

Vývoj obsahu aromatických látek a volných AMK v průběhu zrání Pravých olomouckých tvarůžků

Bc. Martina Chromečková

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martina CHROMEČKOVÁ**
Osobní číslo: **T080334**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vývoj obsahu aromatických látek a volných aminokyselin v průběhu zrání Pravých olomouckých tvarůžků**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popište výrobu Pravých olomouckých tvarůžků.
2. Popište biochemické procesy při zrání měkkých sýrů.

II. Praktická část

1. Realizujte zrcí pokus s Pravými olomouckými tvarůžky.
2. Pro stanovení aromatických látek využijte mikroextrakce tuhou fází (HS-SPME) v kombinaci s plynovou chromatografií .
3. Pro stanovení volných aminokyselin využijte iontové-výměnnou kapalinovou chromatografií v průběhu zrání vzorky podrobte senzorické analýze.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] Kněz, V.: Výroba sýrů, SNTL, Praha 1960.
- [2] Doležálek, J.: Mikrobiologie mlékárenského a tukařského průmyslu, SNTL, Praha 1962.
- [3] Jay, J. M.: Modern food microbiology, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg 2000.
- [4] Lund, B. M., Baird-Parker, T. C., Gould, G. W.: The Microbiological Safety and Quality of Food, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg 2000.
- [5] Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P.: Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Elsevier, Amsterdam 2004.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. František Buňka, Ph.D.**
Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **4. ledna 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **19. května 2010**

Ve Zlině dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce je výzkum čichového a chuťového projevu olomouckých tvarůžků. Pomocí mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií bylo identifikováno celkem 46 komponentů pravděpodobně zodpovědných za aroma olomouckých tvarůžků. Olomoucké tvarůžky byly rovněž hodnoceny sensoricky pomocí dotazníkového šetření. Dále byl stanoven obsah volných aminokyselin s pomocí iontově-výměnnou kapalinovou chromatografií, kde jsme celkově stanovili 22 aminokyselin. Během zrání tvarůžků rostl obsah jednotlivým aminokyselin, jež se patrně podílejí na tvorbě aromatických a chuťových složek.

Klíčová slova: tvarůžky, zrání sýrů, volné aminokyseliny, plynová chromatografie, mikroextrakce tuhou fází, hmotnostní spektrometrie

ABSTRACT

The master thesis is aimed to analysis of special type of cottage cheese called „olomoucké tvarůžky“ from point of view of olfactory and taste properties. It was identified 46 components that could probably contribute to the typical flavour of the tested cottage cheese. Techniques such as solid phase micro extraction, gas chromatography and mass spectrometry were used. Sensory analysis was also carried out. The amount of 22 amino acids was determined using ion exchange liquid chromatography. During the ripening period the amount of free amino acids increased. The free amino acid could also contribute to flavour of tested cottage cheese.

Keywords: cottage cheese, ripening, free amino acid, gas chromatography, solid phase micro extraction, mass spectrometry

Děkuji panu doc. Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D., za odborné vedení a cenné rady, které mi poskytl během zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat panu doc. RNDr. Petru Bartákovi, Ph.D., za možnost využití analyzátorů na půdě UP v Olomouci. V neposlední řadě také jednatelem firmy A.W. spol. s.r.o., Loštice panu Ing. Pavlu Pospíšilovi za poskytnutí důležitých informací.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ROZDĚLENÍ SÝRŮ A VÝROBA TVAROHU	12
1.1 ROZDĚLENÍ SÝRŮ	12
1.2 ZPŮSOBY VÝROBY PRŮMYSLOVÉHO TVAROHU	13
1.2.1 Průmyslový tvaroh pro výrobu olomouckých tvarůžků	14
1.2.2 Skladování průmyslového tvarohu	15
1.2.3 Vliv teploty na skladování a solení tvarohu	16
2 VÝROBA TVARŮŽKŮ	18
2.1 POSTUP VÝROBY.....	18
2.1.1 Příprava surovin	18
2.1.2 Formování tvarůžků	19
2.1.3 Sušení tvarůžků	20
2.1.4 Praní tvarůžků	21
2.1.5 Zrání tvarůžků	21
2.1.6 Balení a expedice tvarůžků.....	21
2.2 DRUHY VÝROBKŮ.....	22
2.3 POŽADAVKY NA KVALITU VÝROBKU	23
2.4 POUŽITÍ ČISTÝCH KULTUR PRO ZRÁNÍ TVARŮŽKŮ	23
3 MIKROBIOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ PROCESY	25
3.1 REAKCE A PROCESY BĚHEM VÝROBY TVARŮŽKŮ.....	25
3.1.1 Mléčné kvašení.....	25
3.1.2 Rozklad bílkovin - kaseinu.....	28
3.1.3 Lipolýza – proces štěpení tuků	31
4 MIKROBIÁLNÍ VADY TVARŮŽKŮ	34
4.1 NEJČASTĚJŠÍ VADY TVARŮŽKŮ.....	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	36
5 CÍL PRÁCE	37
6 METODIKA PRÁCE	38
6.1 PRŮBĚH EXPERIMENTU	38
6.2 ANALÝZA CHEMICKÉHO SLOŽENÍ OLOMOUCKÝCH TVARŮŽKŮ POMOCÍ GC	38
6.2.1 Přístroje a vybavení pro chemickou analýzu tvarůžků.....	39
6.3 STANOVENÍ OBSAHU VOLNÝCH AMINOKYSELIN (FAA)	40
6.3.1 Přístroje a vybavení pro stanovení obsahu volných AMK.....	40
6.4 SENZORICKÁ ANALÝZA	41
7 VÝSLEDKY	42

7.1	CHEMICKÉ ANALÝZA OLOMOUCKÝCH TVARŮŽKŮ	42
7.2	STANOVENÍ OBSAHU VOLNÝCH AMINOKYSELIN.....	48
7.3	SENZORICKÁ ANALÝZA	54
8	DISKUZE	60
	ZÁVĚR	64
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	65
	SEZNAM OBRÁZKŮ	70
	SEZNAM PŘÍLOH.....	72

ÚVOD

Pravé olomoucké tvarůžky, jinak také nazývané jako „Olomoucké syrečky“, představují původní český sýr zrající pod mazem. Jejich charakteristickým znakem je pikantní chuť a typická vůně. Vyrábějí se z nesýřeného kyselého tvarohu s velmi nízkým obsahem tuku. Již přes celých 130 let se výrazným způsobem podílí na proslulosti olomouckých tvarůžků město Loštice na Hané, v němž jejich výroba probíhá do dnešních dnů.

Cílem této diplomové práce je senzoričné hodnocení olomouckých tvarůžků a chemická analýza jejich aroma v průběhu zrání.

Teoretická část diplomové práce je zaměřena na popis výroby olomouckých tvarůžků a biochemické procesy, které probíhají během zrání měkkých sýrů.

V praktické části se zabýváme zracím pokusem, kdy jsme sledovali změny aromatických látek v období od naformování až po týden doporučeném datu spotřeby. Tvarůžky byly skladovány v lednici při $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Pro stanovení aromatických látek byla použita mikroextrakce tuhými fázemi (HS-SPME) v kombinaci s plynovou chromatografií. Během zrání jsme tvarůžky podrobili senzoričné analýze, kdy senzoričné hodnocení bylo provedeno na základě dotazníkového šetření mezi experty a vybranými posuzovateli. Dále byl stanoven obsah volných aminokyselin s pomocí iontově-výměnnou kapalinovou chromatografií.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ROZDĚLENÍ SÝRŮ A VÝROBA TVAROHU

1.1 Rozdělení sýrů

Sýry dělíme do tří hlavních skupin, podle způsobu srážení mléka a dalších technologických postupů [1,2].

- 1) Sýry sladké (sýřené)
- 2) Sýry kyselé (tvarohové)
- 3) Sýry tavené

Sladké sýry: Sladké mléko se enzymaticky sráží tzv. syřidlem a vzniklá sraženina se dále zpracovává. U všech druhů sladkých sýrů se vedle čistě enzymatického srážení uplatňuje v různém stupni i spolupůsobení vznikající kyseliny mléčné, která ovlivňuje charakter sraženiny. Do této skupiny patří měkké, polotvrdé a tvrdé sýry.

Kyselé sýry: Mléko samovolně kysne a sráží se v tuhou sraženinu, z níž lze oddělit tvaroh od syrovátky. Ze získaného tvarohu se pak vyrábí kyselé sýry (olomoucké tvarůžky neboli syrečky).

