].

Po usazení zrn následuje odpouštění syrovátky. Tento úkon je často ve spojení s promýváním zrna [1]. Praní reguluje obsah laktosu a kyselost sýra. Teplota prací vody ovlivňuje průběh syneréze (stahování sýřeniny). Uvolnění syrovátky podporuje také snížení pasteračního zahřevu, zvyšování obsahu vápenatých solí, vyšší sýřicí teplota, vyšší dávka syřidla, rychlejší kysání, zpracování na menší zrno, míchání zrna, zvýšení dosoušecí teploty a zvýšení počtu obráčení sýrů [26].



Obrázek 2.4: Vliv koncentrace chymosinu, teploty, pH, obsahu Ca^{2+} iontů na dobu srážení mléka, flokulaci parakaseinových micel, odštěpování χ -kaseinu a inaktivaci chymosinu (pH 3,5 (a); pH 7 (b)) [6]

Dalším úkonem při výrobě sýrů je dohřívání zrna na teplotu $38 - 40\text{ }^\circ\text{C}$ pomalým přihříváním vody v plášti vany za současného míchání. Rozrušuje se tak struktura bílkovin a částice kaseinu ztrácejí vodu. Mícháním se zabráňuje slepování zrn [1, 18].

Syrové zrno se míchá při této teplotě ještě určitou dobu, aby se dosáhlo správného vyloučení syrovátky a tím dobré slepovatelnosti. Tato poslední etapa se nazývá dosoušení [1].

Při formování syrová hmota nabývá nejen požadovaný tvar, ale musí se v ní spojit zrna do hloubky bez toho, aby se narušil požadovaný rozvoj mikroflóry, od kterého závisí správný stupeň zrání [36]. Formování se provádí ve speciálních tvořítkách z nerezavějící oceli, anodového hliníku anebo plastu. Jejich plášť je perforovaný k usnadnění odtoku syrovátky. [26, 36]. Během formování sýrů nastává intenzivní rozvoj bakterií mléčného kvašení (především streptokoků), v důsledku čehož se laktosa rozkládá na kyselinu mléčnou [36].

U tvrdých sýrů, které zrají ve velkých formách, není samovolné vytékání syrovátky dostatečné, proto se syrové zrno mechanicky stlačuje do forem na lisování. Vedle toho slouží lisování na formování, rychlé spojení zrna a na vytváření hladkého povrchu. Aby se struktura na povrch nezpevnila příliš, lisovací tlak se zvyšuje jen postupně [36].

Tabulka 2.4: Časový rozpis technologických operací při výrobě eidamského sýra podle tuku v sušině (t. v s.) [26, 30]

Technologická operace	30 % t. v s.	40 % t. v s.	45 % t. v s.	50 % t. v s.
Sýření	30 min			
Krájení	13 – 15 min	-	10 – 13 min	15 min
Odčerpání syrovátky	4 – 5 min			
Krájení	1 min			
Míchání	15 min			
Vytužování	6 – 9 min			
Praní	10-20 min			
Teplota prací vody	55 – 60 °C	50 – 60 °C	50 – 60 °C	60 – 70 °C
Dosoušení	30 – 40 min	45 – 60 min	45 – 65 min	45 – 60 min
Teplota páry při dosoušení	36 – 40 °C	37 – 40 °C	37 – 40 °C	39 – 41 °C

2.2.5. Solení sýrů

Solení sýrů je nezbytná operace u všech druhů sýra. Solení dává sýrům správnou chuť, vyvolává částečné rozpuštění parakaseinu, brzdí rozvoj škodlivé mikroflóry, zpevňuje povrch sýra, reguluje obsah vody v těstě sýra, což má návaznost na konzistenci těsta a mikroflóru, průběh kysání a zrání [1, 26].

Sýry se po vylisování posypávají na povrchu suchou solí, která se vtírá do pokožky [18], nebo jsou uloženy v solné lázni 15 – 20 hodin o teplotě 14 – 16 °C, kyselosti 15 – 22 SH a koncentraci NaCl 17 – 18 °Bé¹ [30]. V průběhu solení dochází k difúzi NaCl dovnitř sýra a do solné lázně přechází část syrovátky a rozpustných solí [26]. Po vysolení musí sýry obsahovat definované množství sušiny a tuku v sušině [30].

Sýry se nechávají 1 – 2 dny oschnout a balí se do expedičních obalů, nebo případně bez obalů se dopravují do zracích sklepů [26, 30].

2.2.5.1. Sůl pro výrobu sýrů

Na výrobu solivarské soli se používá solanka získaná povařením chloridu sodného získaného z přírodních ložisek s malým podílem nečistot, které ji doprovázejí v přírodě. Jako přísada proti spékání soli se přidává hexakvanoželeznatan sodný (E 535). Fyzikální a chemické vlastnosti jsou uvedeny v tabulce 2.5.

¹ °Bé - Hustota roztoku naměřená Baumého hustoměrem. Odpovídá procentuálnímu obsahu NaCl ve vodném roztoku (1 °C Bé = 1 %)

Tabulka 2.5: Složení soli pro výrobu sýrů [38]

Typická chemická analýza			
Zkušební znaky	Obsah vztažený na suchou substanci		
Celkový obsah NaCl	99,90 %		
Látky nerozpustné ve vodě	cca. 10 mg.kg ⁻¹		
Sírany (So ₄ ²⁻)	80 – 450 mg.kg ⁻¹		
Vápník (Ca ²⁺)	3 – 40 mg.kg ⁻¹		
Hořčík (Mg ²⁺)	0 – 3 mg.kg ⁻¹		
Draslík (K ⁺)	20 – 600 mg.kg ⁻¹		
Protispékavý přípravek E 535	cca. 7 mg.kg ⁻¹		
Vlhkost (2 h při 110 °C)	max.	cca. 0,03 %	
Typická zrnitost	DIN ¹ 4188	> 0,63 mm	< 5,0 %
		0,4 mm	50 – 80 %
		0,315 mm	20 – 40 %
		< 0,315 mm	< 5,0 %
Měrná hmotnost	ISO ² 697	cca. 1,2 kg.dm ⁻³	

2.2.6. Zrání sýrů

Zráním sýr získává svou výslednou strukturu, vůni a chuť [27]. Zrání lze definovat jako veškeré biochemické procesy probíhající v sýrech vlivem mikrobiálních enzymů případně syřidlových enzymů [26]. Tvrdé sýry zrají v celé hmotě současně (anaerobní zrání) [36]. Během zrání podléhají největším změnám laktosa a mléčné bílkoviny, u některých sýrů tuk. Také zastoupení soli podléhá určitým změnám [26].

Stupeň zralosti sýra po předcházejících proteolytických změnách lze zjistit smyslově nebo stanovením celkového dusíku, amoniakálního a aminového dusíku, viz tabulka 2.6 [1, 39].

Tabulka 2.6: Obsah dusíku v zralých sýrech [1]

Stanovení dusíku			
Eidamský typ sýru	Celkový-rozpustný N	Aminový N	Amoniakální N
	28-33 %	6-8 %	1-2 %

Na proces zrání má velký vliv teplota a vlhkost vzduchu. Při příliš nízké teplotě mléčná fermentace probíhá pozvolna, čím se zpomaluje nebo dokonce znemožňuje správný průběh hydrolytického rozkladu kaseinu a dochází k rozmnožení hnilobných bakterií. Nadměrně vysoká teplota zvyšuje rychlost zrání a současně může podněcovat rozvoj plynotvorných bakterií. Eidamské sýry se v první fázi zrání (okolo 6 týdnů) udržují při teplotě 15 °C a 85 % relativní vlhkosti a potom 5 – 7 týdnů při teplotě 12 °C [1].

Sýry je třeba v začátečním stádiu často obracet a periodicky umývat, aby se zabránilo rozvoji plísní na jejich povrchu [1]. Pokud sýry zrají v obalech z plastických hmot, není nutné

¹ DIN - Německý institut pro normalizaci

² ISO - Mezinárodní organizace pro normalizaci

s nimi nijak manipulovat, kontroluje se pouze průběh jejich zrání [26]. Po určitém čase se mikrobiologické a enzymové změny zastaví, zatímco vypařování vody pokračuje. Proto mají tvrdé sýry dlouhou dobu trvanlivosti [36].

2.2.7. Uskladnění zralých sýrů

Sýry určené na skladování musí být už hotové (ošetřené, umyté, zabalené). Ve skladech se obvykle používá teplota 0 – 5 °C při relativní vlhkosti 80 – 85 °C. Teplota o málo nižší než 0 °C může vyvolat pukání sýrů a nežádoucí změny jejich struktury po rozmrazení (křehkost, lehké vylučování tuku). Správná vlhkost vzduchu ve skladě je také důležitá. Omezuje nežádoucí vysychání sýrů [1].

Sklady na sýry mají být podle možností klimatizované a musí splňovat hygienické podmínky. Kromě odpovídající teploty a relativní vlhkosti vzduchu je třeba v místnostech zabezpečit mírné, ale stálé proudění vzduchu [1].

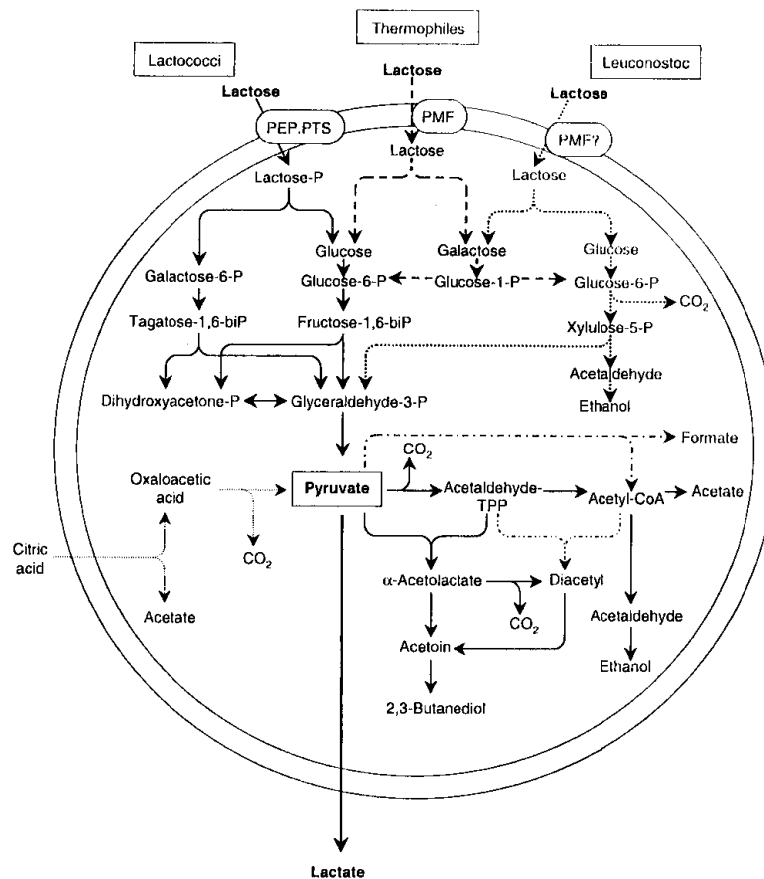
2.3. Vznik a vývoj aroma a chuti v průběhu výroby

Správná chuť, vůně, konzistence a vzhled jsou výsledkem správně provedených technologických operací a správně probíhajících mikrobiologických procesů a s nimi spojené změny laktosy, kaseinu a částečně tuku. Biochemickými činiteli zrání eidamských sýrů jsou téměř výlučně bakterie mléčného kvašení [1, 18, 24, 25].

2.3.1. Cukry

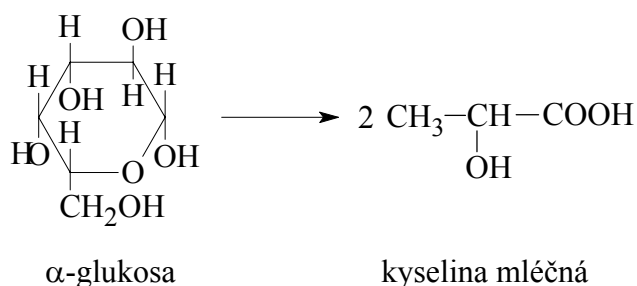
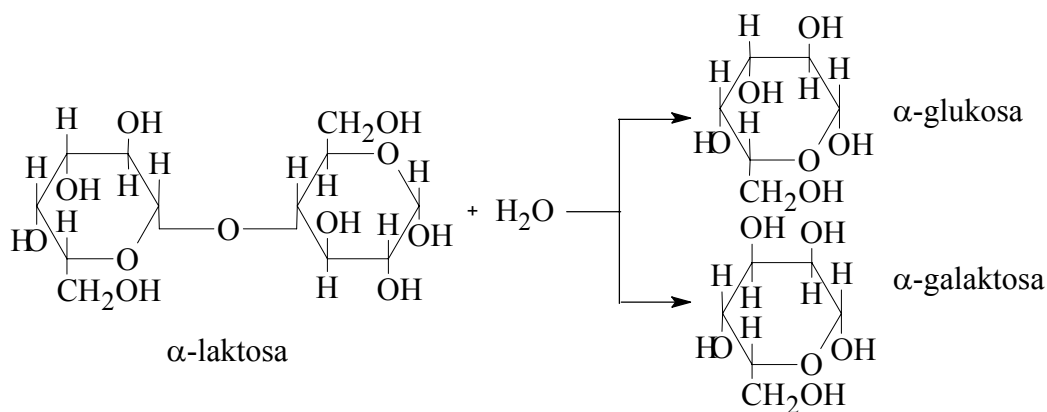
Proteolytické a lipolytické změny jsou do značné míry podmíněny rozkladem laktosy a tempem následných změn hodnoty pH sýru. Už při zpracování sýřeniny nastává rozmnožení bakterií mléčného kvašení a v důsledku působení bakteriální laktasy β -galaktosidasy se laktosa a štěpí na glukosu a galaktosu [1]. Vzniklé monosacharidy se dále rozkládají podle druhu mikroorganismů přítomných v mléce (obrázek 2.5).

Glukosa je fermentovaná na kyselinu mléčnou přímo, galaktosa po enzymové přeměně na glukosu [2, 24].



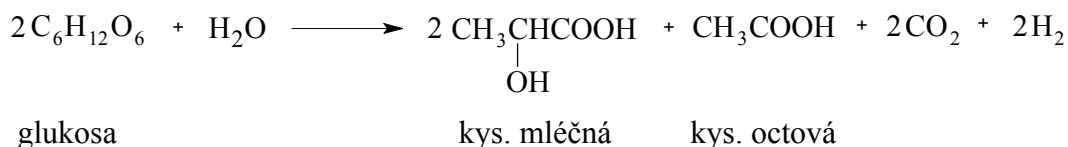
Obázek 2.5: Schéma rozkladu laktosy v sýrech [6]

Celý proces je katalyzován řadou enzymů. Glukosa je přeměněna na energeticky bohatý fosfát, který se štěpí na dvě triosy. Z glyceraldehydu-3-P pak vzniká pyruvát. Pyruvát slouží jako substrát pro mléčné kvašení za vzniku laktátu.



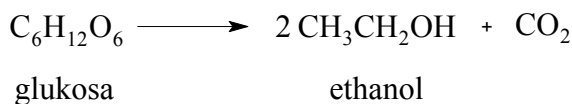
Kromě homofermentativního mléčného kvašení se může v menší míře uplatnit i kvašení [1, 2, 17, 18, 31,40]:

- Heterofermentativní – kromě kyseliny mléčné vzniká i kyselina octová a oxid uhličitý.

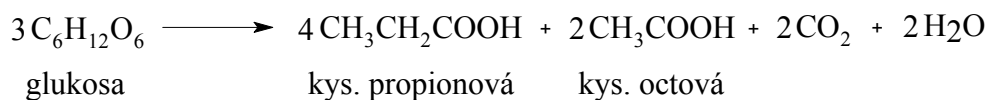


Někdy se uvádí, že k tvorbě kyseliny mléčné, octové a oxidu uhličitého může docházet také dismutací kyseliny pyrohroznové.

- Ethanolové – glukosa je rozkládána na ethanol a oxid uhličitý.

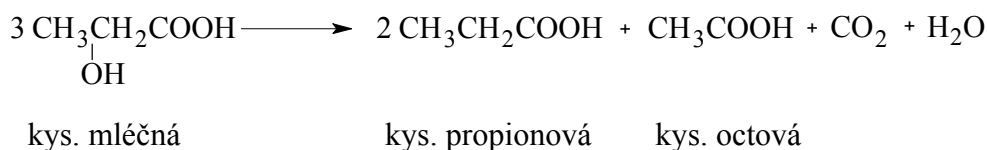


- Propionové – hlavním produktem je propionát, dále vznikají oxid uhličitý, kyselina octová a malá množství sukcinátu.



Fermentace se zintenzivňuje v období mírného zrání syrového zrna a dále při formování a lisování sýrů. Vznikem dostatečného množství kyseliny mléčné se hodnota pH sýru snižuje z počáteční hodnoty v mléce okolo 6,7 – 6,6 na 5,3 – 5,0 [1].

Působením bakterií propionového kvašení se pak částečně rozkládá kyselina mléčná a mléčnany za vzniku kyseliny octové, propionové, oxidu uhličitého a současného zvýšení pH na 5,5 – 6,0, což umožní nástup proteolýzy [1].



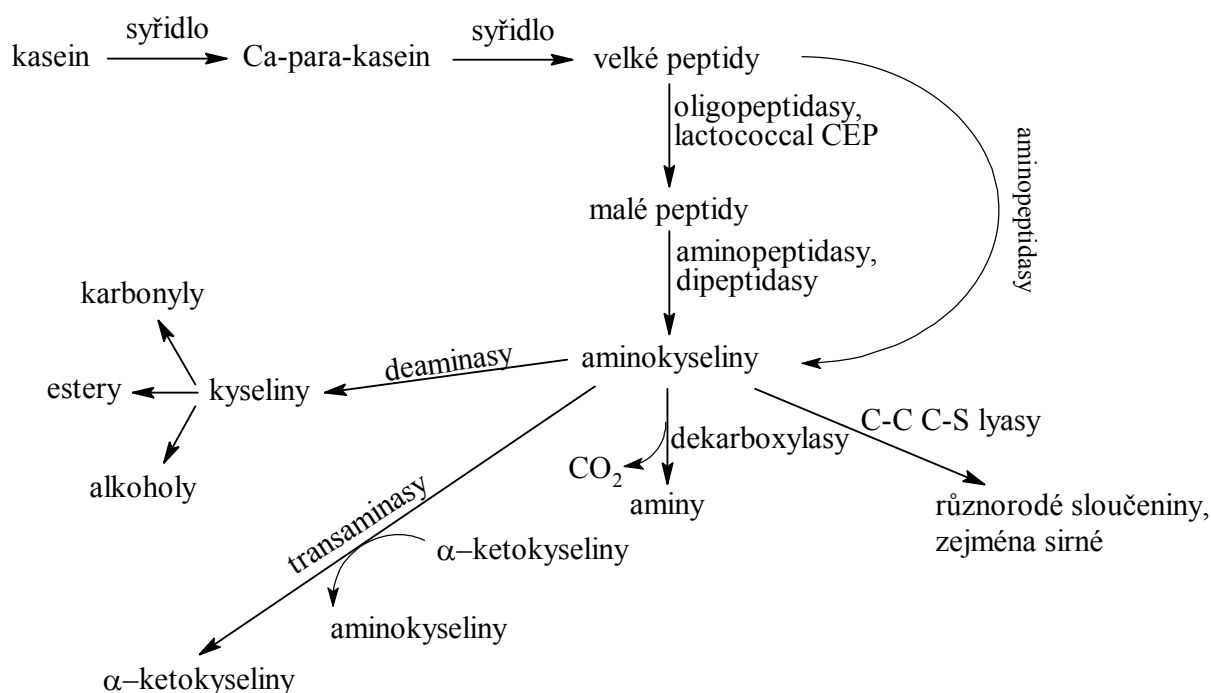
Průběh mléčného kvašení sýrů bývá zpravidla ukončen do 24 hodin po výrobě [18].

2.3.2. Bílkoviny

V průběhu zrání dochází k dalším změnám bílkovin působením enzymů z čistých kultur popřípadě mikroflóry mléka. Bakterie mléčného kvašení aktivizují hydrolytickou činnost syřidel, a naopak produkty rozkladu kaseinu syřidlem mohou aktivizovat rozvoj mléčných bakterií [18].

Rozsah a hloubka degradace bílkovin je hlavním kritériem stupně i směru zrání sýra, rozhoduje o organoleptických vlastnostech sýra. Je založená na postupném hydrolytickém rozkladu bílkovin na albumosy, peptony, peptidy a aminokyseliny a případným dalším rozkladem aminokyselin na amoniak, těkavé kyseliny, sirovodík a další sloučeniny (obrázek 2.6) [1, 17, 21, 25].

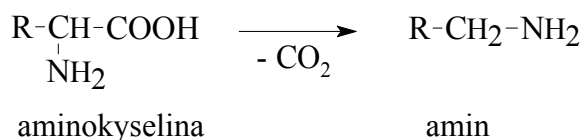
U tvrdých sýrů je parakasein štěpen během zrání podstatně méně než u plísňových nebo měkkých, asi z 10 až 15 %, což je způsobeno mimo jiné nižším obsahem vody. Celkový obsah i zastoupení volných aminokyselin ovlivňují použité čisté kultury, syřidlo a podmínky zrání [18].



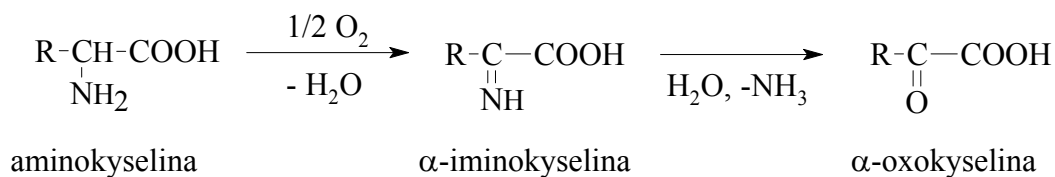
Obrázek 2.6.: Schéma rozkladu bílkovin v sýrech [6]

Peptony a albumosy jsou středními produkty rozkladu bílkovin a vzájemně se liší spíše strukturou než velikostí své molekuly [17].

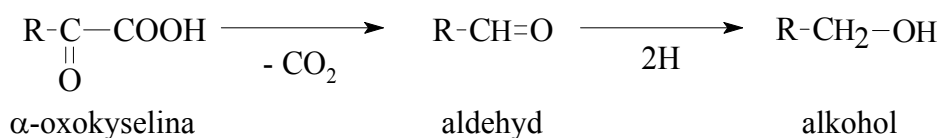
Uvolněné aminokyseliny mohou podléhat dekarboxylaci působením enzymů mikroorganismů za vzniku primárních aminů.



Oxidační deaminací nebo transaminací vznikají z α -aminokyselin příslušné α -oxokyseliny, které slouží jako prekursori dalších sloučenin [14, 41].



Z α -oxokyselin vznikají potom působením dekarboxylas tytéž aldehydy jako při Streckerově degradaci aminokyselin a redukcí aldehydů odpovídající alkoholy. Obě skupiny sloučenin jsou významnými vonnými látkami některých potravin [14, 17].

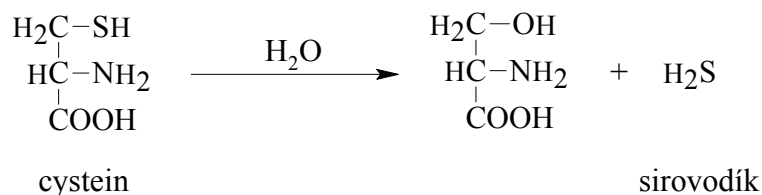


Z aldehydů je v sýrech přítomen zejména methanal, který vzniká z glycinu, ethanal z alaninu. Dále pak může vznikat propanal z threoninu, 2-methylpropanal z valinu, 3-methylbutanal z leucinu, 2-methylbutanal z isoleucinu, 2-mekraptoethanal z cysteinu, methional z methioninu a celá řada dalších aldehydů [14].

Z valinu vzniká 2-methylpropan-1-ol, z leucinu 3-methylbutan-1-ol, z isoleucinu 2-methylbutan-1-ol, z threoninu propan-1-ol. Z aminokyselin vznikají rovněž některé aromatické a heterocyklické alkoholy. Z feny alaninu se tvoří 2-fenylethanol, z tyrosinu tyrosol, z tryptofanu tryptofol [15].

Rozkladem bílkovin vznikají též těžké mastné kyseliny, které spolupůsobí při vzniku chuťových složek sýra. Kyselina octová vzniká z alaninu, propionová z threoninu, isomáselná z valinu,...) [18].

Hydrolytickým rozkladem cysteinu dochází k tvorbě sirovodíku, jenž je typický pro hluboký rozklad bílkovin [17].



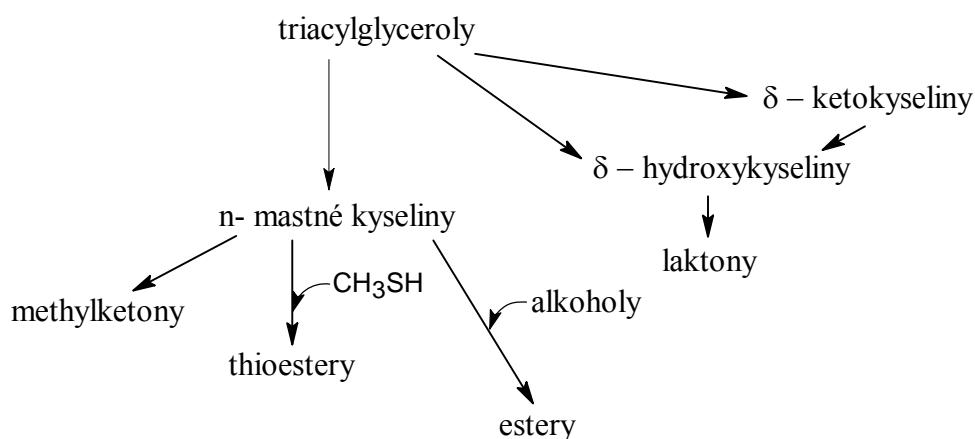
Sírné sloučeniny jsou velmi důležitou skupinou látek významně ovlivňující aroma celé řady potravin. Methional je prekursorem těkavých sírných sloučenin, způsobujících sluneční přípach, kde vzniká Streckerovou degradací. [14].

Tímto jsou naznačeny směry, kterými se může rozklad bílkovin ubírat. Celý proces je ale mnohem složitější, protože vznikají četné meziprodukty a vedlejší látky, jež mohou vstupovat do reakce a tvořit nové komponenty [17].

2.3.3. Tuky

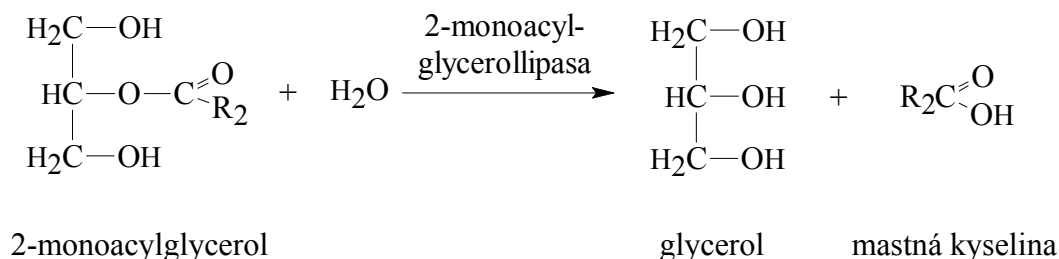
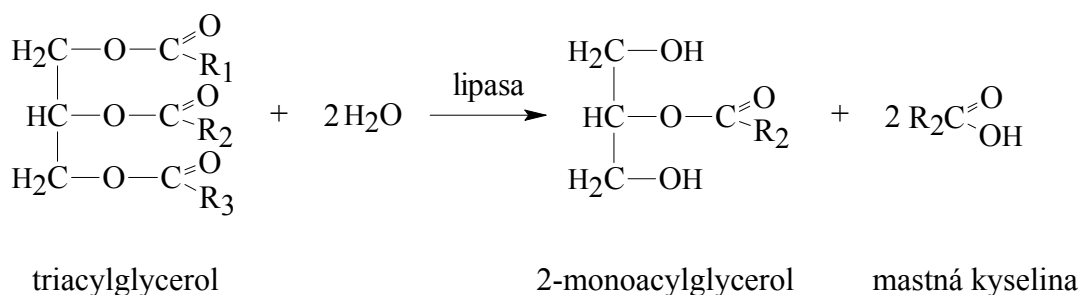
Na vzniku organoleptických vlastností sýru se podílejí i chemické změny tuku. V tvrdých sýrech tuk podléhá všeobecně malým změnám [1]. Na obrázku 2.7 je naznačené celkové schéma lipolýzy.