Olomoucké tvarůžky řadíme mezi tzv. sýry kyselé. Základní surovinou pro výrobu tvarůžků je netučný průmyslový tvaroh vzniklý kyselím srážením mléka, působením mikrobiální kyseliny mléčné. Při výrobě se nepoužívají žádné konzervační látky kromě kuchyňské soli, která je důležitou součástí technologického postupu.

Tvarůžky jsou charakteristické svým pronikavým aromatickým projevem, který může být vnímán, jako mírně odpuzující aroma (hnilobné tony, pachy začínajícího rozkladu), jejichž původcem jsou především nižší mastné kyseliny (kyselina butanová, 3-methylbutanová,...) a sírné látky (dimethyltrisulfid, methanthiol...)[3].

1.2 Způsoby výroby průmyslového tvarohu

Průmyslový tvaroh lze vyrábět různými způsoby, které se liší v přípravě sraženiny. Pro výrobu tvarůžků se nejběžněji používá průmyslový tvaroh vyrobený jednotepelným a dvoutepelným způsobem.

Dvoutepelný způsob výroby průmyslového tvarohu

Pasterované odstředěné mléko o teplotě 22°C se zakysá 1 - 2 % smetanovým zákysem, dobře se promíchá a nechá se srážet. Při těchto teplotách trvá srážení 14 – 17 hodin, kdy dosáhne sražené mléko kyselost 35 – 38°SH [4]. Po dosažení žádané kyselosti sraženina promíchána a ponechána v klidu 20 – 30 min. Poté se za stálého pomalého míchání přihřívá na teplotu 28 – 32 °C [4]. Syrovátka se odčerpá a tvaroh se vypustí do lisovací vany (tzv. tvarožník), ve které odkapává syrovátka a tvaroh se lisuje.

Vylisovaný tvaroh je rozemlet v průmyslovém masovém mlýnku nebo je ručně rozdrcen a vychlazen v chladárně na teplotu 10°C. Vychlazený tvaroh se plní do nádrží nebo do polyethylenových pytlů, ve kterých je dokonale udusán. Tvaroh zůstává až do expedice v chladárně.

Další možné způsoby výroby průmyslového tvarohu:

Jednotepelný způsob výroby průmyslového tvarohu

Zpracování sýřeniny i srážení mléka je prováděno při teplotě 32 – 38°C. Mléko se zakysá 1 % smetanového zákyasu a sráží se při teplotě 32 - 38 °C, 7 – 10 hodin. Požadovaná kyselost sraženiny je 32 – 34°SH. Po dosažení kyselosti se sraženina promíchává 1 – 2 hodiny, kdy dosáhne kyselost filtrované syrovátky 25 – 27°SH [5].

Po získání požadované sraženiny se odpustí uvolněná syrovátka a sraženiny se zbytkem syrovátky se vypustí do filtračních pytlů nebo lisovacích vozíků. Odkapávání, lisování, mletí, chlazení a balení se provádí stejně jako u způsobu dvoutepelného. Tento tvaroh musí být dobře vychlazen, neboť hrozí nebezpečí překysání.

Termofilní způsob výroby průmyslového tvarohu

Při tomto způsobu výroby tvarohu se odtučněné pasterované mléko zahřeje na teplotu 38 - 44°C. K mléku se přidá 2 % směsného termofilního zákysu obsahujícího *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus lactis* a *Lactobacillus helveticus* [5,6]. Poměr koků a tyčinek v kultuře má být 1:1. Srážení s touto kulturou trvá 2,5 – 4 hodiny. Po dosažení žádoucí kyselosti 23 – 25°SH se sraženina pokrájí a ihned zpracovává, aby nepřekysala. Poté se sraženina asi 30 minut opatrně promíchává (včetně přestávek), aby bylo dosaženo náležité tuhosti. Vytužená sraženina se nechá klesnout ke dnu, je odčerpána syrovátka a sraženina se dále zpracovává podobně jako u předchozích způsobů. Termofilní tvaroh musí být rychle vylisován a vychlazen, aby nepřekysal. Celé zpracování trvá asi 4 – 6 hodin.

Kontinuální výroba průmyslového tvarohu odstředováním

Tento způsob výroby průmyslového tvarohu spočívá v oddělení tvarohoviny pomocí odstředivek. K odstředování sraženiny tvarohu od syrovátky se použijí odstředivky šnekové (dekantační). Pasterované odtučněné mléko se ohřeje na teplotu 26 – 30°C, napustí do koagulačních tanků a zakysá 1 – 2 % smetanovým zákysem. Koagulace probíhá do druhého dne. Když syrovátka dosáhne kyselosti 26 – 28°SH, je možno sraženinu zpracovávat. Sraženina se po rozmíchání a přečerpání ohřeje na 50 °C po dobu 3 – 5 minut ve vyrovnávacích nádržích. Poté následuje odstředění v dekantační odstředivce.

1.2.1 Průmyslový tvaroh pro výrobu olomouckých tvarůžků

Tvaroh se vyrábí kyselým srážením pasterovaného odstředěného mléka bez přídavku syřidlových enzymů.

Odstředěné mléko je pasterizováno při teplotě 85°C po dobu 15 - 20 sekund, kdy dochází k denaturaci syrovátkových bílkovin, které částečně přecházejí do tvarohové sraženiny. Dochází ke zvýšení výtěžnosti a vazby vody, tím se snižuje sušina tvarohu. Mléko se zakysává buď smetanovým zákysem, nebo termofilním zákysem, který urychluje proky-

sání a srážení mléka [7]. Teplota se pohybuje v rozmezí 25 - 30°C [5,8]. Pro výrobu průmyslového tvarohu jsou důležité bakterie mléčného kvašení (BMK) *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* [9,10].

Výrobní postup průmyslového tvarohu je upraven tak, aby se mléčné kvašení zastavilo v okamžiku, který je pro jakost průmyslového tvarohu nejvýhodnější. Podle použitého zákysu a výrobního postupu se začne tvaroh zpracovávat při kyselosti sraženiny 25 - 38°SH (kyselost podle Soxhleta-Henkela: značí spotřebu 1 ml roztoku NaOH o koncentraci 0,25 mol.l⁻¹ na 100 ml či 100 g vzorku) [11].

Následně se sraženina promíchá a nechá se v klidu 20 – 30 min. Posléze se sraženina za stálého pomalého míchání zahřívá na teplotu 35 – 50°C. Syrovátka se odčerpá a tvaroh se vypustí do lisovací vany, kde odkapává zbytková syrovátka a tvaroh se lisuje.

Během zpracování probíhá tzv. proces mléčného kvašení, který je ukončen po 3½ - 22 hodinách, kdy výroba průmyslového tvarohu končí jeho vychlazením. Tvaroh je vychlazen na 5 - 10°C, tím se zabrání dalšímu rozkladu laktosy bakteriemi mléčného kvašení a případnému rozvoji nežádoucích mikroorganismů.

Tvaroh musí být během dalších manipulačních prací ošetřen a uložen tak, aby nedocházelo k nárůstu nežádoucí mikroflóry a tím k nežádoucím biochemickým změnám. Další důležitý postup je udusání tvarohu do přepravních nádob. Je-li tvaroh špatně udusán a jsou-li v něm vzduchové prostory, mohou se rozmnožit při vhodných teplotách sporogenní aerobní bakterie, jako např. *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus brevis* a *Bacillus pumilus*, které rozkládají jednotlivé složky tvarohu během exotermických procesů [5,6]. Při těchto procesech se uvolňuje energie ve formě tepla a tvaroh se může zapařit. Takový tvaroh není možné použít při výrobě tvarůžků, neboť by byly tvarůžky hořké a roztékavé.

1.2.2 Skladování průmyslového tvarohu

Tvaroh určený pro výrobu tvarůžků se skladuje krátkodobě (14-30 dnů), nebo dlouhodobě (3-12 měsíců). NaCl (4-4,5%) spolu s kyselinou mléčnou do jisté míry tvaroh konzervují na podkladě zvýšení osmotického tlaku (plasmolýzy) [1,7, 8,12].

Kyselost průmyslového tvarohu v této fázi výroby má být v rozsahu 110 – 120 °SH a pH 4,4 – 4,6 při obsahu sušiny 32% [5,6,7,12].

Pomletý a nasolený tvaroh se ukládá do betonových nebo vykachlíčkových nádrží o obsahu 5 – 20 t. Po naplnění nádrže tvarohem se povrch mírně nasolí (max.2mm).

Povrch se přikryje pergamenovým papírem nebo polyethylenovou folií, pak se nádrže zatíží poklopem. Nádrže mají na dně otvor, kterým odtéká vyloučená syrovátka. Surovátka je snadno uvolňována jednak mechanickým tlakem, ale i působením soli - osmózou. Sušina v tvarohu se zvýší na 38 – 40 %[8].