Při štěpení tuku v důsledku působení enzymů vznikají převážně volné mastné kyseliny, které se ovšem rozkládají dále na látky jednodušší jako methylketony, estery, alkoholy a laktony [6, 9, 11]. Ty se velkou měrou podílejí na výsledné chuti a aroma sýru.

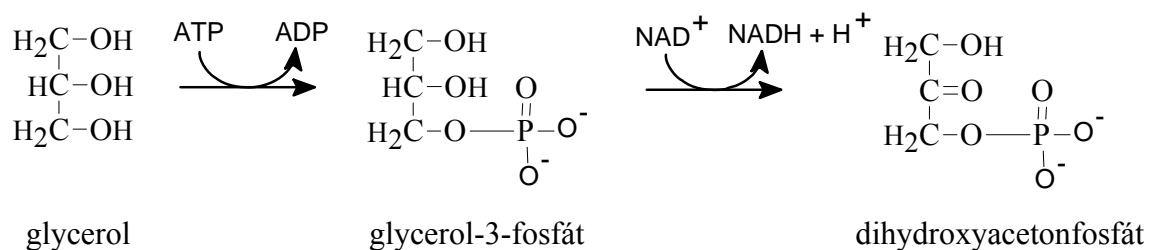


Obrázek 2.7.: Schéma rozkladu tuků v sýrech [6]

Acylglyceroly jsou hydrolyzovány mikrobiálními lipasami na glycerol a mastné kyseliny.



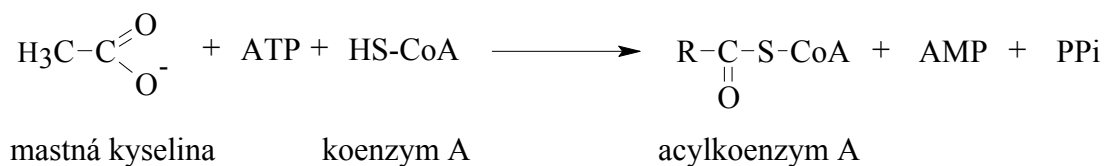
Glycerol je působením mikroorganismů odbourán na jednoduché alkoholy, oxid uhličitý a vodu, nebo je přeměněn na triosafosfát a vzniklý dihydroxyacetonfosfát vstupuje do glykolytického cyklu [21, 40].



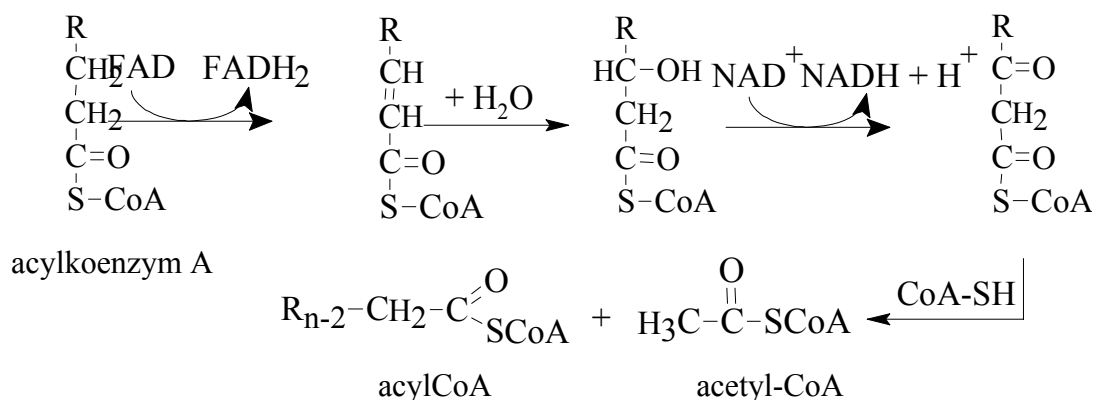
Negativně je posuzována přítomnost propenalů, jiným názvem akrolein. Je to ostře, dráždivě páchnoucí aldehyd s toxickými účinky. Vzniká z přehřátých tuků (triacylglycerolů) nebo přímo dehydratací volného glycerolu [14].

Volné mastné kyseliny přispívají k aroma plísňových sýrů přímo i nepřímo jako prekursori dalších aromatických látek např. methylketonů, alkoholů, laktonů a esterů [21, 37], nebo jsou odbourány β -oxidací. Jde o cyklický pochod, který postupně zkracuje řetězec mastné kyseliny o dva uhlíky. Proces se opakuje tak dlouho, dokud se celá kyselina nerozloží na acetylové zbytky vázané na acetyl-CoA [14, 21, 40, 41]:

V první fázi dochází k aktivaci mastné kyseliny pomocí acyl-CoA-synthetasy za součinnosti koenzymu A a ATP [21, 40].

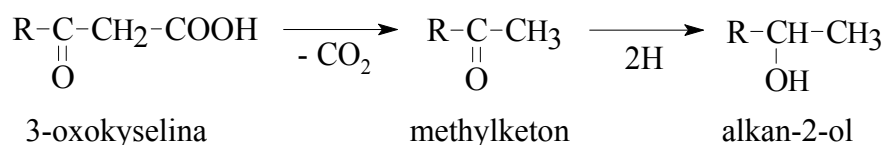


Vlastní β -oxidace zahrnuje dvě po sobě jdoucí dehydrogenace s vloženou hydratací. První dehydrogenace vede k vytvoření dvojné vazby mezi alfa a beta uhlíkem působením flavoproteinové dehydrogenasy. Následuje adice vody na nenasycený produkt za katalýzy enzymem krotonasou a další dehydrogancí p-hydroxyacyldehydrogenasou se vytvoří β -oxo-acyl-CoA. Vzniklý produkt je jako thioester velmi labilní. Mezi alfa a beta uhlík původní mastné kyseliny vstoupí nová molekula CoA a z řetězce se uvolní jednotka acetyl-CoA. Tato reakce je klíčovým stupněm Lynenovy spirály a je katalyzována acyltransferasou β -oxo-thiolasou [17, 31, 40].



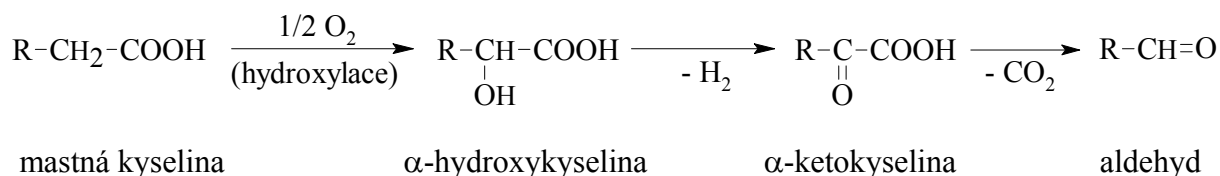
Nenasycené mastné kyseliny se odbourávají stejně, ale až po přesmyku dvojně vazby do polohy $\alpha - \beta$ zajištěném zvláštním enzymem. U mastných kyselin s lichým počtem atomů uhlíku je koncovým produktem propionyl-CoA. Ten se převede karboxylací na sukcinyl-CoA. Spolu s acetylem-CoA vstupuje do citrátového cyklu, kde se štěpí na oxid uhličitý za uvolnění značného množství energie [21].

Dekarboxylací acetocetové kyseliny, která se tvoří jako meziprodukt degradace mastných kyselin β -oxidací, vzniká propanon (aceton). Je to nejrozšířenější keton. Poměrně značné množství vzniká při butanolovém-octovém kvašení. Jako další aromatické složky potravin se vyskytují alifatické nasycené a nenasycené ketony, např. pentan-2-on, heptan-2-on, nonan-2-on, undekan-2-on [14].



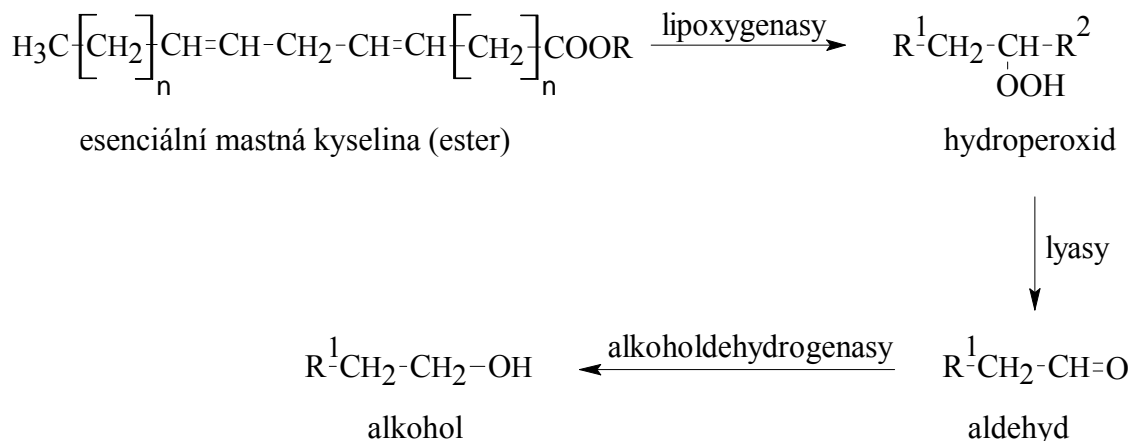
Vyšší methylketony vznikají také jako produkty oxidace nasycených mastných kyselin.

Aldehydy také mohou být produktem kromě alkoholového či mléčného kvašení i α -oxidace mastných kyselin [14].



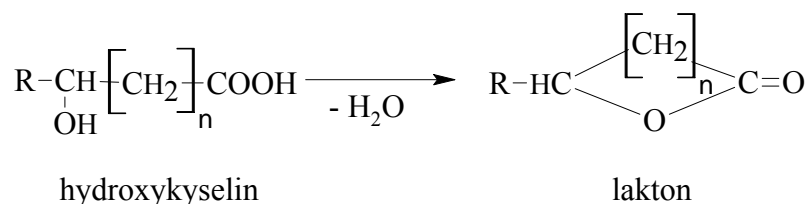
Nevítanou reakcí v sýrech je oxidace kyseliny olejové. Při této oxidaci může vzniknout celá řada vedlejších a přechodných produktů, aldehydů, ketonů a oxokyselin. Kyselina olejová se může rovněž oxidovat vzdušným kyslíkem, což vede k tvorbě peroxidu kyseliny olejové, jehož rozkladem vzniká oxid a další produkty obvykle nepříjemného lojovitého zápachu [9, 17].

Aldehydy především ale vznikají oxidací lipoxygenasami. Primárním produktem oxidace jsou příslušné hydroperoxy, které se štěpí na aldehydy a další produkty. Vyšší alkoholy se tvoří redukcí nasycených nebo nenasycených aldehydů alkoholdehydrogenasami [14].



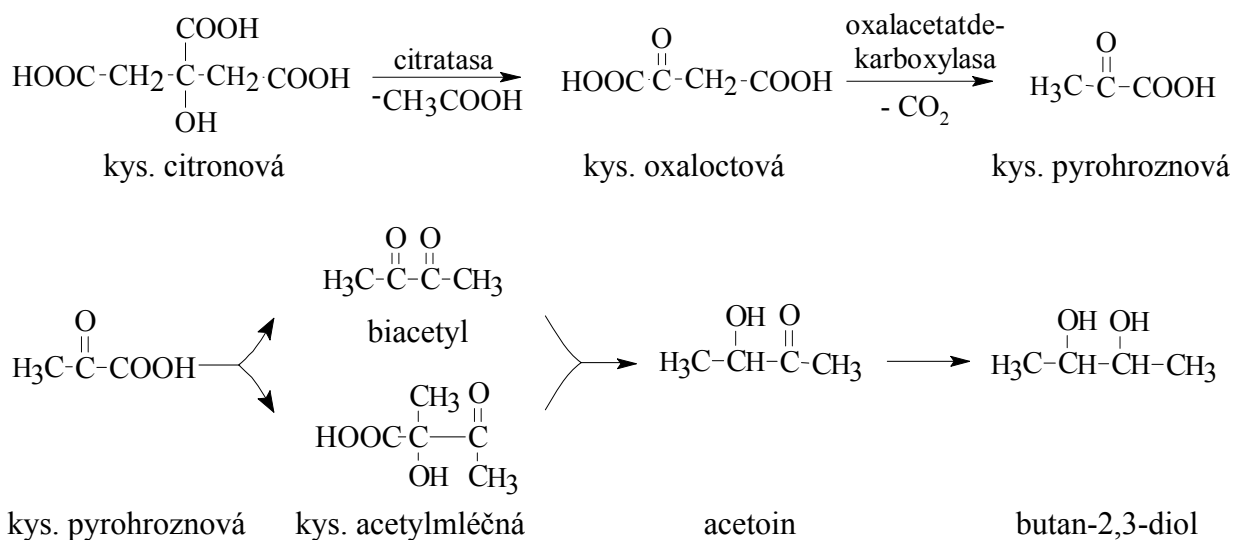
Estery mastných kyselin mohou vznikat esterifikací kyselin alkoholy, acidolýzou, alkoholýzou nebo esterovou výměnou.

Zahřátím γ - a δ -hydroxykyselin dochází k intramolekulární esterifikaci za zniku laktonů. Laktony jsou vnitřní estery hydroxykyselin. Nejjednodušším laktonem je γ -butyrolakton. Jako složky mléčných výrobků se uplatňují γ - a δ -laktony některých nižších a vyšších hydroxykyselin s přímým řetězcem, např. γ -dekalakton, γ -dodekalakton, δ -dekalakton, δ -dodekalakton, aj [14].



2.3.4. Ostatní sloučeniny

Z organických sloučenin se dále v sýrech rozkládá kyselina citronová, která se zapojuje do glykolytického štěpení laktosy. Přes pyruvát se cestou acetaldehyd-thiaminpyrofosfátového komplexu konvertuje na α -acetolaktát a dále na acetoin, nebo se dekarboxyluje na biacetyl. Působení acetoindehydrogenásou se může biacetyl redukovat zpátky na acetoin. Konečným produktem je butan-2,3-diol [18, 14, 31,42].



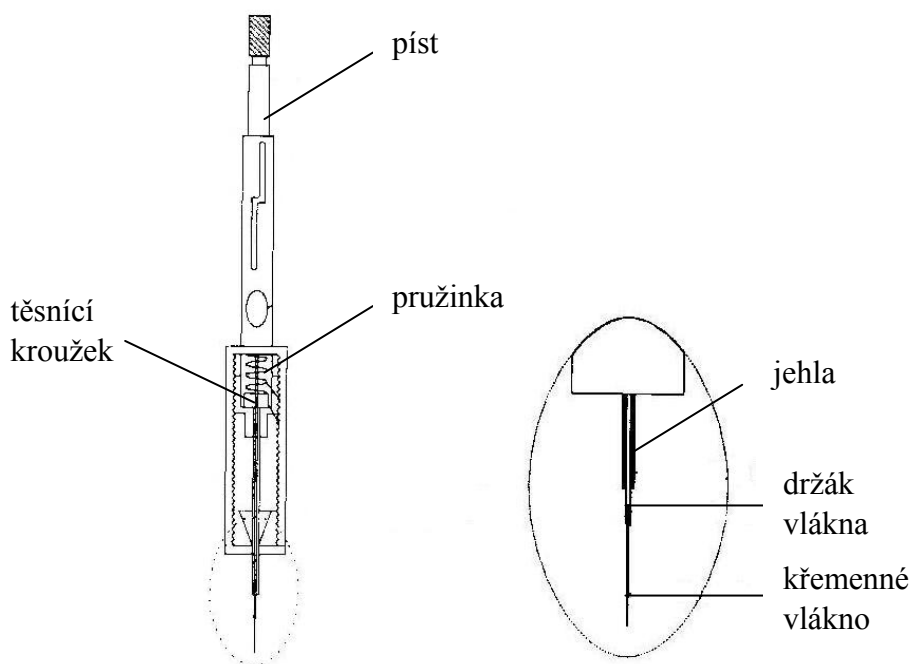
2.4. Metoda stanovení aromatických látek

Aromatické látky jsou chemicky definované látky vyznačující se aromatem, tj. působí na čichové a chuťové receptory člověka a vyvolávají vjem vůně nebo vůně a chuti. Z chemického hlediska jsou to látky těkavé, tedy s nízkou molekulovou hmotností. Jde zejména o alkoholy, estery, karbonylové sloučeniny, uhlovodíky, terpeny, nižší mastné kyseliny, acetáty, různé dusíkaté a sírné sloučeniny. Označujeme je jako sekundární aromatické látky. Jejich obsah v potravinách se často pohybuje na hranici stopového množství, proto je potřeba tyto složky před vlastní analýzou zkoncentrovat [43]. Moderní a sofistikovanou metodou zachycení aromatických látek v jednom kroku je mikroextrakce pevnou fází (SPME) [44]. Vzhledem k prchavosti aromatických látek je vhodná na další analýzu plynová chromatografie (GC). Kombinace těchto dvou metod, SPME/GC, je v současné době využívána mnoha autory pro stanovení aromaticky aktivních látek v sýrech i jiných mléčných výrobcích. Pinho ji použil ke stanovení těkavých volných mastných kyselin [45].

2.4.1. SPME

Solid phase microextraction neboli mikroextrakce pevnou fází je jednoduchá a účinná izolační sorpčně-desorpční technika zkoncentrování analytu, která při odebrání vzorku nevyžaduje rozpouštědlo ani složitou aparaturu [46].

Metoda je vhodná pro analýzu stopových množství analytů v širokém spektru vlastností od netěkavé až po extrémně těkavé, od nepolárních po polární látky. Používá se jak pro stanovení kvalitativní, tak i pro kvantitativní. Výhodou SPME je rychlost, selektivita, nízké náklady, reprodukovatelnost a kompatibilita s metodami koncového stanovení jako je plynová nebo kapalinová chromatografie. V neprospěch mluví křehkost vlákna a jeho omezená životnost a nízká schopnost zachytit těkavé molekuly o malé relativní hmotnosti [47].



Obrázek 2.8: Schéma SPME vlákna [48]

Základem je křemenné vlákno dlouhé asi 1 cm, pokryté různými typy sorpční vrstvy, které jsou vybírány tak, aby k nim stanovované složky měly co nejvyšší afinitu. Vlákno je spojené s pístem a umístěno v duté ocelové jehle, které vlákno chrání před mechanickým poškozením (obrázek 2.8) [46]. Podle sorpčního mechanismu lze stacionární fáze rozdělit do dvou skupin. Adsorbenty jsou homogenní čisté polymery. Nejvíce se používá polydimethylsiloxan (PDMS), který může být ve vázané formě (stabilní ve všech organických rozpouštědlech) nebo v nevázané formě (stabilní ve všech organických rozpouštědlech mísitelných s vodou), a polyakrylát (PA) s částečně síťovanou fází. Adsorbenty rozumíme suspendované porézní částice v částečně zesíťovaném polymeru např. divinylbenzen (DVB) a CarboxenTM (CARTM). Tyto vlákna mají nižší mechanickou stabilitu, ale vyšší selektivitu [49].

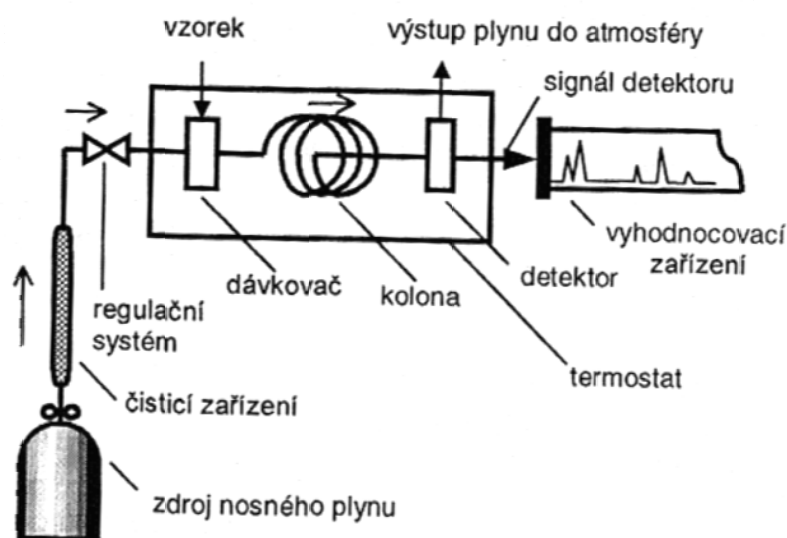
Principem extrakce je expozice malého množství extrakční fáze nadbytkem vzorku. Analyty jsou sorbovány na SPME vlákno dokud není dosaženo rovnováhy. To znamená, že nemusí dojít k úplnému vyextrahování složky ze vzorku. Netěkavé látky můžeme získat vložením vlákna přímo do analyzovaného vzorku, těkavé z plynné fáze nad vzorkem. Jedná se o techniku zvanou headspace SPME [46, 47]. Da-Mi Jung použila tento způsob pro studium těkavosti vybraných aromatických látek [50]. Způsob desorpce se volí podle navazující metody stanovení. U plynové chromatografie desorbujeme termicky, kdy se jehla zavedeme přímo do injektoru. Pomocí rozpouštědla se desorbuje u kapalinové chromatografie. Účinnost desorpce závisí na tloušťce stacionární fáze a také na teplotě. Musí být vyšší než bod varu většiny analyzovaných sloučenin [46, 47].

Metoda SPME je citlivá na dodržování konstantních podmínek. Extrakční doba je kritický parametr SPME extrakce. Důležité je dosáhnout rovnovážného stavu. Závisí na vlastnostech analyzované látky a také na sorpční vrstvě. Také teplota ovlivňuje délku extrakce, výtěžnost a citlivost reakce. Příliš vysoká teplota může vést k degradaci vzorku. Míchání u molekul s vyšší molekulovou hmotností a vysokým difúzním koeficientem zlepšuje extrakci a zkracuje čas, protože urychluje transport analytu k vláknu. Adsorpci analytu také zvyšuje ultrazvuk. Zároveň ale vede k zahřívání vzorku. Může tak dojít k jeho odpaření zlepšení způsobu headspace [46, 47]. Při extrakci netěkavých látek vede přidavek 20 – 30 hm% chloridu sodného nebo úprava pH ke zvýšení iontové síly roztoku a snižuje se tak rozpustnost analytů. Tím roste účinnost extrakce bez rizika produkce nových těkavých sloučenin, jak uvádí ve své studii LEE [51]. Vysolování se ale nedoporučuje pro vysokomolekulární látky. Nevýhodou NaCl je zkrácení životnosti SPME vlákna. Objem a koncentrace vzorku má taky vliv na výsledek. U vyšších koncentrací (5 ml) není množství extrahované látky lineární se změnou koncentrace [46, 47].

2.4.2. Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je separační technika založená na ustavování distribuční rovnováhy složek analyzované směsi mezi stacionární (nepohyblivou) fází v umístěnou v koloně a mobilní fází, která stacionární fází prochází. Stacionární fáze bývá pevný adsorbent nebo kapalina, mobilní fází je tzv. nosný plyn. Rovnováha se ustavuje na základě rozdílných fyzikálně-chemických interakcí složek dělené směsi vůči těmto fázím [52]. Při separaci se může uplatňovat několik interakcí současně např. adsorpce, rozpouštění, elektrostatické síly, síťový efekt, afinita, ale jedna z nich převládá [53, 54]. Podle ní pak chromatografii označujeme.

Plynovou chromatografií lze analyzovat plyny, nedisociované kapaliny, pevné organické molekuly a většinu organokovových sloučenin, jejichž molekulová hmotnost nepřesahuje hodnotu 1 000 [53].



Obrázek 2.9: Schéma plynového chromatografu [53]

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující inertní plyn, kterým může být vodík, dusík, vzduch, argon nebo jejich směs (obrázek 2.9). Volba nosného plynu je určena druhem kolony a detektorem [54]. Aby nedošlo k poškození kolony, vkládá se do systému čistící zařízení, které z nosného plynu zachycuje vlhkost, nečistoty a zejména reaktivní kyslík. Průtok nosného plynu je regulován mechanickým nebo elektronickým regulátorem [53].

Termostat má v plynovém chromatografu velmi důležitou funkci. Udržuje vzorek od nastříknutí až po detektor v plynné formě. Teplota se může programově měnit a tím urychlit separaci složek [52].

K odpaření a zavedení vzorku do proudu nosného plynu slouží injektor. Vzorek by se měl do kolony vpravit co nejrychleji a množství by mělo zaujmout prostor odpovídající jednomu teoretickému patru [54]. Plynné vzorky dávkuje plynotěsnými injekčními stříkačkami nebo pomocí obtokového kohoutu. Kapalné vzorky pomocí mikrostříkaček. Účinnost separace závisí na správném nástřiku vzorku. Vzorek můžeme aplikovat nad ústí kolony umístěné na konci injektoru, nebo přímo na kolonu. On-column (přímo do kolony) dávkování se uplatňuje na vzorky, jejichž složky se rozkládají těsně nad bodem varu. Nastříknutí musí být provedeno rychle, aby nedošlo k rozmytí zón. Pro vysoce koncentrované vzorky využijeme nástřik pomocí děliče toku (split injection). Na kolonu se dostane jen zlomek injektovaného množství (0,1 – 1 %), zbytek odchází ve formě odpadu. Na stopovou analýzu využijeme zase dávkování bez děliče toku (splitless injection). Na kolonu pomalu dávkuje větší objemové množství a necháme odpařit. Tento způsob můžeme doplnit o koncentrátor na počátku kolony, kdy se vzorek zachycuje na vhodný adsorbent a termickou desorpcí se uvolňuje do kolony. Účinnou moderní metodou je aplikace mikroextrakce pevnou fází [53].

Vlastní separace látek probíhá v chromatografické koloně. Nastříknutá směs látek putuje kolonou prostřednictvím inertní mobilní fáze. Aby došlo ke správnému rozdělení, musí udržovat dostatečný tlak a vhodná teplota [62]. Hlavní podmínkou úspěšného využití

rozdělovací plynové chromatografie je volba stacionární fáze. Podle způsobu uložení stacionární fáze rozděluje kolony na náplňové a kapilární. Stacionární fáze by měly být teplotně odolné, netěkavé, polaritu volíme podle charakteru dělených složek. Náplňové kolony jsou vyrobeny z oceli nebo skla. Jako adsorbent se používá silikagel, aktivní uhlí a hlinitokřemičitany. Nosičem kapalné fáze mohou být siloxany a polyethylenglykoly. Moderní verze náplňové kolony je mikronáplňová. Kapilární kolony využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny. Vyrábějí se obvykle z taveného křemene. Před mechanickými a fyzikálními vlivy je obalena ochrannou polyimidovou nebo hliníkovou vrstvou. Mobilní vrstva může být jako tenký film na stěně kapiláry nebo je zakotvena na nosiči zachyceném na vnitřní stěně kapiláry. Jiné kolony mohou obsahovat tenkou vrstvu pórovitého materiálu [53, 54, 55].

Detektor reaguje na změnu složení mobilní fáze a převádí ji na elektrický signál. Detektor musí mít nízký detekční limit, vysokou selektivitu a lineární odezvu. Nejčastěji používaný detektor je tepelně vodivostní (thermal conductivity detektor). Sleduje změnu tepelné vodivosti nosného plynu proudícího přes rozžhavené vlákno. Přítomnost určité složky tak změní jeho teplotu a el. odpor. Ionizační detektory fungují na principu vedení elektřiny v plynech. Plamenově ionizační detektor je plynové chromatografii velmi často používaný pro jeho citlivost a univerzálnost. Molekuly plynu se ionizují v kyslíkovém plameni a vedou ionizační proud mezi elektrodami. Podobnou konstrukci detektoru má plamenově temoionizační s alkalickým kovem. Mezi další detektory používané v kombinaci s GC je detektor elektronového záchytu, fotoionizační, atomový emisní detektor. Nezastupitelný význam pro identifikaci neznámých složek má kombinace GC s hmotnostním spektrometrem [53, 54]. Mnozí autoři, např. Pérès a Valero ho použili pro charakterizaci těkavých složek sýrů [55, 56]

2.5. Senzorická analýza

Senzorické anebo smyslové hodnocení potravin patří mez nejstarší způsoby kontroly jakosti, které se navzdory současnému vysokému stupni rozvoje objektivních, zejména analytických metod, udrželo v každodenní praxi potravinářského průmyslu dodnes [43]. Pro spotřebitele je to také jediný způsob, jak zjistit kvalitu potraviny nebo si popřípadě vybrat z široké nabídky podobných produktů “ten pravý”.

Senzorická analýza je poměrně mladý vědecký obor, definován jako hodnocení potravin bezprostředně našimi smysly, včetně zpracování výsledků lidským centrálním nervovým systémem. Analýza probíhá za takových podmínek, kde je zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření [58].

To znamená, že do sensorického hodnocení se promítají nejen údaje ze smyslů, nejčastěji z chuťového a čichového, ale i zrakového, sluchového a hmatového, ale i dosavadní zkušenosti, pocity a emoce hodnotitele. Výsledek analýzy může tedy ovlivnit např. jak se hodnotitel cítí, je-li unaven, nebo má zhoršený zdravotní stav, citlivost smyslů, zkušenost, věk, pohlaví, okolní prostředí apd. Proto je potřeba vytvořit takové podmínky, aby co nejvíce odstranily rušivé vlivy, zlepšila se tak přesnost stanovení a dosáhlo se tak reprezentativních výsledků [58, 59, 60].

Mezi takové podmínky patří požadavky na vybavení sensorických laboratoří (definované mezinárodní normou ČSN ISO 8589), nádobí a způsob servírování, schopnosti hodnotitelů, délku hodnocení a samotnou techniku sensorického hodnocení.

Senzorická analýza patří tedy do skupiny takzvaných psychometrických metod, protože se jí stanoví přijatelnost nebo intenzita vjemu, nikoli složení potravin nebo koncentrace sensoricky aktivní látky [60].

2.5.1. Způsoby sensorického hodnocení

Vhodnou metodu sensorického hodnocení volíme podle cíle, kterého bychom chtěli dosáhnout, podle počtu a kvality hodnotitelů, množství vzorků a dalších faktorů [60].

Metody rozdílové

Cílem je zjistit, zda mezi předloženými vzorky existuje rozdíl v sensorické jakosti nebo v některém jejím znaku, příjemnosti nebo intenzitě.

Metody pořadové

Posouzení pořadovou zkouškou se užívá, je-li potřeba zjistit existenci rozdílu mezi větším počtem vzorků. Úkolem hodnotitele je seřadit vzorky podle příjemnosti či intenzity zkoumaného znaku.

Hodnocení srovnáním se standardem

Při těchto zkouškách hodnotitel obdrží standard a má za úkol určit, zda neznámý vzorek odpovídá standardu nebo se liší. Na rozdíl od ostatních metod můžeme zjistit kromě existence rozdílu i jeho velikost.

Hodnocení s použitím stupnic

Tyto metody jsou v praxi nejrozšířenější, protože jimi lze dobře kvantitativně vyjádřit jakostní rozdíly mezi vzorky. Pomocí nominálních stupnic lze rozhodnout jsou-li dvě hodnoty stejné nebo rozdílné. Ordinální stupnice umožňují určit také taky směr rozdílu, tzn. vytvořit pořadí. Stupně můžeme vytvořit formou slovního popisu, přičemž ale velikost intervalů není přesně kvantifikovaná nebo číselně, v tom případě je nutné stupnici orientovat. Kromě toho ještě existují intervalové stupnice, které se v sensorické analýze téměř nevyskytují a poměrové stupnice.

Magnitudové metody

Magnitudové metody využívají jednoduché vyjádření výsledků v poměrových stupních. Kromě číselných poměrů lze výsledek také vyjádřit graficky.

Metody slovního popisu

Je to nejstarší technika v sensorické analýze, kdy se posuzovatelé mohou volně slovně vyjádřit k hodnocenému vzorku. Vyžaduje již určitou zkušenost, pro ulehčení se někdy předkládá seznam vhodných termínů.

Profilové metody

Používá pro stanovení charakteru chuti, vůně a textury. Celkový vjem se rozdělí na dílčí vjemy (deskriptory), u nichž se určuje intenzita. Na základě několika hodnocených vlastností se pak stanoví sensorický profil potravin [60]. Tímto způsobem lze popsat charakteristický profil sýru velmi podrobně, pokud máme k dispozici dostatečně zkušené hodnotitele.

Například Suriyaphan ve své studii popsal flavour čedaru jako zemitý, po pepři, fenolický po kravách [61].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Chemická analýza

Pro stanovení aromaticky aktivních látek ve vzorcích eidamského sýru byla vybrána metoda mikroextrakce pevnou fází v kombinaci s plynovou chromatografií (SPME/GC). Tuto metodu také použili Mondello a Verzera při stanovení aromatických komponent v sicilském kozím sýru [63, 64].

3.1.1. Přístroje

- ~ Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB-WAX o rozměrech 30 m x 0,32 mm x 0,5 μ m
- ~ Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- ~ Analytické digitální váhy HELAGO, GR 202
- ~ Chladnička s mrazničkou AMICA, model AD 250
- ~ Vodní lázeň VEB MLW PRÜFGERÄTE, typ U2C
- ~ Sušárna MEMMERT

3.1.2. Pracovní pomůcky

- ~ SPME vlákno SUPELCO Fiber s polární stacionární fází CARTM/PDMS o tloušťce filmu 85 μ m
- ~ Mikropipety BIOHIT PROLINE (objem 0,5 – 100 μ l), jednorázové špičky, držák na pipety
- ~ Skleněné pipety 1ml, pipetovací balónek
- ~ Vialky o objemu 4 a 40 ml, kaučuk-teflonové septum, šroubovací uzávěr
- ~ Odměrné baňky o objemu 10 – 100 ml
- ~ Parafilm PECHINEY PLASTIC PACKAGING
- ~ Nůž, nůžky, nerezové struhadlo, nerezová špachtle, dřevěné prkénko, lihový teploměr, držák a stojan na SPME extraktor
- ~ Přenosný chladicí box

3.1.3. Plyny

- ~ Dusík N₂ 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem s kovovou membránou
- ~ Vzduch 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem pro kyslík
- ~ Vodík H₂ 5.5 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem

3.1.4. Použité chemikálie

Tabulka 3.1: Seznam použitých chemikálií

Chemikálie	Výrobce	Původ
2-oktanol	Fluka	Chemie Švýcarsko
3-(methylthio)-propionaldehyd	Sigma Aldrich	Německo
5-dekanolid	Fluka	Chemie Švýcarsko
Acetaldehyd	Merck	Německo
Acetoin pro syntézu	Merck	Německo
Aceton p. a.	Lachema	Brno
Acetondimethylacetal	Fluka	Chemie Švýcarsko
Benzaldehyd	Reachim	Rusko
Benzylalkohol pro syntézu	Merck	Německo
Butan-2,3-diol	Merck	Německo
Butan-2,3-dion	Fluka	Chemie Švýcarsko
Butan-1-ol	Lachema	Brno
Butylacetát	Lachema	Brno
Dekan-1-ol pro syntézu	Merck	Německo
Destilovaná voda		
Ethanol 96 % (V/V)	Lach:ner	Neratovice
Ethylacetát	Lachema	Brno
Ethylbutyrát pro syntézu	Merck	Německo
Ethylkaprinát pro syntézu	Merck	Německo
Ethylkaprylát	Merck	Německo
Fenylacetaldehyd	Sigma Aldrich	Německo
Fenylacetát	Sigma Aldrich	Německo
Fenytethanol pro syntézu	Merck	Německo
Furfural pro syntézu	Merck	Německo
Heptalaldehyd	Sigma Aldrich	Německo
Heptan-2-ol pro syntézu	Merck	Německo
Heptan-2-on pro syntézu	Merck	Německo
Hexan-1-ol pro syntézu	Merck	Německo
Hexanal	Sigma Aldrich	Německo
Isoamylalkohol pro syntézu	Merck	Německo
Isobutanol	Lachema	Brno
Isomáselná kyselina pro syntézu	Merck	Německo
Isopropanol	Lachema	Brno
Isovaleraldehyd	Fluka	Chemie Švýcarsko
Isovalerová kyselina pro syntézu	Merck	Německo
Kapronaldehyd	Fluka	Chemie Švýcarsko

Chemikálie	Výrobce	Původ
Kapronová kyselina	Merck	Německo
Kaprylová kyselina	Reachim	Rusko
Máselná kyselina	Fluka	Chemie Švýcarsko
Methanol	Lach:ner	Neratovice
Methylacetát	Riedel-de Häen	Hannover
Methylisobutylketon	Lachema	Brno
Methylpropylketon pro syntézu	Merck	Německo
Mléčná kyselina	Fluka	Chemie Švýcarsko
n-amylalkohol	Lachema	Brno
n-nonanol	Reachim	Rusko
n-oktanol	Lachema	Brno
Nonan-2-ol pro syntézu	Merck	Německo
Nonan-2-on pro syntézu	Merck	Německo
Octová kyselina	Lach:ner	Neratovice
Okt-1-en-3-ol	Fluka	Chemie Švýcarsko
Pentan-2-ol pro syntézu	Merck	Německo
Propanol	Lachema	Brno
Propionaldehyd pro syntézu	Merck	Německo
Propionová kyselina pro syntézu	Merck	Německo
Propylacetát	UCB	Belgie
Sekundární butanol	Reanal	Maďarsko
Šťavelová kyselina 99 % p. a.	Lachema	Brno
Terciální Butanol	Lachema	Brno
Undekan-2-on pro syntézu	Merck	Německo

3.1.5. Podmínky SPME/GC analýzy

- ~ Teplota vodní lázně 35 °C
- ~ Temperování vzorku 30 min, doba extrakce na SPME vlákno 20 min
- ~ Desorpce: splitless injection do GC – ventil uzavřen po dobu 5 minut, teplota injektoru 250 °C
- ~ Nosný plyn dusík N₂, optimální průtok 0,9 ml.min⁻¹
- ~ Teplotní program: 40 °C s výdrží 1 minutu, vzestupný gradient 5 °C za minutu do 200 °C s výdrží 7 minut, celková doba analýzy 40 minut
- ~ Detektor FID (plamenově ionizační), teplota 220 °C, průtok vodíku 35 ml.min⁻¹, průtok vzduchu 350 ml.min⁻¹, make-up dusíku 30 ml.min⁻¹.

Metoda SPME/GC analýzy pro sýry je převzatá z předchozích diplomových prací uvedených v seznamu zdrojů [65, 66, 67].

3.1.6. Vzorky

Společnost MILTRA B s. r. o. Městečko Trnávka¹ poskytla k analýze aromaticky aktivních látek v eidamských sýrech vzorky svého sýru s 30 % tuku v sušině (tabulka 3.2).

K analýze byly použity dvě sady vzorků, které se postupně odebíraly přímo při výrobě. Každá sada vzorků vždy zahrnovala odběry z jedné výrobní šarže od mléka určeného pro výrobu až po zralý sýr. Seznam a časový sled odběrů je zaznamenán v tabulce 3.3.

Tabulka 3.2: Složení eidamského salámového polotvrdého sýru 30 % [68]

Hmotnost:	100 g
Sušina:	50 %
Tuk v sušině:	30 %
Složení:	mléko, jedlá sůl, mlékárenské kultury, barvivo E160b ²
Minimální trvanlivost:	60 dní
Typ obalu:	ochranná atmosféra



Vzorky v tekutém skupenství byly uzavřeny ve 40 ml vialkách se šroubovacím uzávěrem a plynotěsným kaučuk-teflonovým septem, tuhé vzorky byly po odběru zabaleny zařízením Cryovac. Vzorky byly uloženy do přenosného chladicího boxu, udržovány při teplotě 0 – 4 °C a po transportu uchovávány v ledničce až do analýzy [65].

3.1.7. Analýza aromatických látek ve vzorcích

K zachycení aromatických látek mikroextrakcí bylo vybráno křemenné vlákno pokryté porézními carboxenovýmiTM částicemi rozsuspendovanými v polydimethylsiloxanu o tloušťce 85 μm. Je z hlediska svých vlastností nejvhodnější, jak tvrdí mnozí autoři. Např. při optimalizaci podmínek HS-SPME v práci Laurenta Leacau poskytovalo nejlepší výtěžky [69].

Před každou sérií měření bylo SPME vlákno kondicionováno 30 minut v injektoru plynového chromatografu o teplotě 250 °C, aby se odstranily zbytky sloučenin, které mohly být případně zachycené na SPME vlákne z předchozích měření.

Do vialky byl navážen 1 g stanovovaného vzorku a uzavřen šroubovacím uzávěrem s plynotěsným kaučuk-teflonovým septem. Vialka se umístila do vodní lázně o teplotě 35 °C, kde se nechal vzorek 30 minut temperovat, aby se ustavila rovnováha mezi vzorkem a headspace prostorem nad ním [46].

Připravené vlákno se zasunulo pomocí SPME extraktoru přes septum do headspace prostoru vytemperované vialky. Doba extrakce těkavých aromatických sloučenin byla stanovena na 20 minut. Poté bylo vlákno zatažené v extraktoru ihned přeneseno do injektoru plynového chromatografu a spuštěn program GC analýzy (viz kapitola 3.1.5). V injektoru je analyt desorbován pomocí vysoké teploty a nesen na GC kolonu.

¹ Mlékárna MILTRA B s. r. o. Městečko Trnávka získala 1. místo v kategorii sýrů 20 – 30 % t. v s. na Celostátní přehlídce sýrů v letech 2002 – 2007 [68].

² Barvivo E160b – bixin, norbixin. [70]

Tabulka 3.3: Přehled odběrů vzorků

Odebraný vzorek:	Šarže I		Šarže II	
	Datum odběru:	Stáří vzorku:	Datum odběru:	Stáří vzorku:
Mléko (past., stand.)	12. 1. 2009	0 min	16. 1. 2009	0 min
Sýřenina	12. 1. 2009	43 min	16. 1. 2009	1 hod 12 min
Sýřenina po krájení	12. 1. 2009	1 hod 3 min	16. 1. 2009	1 hod 30 min
Sýřenina po napuštění prací vody	12. 1. 2009	1 hod 42 min	16. 1. 2009	2 hod 11 min
Sýřenina po dosoušení	12. 1. 2009	2 hod 6 min	16. 1. 2009	2 hod 31 min
Sýr po lisování	12. 1. 2009	3 hod 52 min	16. 1. 2009	4 hod 21 min
Sýr po vysolení	13. 1. 2009	22 hod 56 min	17. 1. 2009	23 hod 53 min
Zrající sýr	26. 1. 2009	14 dní	26. 1. 2009	10 dní
	2. 2. 2009	21 dní	2. 2. 2009	17 dní
	9. 2. 2009	28 dní	9. 2. 2009	24 dní
	16. 2. 2009	35 dní	16. 2. 2009	31 dní
	23. 2. 2009	42 dní	23. 2. 2009	38 dní
	2. 3. 2009	49 dní	2. 3. 2009	45 dní

Extrahované aromatické látky sýru byly identifikovány pomocí připravených sad standardů uvedených v tabulce 3.4. Koncentrované standardy byly naředěny ve vhodném poměru destilovanou vodou. 1 ml směsi se napipetoval do 4 ml vialky a byl analyzován stejným způsobem jako vzorky sýrů.

Tabulka 3.4: Sady standardů

SADA 1	SADA 2	SADA 3	SADA 4
Aceton	Acetaldehyd	Pentan-2-ol	n-amylalkohol
Butan-2,3-dion	Propionaldehyd	Isoamylalkohol	Heptan-2-ol
Heptan-2-on	Isovaleraldehyd	Hexan-1-ol	Okt-1-en-3-ol
Acetoin	Kapronaldehyd	Dekan-1-ol	n-oktanol
Nonan-2-on	Furfural	Benzylalkohol	Fenyltethanol
Undekan-2-on			
SADA 5	SADA 6	SADA 7	SADA 8
Methanol	Kapronová kyselina	Šťavelová kyselina	Acetondimethylacetal
Isopropanol	Propionová kyselina	Octová kyselina	Hexanal
Propanol	Isomáselná kyselina	Máselná kyselina	Heptalaldehyd
Isobutanol	Isovalerová kyselina	Kaprylová kyselina	Benzaldehyd
Butan-1-ol	Mléčná kyselina		

SADA 9	SADA 10	SADA 11	SADA 12
Ethylacetát	Methylacetát	Methylpropylketon	Ethanol
Ethylbutyrát	Propylacetát	Methylisobutylketon	Sek. butanol
Ethylkaprylát	Butylacetát	5-dekanolid	Nonan-2-ol
Fenylacetát	Ethylkaprinát		
SADA 13	SADA 14	SADA 15	
Butan-2,3-diol	Terc. butanol	3-(methylthio)-propionaldehyd	
2-oktanol	n-nonanol	Fenylacetaldehyd	

3.1.8. Vyhodnocení výsledků SPME/GC analýzy

Výsledky chemické analýzy byly zpracovány v Microsoft Office Excel 2007.

Koncentrace aromatických látek se stanovovala pomocí níže uvedeného vztahu.

$$c_i = \frac{A_i}{A_s} \cdot c_s \quad (3.1)$$

c je koncentrace v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; A vyjadřuje plochu píku, index i označuje vzorek a s standard [53].

Zjištěné údaje byly vyhodnoceny pomocí následujících statistických testů.

Aritmetický průměr \bar{x} je nejčastěji používaná funkce odhadu polohy. Pro normální rozdělení je charakterizován jako střední hodnota souboru dat x_1, \dots, x_n .

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad \text{kde } n \text{ je počet hodnot } x \quad (3.2)$$

Mírou rozptýlení souboru hodnot x_1, \dots, x_n je rozptyl s^2 , respektive jeho odmocnina s nazývaná směrodatná odchylka. Vyjadřuje, jak se hodnoty liší od průměrné (střední) hodnoty.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{kde } n \text{ je počet hodnot } x \quad (3.3)$$

Celkovou míru nepřesnosti měření pak zobrazuje interval spolehlivosti μ .

$$\mu = \bar{x} \pm t_{\alpha, v} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (3.4)$$

kde \bar{x} je aritmetický průměr; $t_{\alpha, v}$ je studentův tabelovaný koeficient (hladina významnosti α je pravděpodobnost s jakou se odhadovaný populační parametr (μ) neocitne v intervalu

spolehlivosti při opakovaném provádění výběru; stupeň volnosti v je počet nezávislých hodnot), s představuje směrodatnou odchylku a n je počet hodnot x [71, 72].

3.2. Senzorická analýza

Kvalita sýru je určena jeho chutností (chuť a vůně), strukturou (tvrdost, soudržnost, pružnost, krájitelnost) a vzhledem (barva, stejnorodost, přítomnost sýrových ok nebo prasklin) [42]. Pomocí vybraných sensorických metod zhodnotíme tyto parametry ve vybraných vzorcích eidamského sýru.

3.2.1. Pracovní pomůcky a zařízení

- ~ Petriho misky, tác, plastové kelímky, ubrousky, kádinky 400 ml, psací potřeby
- ~ Nůž, dřevěné prkénko
- ~ Chladnička s mrazničkou Whirpool

3.2.2. Vzorky

K sensorickému hodnocení se použije část vzorků eidamského sýru 30 % t. v s.¹ odebraných v mlékárně Miltra s. r. o. Městečko Trnávka uvedených v tabulce 3.5. Podrobnosti o vzorcích jsou uvedeny v předešlé kapitole 3.1.6.

Tabulka 3.5: Vzorky sýrů použité pro sensorickou analýzu

Odebraný vzorek:	Šarže I		Šarže II	
	Datum odběru:	Stáří vzorku:	Datum odběru:	Stáří vzorku:
Zrající sýr	26. 1. 2009	14 dní	26. 1. 2009	10 dní
	2. 2. 2009	21 dní	2. 2. 2009	17 dní
	9. 2. 2009	28 dní	9. 2. 2009	24 dní
	16. 2. 2009	35 dní	16. 2. 2009	31 dní
	23. 2. 2009	42 dní	23. 2. 2009	38 dní
	2. 3. 2009	49 dní	2. 3. 2009	45 dní

3.2.3. Sensorické hodnocení

Sensorické hodnocení probíhalo po dobu technologického zrání vzorků eidamského sýru. U vzorků se hodnotil vzhled, vůně, textura a chuť pomocí ordinálních stupnicových testů. Stupnice byly koncipovány vzestupně, tzn. čím vyšší ohodnocení, tím lepší dojem. Dále byla zařazena profilová zkouška vůně a chutě pomocí vybraných deskriptorů a nakonec jednoduché hedonické hodnocení, kde mohli posuzovatelé vyjádřit svůj celkový názor na hodnocený vzorek. Formulář pro sensorické hodnocení je uveden v příloze 8.1.

¹ t. v s. – obsah tuku v sušině v procentech hmotnostních se stanoví podle následujícího vzorce:

$$\% \text{ hmot. tuku v sušině} = \text{g tuku} / (100 - \text{g vody}) \cdot 100$$

Vždy se hodnotily dva vzorky – vzorek A (šarže I) a vzorek B (šarže II) – odebrané předchozího dne. Vzorky se nakrájely na kostičky stejné velikosti a po třech se uzavřely do Petriho misky označené příslušným kódem. Až do hodnocení se vzorky uchovávaly v ledničce, aby byla udržena optimální teplota konzumace. Chuťovým neutralizátorem byla zvolena voda.

Jako hodnotitelé se vybíraly osoby, které absolvovaly Seminář sensorické analýzy. Jedná se především o studenty 2. ročníku magisterského studia. Neproškolené osoby byly přímo v sensorické laboratoři seznámeny s pravidly sensorického hodnocení.

3.2.4. Statistické vyhodnocení výsledků sensorické analýzy

Záznamy sensorického hodnocení vzorků eidamského sýru byly zpracovány v softwaru Microsoft Office Excel 2007 a jsou vyjádřeny graficky.

Statistické vyhodnocení výsledků se provádělo pomocí programu STATVYD verze 2.0 beta.

K posouzení rozdílů mezi vzorky A a B ve stanovených časových intervalech hodnocení se používal oboustranný Wilcoxonův test. Jedná se o test na shodnost, založený na rozdílu součtu požadovaných čísel dvou souborů. Pro naši potřebu součtem T_j rozumíme součet hodnot jednotlivých kategorií stupnice u stupnicového hodnocení definovaných vlastností. Základní podmínkou je, že počet hodnotitelů posuzujících výrobky je větší nebo roven 20 (vzorec (3.5)) [72, 73].

$$n_A + n_B \geq 20 \quad (3.5)$$

Po vyplnění všech potřebných hodnot do tabulky programu STATVYD získáme informaci, zda je mezi vzorky statisticky významný rozdíl na zvolené hladině významnosti α .

Vhodnou metodou pro porovnání sensorického znaku u více než dvou výrobků je Kruskal-Wallisův test. Používá se k ověření, zda je mezi vzorky, popř. kterými, v určitém znaku rozdíl. Tato metoda poslouží k identifikování rozdílů ve vzorcích v průběhu zrání. V případě zamítnutí hypotézy nám umožní Wilcoxonova dvouvýběrová metoda srovnání dvojic určit, které jednotlivé vzorky výběru se od sebe liší na stanovené hladině významnosti α [73].

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1. Stanovení aromatických látek pomocí SPME/GC

Aromatické látky vznikající při výrobě a zrání eidamského sýru se izolovaly technikou mikroextrakce pevnou fází a následně detekovaly plynovou chromatografií.

Analýze byly podrobeny dvě výrobní šarže. U každé se vzorky odebíraly v jednotlivých technologických fázích výroby a následně v pravidelných intervalech do ukončení doby zrání. Přehled odběrů je uveden v tabulce 3.3. Extrakce se prováděla co nejdříve po jejich odběru. Vzorky byly proměřeny třikrát a vypočítána směrodatná odchylka a interval spolehlivosti. Aby nedocházelo ke změnám obsahu stanovovaných aromatických látek, byly vzorky umístěny v chladničce. Podmínky analýzy a postup jsou uvedeny v kapitolách 3.1.5 a 3.1.7.

Vyextrahované aromatické látky byly identifikovány porovnáním retenčních časů s připravenými standardy. Přehled standardů včetně jejich retenčních časů a použité koncentrace je uveden v tabulce 4.1.

Tabulka 4.1: Přehled standardů

Chemikálie	Ředění [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Retenční čas [min]	Chemikálie	Ředění [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Retenční čas [min]
Butan-2,3-diol	50,0	3,753	Isoamylalkohol	100,0	12,948
Kapronová kyselina	10,0	3,755	n-amylalkohol	20,0	13,992
Acetaldehyd	200,0	3,802	Acetoin	1000,0	15,258
Propionaldehyd	50,0	4,488	Heptan-2-ol	5,0	15,772
Aceton	100,0	4,755	Hexan-1-ol	10,0	16,635
Acetondimethylacetal	100,0	4,762	Nonan-2-on	0,5	17,568
Methylacetát	50,0	4,885	2-oktanol	1,0	18,177
Ethylacetát	50,0	5,610	Okt-1-en-3-ol	1,0	18,940
Methanol	1000,0	5,848	Octová kyselina	1000,0	18,993
Terciální butanol	500,0	5,880	Furfural	10,0	19,602
Isovaleraldehyd	50,0	6,138	Nonan-2-ol	1,0	20,682
Isopropanol	1000,0	6,352	Propionová kyselina	100,0	21,147
Ethanol	300,0	6,492	3-(methylthio)- propionaldehyd	10,0	21,173
Propylacetát	20,0	7,153	Benzaldehyd	1,0	21,175
Butan-2,3-dion	50,0	7,205	n-oktanol	1,0	21,627
Methylpropylketon	10,0	7,292	Isomáselná kyselina	100,0	21,813
Methylisobutylketon	20,0	7,903	Undekan-2-on	0,1	22,693
Sekundární butanol	200,0	8,283	Máselná kyselina	100,0	23,243
Ethylbutyrát	10,0	8,472	Ethylkaprinát	1,0	23,432
Propanol	300,0	8,637	Fenylacetaldehyd	10,0	23,972

Chemikálie	Ředění [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Retenční čas [min]	Chemikálie	Ředění [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Retenční čas [min]
Butylacetát	5,0	9,245	n-nonanol	1,0	23,982
Hexanal	10,0	9,510	Isovalerová kyselina	50,0	24,178
Kapronaldehyd	5,0	9,528	Dekan-1-ol	1,0	26,282
Isobutanol	500,0	9,965	Fenylethanol	50,0	27,570
Šťavelová kyselina.	50,0	10,215	Fenylacetát	10,0	27,698
Pentan-2-ol	100,0	10,703	Mléčná kyselina	100,0	27,988
Butan-1-ol	100,0	11,478	Benzylalkohol	200,0	28,963
Heptalaldehyd	10,0	12,122	Kaprylová kyselina	40,0	32,217
Heptan-2-on	5,0	12,135	5-dekanolid	100,0	35,885

Protože na SPME vlákne dochází ke kompetitivnímu efektu, stanovovaly se standardy ve směsích, aby byl tento jev alespoň částečně zahrnut a tím se zmenšila celková nepřesnost měření. V diplomové práci Lazárkové [67] autorka uvádí rozdíl mezi koncentracemi standardů stanovených ve směsi a samostatně při stejných podmínkách SPME/GC analýzy.

Standardy byly rozděleny do sad podle povahy funkčních skupin po vzoru Bartelta [74]. Snahou bylo vytvořit skupiny po pěti látkách. V průběhu měření se ale ukázalo, že některé sloučeniny se na vlákne tak ovlivňují, že je není možné stanovit. Tak byly přeřazeny do jiné skupiny standardů, popřípadě skupiny rozděleny. Výsledná podoba sad je uvedena v tabulce 3.4.

Ke kvantifikaci byla vybrána metoda absolutní kalibrace přímým srovnáním. Na základě porovnání plochy píků stanovované látky se standardem o známé koncentraci za stejných chromatografických podmínek při stejných množstvích, se stanovil obsah aromatické látky ve vzorku (vztah (3.1)) [52].

4.1.1. Výsledky SPME/GC analýzy

Celkem bylo identifikováno v eidamském sýru 30 aromatických sloučenin. V šarži I byly přítomny všechny nalezené sloučeniny, v šarži II pouze 20 z nich. Jejich obsah se s rostoucím časovým odstupem od započetí výroby různě měnil, obecně lze říci, že v průběhu výroby a zrání sýra se celkový obsah aromatických látek zvyšuje. Zjištěné koncentrace jsou uvedené ve formě intervalového odhadu střední hodnoty v tabulce 4.2 – 4.5.