Pro skladování tvarohu se používají i nerezové nádrže, které mají otvor pro odtok syrovátky. Tvaroh musí být v kontejneru napěchován a kontejner musí být neprodyšně uzavřen.

Doporučená doba skladování tvarohu je 6 měsíců. Pokud je skladovací teplota 5°C, může být tvaroh skladován po dobu jednoho roku. Doba skladování je 30 dní při teplotě 8 – 12 °C [5].

1.2.3 Vliv teploty na skladování a solení tvarohu

Průmyslový tvaroh se řadí k výrobkům získaným srážením kyselou cestou. Kyselá sraženina je charakterizována jako koagulát s více oddělenými částicemi, které jsou více hydrofobní než nativní kasein a jsou daleko méně hydratované. Póry jsou mnohem menší a více rozptýlené než u sladké syřeniny. Mezi jednotlivými bílkovinnými částicemi se vyskytují slabé hydrofobní vazby podobné Van der Walsovým [8]. Synereze (samovolné vytékání syrovátky) je po krájení a dalším zpracování z velké části zablokována. V tomto stadiu lze uvolnit synerezi dalším působením teploty a snížením teploty ji lze zabránit. V tvarohu je důležitá synereze před lisováním a při něm a před odstředováním. Používané teploty v této fázi výroby mají za následek velké vypuzování syrovátky z částic sraženiny.

Při plnění nádrže, běžně při teplotě 20°C (zvláště v letních měsících nedochází k vychlazení na nižší teplotu), a při ručním nerovnoměrném solení dochází k dodatečně nežádoucí synerezi. Uvolňuje se velké množství syrovátky, která může vyplavovat z tvarohu 1/5 i více celkové dávky soli, a látky potřebné pro další biochemické resp. mikrobiologické pochody při zrání.

Obtíže s nestejnorodou sušinou a obsahem soli v kontejneru je možné částečně odstranit přemletím tvarohu před formováním. Dosáhne se tak zjemnění konzistence a homogenizace parametrů.

Pro skladování tvarohů pro výrobu kyselých sýrů se uvádí teplota 8°C [13]. Dále je důležité zajistit nepřehřívání tvarohu před odstředováním a rovnoměrné solení vychlazeného tvarohu.

2 VÝROBA TVARŮŽKŮ

2.1 Postup výroby

Tvarůžky se vyrábějí z netučného kyselého tvarohu zrajícího pod mazem. Postup výroby, rozdělujeme do následujících kroků:

1) *příprava suroviny*

2) *formování tvarůžků*

3) *sušení*

4) *zrání*

2.1.1 Příprava surovin

Základní surovinou pro výrobu tvarůžků je nezávadný odtučněný kyselý tvaroh s titrační kyselostí od 125 –160 °SH [8].

Tvaroh je buď krátkodobě skladovaný (2-4 týdny) nebo dlouhodobě skladovaný (až 1 rok). Dlouhodobě skladované tvarohy se nemohou zpracovávat samostatně, ale musí se vždy míchat v určitém poměru s tvarohy čerstvými, tzv. krátkodobě skladovanými. Dlouhodobě skladovaných tvarohů lze použít ve směsi maximálně v množství jedné třetiny. Dávka je určena délkou doby skladování, která rozhoduje o charakteru tvarohu daném chemicko-fyzikálními změnami vyvolanými během skladování. Je-li přídavek skladovaného tvarohu nepřiměřený, mají vyrobené tvarůžky po vyžrání ostrou až štiplavou chuť.

Promíchání tvarohu se provádí v obložených betonových nádržích, do kterých se vrství krátkodobě skladovaný tvaroh s dlouhodobě skladovaným tvarohem. Tyto dva druhy skladovaných tvarohů se mísí za účelem snížení kyselosti na 120 - 140° SH, aby se nemusela směs tvarohu odkyselovat zbytečně velkým množstvím regulátorů kyselosti (RK). To však nemusí být vždy pravidlem, jelikož kyselost tvarohu při příjmu může být sama o sobě nízká (nesmí být však nižší než 120°SH).

Po promíchání se ve tvarohu upraví obsah soli na 4,5 % [7,12]. Dále je také upravena přídavkem vody sušina na 32 – 34% [8].

Pro urychlení zrání a snížení kyselostí tvarohů je přidán do směsi tvarohu regulátor kyselosti (RK) neboli neutralizační sůl. Nejčastěji se používá hydrogenuhličitan sodný (E500) a uhličitan vápenatý (E170) [7]. Dále se mohou použít fosfáty a citráty.

Poměr kyselého uhličitanu sodného a uhličitanu vápenatého je dán teplotou při zrání, jakostí surovin a ročním obdobím.

Obecně platí: na snížení vstupní kyselosti směsi tvarohu o 10°SH je nutno přidat 0,2 % směsi RK v poměru 2 : 1 (E500/E170) [7].

Vápenaté soli vyvolávají tuhou až pevnou konzistenci, sodné soli měkkou až roztékající. Proto je výhodnější při vysoké kyselosti upravit hodnotu na požadovanou úroveň nejprve smícháním tvarohů o různé kyselosti a pak teprve provést úpravu chemickou cestou.

V zimním období při nízkých teplotách zrání se snižuje požadavek solí vápenatých, a naopak v letním období při vyšších teplotách zrání se úměrně snižuje dávka sodné soli [1]. Pro každou partii zpracovaného tvarohu je nutno provádět propočty dávky chemikálií.

Směs se pokropí určeným množstvím vody, aby se dosáhlo předepsaného obsahu sušiny v surovině. Voda se nesmí do tvarohu přilévat. Postupně se dvakrát přemílá celý obsah nádrže na válcích a to tak, že se směs odbírá po částech v celém průřezu, aby se při mletí pořádně promíchala a tím se dosáhlo průměrného složení (kyselost, sušina, jemnost). Kyselost zpracovaného tvarohu se obvykle pohybuje v rozmezí 120 - 140 ° SH [1,5,14].

2.1.2 Formování tvarůžků

Tvaroh se dopraví do násypného koše formovacího stroje, kde je promíchán šnekovými noži s přidavkem kultur (bakterie *Brevibacterium linens*, kvasinkové kultury *Candida valida* a *Pediococcus acidilactici*), viz podkapitola 2.4.

Složení čistých kultur na 100 kg tvarohu činí: 2g sušené koncentrované kultury *Pediococcus acidilactici* (PA) + 8 ml koncentrát buněk *Candida valida* + 12 ml koncentrát buněk *Brevibacterium linens* ve vodném roztoku 330 ml destilované vody.

Promíchaný tvaroh z násypného koše padá na válec formovacího stroje a je vytlačován do čtyřdílné formy. Ta formuje tvarůžky do požadovaného tvaru, velikosti a hmotnosti.

Tvarůžky jsou krájeny nahoru a dolů probíhajícími dráty na dopravníkový pás (tzv. kurtna) [14]. Dopravníkovým pásem jsou tvarůžky pokládány na desky neboli rošty. Tvarůžek je mírně přitlačen, automaticky probíhajícími tlačítkem, na kterém je připevněna vlněná látka, aby bylo docíleno stejného a hladkého povrchu.

Zformované tvarůžky se ukládají na dřevěné desky neboli šindele. Tyto dřevěné desky jsou zasunovány do pojízdných vozíků a dopravovány do sušáren [7].



Obrázek 1: Formování a ukládání tvarůžků na rošty[15]

2.1.3 Sušení tvarůžků

Sušení tvarůžků je první fází zrání. V sušárně se tvarůžky suší při teplotě 20 – 24 °C. Po dobu následujících 2 - 4 dnů narůstá na povrchu kvasinková mikroflóra, která snižuje kyselost povrchové vrstvy tvarůžků, a jsou tak vytvořeny podmínky pro nárůst mazové kultury *Brevibacterium brevis*.

Během sušení tvarůžků se dosáhne obsahu sušiny 36% a na povrchu se vytvoří tzv. kříš. Je to v podstatě oxidační mikroflóra tvořena kvasinkami rodu *Torulopsis* a *Candida* nebo plísně rodu *Oospora* [1,16].

Oxidace kyseliny mléčné vyžaduje velké množství kyslíku, proto je nutné během sušení vyměňovat vzduch. Není-li výměna vzduchu dostatečná, tvarůžky získávají zatuchlou vůni a chuť. Oxidační mikroflóra podporuje oxidaci kyseliny mléčné na oxid uhličitý a vodu. Tímto biochemickým pochodem se v povrchových vrstvách tvarůžků snižuje kyselost a tím se umožňuje další rozvoj proteolytickými bakteriemi, tvořícími povrchový maz a

obstarávajícím další zrání sýra[16]. Tvarůžky se po sušení naskládají do zracích beden, v nichž zrají 1 den a poté se perou.