V průběhu zrání docházelo u šarže I ke zvyšování množství aromatických sloučenin. Pro názornost byl celkový obsah identifikovaných sloučenin v jednotlivých fázích vyneseno do grafu 4.1. Po vylisování se nápadně koncentrace zvedla. V této výrobní fázi dochází k zintenzivňování průběhu fermentace [1]. Po vysolení ale došlo opět k poklesu. Můžeme předpokládat, že solná lázeň, do které byly sýry po definované dobu ponořeny, pozastavila či inaktivovala část enzymových systémů mléčných bakterií. Na konci doby zrání ve 42. dnu došlo k dalšímu znatelnému nárůstu koncentrace. Konečný obsah aromatických sloučenin nepřesáhl $500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

U šarže II byl průběh zrání znatelně jiný (graf 4.2). Již v sýřenině bylo nalezeno výrazně vyšší množství aromatických látek. Tato koncentrace odpovídá obsahu aromatických sloučenin v sýru šarže I po vylisování. Obsah vyextrahovaných sloučenin se i nadále zvyšoval. K dalšímu nárůstu došlo po napuštění prací vody a po vylisování, které lze

považovat za vrchol. V této fázi byla zjištěna koncentrace aromatických látek ve vzorku téměř $3\,000\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. U vysoleného sýru došlo k mírnému poklesu, tak jako u šarže I. Další nárůst v průběhu zrání se zastavil 17. den od zasýření mléka. Pak už se koncentrace jen snižovala.

Tabulka 4.2: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při výrobě - šarže I

Sloučenina	Odběry			
	mléko	sýřenina	krájení	praní
3-(methylthio)-propionaldehyd	–	–	–	0,037 ± 0,024
Acetaldehyd	92,424 ± 37,127	7,364 ± 2,242	21,910 ± 8,588	8,626 ± 2,323
Acetoin	–	20,432 ± 3,527	53,277 ± 6,729	65,130 ± 5,847
Acetondimethylacetal	9,558 ± 0,323	9,012 ± 0,129	9,424 ± 0,242	6,106 ± 0,106
Butan-2,3-dion	–	0,775 ± 0,120	1,985 ± 0,083	1,833 ± 0,197
Butan-1-ol	–	–	–	–
Butylacetát	0,016 ± 0,005	0,007 ± 0,007	0,011 ± 0,004	0,011 ± 0,008
Dekan-1-ol	–	–	–	–
Ethanol	11,019 ± 2,707	8,690 ± 2,431	11,990 ± 1,013	22,780 ± 3,335
Ethylacetát	–	–	–	–
Ethylkaprinát	0,006 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,007 ± 0,001
Fenylacetaldehyd	0,011 ± 0,010	0,011 ± 0,004	0,016 ± 0,004	0,018 ± 0,009
Furfural	–	–	–	–
Heptaldehyd	–	–	–	–
Heptan-2-ol	–	–	–	–
Isoamylalkohol	–	–	–	–
Isomáselná kyselina	0,865 ± 1,112	8,194 ± 2,892	1,935 ± 0,480	1,189 ± 0,937
Isopropanol	–	–	–	–
Isovalerová kyselina	–	–	–	–
Kaprylová kyselina	0,170 ± 0,042	0,140 ± 0,055	0,117 ± 0,059	0,169 ± 0,006
Máselná kyselina	–	–	–	–
Methylisobutylketon	–	0,018 ± 0,006	–	–
Methylpropylketon	–	–	–	–
Mléčná kyselina	1,534 ± 0,679	1,509 ± 0,323	1,325 ± 0,193	1,214 ± 0,099
n-amylalkohol	0,183 ± 0,148	0,062 ± 0,037	0,105 ± 0,010	0,131 ± 0,025
n-oktanol	0,003 ± 0,001	–	0,003 ± 0,001	0,002 ± 0,000
Nonan-2-on	0,003 ± 0,002	–	–	–
Octová kyselina	–	1,987 ± 0,300	–	–
Propionová kyselina	–	–	–	–
Terciální Butanol	35,836 ± 1,328	35,824 ± 2,402	33,884 ± 2,986	20,775 ± 1,377
Celková koncentrace	151,629	94,033	135,988	128,027

Tabulka 4.2: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při výrobě - šarže I – pokračování

Sloučenina	Odběry		
	dosoušení	lisování	solení
3-(methylthio)-propionaldehyd	0,029 ± 0,004	0,033 ± 0,008	–
Acetaldehyd	15,941 ± 9,228	30,436 ± 8,195	4,454 ± 0,422
Acetoin	74,804 ± 6,973	189,257 ± 19,939	48,992 ± 24,930
Acetondimethylacetal	5,979 ± 0,132	5,800 ± 0,083	5,516 ± 0,746
Butan-2,3-dion	2,229 ± 0,184	4,494 ± 0,610	1,677 ± 0,165
Butan-1-ol	0,026 ± 0,003	–	–
Butylacetát	0,008 ± 0,003	0,009 ± 0,001	0,010 ± 0,009
Dekan-1-ol	–	–	–
Ethanol	22,138 ± 11,121	15,924 ± 0,664	73,381 ± 3,441
Ethylacetát	–	–	–
Ethylkaprinát	0,006 ± 0,000	0,006 ± 0,001	0,007 ± 0,001
Fenylacetaldehyd	0,016 ± 0,005	0,031 ± 0,033	–
Furfural	–	–	–
Heptalaldehyd	0,004 ± 0,000	0,005 ± 0,002	–
Heptan-2-ol	–	–	–
Isoamylalkohol	0,068 ± 0,004	–	0,310 ± 0,072
Isomáselná kyselina	0,310 ± 0,194	0,166 ± 0,013	–
Isopropanol	–	4,477 ± 0,794	–
Isovalerová kyselina	–	–	–
Kaprylová kyselina	0,160 ± 0,032	0,151 ± 0,009	0,190 ± 0,011
Máselná kyselina	–	–	–
Methylisobutylketon	–	–	0,025 ± 0,008
Methylpropylketon	–	–	–
Mléčná kyselina	1,334 ± 0,102	0,796 ± 0,665	1,935 ± 0,114
n-amylalkohol	0,079 ± 0,023	0,073 ± 0,020	0,046 ± 0,010
n-oktanol	0,002 ± 0,000	0,002 ± 0,000	0,002 ± 0,000
Nonan-2-on	–	–	0,001 ± 0,000
Octová kyselina	3,206 ± 0,569	2,804 ± 0,248	12,306 ± 1,462
Propionová kyselina	–	–	–
Terciální Butanol	20,983 ± 0,482	21,604 ± 0,516	19,303 ± 4,174
Celková koncentrace	147,320	276,068	168,155

Tabulka 4.3: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při zrání – šarže I

Sloučenina	Odběry		
	14 dní	21 dní	28 dní
3-(methylthio)-propionaldehyd	0,341 ± 0,126	–	–
Acetaldehyd	7,270 ± 1,555	5,067 ± 0,199	2,814 ± 0,214
Acetoin	75,485 ± 4,367	81,282 ± 9,927	50,484 ± 3,653
Acetondimethylacetal	3,637 ± 0,306	3,095 ± 0,179	2,303 ± 0,356
Butan-2,3-dion	–	0,855 ± 0,259	0,599 ± 0,125
Butan-1-ol	–	–	–
Butylacetát	0,026 ± 0,004	0,021 ± 0,006	0,016 ± 0,003
Dekan-1-ol	0,001 ± 0,000	0,001 ± 0,000	0,001 ± 0,000
Ethanol	62,321 ± 5,540	126,637 ± 1,380	76,109 ± 0,326
Ethylacetát	0,052 ± 0,002	–	–
Ethylkaprinát	0,005 ± 0,002	0,008 ± 0,001	0,006 ± 0,000
Fenylacetaldehyd	–	0,010 ± 0,007	–
Furfural	–	–	–
Heptalaldehyd	0,013 ± 0,007	0,008 ± 0,006	0,006 ± 0,000
Heptan-2-ol	–	–	0,002 ± 0,000
Isoamylalkohol	0,503 ± 0,061	0,819 ± 0,061	1,259 ± 0,134
Isomáselná kyselina	–	–	–
Isopropanol	–	–	–
Isovalerová kyselina	–	–	–
Kaprylová kyselina	0,275 ± 0,084	0,217 ± 0,034	0,329 ± 0,091
Máselná kyselina	0,675 ± 0,057	0,728 ± 0,088	1,550 ± 0,136
Methylisobutylketon	–	–	–
Methylpropylketon	–	0,023 ± 0,004	0,017 ± 0,001
Mléčná kyselina	3,667 ± 0,756	3,105 ± 0,236	4,441 ± 0,424
n-amylalkohol	–	–	0,019 ± 0,005
n-oktanol	–	0,002 ± 0,000	0,004 ± 0,001
Nonan-2-on	–	0,001 ± 0,000	0,002 ± 0,000
Octová kyselina	21,113 ± 3,510	18,615 ± 2,047	52,494 ± 2,556
Propionová kyselina	–	3,057 ± 0,650	9,575 ± 2,633
Terciální Butanol	17,136 ± 1,625	15,050 ± 1,453	10,276 ± 2,433
Celková koncentrace	192,521	258,601	212,306

Tabulka 4.3: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při zrání – šarže I - pokračování

Sloučenina	Odběry		
	35 dní	42 dní	49 dní
3-(methylthio)-propionaldehyd	–	–	–
Acetaldehyd	3,168 ± 0,207	10,173 ± 5,887	36,399 ± 30,175
Acetoin	79,953 ± 2,972	80,632 ± 1,726	97,694 ± 3,782
Acetondimethylacetal	3,329 ± 0,476	4,272 ± 0,775	3,775 ± 0,834
Butan-2,3-dion	1,011 ± 0,040	–	–
Butan-1-ol	–	–	–
Butylacetát	0,018 ± 0,001	0,021 ± 0,017	0,009 ± 0,002
Dekan-1-ol	–	–	–
Ethanol	62,969 ± 0,640	157,319 ± 36,635	185,841 ± 25,854
Ethylacetát	–	–	–
Ethylkaprinát	0,011 ± 0,001	0,001 ± 0,000	0,004 ± 0,000
Fenylacetaldehyd	–	0,008 ± 0,001	–
Furfural	–	0,163 ± 0,017	–
Heptaldehyd	0,011 ± 0,005	–	0,018 ± 0,016
Heptan-2-ol	0,002 ± 0,000	–	–
Isoamylalkohol	0,738 ± 0,017	0,322 ± 0,050	0,418 ± 0,103
Isomáselná kyselina	–	–	–
Isopropanol	–	–	–
Isovalerová kyselina	–	0,215 ± 0,057	–
Kaprylová kyselina	0,184 ± 0,058	0,204 ± 0,052	0,219 ± 0,049
Máselná kyselina	1,384 ± 0,079	2,687 ± 0,614	2,443 ± 0,003
Methylisobutylketon	–	–	–
Methylpropylketon	0,026 ± 0,005	–	–
Mléčná kyselina	3,491 ± 0,300	3,672 ± 0,510	3,219 ± 0,210
n-amylalkohol	0,020 ± 0,002	–	–
n-oktanol	0,002 ± 0,000	–	–
Nonan-2-on	–	–	–
Octová kyselina	29,885 ± 1,039	79,518 ± 17,800	54,404 ± 1,702
Propionová kyselina	15,769 ± 2,499	–	–
Terciální Butanol	24,431 ± 3,523	60,141 ± 16,451	71,155 ± 25,230
Celková koncentrace	226,403	399,348	455,599

Tabulka 4.4: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při výrobě - šarže II

Sloučenina	Odběry			
	mléko	sýřenina	krájení	praní
Acetaldehyd	34,393 ± 21,514	3,109 ± 0,046	6,706 ± 0,423	8,042 ± 1,064
Acetoin	–	270,697 ± 22,063	501,419 ± 64,692	1718,535 ± 179,640
Acetondimethylacetal	8,734 ± 0,307	7,876 ± 0,037	7,160 ± 0,137	4,123 ± 0,190
Butan-2,3-dion	–	6,066 ± 0,399	10,756 ± 0,589	44,905 ± 4,505
Butylacetát	0,005 ± 0,000	0,004 ± 0,002	0,010 ± 0,002	0,016 ± 0,003
Ethanol	2,947 ± 0,287	12,728 ± 0,768	62,302 ± 16,411	27,173 ± 2,782
Ethylkaprinát	0,006 ± 0,002	0,007 ± 0,000	0,006 ± 0,000	0,006 ± 0,000
Fenylacetaldehyd	0,040 ± 0,035	0,011 ± 0,001	0,011 ± 0,003	–
Furfural	–	–	–	–
Heptaldehyd	–	–	–	0,013 ± 0,004
Isoamylalkohol	–	–	–	–
Kaprylová kyselina	–	–	–	0,160 ± 0,018
Máselná kyselina	–	–	–	–
Methylisobutylketon	–	–	0,021 ± 0,006	–
Mléčná kyselina	1,258 ± 0,118	1,063 ± 0,071	1,319 ± 0,262	1,639 ± 0,234
n-amylalkohol	0,099 ± 0,036	0,068 ± 0,008	0,083 ± 0,026	0,050 ± 0,015
n-oktanol	0,002 ± 0,000	–	0,002 ± 0,000	–
Octová kyselina	4,267 ± 3,005	3,300 ± 0,635	4,296 ± 0,293	17,522 ± 4,076
Propionová kyselina	1,049 ± 0,341	0,490 ± 0,015	0,669 ± 0,199	–
Terciální Butanol	29,110 ± 1,233	27,764 ± 0,440	23,435 ± 0,365	13,336 ± 0,563
Celková koncentrace	81,911	333,184	618,194	1835,520

Tabulka 4.4: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při výrobě - šarže II - pokračování

Sloučeniny	Odběr		
	dosoušení	lisování	solení
Acetaldehyd	63,024 ± 26,970	5,967 ± 1,056	4,045 ± 0,931
Acetoin	1446,315 ± 69,029	2736,482 ± 297,796	2003,309 ± 54,204
Acetondimethylacetal	4,110 ± 0,008	3,927 ± 0,195	4,908 ± 0,909
Butan-2,3-dion	39,727 ± 4,185	42,932 ± 3,259	22,283 ± 2,562
Butylacetát	0,009 ± 0,004	0,008 ± 0,002	0,006 ± 0,000
Ethanol	43,933 ± 12,064	97,672 ± 93,535	19,092 ± 5,451
Ethylkaprinát	0,006 ± 0,000	0,005 ± 0,000	0,005 ± 0,000
Fenylacetaldehyd	–	0,008 ± 0,000	–
Furfural	–	–	–
Heptaldehyd	–	–	0,007 ± 0,001
Isoamylalkohol	–	–	–
Kaprylová kyselina	0,158 ± 0,013	0,183 ± 0,062	–
Máselná kyselina	–	–	–
Methylisobutylketon	–	–	–
Mléčná kyselina	1,580 ± 0,103	2,153 ± 0,058	1,755 ± 0,139
n-amylalkohol	0,081 ± 0,009	0,032 ± 0,003	0,033 ± 0,007
n-oktanol	0,002 ± 0,000	–	0,002 ± 0,000
Octová kyselina	19,002 ± 0,416	90,389 ± 18,477	205,577 ± 17,695
Propionová kyselina	–	–	–
Terciální Butanol	12,091 ± 0,280	12,269 ± 1,129	14,688 ± 2,926
Celková koncentrace	1630,037	2992,029	2275,709

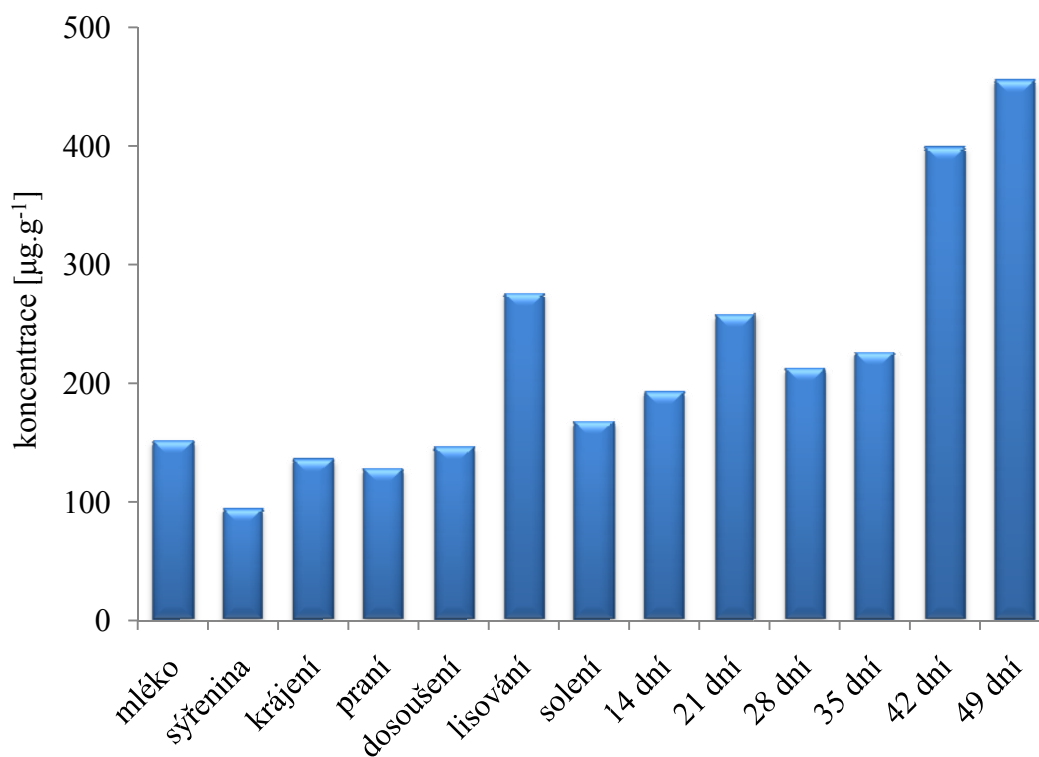
Tabulka 4.5: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při zrání – šarže II

Sloučeniny	Odběr		
	10 dní	17 dní	24 dní
Acetaldehyd	2,128 ± 0,890	3,428 ± 0,226	4,741 ± 3,564
Acetoin	2194,313 ± 38,957	2431,478 ± 24,477	2011,111 ± 11,973
Acetondimethylacetal	2,302 ± 0,052	2,297 ± 0,334	1,907 ± 0,268
Butan-2,3-dion	12,387 ± 0,743	15,895 ± 0,805	15,938 ± 0,776
Butylacetát	–	0,012 ± 0,003	0,014 ± 0,004
Ethanol	54,006 ± 7,352	41,924 ± 3,608	47,384 ± 3,492
Ethylkaprinát	0,004 ± 0,000	0,005 ± 0,000	0,005 ± 0,000
Fenylacetaldehyd	0,019 ± 0,014	0,009 ± 0,002	–
Furfural	–	–	–
Heptaldehyd	0,010 ± 0,004	0,010 ± 0,001	0,011 ± 0,001
Isoamylalkohol	–	0,352 ± 0,039	0,164 ± 0,017
Kaprylová kyselina	0,242 ± 0,008	0,251 ± 0,024	0,280 ± 0,033
Máselná kyselina	0,767 ± 0,121	1,102 ± 0,061	1,831 ± 0,123
Methylisobutylketon	0,031 ± 0,007	0,058 ± 0,025	0,042 ± 0,009
Mléčná kyselina	2,762 ± 0,236	3,143 ± 0,096	4,078 ± 0,335
n-amylalkohol	–	–	–
n-oktanol	–	–	0,003 ± 0,000
Octová kyselina	150,066 ± 14,305	172,881 ± 3,987	235,676 ± 12,107
Propionová kyselina	3,438 ± 1,259	2,215 ± 0,230	5,113 ± 0,743
Terciální Butanol	8,822 ± 0,295	8,880 ± 0,793	7,241 ± 0,858
Celková koncentrace	2431,299	2683,940	2335,537

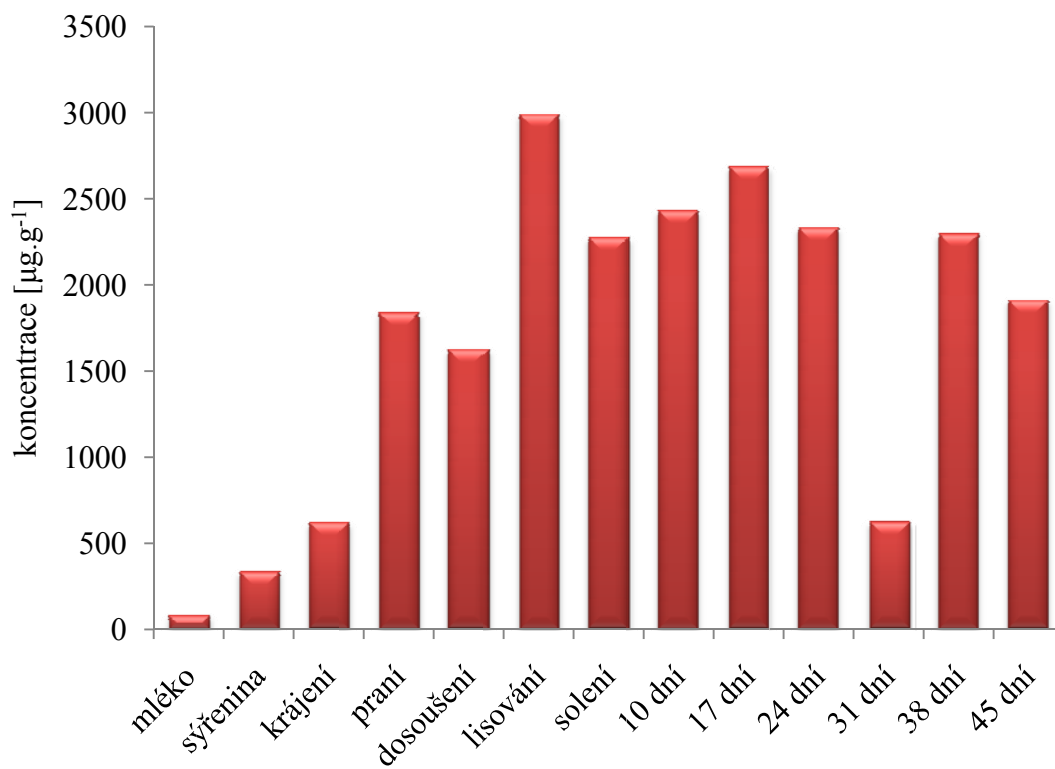
Tabulka 4.5: Změny obsahu aromatických látek v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ při zrání – šarže II – pokračování

Sloučeniny	Odběr		
	31 dní	38 dní	45 dní
Acetaldehyd	5,901 ± 0,732	35,267 ± 8,277	40,916 ± 10,508
Acetoin	44,383 ± 1,232	1803,311 ± 89,138	1458,116 ± 41,030
Acetondimethylacetal	1,906 ± 0,459	3,678 ± 0,652	3,896 ± 0,312
Butan-2,3-dion	15,235 ± 0,495	15,376 ± 1,612	12,439 ± 1,291
Butylacetát	0,122 ± 0,169	0,029 ± 0,007	0,006 ± 0,002
Ethanol	29,027 ± 0,713	97,091 ± 22,189	56,362 ± 3,674
Ethylkaprinát	0,007 ± 0,002	0,003 ± 0,000	0,003 ± 0,000
Fenylacetaldehyd	–	0,007 ± 0,001	–
Furfural	–	0,084 ± 0,006	–
Heptalaldehyd	0,030 ± 0,019	0,069 ± 0,026	0,008 ± 0,000
Isoamylalkohol		–	–
Kaprylová kyselina	0,239 ± 0,050	0,301 ± 0,026	0,225 ± 0,076
Máselná kyselina	2,099 ± 0,135	2,535 ± 0,214	2,747 ± 0,060
Methylisobutylketon	0,051 ± 0,016	0,030 ± 0,007	0,054 ± 0,015
Mléčná kyselina	4,139 ± 0,181	3,195 ± 0,124	3,299 ± 0,293
n-amylalkohol	–	–	0,022 ± 0,008
n-oktanol	–	0,004 ± 0,000	0,009 ± 0,001
Octová kyselina	501,792 ± 49,416	309,731 ± 28,945	305,851 ± 11,683
Propionová kyselina	9,430 ± 1,426	–	–
Terciální Butanol	7,188 ± 1,147	24,691 ± 5,259	30,485 ± 7,964
Celková koncentrace	621,550	2295,402	1914,439

Graf 4.1: Celkový obsah aromatických sloučenin ve vzorcích šarže I



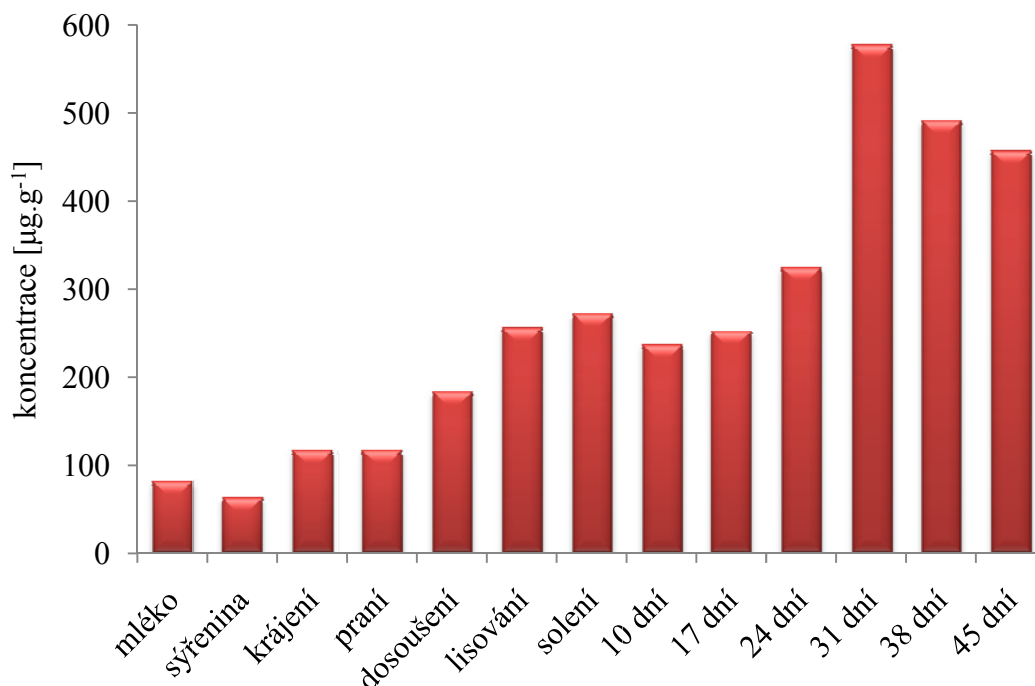
Graf 4.2: Celkový obsah aromatických sloučenin ve vzorcích šarže II



Chromatogramy aromatických látek jsou uvedeny v příloze 8.2 – 8.14.

Při náhledu do tabulky 4.4 a 4.5 zjistíme, že za vysoké hodnoty celkové koncentrace aromatických látek ve vzorcích šarže II je zodpovědný především acetoin (3-hydroxybutan-2-on). Kdyby nebyl přítomen, tak je průběh zrání podobný šarži I (graf 4.3). Acetoin vzniká z citrátů a laktosy činností mléčných bakterií, vysoká koncentrace acetoinu signalizuje, že se biochemické změny uvnitř sýrů mohou ubírat nevhodným směrem [76]. Tento keton způsobuje máselné aroma [6]. V grafu 4.4 je porovnání obsahu acetoinu v obou výrobcích.

Graf 4.3: Celkový obsah aromatických sloučenin ve vzorcích šarže II – bez acetoinu



Z dalších sloučenin, které se v eidamském sýru vyskytovaly ve větším množství byly vybrány kromě acetoinu acetaldehyd, acetondimethylacetal, butan-2,3-dion (biacetyl), ethanol, kyselina octová a terciální butanol (2-methylpropan-2-ol).

Vyšší množství acetaldehydu se nacházelo už v mléce použitém na výrobu eidamské sýru (graf 4.5). Jeho aroma je charakterizováno jako ostré, vonící po zeleni [6].

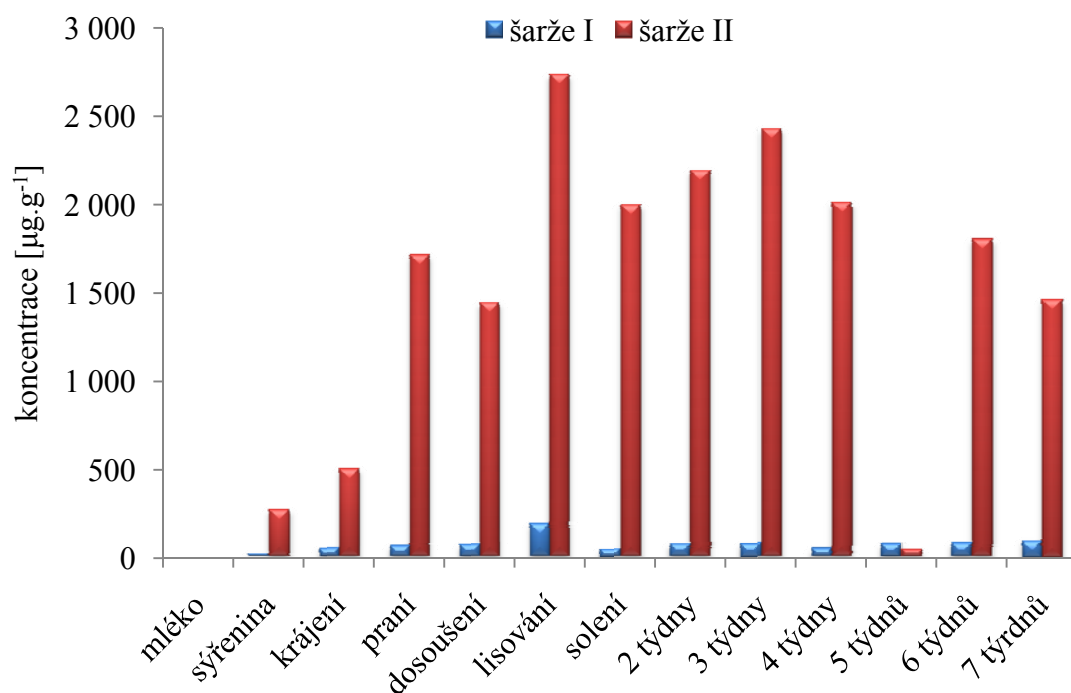
Koncentrace acetondimethylacetalu a terciálního butanolu je v obou šaržích podobná. V průběhu zrání se keton dále štěpil (graf 4.6), zatímco u alkoholu došlo v posledních třech týdnech další tvorbě (graf 4.10).

V případě butan-2,3-dionu se obě výroby liší (graf 4.7). K výraznému nárůstu dochází u šarže II při napouštění prací vody a přetrvává do solení, pak se koncentrace zase sníží a do konce zrání se dál nemění.

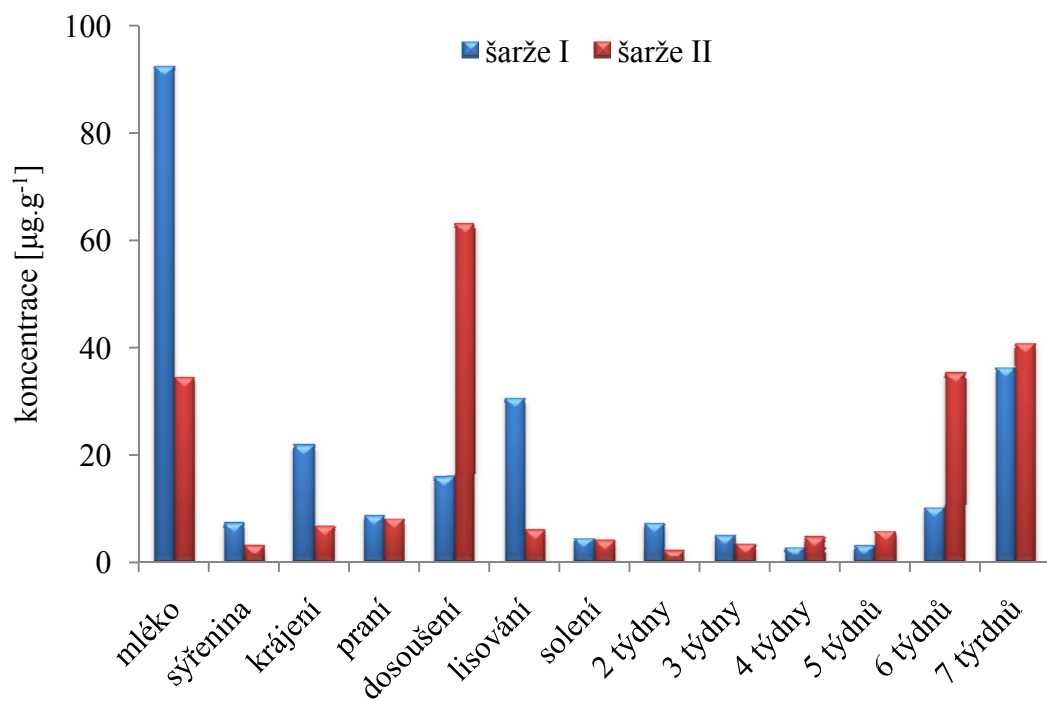
Množství ethanolu v sýru kolísalo. U šarže I je patrný růst na konci doby zrání (graf 4.8). Má jemné etherové aroma [6].

Hodnota koncentrace kyseliny octové u šarže II několikanásobně překročila hodnotu $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (graf 4.9) při zrání. U sýru to může způsobit vyšší kyselost a ostrou chuť.

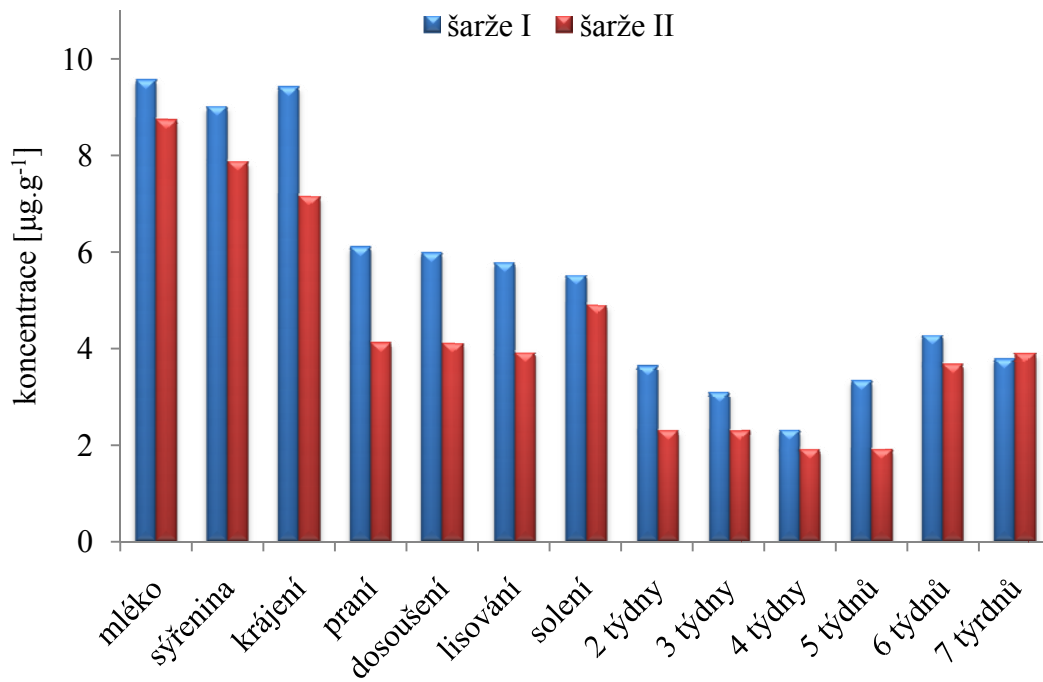
Graf 4.4: Porovnání obsahu acetoinu



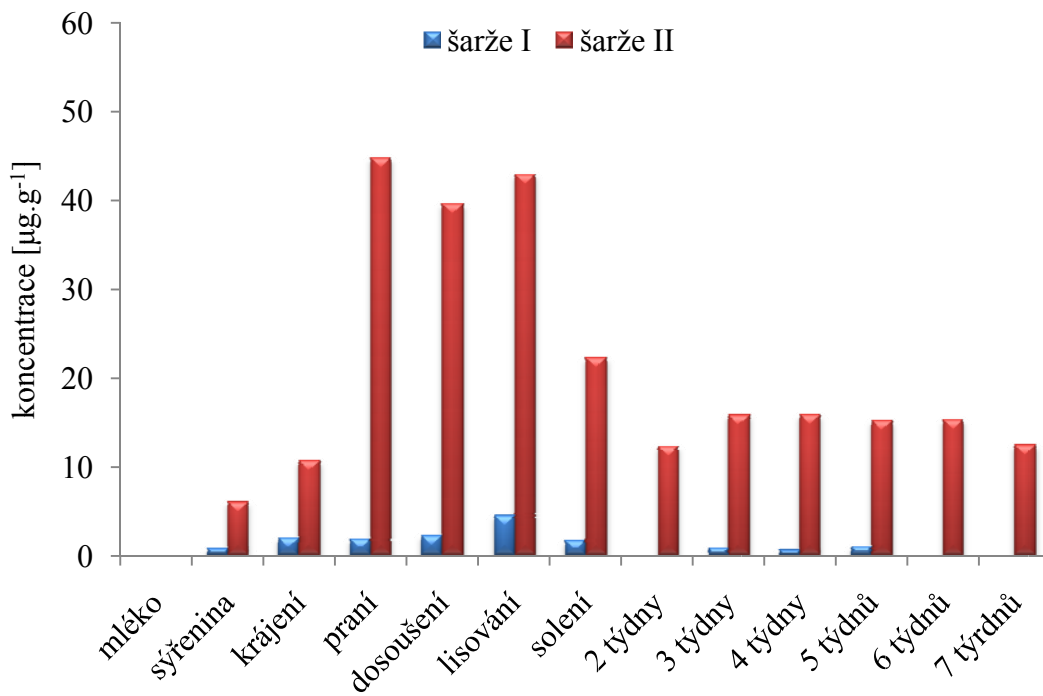
Graf 4.5: Porovnání obsahu acetaldehydu



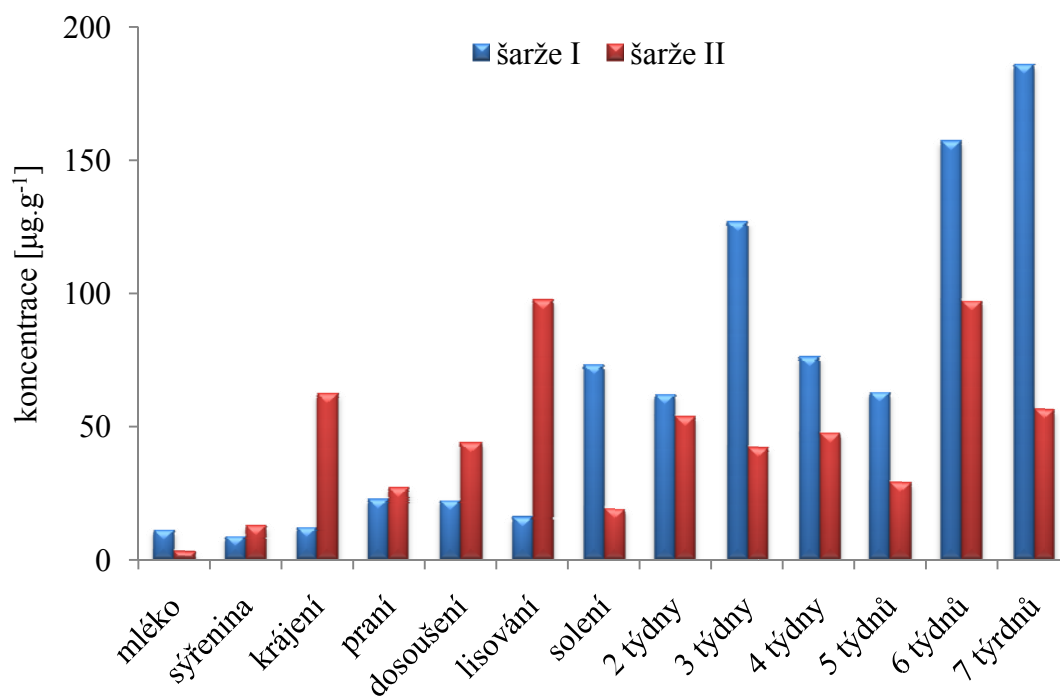
Graf 4.6: Porovnání obsahu acetondimethylacetalu



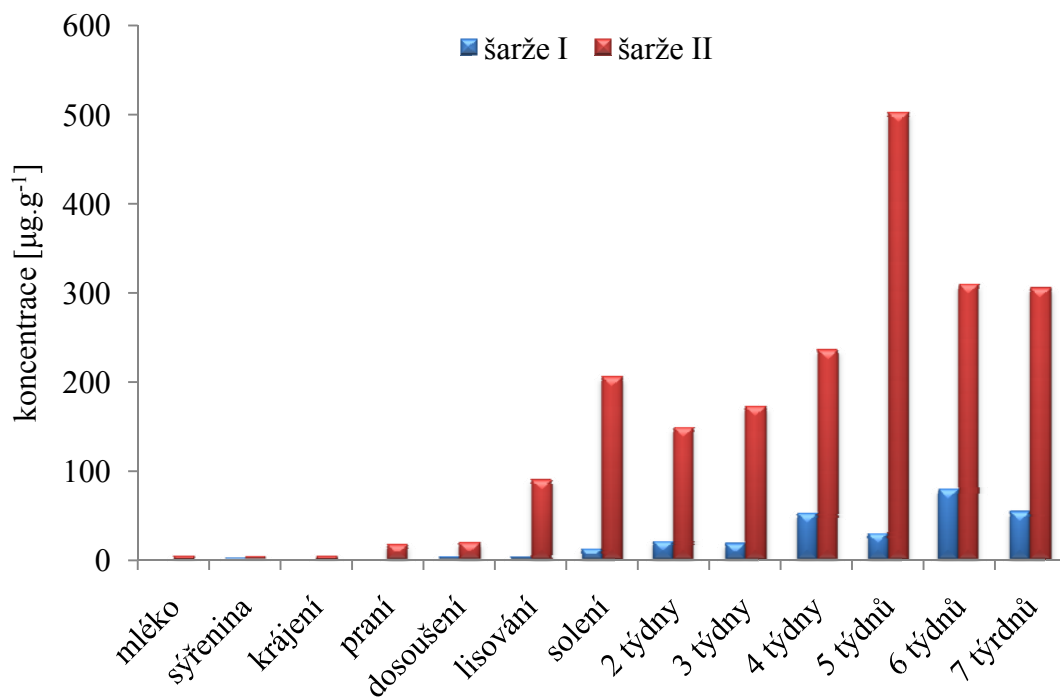
Graf 4.7: Porovnání obsahu butan-2,3-dionu



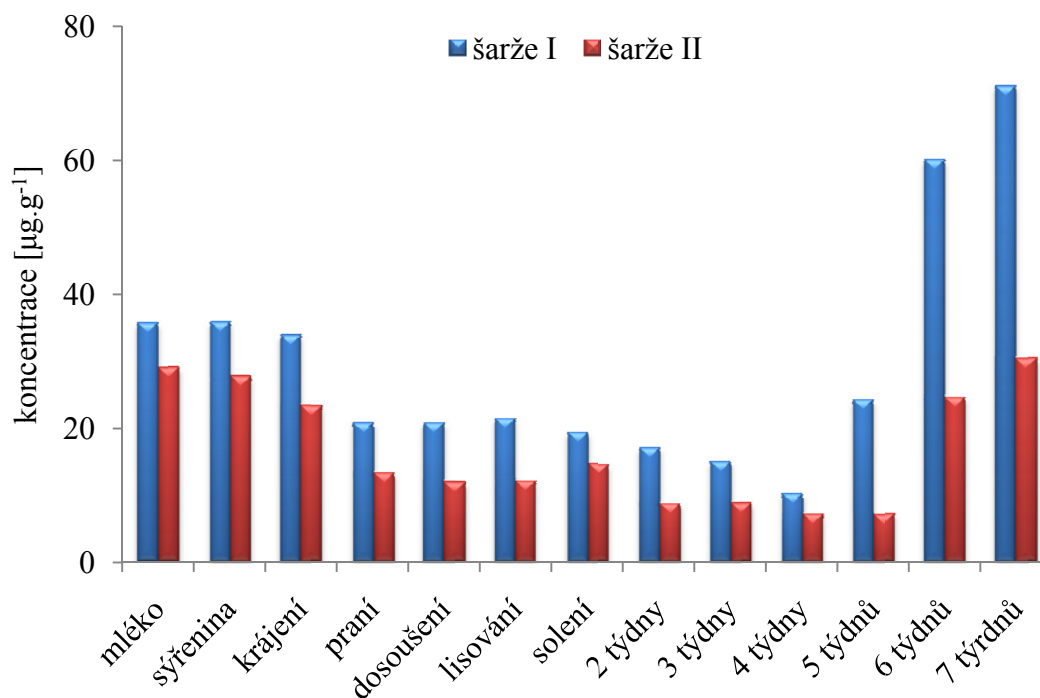
Graf 4.8: Porovnání obsahu ethanolu



Graf 4.9: Porovnání obsahu kyseliny octové



Graf 4.10: Porovnání obsahu terc. butanolu

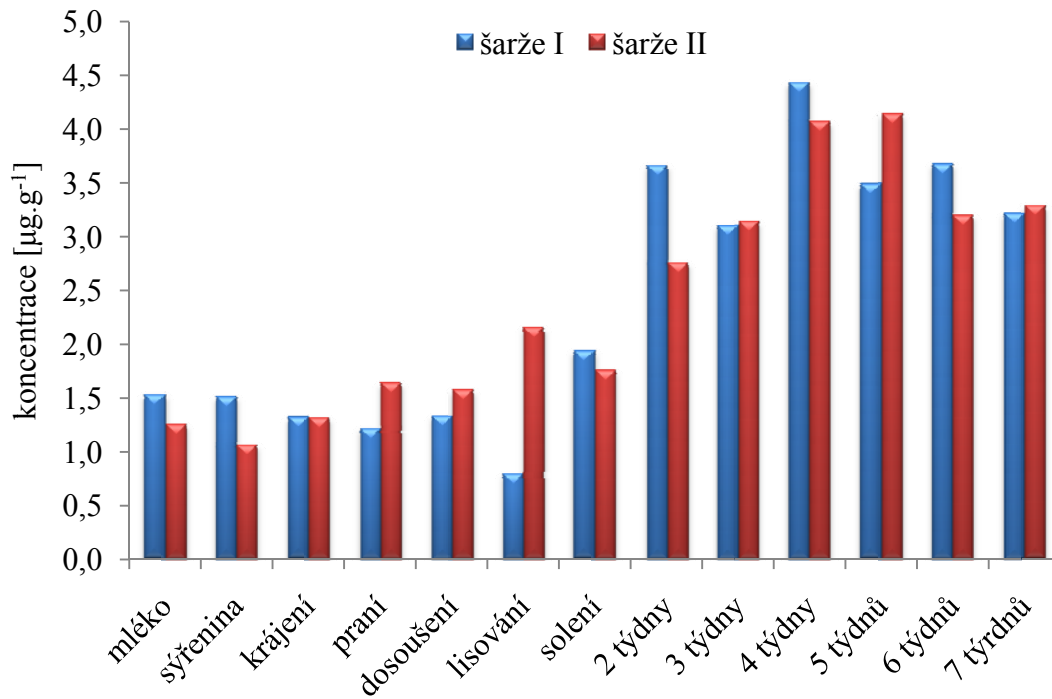


Kyselina mléčná vzniká rozkladem laktosy, resp. glukosy při homofermentativním mléčném kvašení [1]. V analyzovaných vzorcích eidamského sýra (graf 4.11) se začala koncentrace zvyšovat až ve vysoleném sýru. Maximum dosáhla mezi 4. a 5. týdnem zrání.

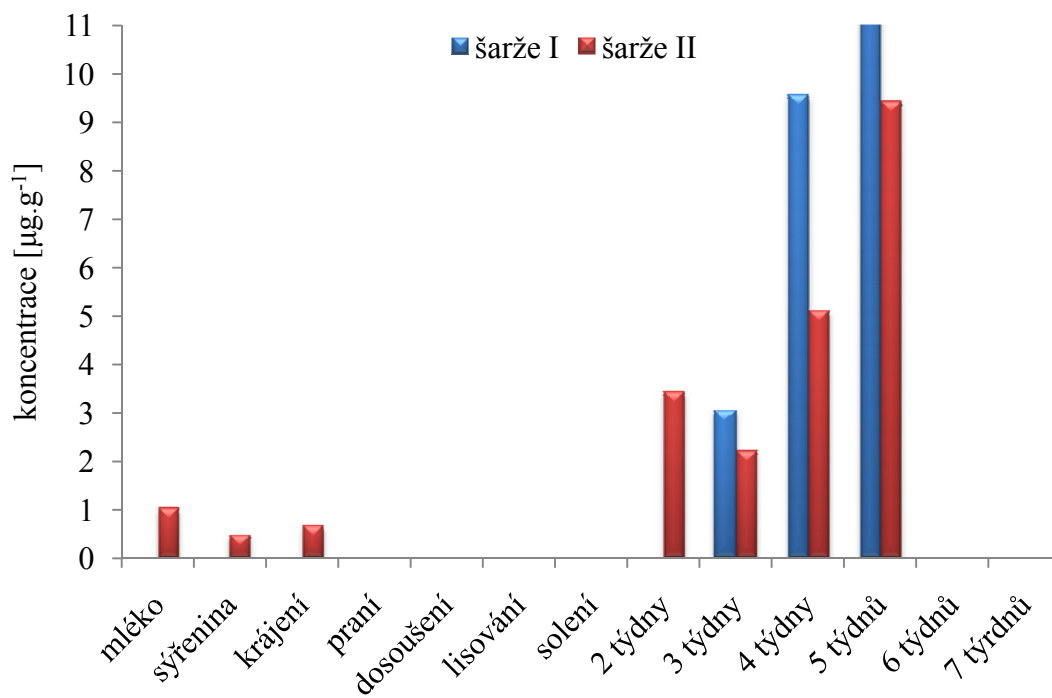
Působením bakterií propionového kvašení je kyselina mléčná dále metabolizovaná na kyselinu propionovou, octovou, oxid uhličitý a vodu [1]. To vysvětluje nárůst koncentrace kyseliny propionové (graf 4.12) a octové (graf 4.9) v posledních týdnech zrání. Z těchto údajů můžeme usuzovat, že hlavní proteolytické změny nastupují až v druhé polovině zrání eidamských sýrů. Proto je obsah izolovaných aromaticky aktivních látek nízký. Kromě výše zmíněných sloučenin, koncentrace ostatních látek opravdu nepřesáhla $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Toto tvrzení potvrzuje nepřímo i studie [75], která se zabývala vlivem průběhu zrání na obsah vybraných složek v eidamském sýru.

Ve vzorcích eidamského sýru šarže I se také zjistil 3-(methylthio)-propionaldehyd. Jedná se o sirnou sloučeninu. Její přítomnost naznačuje, že došlo k hlubokému rozkladu bílkovin.

Graf 4.11: Porovnání obsahu kyseliny mléčné



Graf 4.12: Porovnání obsahu kyseliny propionové



4.2. Senzorické hodnocení eidamského sýru

Senzorické hodnocení probíhalo po dobu šesti týdnů v pravidelných sedmidenních intervalech. Jeho cílem bylo zachytit vývoj organoleptických vlastností vzorků zrajícího eidamského sýru. Hodnocené vzorky jsou uvedeny v tabulce 3.5.

Závěry hodnocení lze rozdělit na tři části podle použité metody posuzování. Statistické zpracování výsledků probíhalo na hladině významnosti 5,00 %.

Počet účastníků sensorického hodnocení se pohyboval v rozmezí 10 – 14. Průměrný věk posuzovatelů byl 24,59 let, většinu tvořily ženy. Pouze 10,62 % z celkového počtu hodnotitelů zaujímali kuřáci. Úroveň posuzovatelů se dělila do tří kategorií:

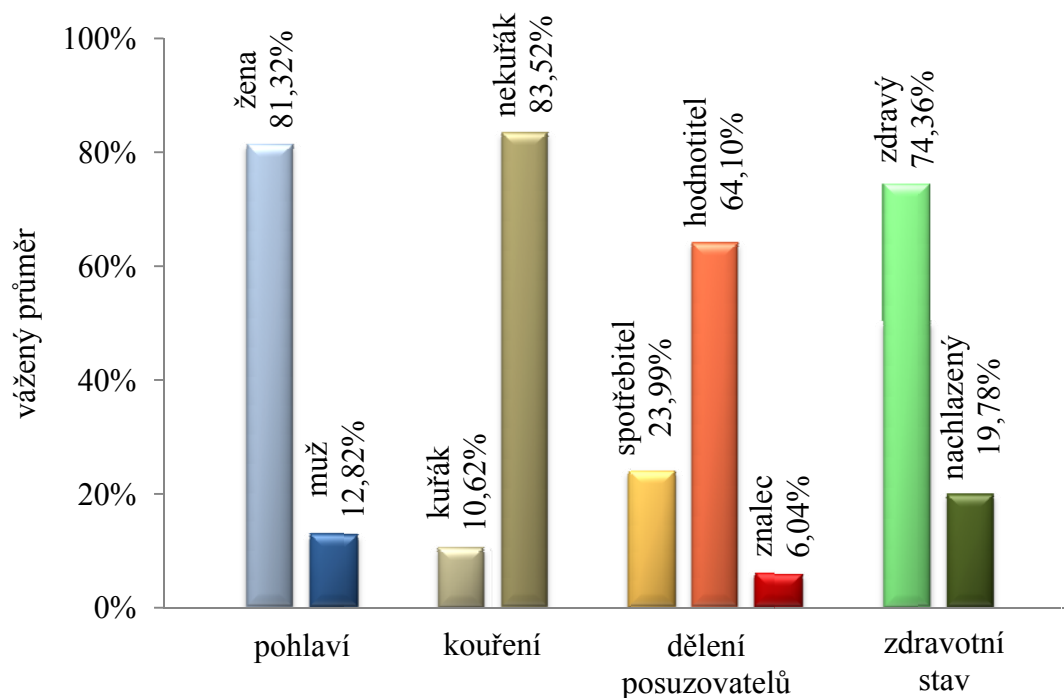
Spotřebitel: žádná kvalifikace, posuzovatel byl seznámen se základními pravidly a technikami hodnocení.

Hodnotitel: základní zacvičení, posuzovatel absolvoval seminář sensorické analýzy

Znalec: školený hodnotitel

19,78 % posuzovatelů hodnotilo s lehkým nachlazením. Údaje o posuzovatelích jsou shrnuty v grafu 4.13.

Graf 4.13: Údaje o posuzovatelích



4.2.1. Ordinální stupnicový test

V první části bylo cílem zachytit změny základních vlastností vypovídajících o průběhu zrání.

Pomocí Wilcoxonova testu jsme určili, zda je mezi vzorky šarže I a II statisticky významný rozdíl na hladině spolehlivosti 5,00 %. Tabelaovaná hodnota kritéria testu je $u_{0,95} = 1,96$. V tabulce 4.6 jsou shrnuty výsledky.

Tabulka 4.6: Statistické vyhodnocení ordinálního stupnicového testu – Wilcoxonův test

		2 týdny	3 týdny	4 týdny	5 týdnů	6 týdnů	7 týdnů
VZHLED	Rozdíl ¹	ANO	ANO	ANO	NE	ANO	NE
	Test. kritérium	2,08	3,08	3,56	1,09	2,39	0,98
VŮNĚ	Rozdíl	ANO	NE	NE	NE	NE	NE
	Test. kritérium	1,98	0,13	1,22	0,53	0,39	1,29
TEXTURA	Rozdíl	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
	Test. kritérium	3,25	3,86	4,31	3,32	2,22	3,85
CHUŤ	Rozdíl	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
	Test. kritérium	3,87	2,5	2,46	2,68	2,55	2,02

Také byl vyhodnocován průběh zrání Kruskal-Wallisovým testem. Jeho úkolem bylo odhalit, zda při zrání sýru konkrétní šarže došlo ke statisticky významným změnám organoleptických vlastností (tabulka 4.7). Tabelaovaná hodnota pro hodnocení je $\chi^2_{0,95} = 11,07$.

Tabulka 4.7: Statistické vyhodnocení ordinálního stupnicového testu – Kruskal-Wallisův test

		VZHLED	VŮNĚ	TEXTURA	CHUŤ
Šarže I	Test. kritérium	21,89	1,55	15,95	3,31
	Rozdíl	ANO	NE	ANO	NE
Šarže II	Test. kritérium	6,91	5,57	14,98	25,26
	Rozdíl	NE	NE	ANO	ANO

Vzhled vzorků eidamského sýru se v průběhu zrání výrazně neměnil (graf 4.14). Pouze u vzorku šarže I byla pomocí statistického testu odhalena změna negativního směru ve 42. dnu zrání. Také byla u této šarže zaznamenána při prvních třech hodnoceních barevná nesourodost. Kraje byly nažloutlé, zatímco vnitřní část mléčně bílá. To se zřejmě projevilo na celkovém dojmu.

Vzhled vzorku šarže II byl do 28. dne zrání hodnocen jako lepší. U šarže II posuzovatelé zaznamenali také větší množství sýrových ok, což ale není na závadu. Na konci doby zrání již nebyl shledán rozdíl mezi hodnocenými vzorky.

U vůně se nezaznamenala statisticky významná změna v průběhu zrání (graf 4.15). Rozdíl byl pouze mezi vzorky šarží při prvním sensorickém hodnocení.