2.1.4 Praní tvarůžků

Tvarůžky se perou ve speciálních strojních pračkách, aby se z jejich povrchu odstranila kvasinková mezikultura tzv. křís. Tím se umožní rychlejší a správný rozvoj proteolytické mikroflóry a je tím urychleno také vlastní zrání neboli rozklad bílkovin. Teplota prací vody má být 13 - 17°C. Poté se vyprané tvarůžky sypou do zracích beden. Zrací bedny mají uříznuty všechny rohy, aby z nich mohla uvolněná voda odkapat.

2.1.5 Zrání tvarůžků

Bedny s vypranými a odkapanými tvarůžky se poskládají po 12 - 15 kusech na sebe v místnostech pro zrání, kde se teplota pohybuje v rozmezích 18 - 20°C a nechávají se zrát 4 - 8 dní [14]. Tvarůžky uložené v bednách se denně nebo ob den přerovnávají. Během této doby zrání se na povrchu rozmnoží aerobní proteolytická mikroflóra, jejíž enzymatickou činností tvarůžky získají typickou vůni, chuť a zlatožlutý až oranžový maz.

2.1.6 Balení a expedice tvarůžků

Jakmile se na tvarůžkách vytvoří zlatožlutý maz, balí se do specificky propustné folie v balících strojích. Folie umožní zrání za přístupu vzdušného kyslíku a zabraňuje vysychání. K definitivnímu dozrání tvarůžků dojde až v průběhu skladování v chladu a vlhku. K tomu je potřeba oblastních expedičních skladů, odkud se tvarůžky dodávají do prodejen.



Obrázek 2: Znárodnění balení olomouckých tvarůžků [17]

2.2 Druhy výrobků

Jednotlivé tržní druhy olomouckých tvarůžků jsou shrnuty v tabulce 1. Tyto tržní druhy mohou být ještě ochuceny kořením nebo směsí koření, takže podle hmotnosti a úpravy ochucením vznikají další tržní druhy.

Tabulka 1: Olomoucké tvarůžky – druhy výrobků [18]

	<u>Druh a tvar</u>	<u>Hmotnost</u>		<u>Druh a tvar</u>	<u>Hmotnost</u>
	Velké kolečka	167 g		Sváteční tyčinky	125 g
	Malé kolečka	100 g		Hanácké dukáty	200g
	Věnečky	125 g		Pozdrav z Loštic	500 g
	Speciál	80 g		Pusinky z Loštic	200 g
	Tyčinky	125 g		Loštické kvarteto	220 g
	Maxi tyčinky	250 g		Kousky	450 g
	Kousky	125 g		Kousky s kmínem	450 g
	Kousky s kmínem	125 g		Kousky se zeleným pepřem	450 g
	Kousky se zeleným pepřem	125 g		Kousky s červenou paprikou	450 g
	Kousky s červenou paprikou	125 g		Kousky s restovanou cibulkou	450 g
	Kousky s restovanou cibulkou	125 g		Kousky s česnekem	450 g
	Kousky s česnekem	125 g		GASTRO Malé 50 ks	1000 g

2.3 Požadavky na kvalitu výrobku

Obal tvarůžků má být čistý, neporušený, výrobek správně zabalený. Výrobek má mít pravidelný, hladký tvar, lesklý oranžový nebo zlatožlutý maz, konzistenci jemnou s mírně zřetelným jádrem položeným do středu, prozrálá část má být zlatožlutá nebo sýrově zlatá, chuť a vůně má být charakteristická pro tento sýr [8,12,14].

2.4 Použití čistých kultur pro zrání tvarůžků

Použití čistých kultur slouží k posílení původní mikroflóry tvarůžků. Mezi přidávané kultury patří bakterie *Brevibacterium linens*, kvasinky *Candida valida* a kultura *Pediococcus acidilactici* [16].

Tyto kultury jsou přidávány do směsi tvarohu po důkladném promíchání a mletí těsně před formováním.

Candida valida je anamorfem *Pichia membranaefaciens* [10]. Kvasinky rodu *Candida valida* způsobují primární neutralizaci povrchu sýra, což umožňuje následný růst mazo-vých bakterií (převážně je *Brevibacterium linens*) [19].

Rod *brevibacterium* je nepravidelné, nesporující grampozitivní tyčinky[20]. *Brevibacterium linens* dobře snáší vyšší koncentraci soli 15% [21]. Je psychrotrofní, roste v rozmezí pH 6,0 – 9,8, při pH nižším než 5,0 neroste. Růst *Brevibacterium linens* je stimulován přítomností kyseliny pantotenové a p - aminobenzoové v mediu.

Brevibacterium linens vytváří červené, oranžové, žluté a hnědé pigmenty. Na dně bujony vytváří sediment slabě oranžovou sraženinu. Na želatině tvoří kompaktní, lesklé žlutohnědé až červenohnědé okrouhlé kolonie. Během růstu závisí barva kolonie na složení media, věku kultury a přítomnosti kyslíku [19]. Některé kmeny *Brevibacterium linens* jsou schopné syntetizovat oranžové pigmenty jen v přítomnosti světla.

Brevibacterium linens syntetizuje proteolytické enzymy [5,6,10,20,22]. Tedy má velmi silný proteolytický systém a přispívá k výrazné vůni tvarůžků [18,20]. *B.linens* produkuje methanthiol z methioninu. *Brevibacterium* produkuje aminopeptidasy a proteinasy. Jejich množství a substrátová specifita se u různých kmenů liší.

Mezi časté NSLAB patří též kultury rodu *Micrococcus*, který zahrnuje aerobní druhy tvořící balíčky nebo shluky buněk. Bakterie jsou schopny růstu v přítomnosti 5% NaCl, čehož se využívá také při jejich stanovení. Vyskytují se převážně v nasolených potravinách, kde mohou tvořit žluté, oranžové až intenzivně růžové kolonie. Toto zbarvení je vyvoláno nerozpustnými karotenoidními barvivy, přítomnými v jejich buňkách.

3 MIKROBIOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ PROCESY

K mikrobiologickým i biochemickým změnám dochází během zrání tvarůžků, které mají za následek rozvoj typických chuťových a texturních znaků pro daný druh sýru.

3.1 Reakce a procesy během výroby tvarůžků

Během výroby průmyslového tvarohu a zrání tvarůžků dochází k těmto biochemickým procesům:

- mléčné kysání
- proteolýza – rozklad bílkovin (kaseinu)
- lipolýza – proces štěpení tuků

3.1.1 Mléčné kvašení

Fáze mléčného kvašení začíná u tvarůžků při výrobě průmyslového tvarohu a v průběhu skladování. Smetanový zákys obsahuje zejména mezofilní laktokoky, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Termofilní zákys může také obsahovat mikroorganismy *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus helveticus* [1,6,9,23].

Během fermentace vstupuje laktóza do buňky dvěma způsoby. První způsob spočívá ve využití nosiče laktóza - permeázy, kde se laktosa nejprve hydrolyzuje pomocí enzymu β -galaktosidázy (enzymatickou činností výše uvedených druhů bakterií) na glukózu a galaktózu. Druhý způsob vstupu laktózy do buňky je pomocí fosfoenolpyruvát - depedentní fosfotransferázy s následným rozštěpením na glukózu a galaktózu-6-fosfát [23,24]. Glukóza je metabolizována glykolýzou. Galaktóza může být metabolizovaná dvěma způsoby a to pomocí Leloiroy dráhy či tagatosové dráhy. Ve skutečnosti využívá daný mikroorganismus zpravidla jen jednu dráhu (viz obr. 3).