V hodnocení textury byl sýr šarže I výrazně lepší po celou dobu zrání. Posuzovatelé si u druhé výroby stěžovali na jeho tuhost, špatně se ukusoval a při žvýkání “škvřal” mezi

¹ ANO – je mezi výrobky statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ / NE – není mezi výrobky statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $\alpha = 0,05$

zuby. Z grafu 4.16 je patrný mírný vývoj při zrání zachycený zvyšujícím se ohodnocením. Rozdíl v textuře může souviset s obsahem tuku v sýrech. Küçüköner zjistil ve své studii zabývající se fyzikálně-chemickými a reologickými vlastnostmi u různých tučných eidamských sýrů, že nízkotučný sýr je tužší a gumovitější než plnotučný [39].

Při posuzování chutě si vzorek šarže I vedl velmi dobře po celou dobu zrání (graf 4.17). Zatímco chuť vzorku šarže II zaznamenala zlepšení až v průběhu zrání. Z počátku byla hodnocena jako hodně kyselá, málo sýrová a nevýrazná.

U většiny organoleptických vlastností se projevíly statisticky významné změny ($\alpha = 0,05$) až po dvou až třech týdnech zrání (tabulka 4.7).

4.2.2. Profilový test

Druhým úkolem bylo zaznamenat podrobnější změnu chutě a vůně pomocí zvolených deskriptorů, které by se měly výrazně podílet na formování výsledného vjemu.

Jako deskriptor chutě byla vybrána mléčně kyselá, hořkomandlová, sladká a sýrová. Pro vůni mléčně kyselá a hořkomandlová. Posuzovatelé měli také možnost doplnit ukazatel, který podle jejich názoru charakterizuje profil vzorku a není uveden ve formuláři. Stupnice na hodnocení intenzity vjemu byla pětibodová, postavená vzestupně:

- ~ Velmi slabá
- ~ Slabá
- ~ Střední
- ~ Silnější
- ~ Intenzivní

Výsledky hodnocení byly zaznamenány do paprskového grafu.

4.2.2.1. Profilové hodnocení chuti

Mléčně kyselá chuť šarže I byla do 35. dne středně silná, na konci zrání už jen slabá (graf 4.18). U šarže II klesla intenzita ze slabé na velmi slabou, avšak ve 38. dnu došlo k výkyvu (graf 4.19) a mléčně kyselá chuť byla ohodnocena jako středně silná. Ze statistického hlediska byly tyto změny nevýznamné, mezi vzorky nebyl shledán rozdíl. Totéž platí pro hořkomandlovou a sladkou chuť. U šarže I byla po celou dobu zrání hořkomandlová chuť slabá, sladká chuť kolísala mezi slabou a střední. K malému nárůstu intenzity hořkomandlové chutě ve 45. dne došlo u šarže II, sladká chuť byla slabá.

Rozdíl mezi vzorky byl zaznamenán u sýrové chutě. Šarže I se vyznačovala silnou sýrovou chutí po celou dobu zrání, zatímco v druhém případě byla pouze středně silná.

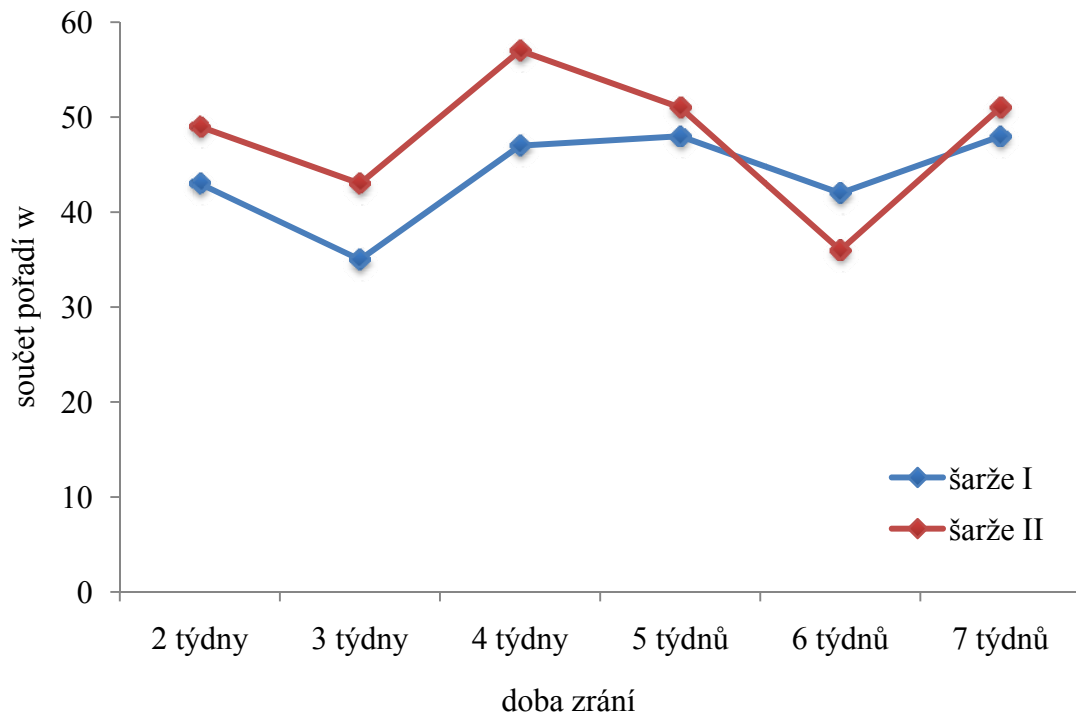
Slanou chuť zvolili posuzovatelé jako další deskriptor popisující chuťový profil eidamského sýru. V obou výrobcích intenzita velmi kolísala. Např. slaná chuť vzorku šarže I byla při prvním sensorickém hodnocení střední, při druhém slabá, u třetího dokonce silná, a u dalších se pohybovala střídavě okolo střední.

4.2.2.2. Profilové hodnocení vůně

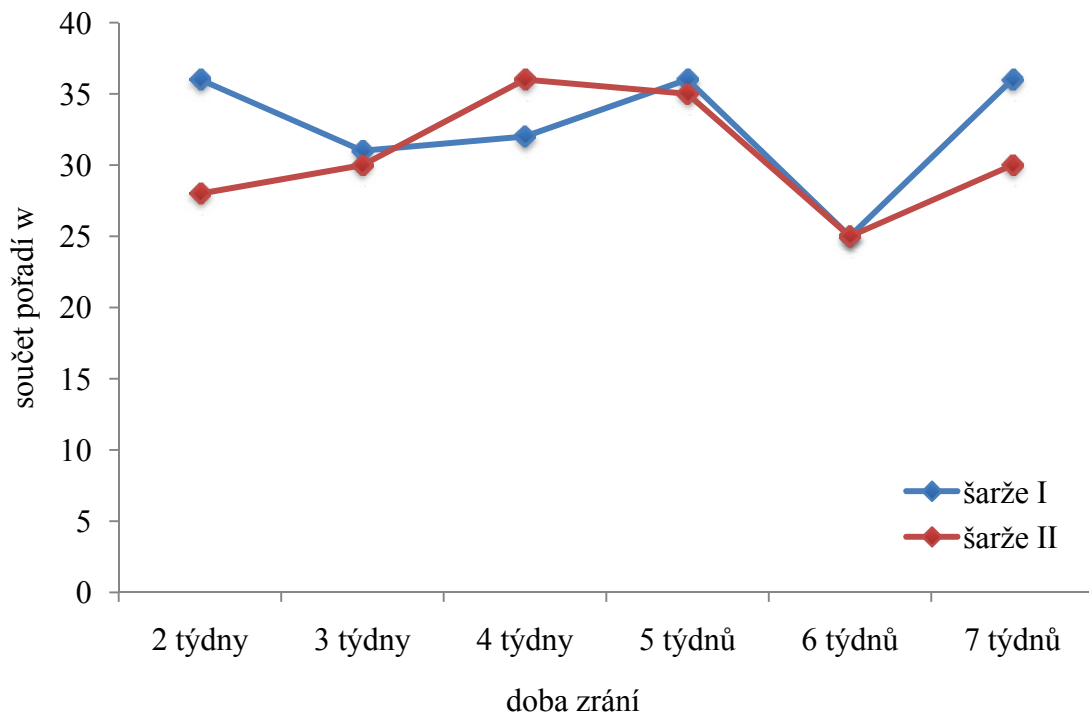
Profil vůně se po celou dobu zrání u všech vzorků neměnil. Mléčně kyselá vůně byla vyhodnocena středně silná, hořkomandlová jako slabá. Menší odlišnosti se vyskytly u sladké vůně, kterou navrhli sami hodnotitelé. U šarže I byla spíše středně silná (graf 4.20), druhou výrobu označili pouze za slabou (graf 4.21).

Ve dvou případech byla identifikovaná na počátku zrání slabá tvarohová vůně.

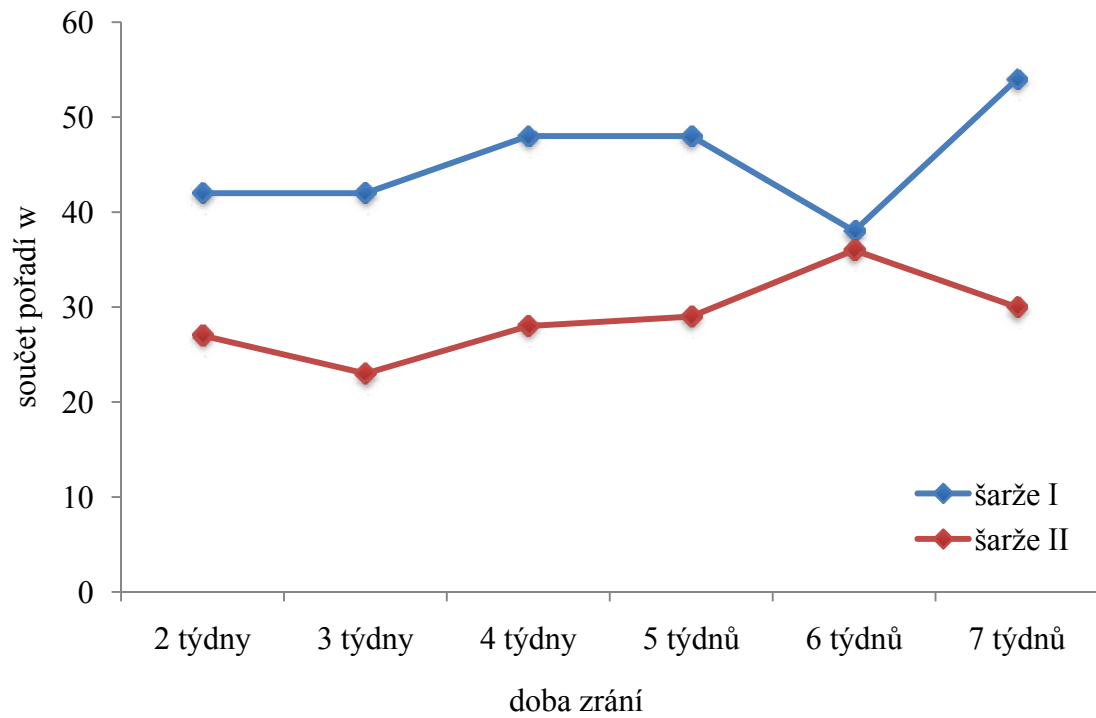
Graf 4.14: Vývoj vzhledu vzorků sýru v průběhu zrání



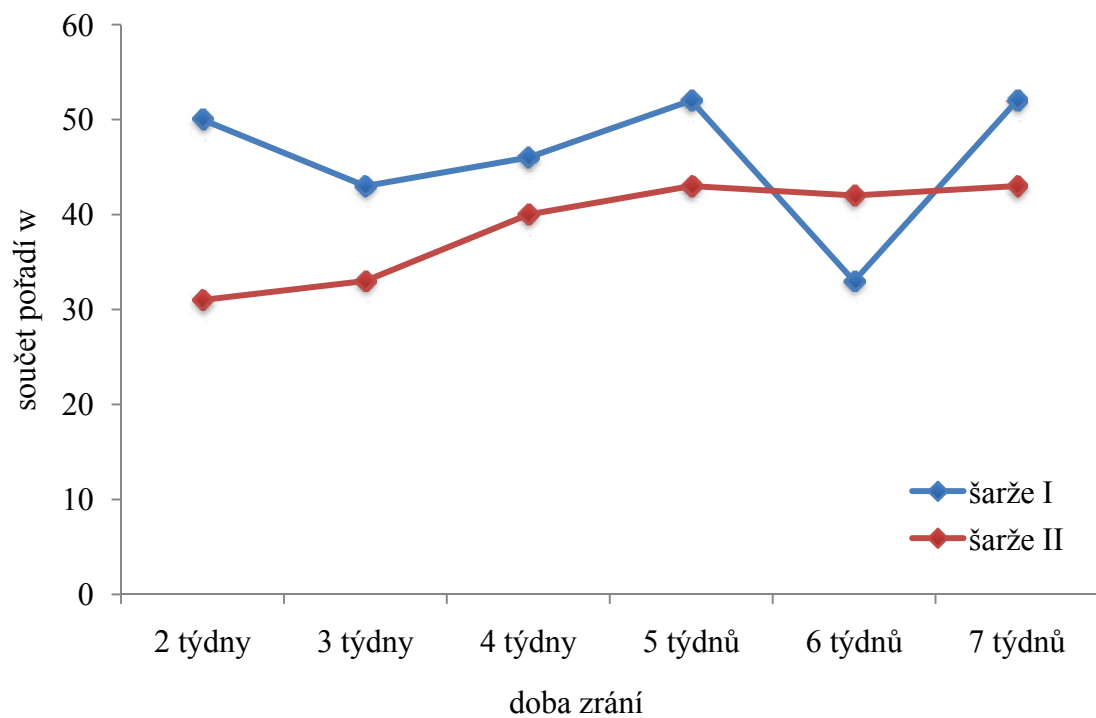
Graf 4.15: Vývoj vůně vzorků sýrů v průběhu zrání



Graf 4.16: Vývoj textury vzorků sýru v průběhu zrání



Graf 4.17: Vývoj chuti vzorků sýru v průběhu zrání



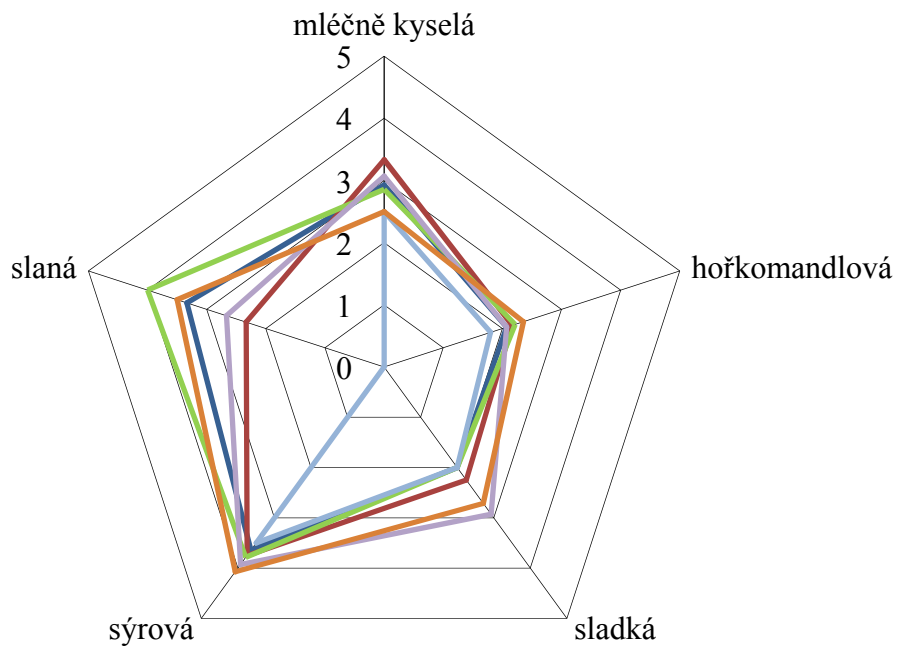
4.2.2.3. Metoda slovního popisu

V poslední části posuzovatel mohl vyjádřit svůj celkový dojem a názor na hodnocený vzorek. V podstatě tyto komentáře kopírovali výsledky jednotlivých sensorických testů.

Hodnotitelé celkově spíše preferovali šarži I pro svou vyváženou chuť a vůni, avšak na konci zrací doby se část přiklonila na druhou stranu, protože se jim vzorky šarže I zdály již příliš aromatické na eidamský sýr. Šarži II byla až do poloviny zrací doby vytýkána přílišná gumovitost a “škvrcání“ mezi zuby při kousání (viz kapitola 4.2.1). Celkově byly vzorky označeny jako velmi dobré a chutné.

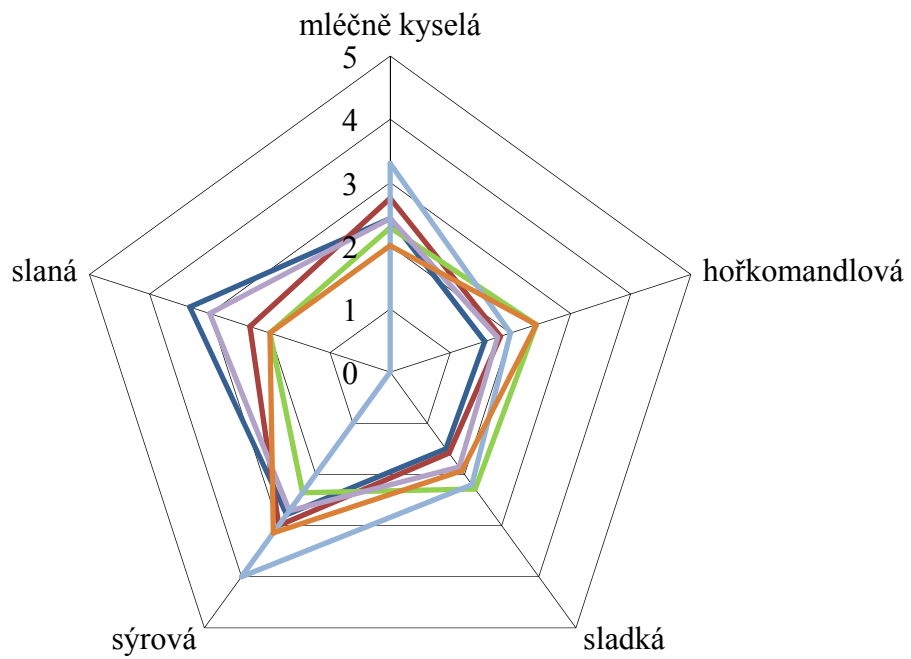
Graf 4.18: Profil chuti šarže I

— 14 dní — 21 dní — 28 dní — 35 dní — 42 dní — 49 dní



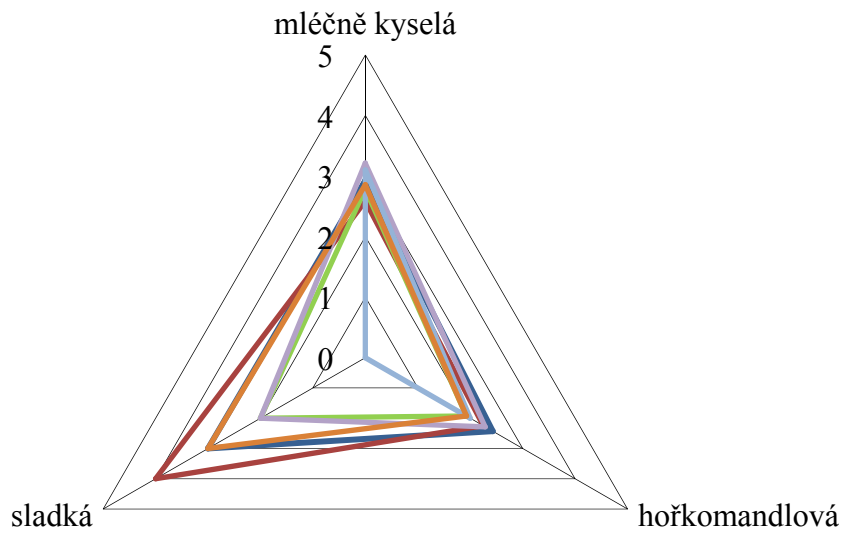
Graf 4.19: Profil chuti šarže II

— 10 dní — 17 dní — 24 dní — 31 dní — 38 dní — 45 dní



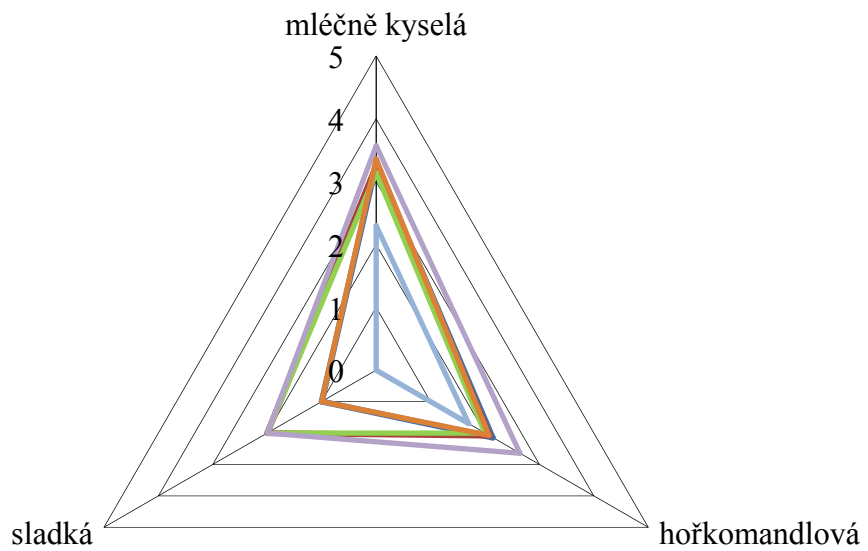
Graf 4.20: Profil vůně šarže I

14 dní 21 dní 28 dní 35 dní 42 dní 49 dní



Graf 4.21: Profil vůně šarže II

10 dní 17 dní 24 dní 31 dní 38 dní 45 dní



5. ZÁVĚR

V této práci jsme sledovali změny chutnosti sýrů eidamského typu jednak z hlediska analytického – obsah těkavých aromaticky aktivních látek a také z hlediska sensorického – chuť, vůně a aroma.

Vzorky eidamského sýru s 30 % tuku v sušině nám poskytla mlékárna MILTRA B s. r. o. Městečko Trnávka.

Za chutnost sýrů jsou zodpovědné tzv. aromaticky aktivní látky, což jsou těkavé látky různých chemických skupin, které ve vzájemné kombinaci tvoří celkovou charakteristickou chutnost sýru. Pro stanovení obsahu aromatických látek byla zvolena metoda HS-SPME/GC. Celkem byly analyzovány dvě šarže, přičemž se sledovaly rozdíly mezi šaržemi a vývoj aromaticky aktivních látek v průběhu technologického zpracování od mléka až po zralý sýr.

V analyzovaných vzorcích bylo identifikováno celkem 30 aromatických sloučenin, z toho v šarži I se našly všechny stanovené sloučeniny, v šarži II pouze 20 z nich. Ale na druhou stranu se zde nacházely ve výrazně vyšším množství. Na základě těchto výsledků usuzujeme, že mezi odebranými šaržemi je patrný rozdíl, zvláště pak v obsahu některých aromatických látek, např. acetoin.

Co se týče procesu zrání, obecně se celkový obsah aromatických látek zvyšoval. V mléce určeném pro výrobu sýrů byl obsah aromatických látek poměrně malý ($152 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), menší nárůst celkové koncentrace byl zaznamenán po lisování ($276 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), kdy se zintenzivňuje fermentace laktosy. Výrazné zvýšení pak v druhé polovině doby zrání ($399 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). V této fázi se již plně rozbíhají proteolytické změny uvnitř sýru.

Od fáze zrání byly hodnoceny vzorky eidamského sýru také sensoricky. Hodnocení probíhalo každý týden až po dobu, kdy byly sýry vyexpedovány spotřebitelům. K posouzení organoleptických vlastností (vzhled, barva, chuť, aroma, textura) byl použit ordinální stupnicový test a profilový test.

Mezi šaržemi byly zjištěny rozdíly zejména u textury. Až do poloviny zrací doby se sýry šarže II se jevily jako tuhé, špatně ukusovatelné, při žvýkání škvrcaly mezi zuby. Také byly kyselější a měly méně výraznou sýrovou chuť. Přestože u šarže I byla na počátku hodnocení zjištěna barevná nesourodost, celkově hodnotitelé preferovali právě sýry šarže I.

U profilu chuti a vůně nebyla v průběhu zrání zaznamenána výrazná změna. Vzhledem k všeobecně nízkému obsahu aromatických látek v eidamském sýru a tudíž poměrně jemné chuti a vůni a menší zkušenosti hodnotitelů se dal tento výsledek očekávat.

Z výsledků chemické a sensorické analýzy lze tedy usoudit, že mezi stanovovanými šaržemi vybraného eidamského sýru byl zaznamenán zřetelný rozdíl, což může být způsobeno nedostatečně standardizovaným postupem výroby.

Sensorická kvalita sýrů se podle očekávání zlepšovala během zrání, kdy asi po 2 měsících mají sýry plně rozvinutou charakteristickou chutnost a jsou připraveny k expedici.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. PIJANOWSKI, E.: *Základy chemie a technologie mlékárstva*, II. díl. Příroda Bratislava 1978.
2. FORMAN, L. a kolektiv: *Mlékárenská technologie II*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze 1996. ISBN 80-7080-250-2.
3. DOLEŽÁLEK, J.: *Biochemie a technologie plísňových sýrů*. Praha: Výzkumný ústav potravinářského průmyslu – Středisko technických a ekonomických informací potravinářského průmyslu, 1967.
4. OLEŠANSKÝ, Č., KNĚZ, V.: *Výroba tvrdých sýrů eidamského a ementálského typu*. Praha: Česká akademie zemědělská – Výzkumný ústav potravinářského průmyslu – Středisko technických a ekonomických informací potravinářského průmyslu, 1971.
5. *Eidam* [online]. Poslední úprava 15.4.2007 [citováno 11. října 2008]. Dostupné z: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Eidam>>.
6. ROGINSKI, H., FUGNAY, J., FOX, P., *Encyclopedia of Dairy Science*. London: Academia Press, 2003. ISBN 0-12-227235-8.
7. FORMAN, L., STRMISKA, J.: *Mlékárenství II pro 3. ročník středních odborných učilišť*. Praha: SNTL 1984.
8. FOX, P. F.: McSWEENEY, P. L. H.: *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Germany: Springer - Verlag, 1998. ISBN 0-412-7200- 0.
9. HOJDAR, KNĚZ, FIALA: *Mlékaření-Máslařství-Sýrařství*. Praha: Brázda 1948.
10. TEPLÝ, M., FRIEDRICH, F.: *Syřidla, barvy a vosky v mlékárenském průmyslu*. SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1957.
11. FOX, P. F.: *Fundamental of cheese science*. Springer - Verlag, 2000. ISBN 0-8342-1260-9.
12. YADA, R. Y.: *Proteins in Food Processing*. Woodhead Publishing, 2004. ISBN 978-1-85573-723-5.
13. VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 1*. 2. upr. vydání. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-00-3.
14. VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 2*. 2. upr. vydání. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-01-1.
15. TEPLÝ, M., FRIEDRICH, F.: *Syřidla, barvy a vosky v mlékárenském průmyslu*. SNTL-Nakladatelství technické literatury 1957.
16. ŠEBELA, F., DUŠEK, B., PAVEL, J.: *Mlékařství*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství 1964.
17. ZADRAŽIL, K.: *Mlékařství (přednášky)*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze a ISV Praha 2002.
18. TEPLÝ, M. a kolektiv: *Výroba sýrů, kaseinů a parakaseinů*. Praha: SNTL 1985.
19. ČERNÁ, M.: *Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků*. Praha: VÚPP, 1979.
20. RIDGWAYOVÁ, J.: *Sýry*. Praha: Fortuna Print 2004. ISBN 80-7321-108-4.
21. ŠTOUDKOVÁ H.: *Extrakce těkavých aromatických látek ze vzorku sýra*. Brno 2005. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického na Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová PhD.
22. GARDE, S.: Acceleration of flavon formation in cheese by a bacteriocin-producing adjunct lactic culture. *Biotechnology letters*. 1997, Vol. 19, No. 10, pp. 1011-1014.

23. CARUNCHIA, M.: Characterization of aroma compounds responsible for the rosy/floral flavor in cheddar cheese. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005, Vol. 53, pp. 3126-3132.
24. MARILLEY, L. CASEY, M., G.: Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*. 2004, Vol. 90, No. 2, pp. 139-159.
25. ENGELS, W. J. M., DEKKER, R., JONGB, DE C., NEETER, R., VISSER, S.: A Comparative Study of Volatile Compounds in the Water-soluble Fraction of Various Types of Ripened Cheese. *International Dairy Journal*. 1997 Vol. 7, No. 4, pp. 255-263.
26. BŘEZINA, P., KOMÁR, A., HRABĚ, J.: *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin, část II*. Vyškov: Vysoká škola pozemního vojska 2001. ISBN 80-7231-079-8.
27. FIALKOVÁ, B. *Sýry* [online]. Poslední úprava 24.1.2005. [citováno 22. ledna 2009]. Dostupné z: <http://www.vsh.cz/vsh/ps_125.htm>.
28. WONG, NOBLE, P.; *Fundamentals of dairy chemistry*. Springer - Verlag, 1999. ISBN 978-0-8342-1360-9.
29. ŠKROBÁROVÁ, V.: *Progresivní technika a technologie mlékárenského průmyslu ve světě*. Praha: Ústředí vědeckých technických a ekonomických informací 1991.
30. *Laboratorní postup*. Městečko Trnávka (CZ): MILTRA B s. r. o., 2003.
31. ústní sdělení [Doc. Ing. Peter Šimko, DrSc.] [Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií, Purkyňova 118, Královo Pole, 61200, Brno, Česká republika] [citováno 27. února 2009].
32. TKADLEC, P. a kolektiv: *Technologie potravin II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze 2002. ISBN 80-7080-510-2.
33. GLORIA, VALE, VAGAS: Influence of nitrate levels addend to cheesemilk on nitrate, nitrite and volatile nitrosoamine contents in Gruyere cheese. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1997, Vol. 45, No. 9, pp. 3577 -3579.
34. VÍTOVÁ, E.: *Hygiena potravin*. Brno: VUT FCH, 2004. ISBN 80-214-2680-2.
35. HUI, Y.: *Dairy Science and Technology Handbook*. John Wiley & Sons, 1993. ISBN 978-1-56081-078-0.
36. DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J.: *Základy potravinářských technologií*. Bratislava: Malé centrum 1996. ISBN 80-967064-1-1.
37. VÍTOVÁ, E.: *Hodnocení tvorby těkavých sensoricky účinných látek mikrobiálních metabolitů a jejich charakterizace*. Brno 2003. Disertační práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického na Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí disertační práce Prof. Ing. Drdák M., DrSc., Prof. Ing. Březina P., CSc.
38. *Sůl pro výrobu sýrů* [online]. Poslední úprava 16.8.2006 [citováno 23. ledna 2009]. Dostupné z: <http://www.solsan.cz/produkty/potravinarstvi/syry_detaily.html>.
39. KÜCÜKÖNER, E., HAQUE, Z., U.: Physico-chemical and rheological properties of full fat and low fat edam cheeses. *Eur Food Res Technol*. 2003, Vol. 217, pp. 281-286.
40. VODRÁŽKA, Z.: *Biochemie*. 2. vydání. Praha: Akademie věd České republiky, 2002. ISBN 80-200-0600-1.
41. DOLEŽÁLEK, J.: *Biochemie a technologie plísňových sýrů*. Praha: Výzkumný ústav potravinářského průmyslu – Středisko technických a ekonomických informací potravinářského průmyslu, 1967.

42. FOX., P. F. *Cheese: Chemistry, physics and mikrobiology*. Londýn: Academic press, 2004. ISBN 0-1226-3651-1.
43. PRÍBELA, A.: *Analýza potravin*. Bratislava: STU, 1991. ISBN 80-227-0374-5.
44. PINHO, O.: Method optimization for analysis of the volatile fraction of ewe cheese by solid-phase microextraction. *Chromatographia supplements*. 2001, Vol. 53, pp. 390-393.
45. PINHO, O.: Solid/phase microextraction in combination with GC-MS for quantification of the major volatile free fatty acids in ewe cheese. *Analytical chemistry*. 2002, Vol. 74, No. 20, pp. 5199-5204.
46. *Mikroextrakce tuhou fází* [online]. Poslední úprava 8. 3. 2003, [citováno 3. května 2009]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/img/assets/11080/SPME_theorie.pdf>.
47. LUKÁČKOVÁ, D.: *Možnosti využití metody SPME při analýze potravin*. Brno 2007. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického na Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová PhD.
48. PAWLISZYN, J.: *SPME*. 1. Vydání. Kanada, Ontario: WILEY-VCH, 1997. ISBN 0-471-19034-9.
49. *SPME* [online]. Poslední úprava 24. 7. 2008, [citováno 3. května 2009]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/General_Information/spme_basics__sa.pdf>
50. JUNG, EBELER, S.: Headspace solid-phase microextraction method for study of volatility of selected flavor compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003, Vol. 51, pp. 200-205.
51. LEE, DIONO, R.: Optimization of solid phase microextraction analysis for the headspace volatile compounds of parmesan cheese. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003, Vol. 51, pp. 1136-1140.
52. SOMMER, L.: *Základy analytické chemie II*. 1. Vydání. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
53. KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*. 2. upravené a doplněné vydání. Ostrava: nakladatelství Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
54. CHURÁČEK, J.: *Analytická chemie II*. Pardubice: V3TCH Pardubice, 1983.
55. CHURÁČEK, J.: *Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod*. Praha: Akademie věd České republiky, 1993. ISBN 80-200-0010-0.
56. PÉRÉS, Ch.: Fast characterization of cheese by dynamic headspace-mass spectrometry. *Analytical chemistry*. 2002, Vol. 74, No. 6, pp. 1386-1392.
57. VALERO, E.: Comparison of two methods based on dynamic head-space for GC-MS analysis of volatile components of cheese. *Chromatographia*. 200, Vol. 52, No. 5/6, pp. 340-345.
58. POKORNÝ, J.: *Senzorická analýza potravin*. Praha: VŠCHT, 1998. ISBN 80-7080-329-0.
59. HÁLKOVÁ, J.: *Analýza potravin*. Újezd u Brna: RNDr. Ivan Straka, 2001. ISBN 80-86494-02-0.
60. POKORNÝ, J.: *Senzorická analýza potravin: Laboratorní cvičení*. Praha: VŠCHT, 1999. ISBN 80-7080-278-2.
61. SURIYAPHAN, O.: Characteristic aroma components of british farmhouse cheddar cheese. *Food chemistry*. 2001, Vol. 49, pp. 1382-1387.

62. SCHOMBURG, G.: *Gas chromatography*. 1. Vydání. Německo:WILEY-VCH, 1990. ISBN 3-527-27879-6.
63. MONDELLO, L.: Determination of flavor componets in Sicilian goat cheese by automated HS-SPME-GC. *Flavour and Fragnence journal*. 2005, Vol. 50, pp. 659-665.
64. VERZERA, A.: Solid-phase microextraction and gass chromatogramy-mass spektrometry for rapid characterisation of semi-hard cheese. *Anal Bioanal Chem*. 2004, Vol. 380, pp. 930-936.
65. LOUPANCOVÁ, B. *Vývoj těkavých aromatických látek v průběhu zrání sýrů s modrou plísní v těstě*. Brno 2004. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí diplomové práce RNDr. Mikulíková Renata.
66. ŠTOURAČOVÁ, A. *Vliv podmínek a doby skladování na obsah aromaticky aktivních látek ve sterilovaných tavených sýrech*. Brno 2008. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technologického v Brně, Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
67. LAZÁRKOVÁ, Z. *Vliv sterilačního zářevu na vybrané aromatické látky v tavených sýrech*. Brno 2006. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technologického v Brně, Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
68. *Miltra* [Online]. Poslední úprava 31. 1. 2009 [citováno 5. března 2009]. Dostupné z: <<http://www.miltra.cz>>.
69. LECAU, L.: Optimization of headspace solid-phase microeaction for the odor analysis of surface-ripened cheese. *Journal of food agricultural and food chemistry*. 2002, Vol. 50, pp. 3810-3817.
70. ŠINKOVÁ, T., KOVÁČ, M. *Potravinárske aditívne látky*. 1. Vydání. Bratislava: Výskumný ústav potravinarsky, 1995.
71. ANDĚL, J. *Statistické metody*. 3. vydání. Praha: MATFYZPRESS, 2003. ISBN 80-86732-08-8.
72. Ústní sdělení [Ing. Babák Libor, Ph. D.] [Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií, Purkňova 118, Královo Pole, 61200, Brno, Česká republika] [citováno 4. listopadu 2008].
73. HUMLÍČEK, J. *Statistické zpracování výsledků měření*. 1. vydání. Brno: Výrobna skript rektorátu UJEP, 1984. ISBN 55-958-84.
74. BARTELT. R.: Calibration of a commercial solid-phase microextraction device for measuring headspace concentrations of organic volatiles. *Analytical chemistry*. 1997, Vol. 69, No. 3, pp. 364-372.
75. PÁCHLOVÁ, V., BUŇKA, F.: Vliv průběhu zrání na obsah vybraných složek v přírodním sýru eidamského typu. *Potravinárstvo*. 2009, Vol. 1, No. 3, pp. 33-45.
76. FOX, P. F. *Cheese: Chemistry, physics and mikrobiology*. Londýn: Academic press, 2004. ISBN 0-1226-3651-1.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

CAR TM	Carboxen TM
ČMK	Čisté mlékárenské kultury
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.; Německý institut pro normalizaci
D-Galp	D-galaktopyranosa
D-GalpNAc	<i>N</i> -acetyl-D-galaktosamin
FAO/WHO	Food and Agriculture Organization / World Health Organization; Světová organizace pro zemědělství a výživu / Světová zdravotnická organizace
FID	Flame ionization detektor; Plamenově ionizační detektor
GC	Gas chromatography; Plynová chromatografie
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points; Analýza nebezpečí a kritické kontrolní body
HS	Headspace
ISO	International Organization for Standardization; Mezinárodní organizace pro normalizaci
NeuAc	<i>N</i> -acetylneuraminová kyselina
K	Označení kontrolních bodů výroby
PDMS	Polydimetylsiloxan
SPME	Solid phase microextraction; Mikroextrakce pevnou fází

8. PŘÍLOHY

Příloha 0	Formulář pro sensorické hodnocení eidamských sýrů
Příloha 8.2	Chromatogram aromatických látek v mléce – šarže I
Příloha 8.3	Chromatogram aromatických látek v sýřenině – šarže I
Příloha 8.4	Chromatogram aromatických látek v pokrájené sýřenině – šarže I
Příloha 8.5	Chromatogram aromatických látek v sýřenině po dopuštění prcí vody – šarže I
Příloha 8.6	Chromatogram aromatických látek v sýřenině po dosoušení – šarže I
Příloha 8.7	Chromatogram aromatických látek v sýru po vylisování – šarže I
Příloha 8.8	Chromatogram aromatických látek v sýru po vysolení – šarže I
Příloha 8.9	Chromatogram aromatických látek v sýru 14 dní zrající – šarže I
Příloha 8.10	Chromatogram aromatických látek v sýru 21 dní zrající – šarže I
Příloha 8.11	Chromatogram aromatických látek v sýru 28 dní zrající – šarže I
Příloha 8.12	Chromatogram aromatických látek v sýru 35 dní zrající – šarže I
Příloha 8.13	Chromatogram aromatických látek v sýru 42 dní zrající – šarže I
Příloha 8.14	Chromatogram aromatických látek v sýru 49 dní zrající – šarže I

Příloha 8.1:

FORMULÁŘ PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ EIDAMSKÝCH SÝRŮ

Diplomová práce: Bc. Andrea Urbanová
Vedoucí diplomové práce: Ing. Eva Vítová Ph. D.

HODNOTITEL:

Jméno a příjmení: Datum:

Věk: Zdravotní stav:

Kuřák / Nekuřák Spotřebitel / Hodnotitel / Znalec

VÝSLEDKY HODNOCENÍ:

Úkol 1: Zhodnoťte vzhled vzorku. Odpověď, která bude nejvíce odpovídat, zakřížkujte v tabulce.

VZHLED			
1.	Barva bílá, viditelná struktura sýrových zrn		
2.	Mléčné zbarvení, částečně viditelná struktura sýrových zrn		
3.	Jemně nažloutlá barva, homogenní struktura, hladký povrch		
4.	Barva smetanově až sýrově žlutá, povrch hladký bez poškození, lehce lesklý, malé dírky nejsou závadou		
5.	Sytě žlutá barva, hladký lesklý povrch s větším počtem dírek		

Pozn.:

Úkol 2: Zhodnoťte vůni vzorku. Svě hodnocení zaznačte do tabulky.

VŮNĚ			
1.	Tvarohově kyselá, ostrá po soli		
2.	Slabá, jemně mléčná, nakyslá, slaná		
3.	Charakteristická pro eidamy, čistě mléčně kyselá, lehce hořkomandlová		

Pozn.:

Úkol 3: Popište intenzitu jednotlivých deskriptorů vůně (stupnice je seřazena dle vzrůstající intenzity).

Vzorek:

Mléčně kyselá	1	2	3	4	5
Hořkomandlová	1	2	3	4	5
Jiná	1	2	3	4	5

Vzorek:

Mléčně kyselá	1	2	3	4	5
Hořkomandlová	1	2	3	4	5
Jiná	1	2	3	4	5

Úkol 4: Zhodnoťte texturu vzorku. Nejdříve vzorek prostudujte hmatem, pak vložte do úst a sledujte, jak se vzorek chová při ukousnutí, žvýkání a polykání. Výsledný dojem zakřížkujte v tabulce.

TEXTURA			
1.	Tvrdá, hrubá, drolí se na jednotlivá sýrová zrna		
2.	Gumovitá, tužší, lehce drobivá		
3.	Pružná, hladká		
4.	Vláčná až pružná, jemná, kompaktní		
5.	Homogenní, měkká až roztékavá		

Pozn.:

Úkol 5: Ochutnejte předložené vzorky a své hodnocení zakřížkujte do tabulky.

CHUŤ			
1.	Tvarohová, slabě kyselá, velmi slaná		
2.	Nevýrazná mléčná, slaná		
3.	Slabá jemně sýrová, lehce slaná		
4.	Typicky sýrová, jemně nakyslá, lehce nasládlá		
5.	Intenzivní, typická pro přezrálé sýry		

Pozn.:

Úkol 6: Popište intenzitu jednotlivých deskriptorů chuti (stupnice je seřazena dle vzrůstající intenzity).

Vzorek:

Mléčně kyselá	1	2	3	4	5
Hořkomandlová	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Sýrová	1	2	3	4	5
Jiná	1	2	3	4	5

Vzorek:

Mléčně kyselá	1	2	3	4	5
Hořkomandlová	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Sýrová	1	2	3	4	5
Jiná	1	2	3	4	5

Úkol 7: Popište celkový dojem, jaký na vás hodnocený vzorek udělal. Jestli vám chutná, jeho nedostatky a přednosti.

.....

.....

.....

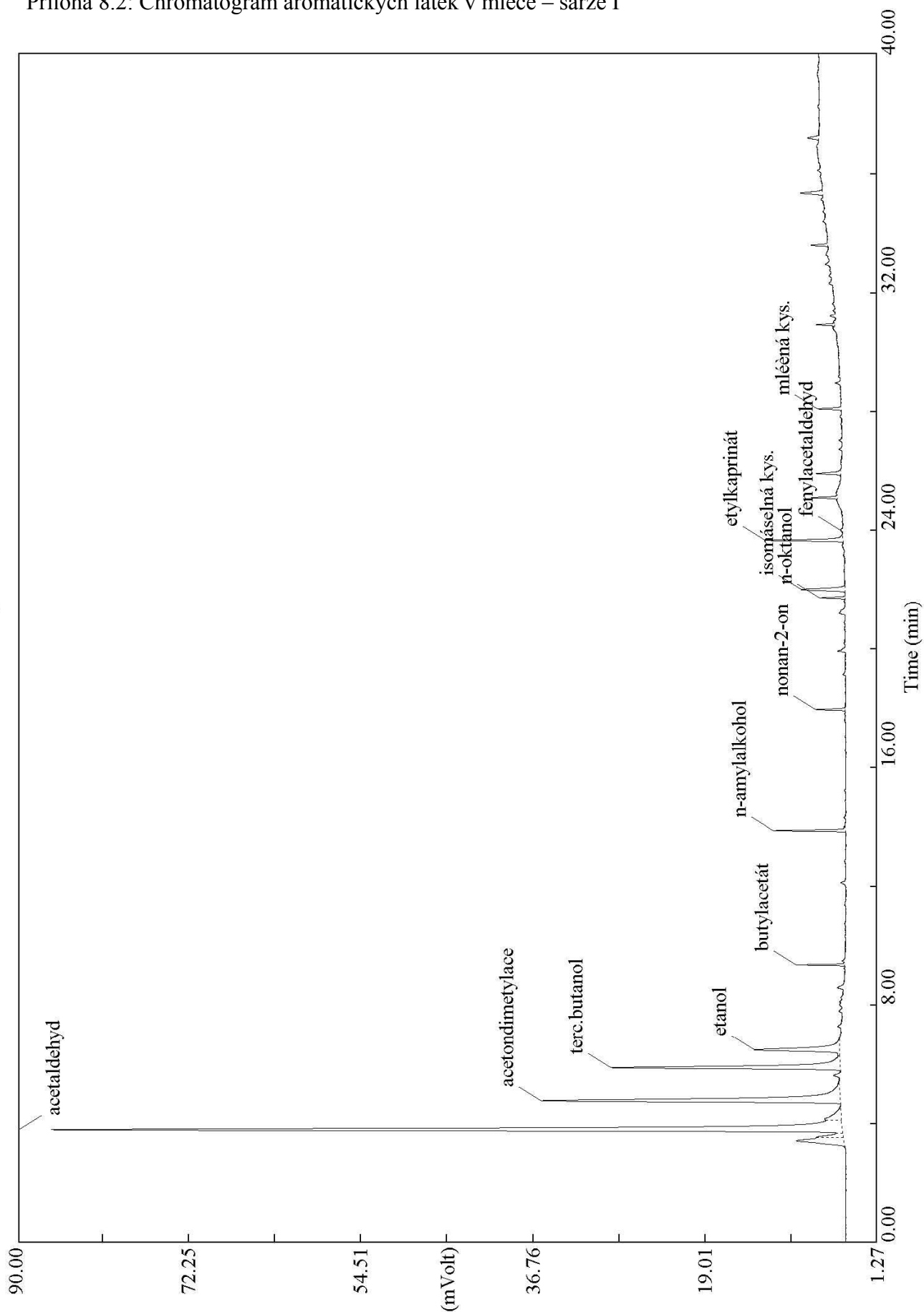
.....

.....

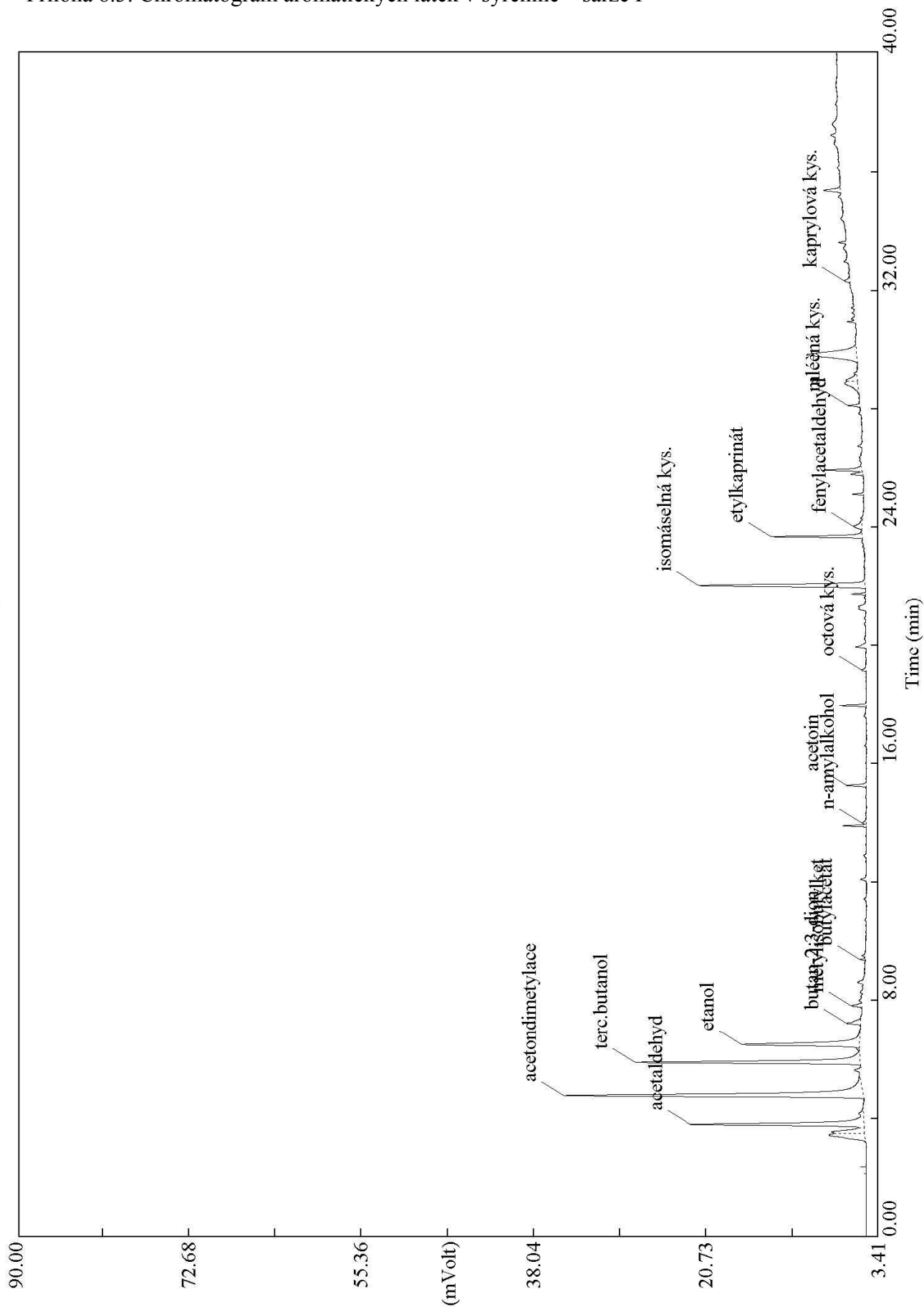
.....

.....

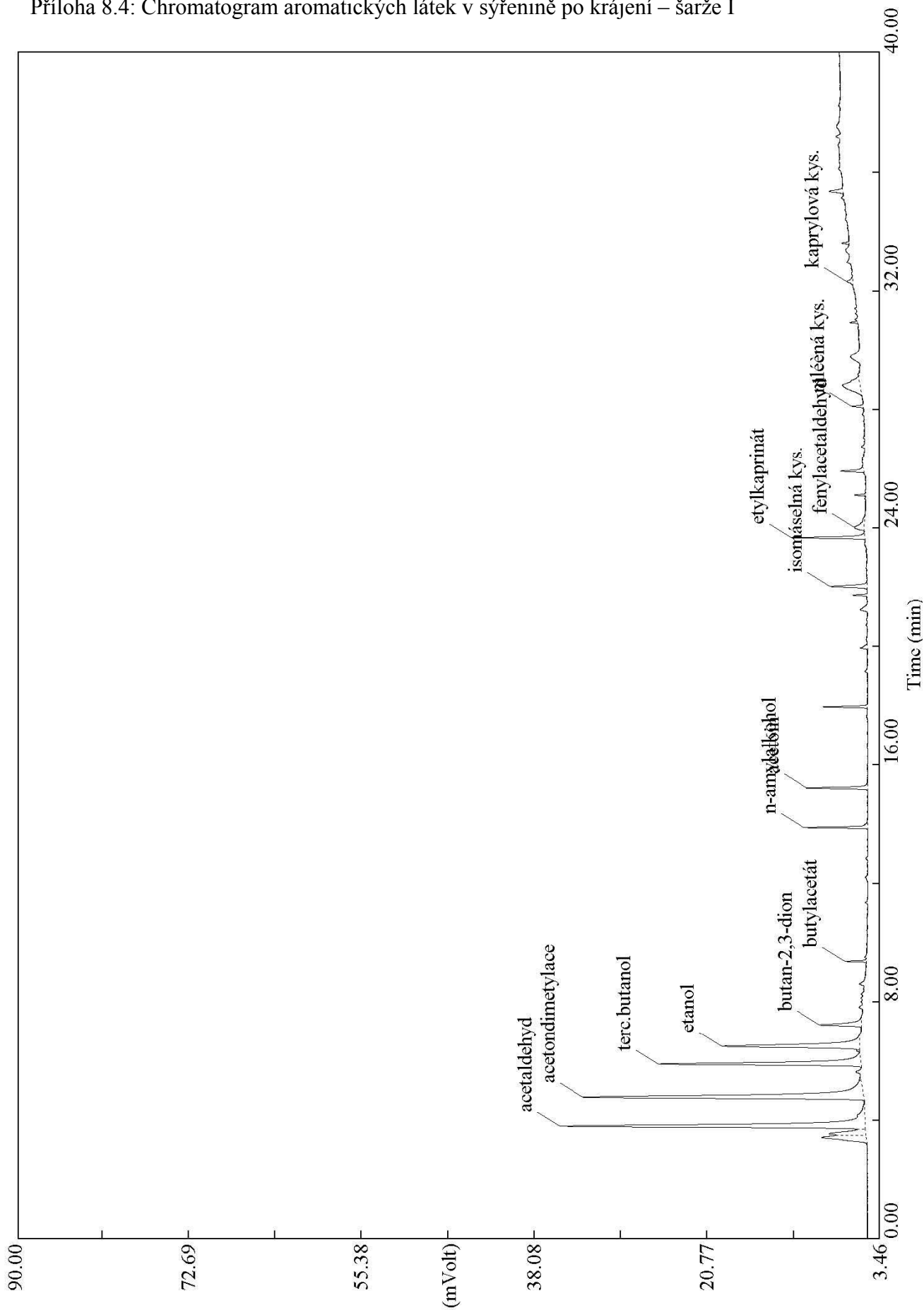
Příloha 8.2: Chromatogram aromatických látek v mléce – šarže I



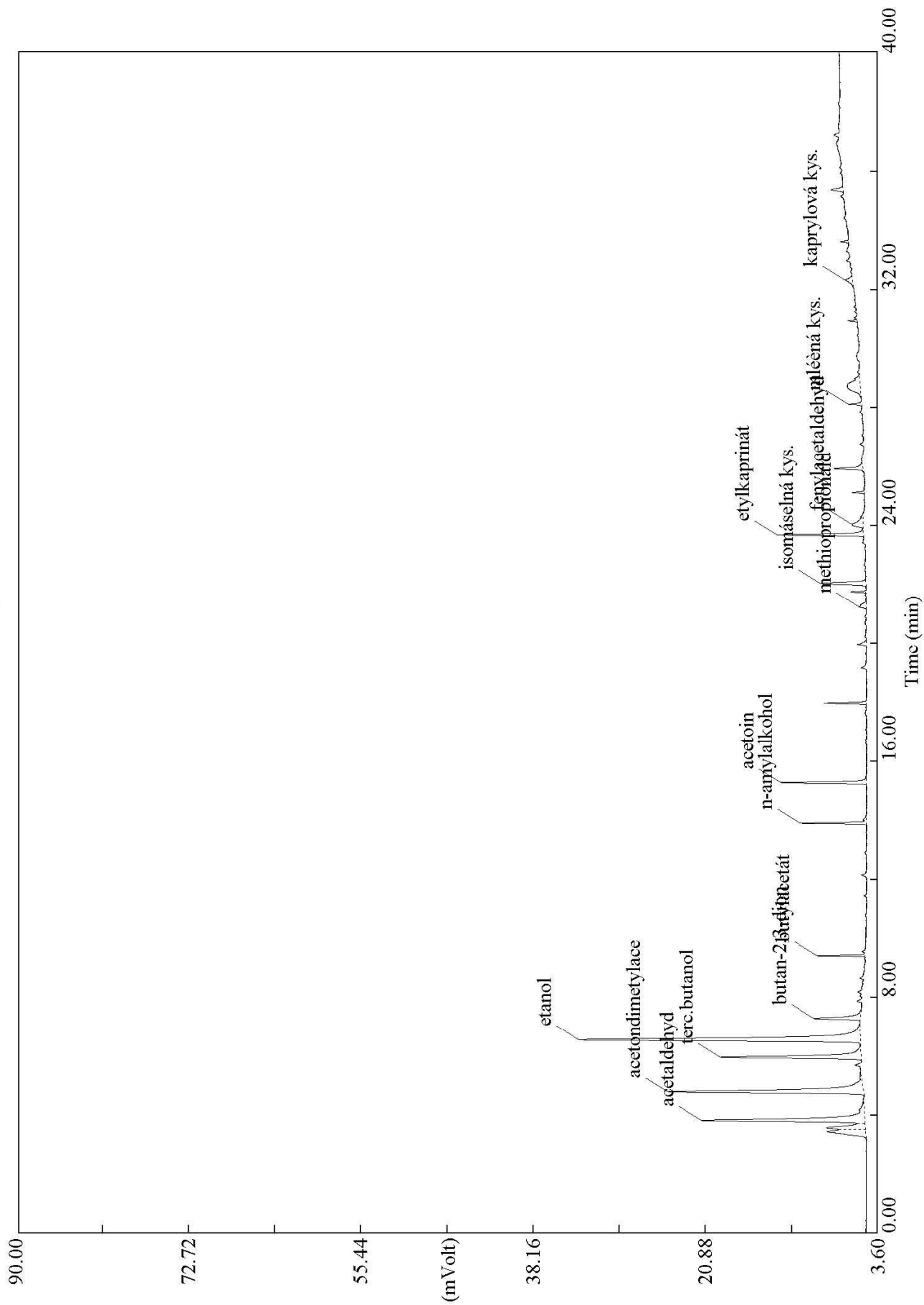
Příloha 8.3: Chromatogram aromatických látek v sýřenině – šarže I