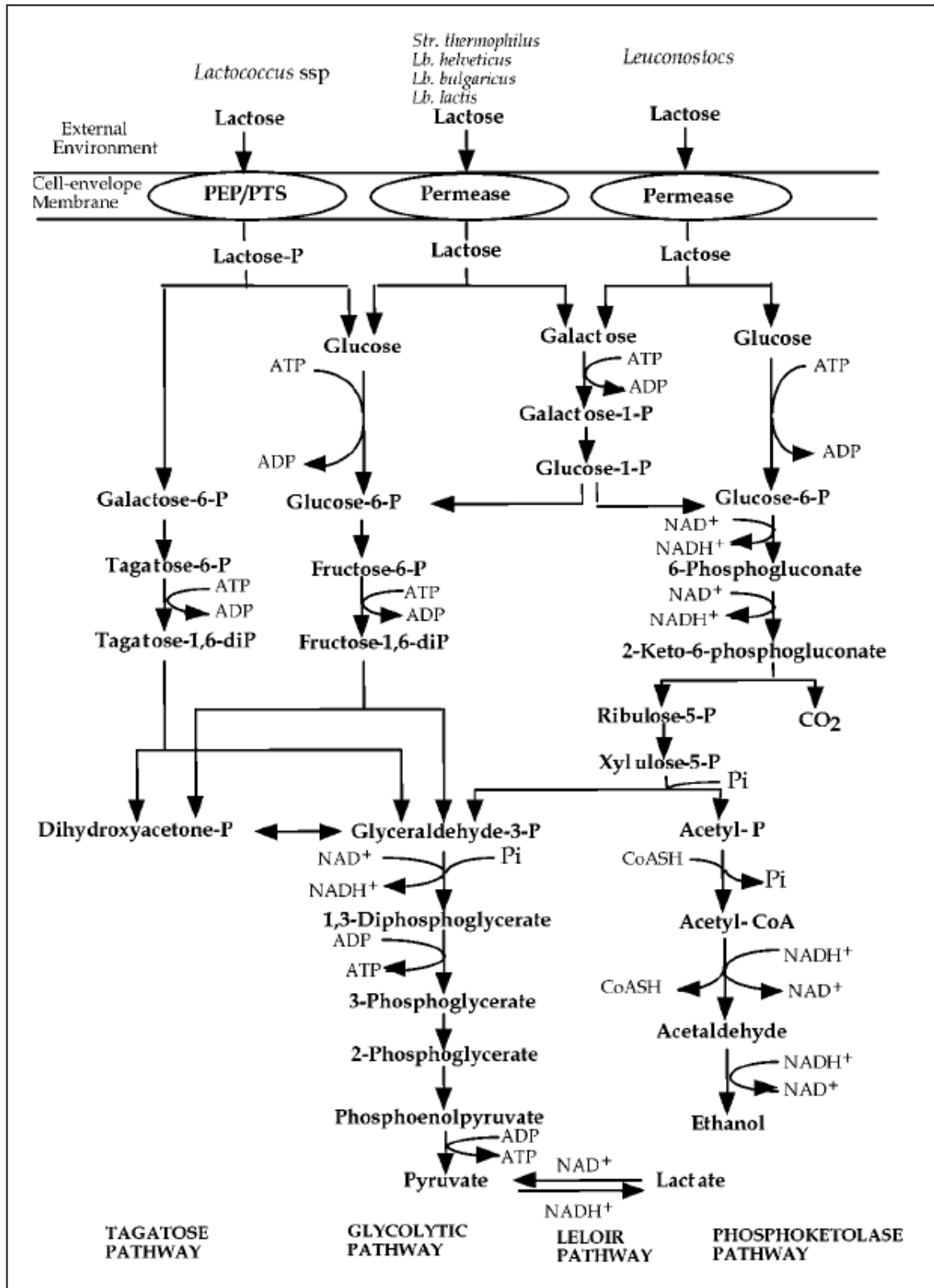
Galaktóza je fosforylována a následně přeměněna na glukózu - 6 - fosfát (Leloirova dráha) vstupující rovněž do glykolýzy[24]. Galaktoza může být také metabolizována tagesosovou dráhou (viz obr. 3).

Galaktóza - 6fosfát je dvakrát fosforylována na tagatózu 1,6 - difosfát, poté dochází k rozštěpení na dihydroxyacetonfosfát a glyceraldehyd - 3fosfát účastníci se glykolýzy. Následkem defosforylace a enolizace se tvoří pyruvát (kyselina pyrohroznová). Pyruvát je většinou redukován na laktát (kyselinu mléčnou), za katalytického působení laktátdehydrogenázy.

Vlivem další tvorby kyseliny mléčné dojde k převedení kaseinu do isoelektrického stavu. Jakmile je dosažen isoelektrický bod kaseinu, tj. pH 4,7, vyloučí se kasein jako nerozpustná bílkovina, dojde k agregaci a tím vznikne koagulát. Textura koagulát je závislá na obsahu bílkovin, pH a mírou vápenatých iontů v mléce [25].

Kyselina mléčná plní důležitou funkci i při skladování tvarohu a při zrání tvarůžků. Působí spolu se solí jako konzervační činidlo a je substrátem pro oxidační mikroflóru, která v první fázi zrání tvarůžků musí vytvořit vhodné prostředí pro masivní nástup proteolytické mikroflóry. Tudíž je kyselina mléčná oxidovaná činností oxidačních kvasinek (rodu *Torulopsis* a *Candida*) na H_2O a CO_2 .

Tím se sníží na povrchu kyselost a umožní růst mazových bakterií, které štěpí bílkoviny. Jakmile pH dosáhne na povrchu hodnoty 6,4, tak je ukončena oxidace kyseliny mléčné. Odstraněním oxidační mikroflóry a šumu z povrchu tvarůžků při jejich praní jsou poskytovány příznivé podmínky pro rozvoj proteolytické aerobní mikroflóry. Vlastní zrání je především aerobní (tzv. mazová mikroflóra).



Obrázek 3: Metabolismus bakteri mléčného kvašení [26]

3.1.2 Rozklad bílkovin - kaseinu

Rozklad bílkovin (kaseinu) nastává poměrně rychle, jelikož jsou tvarůžky malé a na jejich povrchu vegetuje mnoho mikroorganismů.

Projevem proteolýzy je měknutí textury a to v důsledku hydrolýzy kaseinové matrice v sýřenině [27]. Její produkty jsou důležité pro růst mikroorganismů, konzervaci a proces fermentace. Dále proteolýza přispívá k rozvoji chuťových a aromatických látek (thiolů, thioester), které vznikají během zrání sýru [28].

Podstatnou roly proteolýzy tvoří enzymy, které štěpí bílkoviny.

Enzym proteinázy a peptidázy katalyzují proteolýzu v průběhu zrání sýrů a přispívají k rozvoji chuťových látek tvarůžku. Proteinázy a peptidázy pocházejí z různých zdrojů: mléka, primárních bakterií mléčného kvašení, NSLAB (non-starter lactic acid bacteria) a sekundárních kultur.

Nejdůležitější původní proteináza v mléce je plazmin. Koncentrace plazminu v čerstvě nadojeném mléce je v rozmezích 0,1-0,7 mg/l [29]. Plazmin je syntetizován jako plazminogen, který je uvolňován do krevního oběhu. Je to jednořetězcový glykoprotein.

Hlavní funkcí plazminu je rozpouštění fibrinu, proto se na aktivitu plazminu v krvi dohlíží. Z tohoto důvodu je produkován ve formě neúčinného prekurzoru plazminogenu, který je na účinnou formu aktivován aktivátory (PAs). V mléce jsou plazminogen, plazmin a PAs většinou spojovány s kaseinovými micelami, zatímco inhibitory plazminu a inhibitory aktivátoru odcházejí zároveň se syrovátkou.

Plazmin degraduje kaseiny v následujícím pořadí: β -kasein \approx α_{S2} -kasein $>$ α_{S1} -kasein. κ -kasein vykazuje vůči těmto proteinázám rezistenci.

Čisté mlékařské kultury, které jsou používány jako primární kultura při výrobě sýrů (např. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), obsahují také proteolytické enzymy (endopeptidázy, exopeptidázy).

Tyto proteolytické enzymy dělíme podle místa štěpení peptidů:

- Endopeptidázy jsou schopné štěpit peptidy uvnitř molekuly, exopeptidázy na začátku molekuly.

dále přeměněny na sensoricky aktivní látky, jako jsou karboxylové kyseliny, methylaldehyd, 2 - 3methylbutanal, 2 - methylpropanal [32]. Důležitou roli z hlediska tvorby aroma sýrů tvoří také sírné sloučeniny (disulfidy, dimetyldisulfid, dimetyltrisulfid). U těkavých sírných sloučenin se má koncentrace síry pohybovat v rozmezí 0,22 mg až 2,10 mg síry na 100 g sýra. Těkavé mastné kyseliny se vyznačují silnými aromatickými vlastnostmi [33]. V olomouckých tvarůžkách se nejvíce vyskytují z těkavých mastných kyselin hlavně isokyseliny [8,14].