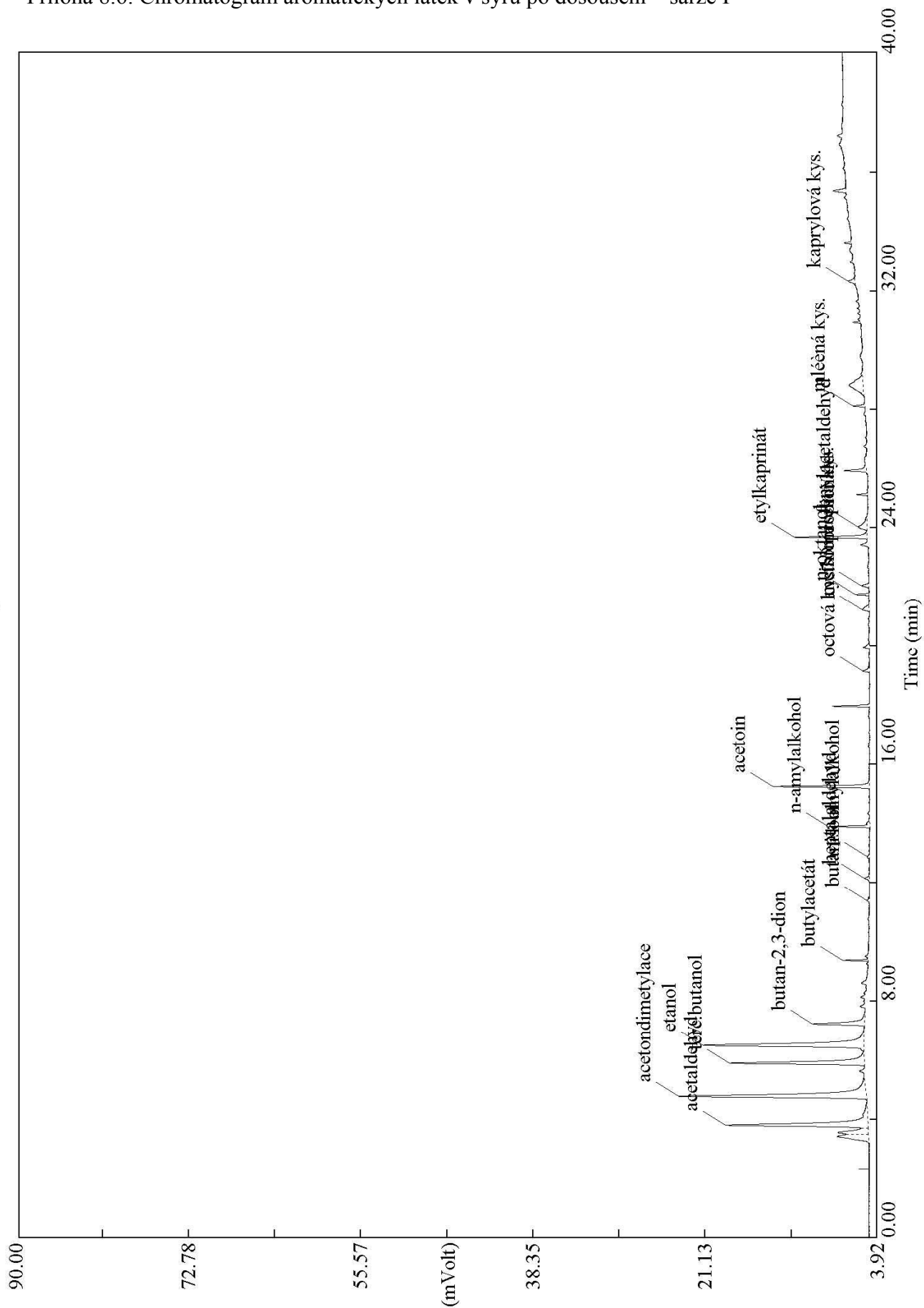
Příloha 8.4: Chromatogram aromatických látek v sýřenině po krájení – šarže I



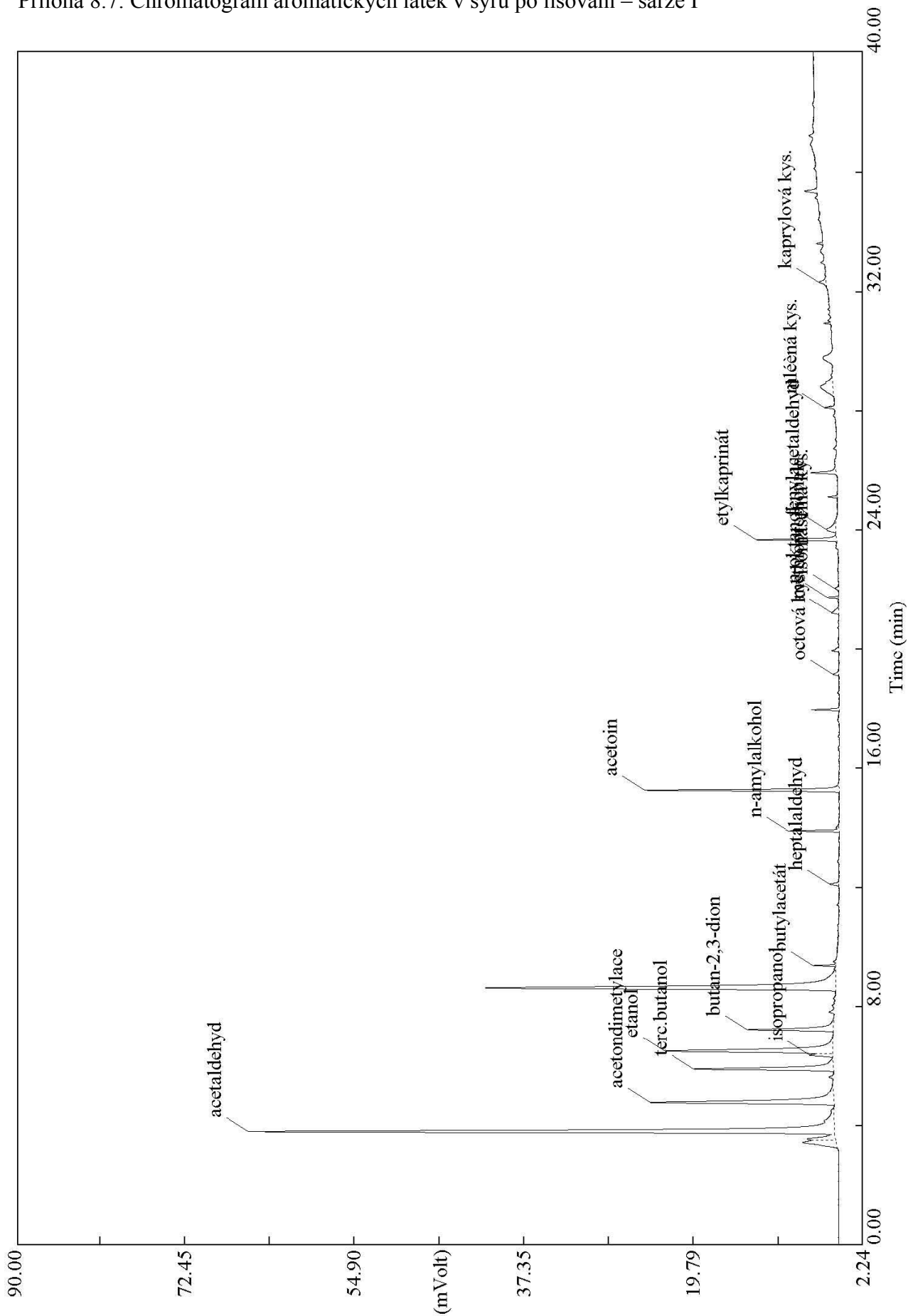
Příloha 8.5: Chromatogram aromatických látek v sýřenině po dopuštění prací vody – šarže I



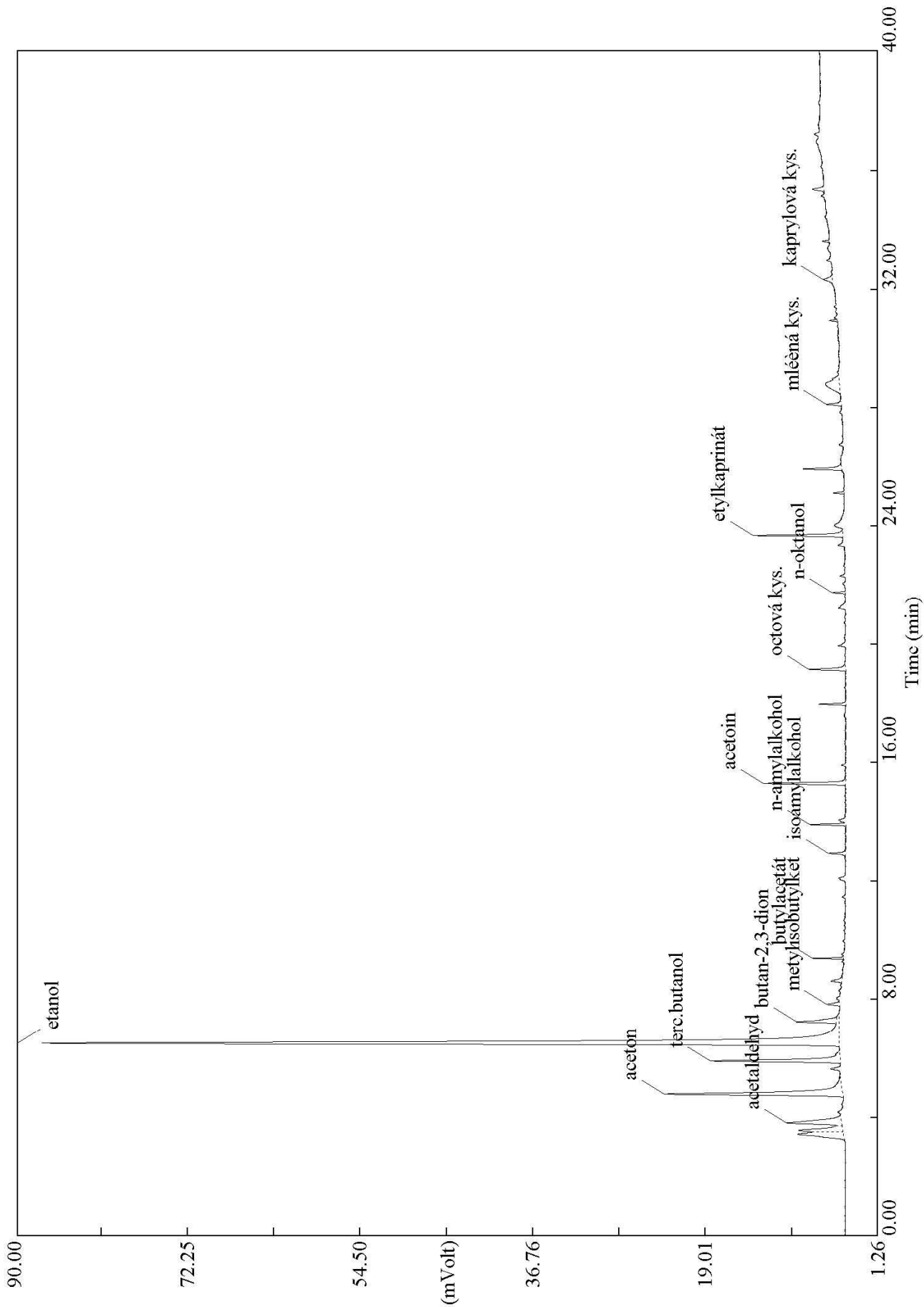
Příloha 8.6: Chromatogram aromatických látek v sýru po dosoušení – šarže I



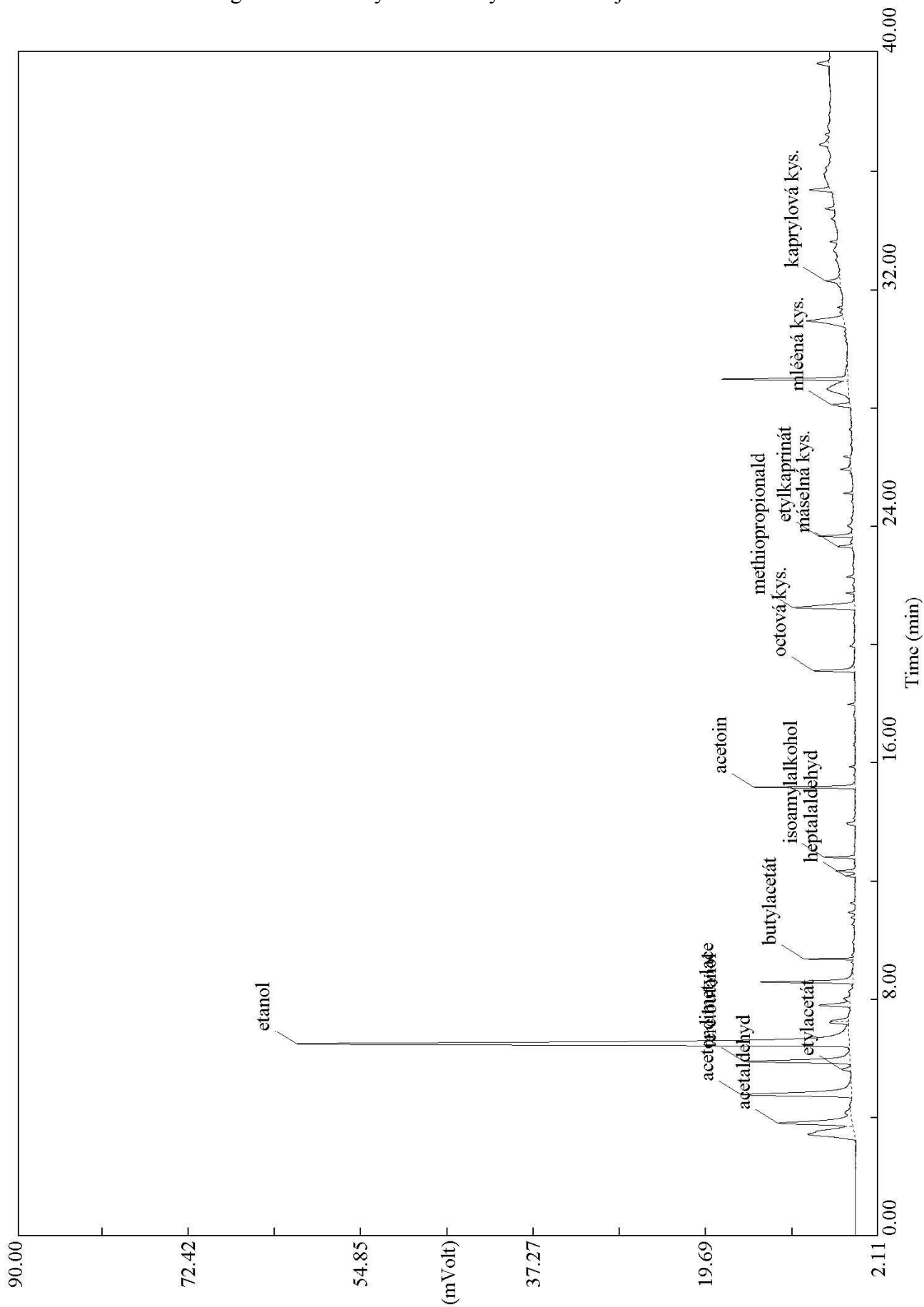
Příloha 8.7: Chromatogram aromatických látek v sýru po lisování – šarže I



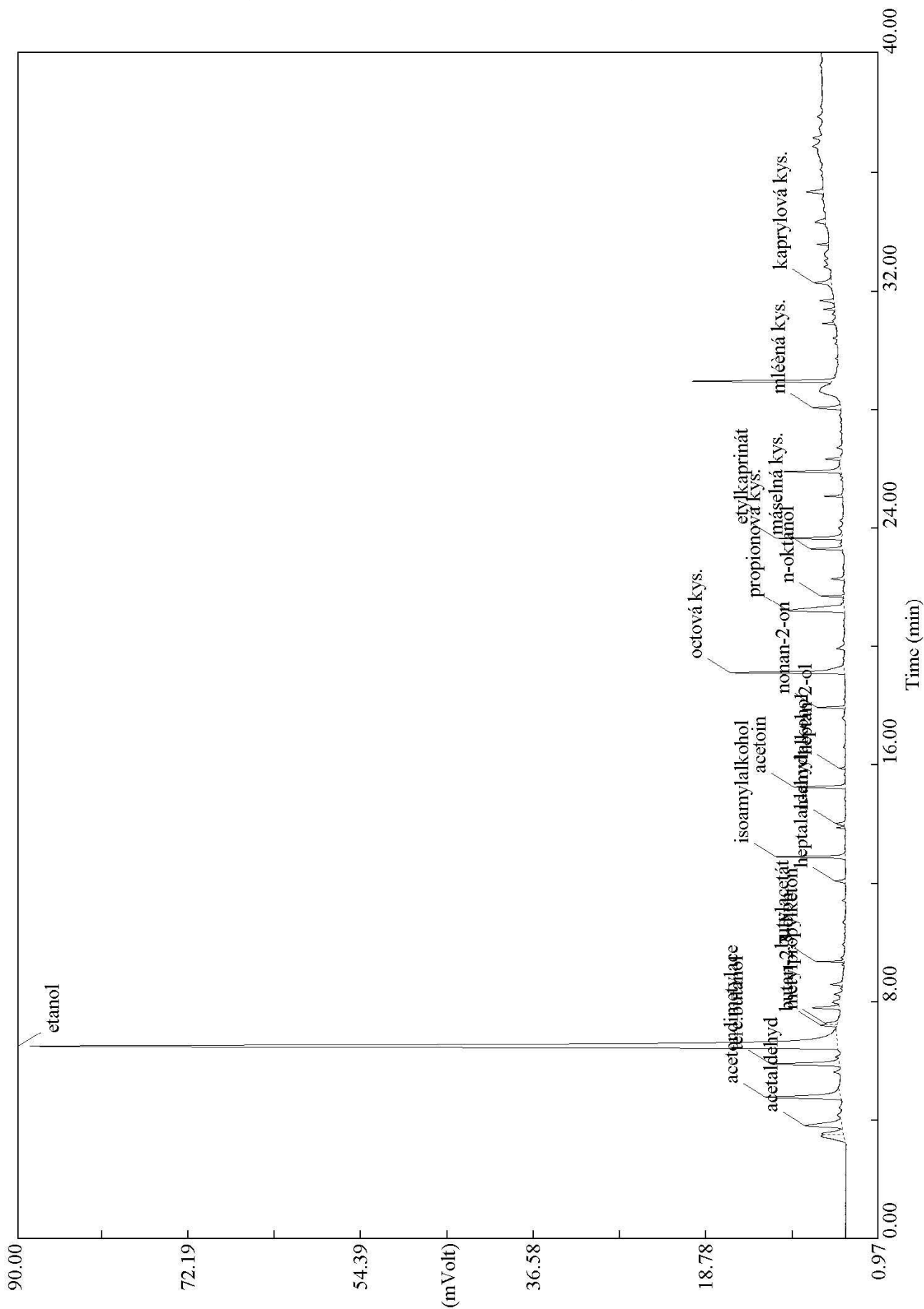
Příloha 8.8: Chromatogram aromatických látek v sýru po vysolení – šarže I



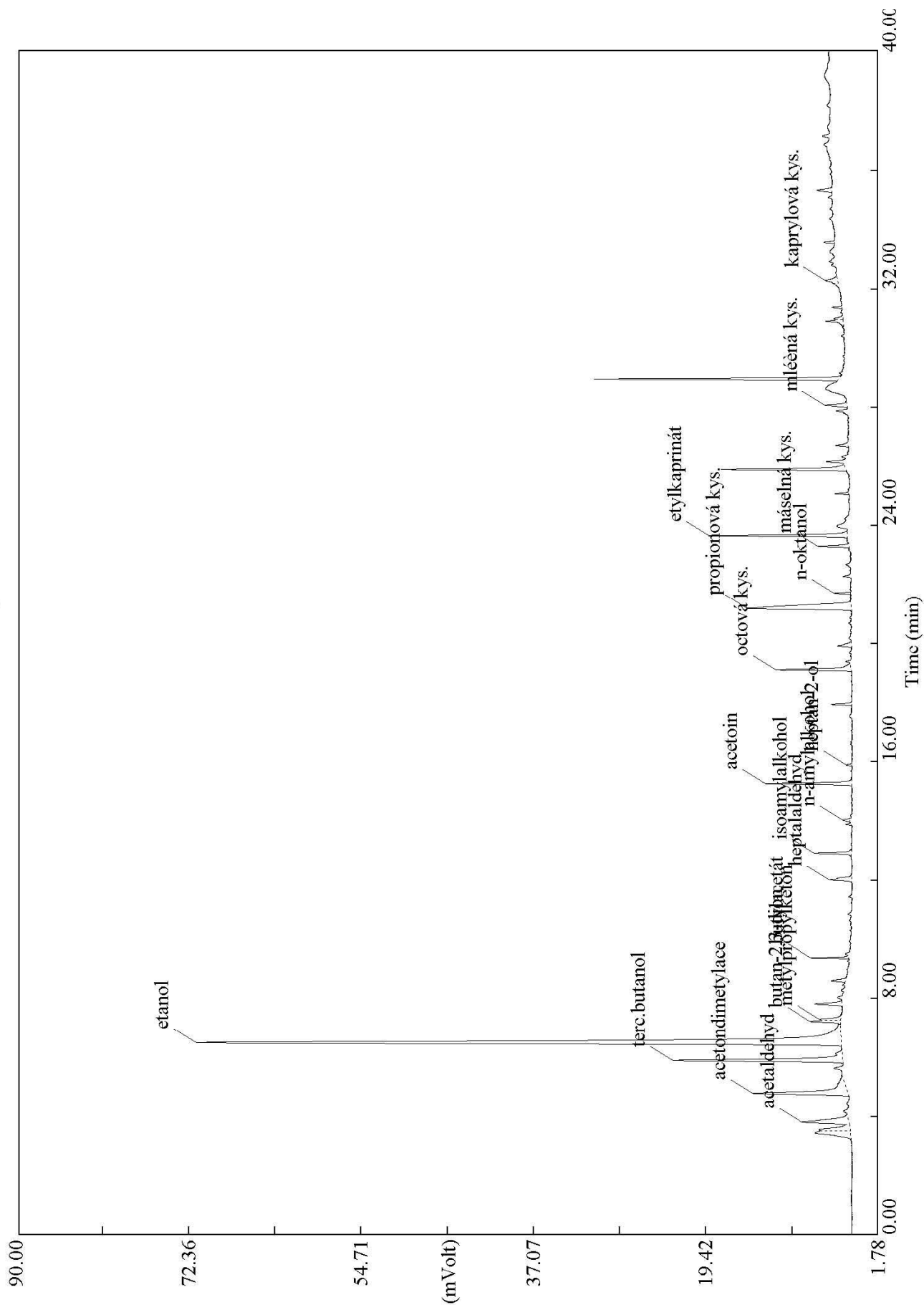
Příloha 8.9: Chromatogram aromatických látek v sýru 14 dní zrající – šarže I



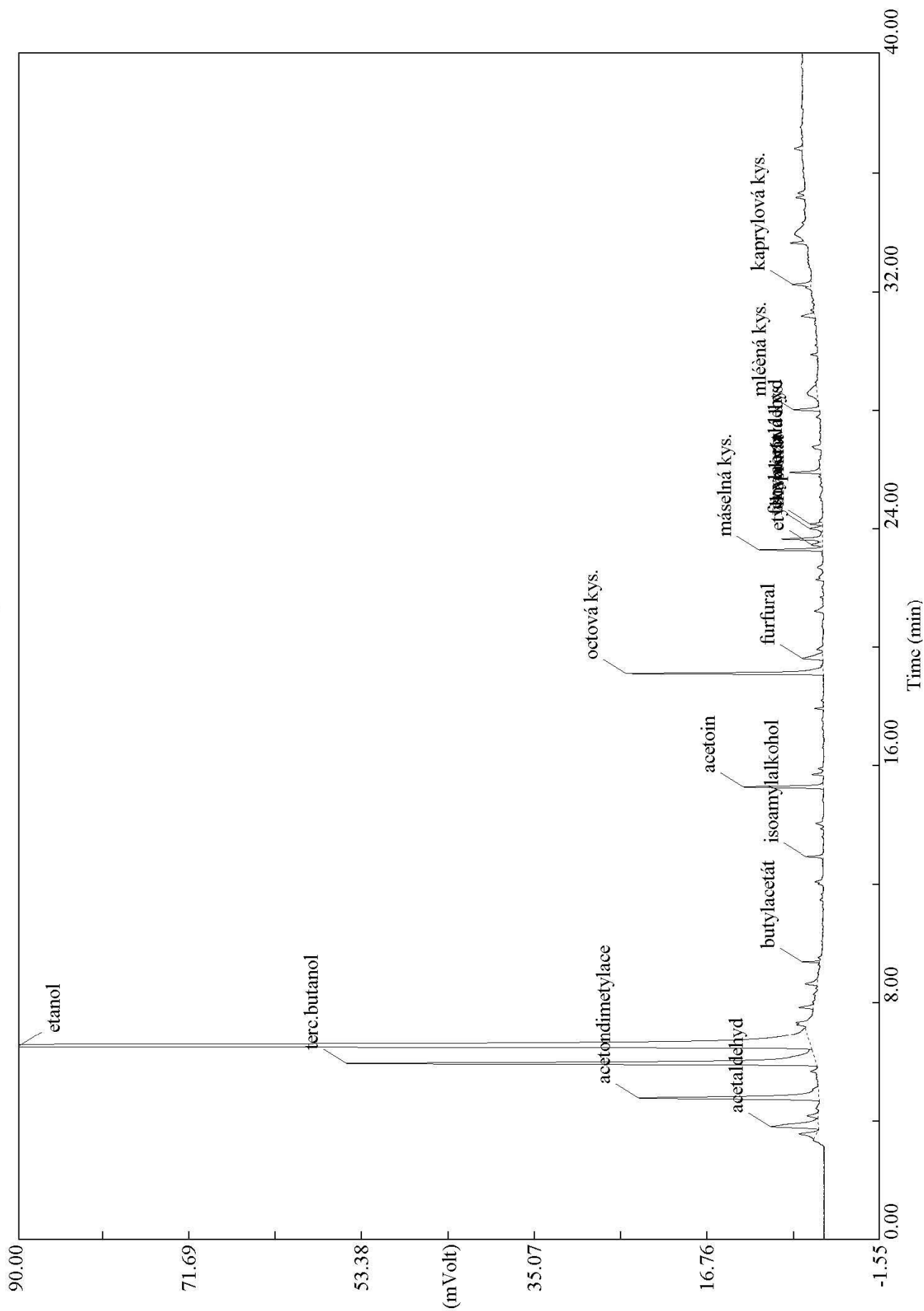
Příloha 8.11: Chromatogram aromatických látek v sýru 28 dní zrající – šarže I



Příloha 8.12: Chromatogram aromatických látek v sýru 35 dní zrající – šarže I



Příloha 8.13: Chromatogram aromatických látek v sýru 42 dní zrající – šarže I



Příloha 8.15: Chromatogram aromatických látek v sýru 49 dní zrající – šarže I