Nacházejí se zde i další katabolické dráhy, jako například dekarboxylace - odštěpení CO₂ z karboxylové skupiny nebo deaminace - odstranění aminoskupiny z molekuly [34]. Aminokyseliny se mohou omezovat deaminací, která zahrnuje činnost dehydrogenázy (využívá NAD⁺ jako akceptor elektronu a produkuje α-ketokyselinu a amoniak), nebo oxidázy (využívá jako akceptor elektronu kyslík a tvoří aldehydy a amoniak) [35]. Amoniak produkovaný deaminací přispívá k tvorbě chuti tvarůžků [37].

Stupeň proteolýzy bývá charakterizován pomocí obsahu frakcí dusíku:

Hloubka zrání je definována jako poměr dusíku rozpustného ve 12% kyselině trichloroctové k obsahu celkového dusíku, rozsah zrání jako poměr dusíku rozpustného při pH 4,6 k obsahu celkového dusíku.

Referenční hodnoty pro tvarůžky jsou: hloubka zrání při formování 2,55 - 7,14 %, při balení 6,50 - 11,55 %; rozsah zrání při formování 7,29 - 8,88 %, při balení 12,39 - 17,03 % [7,8,12].

U olomouckých tvarůžků musí postupovat proteolýza bílkovin rovnoměrně v celém rozsahu sýru. Takové štěpení bílkovin zaručuje dobrou jakost finálního výrobku. Naopak rychlá proteolýza bílkovin do šířky (podpořena vyšším přídatkem neutralizačních solí) má za následek vyšší obsah rozpustných bílkovin, nižší obsah amoniaku, aminosloučenin a dalších těkavých sloučenin a tím i jemnou, nevýraznou, málo charakteristickou chuť a vůni [36].

V prvních 3–4 dnech zrání je zrací teplota 19–21°C a relativní vlhkost 85–95 %; v druhém období je teplota 14–16°C případně i nižší. Během zrání dostávají tvarůžky typickou chuť, vzhled a konzistenci. Z mikroorganismů, které se zúčastní vlastního zrání,

jsou to *Brevibacterium linens*, *Pediococcus acidilactici* a nestartérové bakterie mléčného kvašení (NSLAB). NSLAB se přirozeně vyskytuje v sýru a v syrovém mléce, slouží například k potlačení klostridií. Zdrojem NSLAB je syrové mléko, voda, strojní zařízení, vzduch nebo nedostačující hygienicko - sanitační režim výroby.

Vyrábějí-li se tvarůžky z termofilního průmyslového tvarohu, pak během zrání působí také *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis* a *Lactobacillus helveticus*. Mazové proteolytické mikroorganismy, hlavně pak *Brevibacterium linens* vytvoří na povrchu sýra oranžový maz.

3.1.3 Lipolýza – proces štěpení tuků

Lipidy v sýrech příliš nepodléhají hydrolytickým a oxidačním degradacím a to působením nízkého oxidačně - redukčního potenciálu.

Lipolýza vede k tvorbě mastných kyselin, které mohou být předchůdci aromatických sloučenin, jako jsou methylketony, sekundární alkoholy, estery a laktony [37].

Nejdůležitějším enzymem pro štěpení tuků je lipáza.

Lipázy katalyzují hydrolýzu esterů z karboxylových kyselin. Většinou lipázy hydrolyzují 1,2 – a 2,3 – diglyceridy a poté 2 - monoglyceridy a také vykazují specifitu pro mastné kyseliny s určitou délkou svého řetězce. Některé lipázy vykazují specifitu pro nasycené nebo nenasycené mastné kyseliny. Existuje několik druhů lipáz, podle původu jsou to lipázy pocházející přímo z mléka, mikrobiální lipázy a popřípadě lipázy obsažené v syřidle.

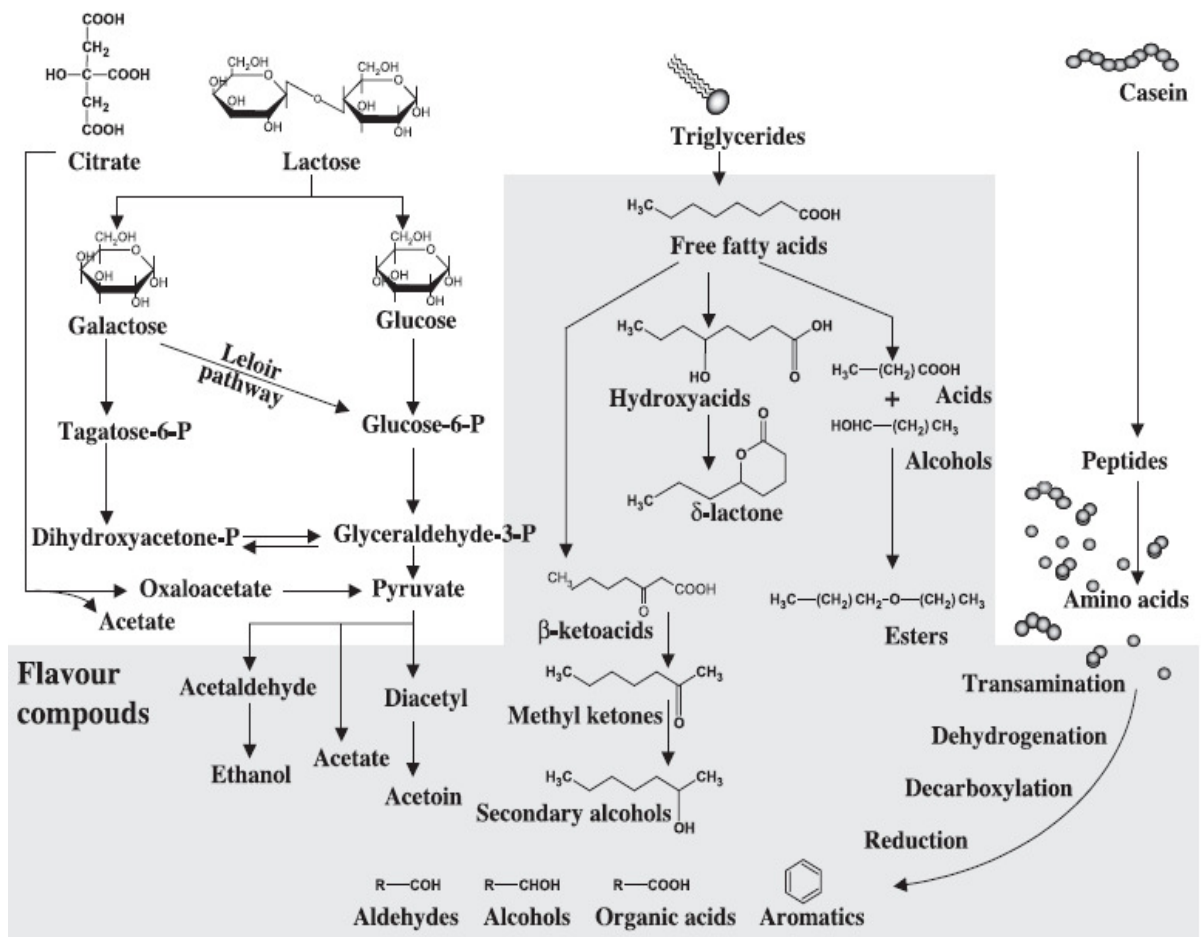
Hlavní složku lipidů tvoří triacylglycerol. Triacylglyceroly jsou obsažené v mléčném tuku z mléka přežvýkavců. Jsou značně bohaté na mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které po odštěpení významně přispívají k vytvoření typické chuti sýra. Triacylglyceroly jsou obsaženy ve všech typech sýrů a podléhají hydrolýze pomocí lipáz, ať už původních, endogenních nebo exogenních. Důsledkem činnosti těchto lipáz je uvolnění mastných kyselin v průběhu zrání sýrů.

Mastné kyseliny mají přímý vliv na aroma sýrů a jsou výchozími látkami potřebnými pro produkci těkavých chuťových sloučenin.

Běžným konečným produktem metabolických drah, které v průběhu zrání probíhají, je etanol. Při metabolismu volných mastných kyselin vznikají estery reakcí volných mast-

ných kyselin s alkoholem. Z tohoto důvodu se často vyskytuje etylester. Mezi další estery, které se v sýrech nacházejí, patří metylester, propylester a butylester .

Ethanol je sekundárním produktem při fermentaci laktozy a limituje reakci v tvorbě esterů. Volné mastné kyseliny reagují za vzniku 2 - metylketonů, kde koncentrace metylketonů souvisí s lipolýzou. Rozsah vzniku těchto metylketonů je závislý především na teplotě, fyziologickém stavu plísně a také koncentraci prekursorů volných mastných kyselin.



Obrázek 5: Schématické znázornění vzniku senzoryicky aktivních látek z mastných kyselin v průběhu zrání sýrů [38]

Laktony jsou vnitřní estery, cyklické sloučeniny vznikající z hydroxykyselin a to intracelulární esterifikací, při které dochází ke ztrátě molekuly vody a tím vzniká cyklická

struktura. Během zrání sýrů je produkce laktonů vymezena hladinou obsahu jejich prekurzorů – hydroxykyselin. Laktony mají poměrně silné aroma a podílí se na celkové chuti sýrů.

4 MIKROBIÁLNÍ VADY TVARŮŽKŮ

Vady povrchu, konzistence, vzhledu, chuti a vůni tvarůžků se vzájemně doplňují. Nejčastější vadou vzhledu je roztékání, tvarohovitost, bílá masitost a černání, z chuťových je to zatuchlost a hořkost.

4.1 Nejčastější vady tvarůžků

Nejčastější vady v povrchové mikroflóře jsou způsobeny ve velkém množství plísněmi rodu *Oospora* nebo sporotvorných mikrobů s proteolytickou činností (*Bacillus cereus* var. *mycoides*) dochází k roztékání tvarůžků. Velká kyselost tvarohu vede k nežádoucímu rozmnožení plísně rodu *Oospora lactis*, což mívá často za následek potlačení kvasinek z rodů *Torulopsis* a *Candida* [18].

Ze špatně vychlazeného a zapařeného tvarohu se zvyšuje počet sporotvorných mikrobů, které způsobují předčasné roztékání tvarůžků. Takový tvaroh se nesmí zpracovávat, respektive se zapaření tvarohu musí zabránit již ve výrobních jeho správným vychlazením.

Bílá mazovitost je způsobena vysokou vlhkostí zrajících tvarůžků při nízkých teplotách. Tuto vadu může způsobit silný rozvoj plísně rodu *Oospora lactis*. Místo správného mazu se vytváří šedobílý, tekutý až hlenovitý maz, tvarůžky nepříjemně páchnou.

Černání tvarůžků může být způsobeno vysokým obsahem železa (max. 0,0001 %) a mědi (max. 0,0005 %) Černání tvarůžků může způsobeno přítomností *Monilia nigra* a *Saccharomyces sp. niger* [7].

Tvarohovitost může být přechodná nebo trvalá. Přechodná tvarohovitost je způsobená nevyzrálostí zboží. Trvalá tvarohovitost se vyskytuje u tvarůžků, u nichž není vyvinuta proteolytická povrchová mikroflóra, tzv. jsou-li tvarůžky předčasně zabaleny. Tyto tvarůžky jsou tuhé a nemají charakteristické vlastnosti a rychle vysychají.

Hořknutí tvarůžků způsobují rozkladné produkty bílkovin vyvolané činností některých druhů rodu *Bacillus*. Především *Bacillus cereus* a *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis* a *Bacillus pumilus*. Hořká chuť tvarůžků je způsobena nesprávným průběhem rozkladu bílkovin.

Kyselá chuť tvarůžků souvisí s použitím kyselého tvarohu nebo použitím nadměrného množství tvarohu dlouhodobě skladovaného. Tato vada může být také způsobena nedostatečným rozvojem oxidační povrchové mikroflóry, která pak nerozloží přítomnou kyselinu mléčnou způsobující kyselou příchut'. Této vadě lze předejít volbou správného poměru krátkodobě a dlouhodobě skladovaného tvarohu nebo správnou neutralizací.

Hnilobná příchut' vzniká při použití špatného, dlouhodobě skladovaného tvarohu, obsahujícího *Clostridium sporogenes*, *Clostridium lentoputrescens*, *Proteus vulgaris* a jiné mikroorganismy [7].

Dírkatost může být způsobena činností plynotvorných mikroorganismů *Escherichia coli*, kvasinkami fermentujícími laktosu za tvorby CO₂ a spirálujícími plynotvornými mikroorganismy [8].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem diplomové práce bylo sensorické hodnocení olomouckých tvarůžků a chemická analýza jejich aroma v průběhu zrání.

V rámci diplomové práce byly řešeny následující dílčí úkoly.

- Zpracovat literární rešerši týkající se technologie výroby olomouckých tvarůžků, vlivů působících na jejich složení a kvalitu.
- Realizovat zrací pokus olomouckých tvarůžků a sledovat změny během zrání,
- stanovit aromatické látky pomocí mikroextrakce tuhou fází v kombinaci s plynovou chromatografií,
- stanovit volné aminokyseliny pomocí iontově - výměnnou kapalinovou chromatografií,
- provést sensorické hodnocení olomouckých tvarůžků.

6 METODIKA PRÁCE

Pro stanovení profilu aromatických látek byl vybrán jako vzorek : „Pravé olomoucké tvarůžky“, Firma A.W., Loštice, Česká republika.

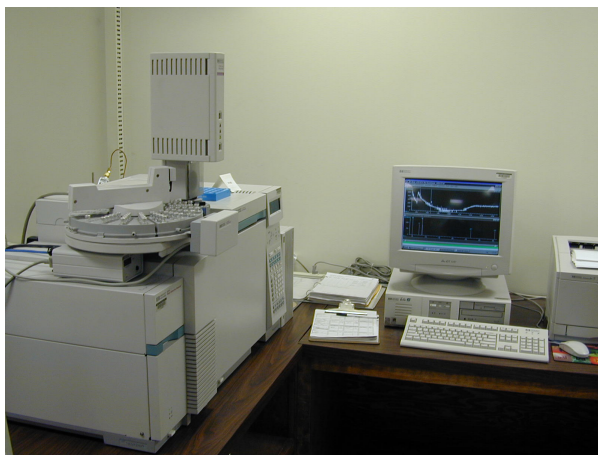
6.1 Průběh experimentu

V průběhu experimentu byly vzorky tvarůžků odebírány přímo z provozovny A.W., Loštice. Po naformování tvarůžků byl vzorek odebrán ze stohu 1, L 89 a po sušení byl vzorek odebrán ze stohu 1, řada 32, L89. Zabalené tvarůžky jsme již během celé analýzy skladovali v lednici při teplotě $5 \pm 2^\circ\text{C}$. Analýzu obsahu volných AMK jsme začali analyzovat již po naformování tvarůžků, naopak analýzu pomocí plynové chromatografie jsme zahájili až po sušení tvarůžků, jelikož po naformování by pravděpodobně nebyly sloučeniny detekovány.

6.2 Analýza chemického složení olomouckých tvarůžků pomocí GC

Pro analýzu bylo navažováno 10g rozmělněného vzorku do standardních nádobek (vialka) pro headspace analýzu podle doporučení EPA (US Environmental Protection Agency) o obsahu 40 ml uzavřených silikonovým septem. Vialka byla temperovaná na 70°C po dobu 30 minut. Poté bylo extrakční vlákno CAR/PDMS (Carboxen/Polydimethylsiloxane; Stable Flex, 85 μm , Supelco, Bellefonte, USA) umístěno do volného prostoru nad vzorkem (Head Space Solid Phase MicroExtraction, HS- SPME). Sorpce vzorku probíhala 30 minut při 70°C , desorpce v nástřikovém prostoru 5 minut při teplotě 250°C .

Plynově chromatografická separace byla provedena na přístroji Agilent 6890 s hmotnostním spektrometrem Agilent 5973N (Agilent, Palo Alto, CA, USA) s nepolární kapilární kolonou ZB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), (Phenomex, Torrance, CA, USA). Pro separaci bylo použito helium jako nosný plyn (0,9 ml/min., čistota 4.9, SIAD, Bergamo, Italie) a teplotní program: 50°C po dobu 2 min., gradient (nárůst) 5°C za minutu až do 250°C , kde je teplota udržována 5min.



Obrázek 6: Plynový chromatograf Agilent 6890

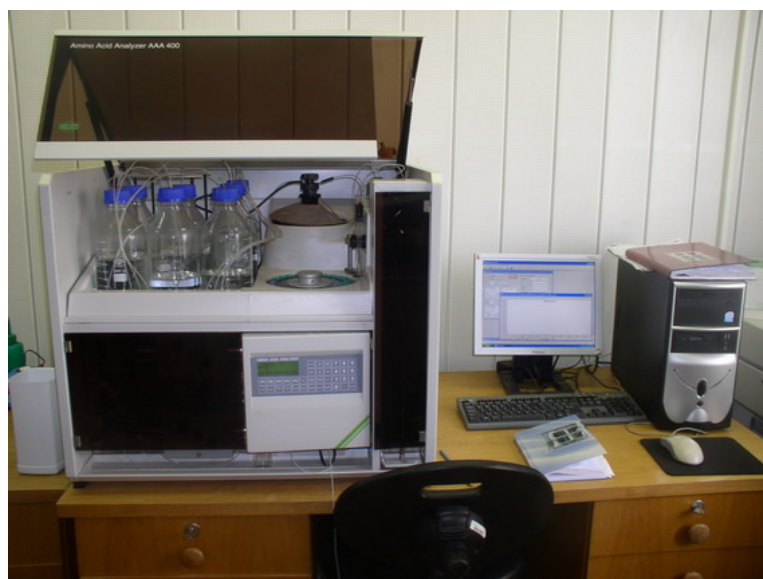
6.2.1 Přístroje a vybavení pro chemickou analýzu tvarůžků

- SPME vlákno (Carboxen/Polydimethylsiloxan; Stable Flex, 85 μ m, Supelco, Bellefonte, USA)
- Plynový chromatograf Agilent 6890 s hmotnostním spektrometrem Agilent 5973N (Agilent, Palo Alto, USA)
- Nepolární kapilární kolona ZB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), (Phenomenex, Torrance, USA)
- Teplota nástřiku: (250°C)
- Teplotní program: 50°C po dobu 2 min. gradient (nárůst) 5°C za minutu až do 250°C, kde je teplota udržována 5min.
- Nosný plyn: Helium (0,9 ml/min, čistota 4.9, SIAD, Bergamo. Itálie)
- Vialka pro headspace analýzu (objem 40 ml, dle doporučení EPA)
- Analytické váhy A&D GH-200 EC
- Vialka pro headspace analýzu (objem 40 ml, dle doporučení EPA)

6.3 Stanovení obsahu volných aminokyselin (FAA)

Pro analýzu byl navážen 1g rozmělněného vzorku do dvou zkumavek neboli ampulí o objemu 14 ml. Do jednotlivých zkumavek byl přidán dávkovací Li-pufr (3ml). Takto připravené zkumavky byly vloženy po dobu 1 hodiny na třepačku (LT2). Poté byly vzorky odstředěny v centrifugačním zařízení (EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen), při 4500 otáček/min. po dobu 30min/20°C. Z každé zkumavky byl roztok slit do dvou ependorfových zkumavek, které byly přes noc uchovány v lednici při teplotě $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

Následující den byly vzorky opět odstředěny při 10 000 otáček/min. po dobu 45 min/4°C v centrifugačním zařízení (MIKRO 200R, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen). Posléze byla provedena filtrace přes injekční stříkačku a násadový filtr s pórovitostí 0,45 μm . Jednotlivé filtráty byly slity do ependorfek, které byly určeny do analyzátoru. Analýza byla provedena na zařízení AAA 400, Ingos, Praha.



Obrázek 7: Analyzátor aminokyselin AAA 400

6.3.1 Přístroje a vybavení pro stanovení obsahu volných AMK

- Laboratorní třepačka LT2
- Odstředivka EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen

- Odstředivka MIKRO 200R, MIKRO 200 R, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen
- Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400, Ingos, Praha
- Li-pufr

6.4 Senzorická analýza

U zkoumaných vzorků olomouckých tvarůžků byly použity senzorické metody ke zjištění, zda došlo v průběhu 1 měsíce k prokazatelným změnám daných senzorických znaků.

Senzorickou analýzou byly hodnoceny jednotlivé vzorky pomocí pětibodové ordinální stupnice a bezrozměrové (poměrové) stupnice. Orientace stupnice byla zvolena tak, že první stupeň odpovídal úrovni „vynikající“ a pátý stupeň úrovni „nevyhovující“. Tímto způsobem byly posuzovány tyto senzorické znaky:

- konzistence povrchu
- barva povrchu
- vůně
- chuť
- celkové hodnocení výrobku

Dále hodnotitelé posuzovali pomocí poměrové stupnice intenzitu vjemů (mléčná, zatuchlá, kvasničná...).

Vlastní hodnocení probíhalo v senzorické laboratoři Fakulty technologické UTB ve Zlíně. Tato laboratoř splňuje požadavky mezinárodní normy ISO 8589, která definuje požadavky na vybavení místnosti, používané nádoby, způsob přípravy a předkládání vzorků [39]. Vzor stupnice je uveden v příloze č. 1. Senzorické hodnocení bylo provedeno se skupinou 6 posuzovatelů na úrovni „expert“ a 26 posuzovatelů na úrovni „vybraný posuzovatel“ ve smyslu ČSN ISO 5492.

7 VÝSLEDKY

Praktická část byla zaměřena na stanovení sloučenin pomocí plynové chromatografie, stanovení volných AMK a v neposlední řadě také na senzorké hodnocení daného vzorku v průběhu zrání.

7.1 Chemická analýza olomouckých tvarůžků

Při chemické analýze olomouckých tvarůžků metodou SPME, bylo sledováno kvalitativní i kvantitativní zastoupení těkavých látek. Výsledkem byly chromatogramy a pomocí databáze hmotnostních spekter a retenčních dat byly identifikovány majoritní složky zodpovědné za aroma tvarůžků. Většinu identifikovaných složek lze považovat za látky vzniklé během zrání tvarůžků (sýrů). V příloze č. II jsou uvedeny chromatogramy, které vykazují změny obsažených látek v tvarůžcích během zrání v období od 20.4 09 - 10.6 09.

Tabulka 2: Látky zjištěné ve vzorku olomouckých tvarůžků během zrání pomocí GC I.

Alkohol	Estery
2,3-butan diol	2-fenylethyl-2methylpropanoát
1,3-butan diol	2-fenylethylbutanát
Ethanol	ethylacetát
2-propanol	2-methylpropylacetát
2-methylpropan-1-ol	3-methylbutylacetát
2-butanol	2-methylbutylacetát
3-methyl-1-butanol	10-undecen-1-yl acetát
2-methyl-1-butanol	ethyl-dodecanoát
2-heptanol	2-fenylethylacetát
2-nonanol	2-fenylethyl 2-methylpropanoát
Benzyl alkohol	
4-ethylfenol	Fenolytické sloučeniny
2-undecanol	p-kresol
Fenylethylalkohol	m-kresol
Aldehydy	S-sloučeniny
3-methylbutanal	dimethyl disulfid
nonanal	dimethyl trisulfid
benzaldehyd	Methanethiol
Fenylacetaldehyd	

Tabulka 3: Látky zjištěné ve vzorku olomouckých tvarůžků během zrání pomocí GC II.

Ketony	Kyseliny
aceton	Kyselina octová
2-butanon	2-methylpropanová kyselina
2-heptanon	Kyselina butanová
2-nonanon	3-methylbutanová kyselina
4-undecanon	2-methylbutanová kyseliny
2-tridacanon	Terpen
2-propanon	Limonen

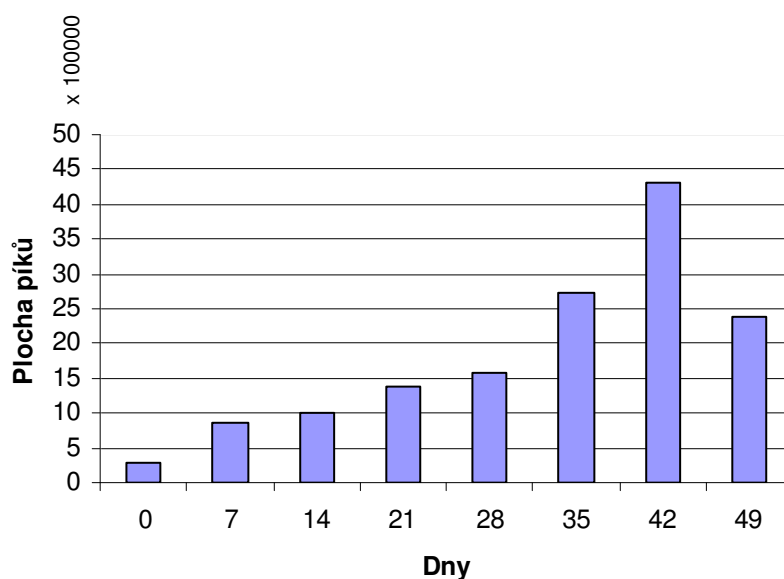
V tabulce č. 3 a 4 jsou uvedeny látky, které byly v průběhu chemické analýzy detekovány. Jedná se o širokou skupinu látek, kam patří zejména alkoholy, estery, aldehydy, ketony, sirné sloučeniny, případně fenolické látky nebo mastné kyseliny s nižším počtem uhlíků.

Mezi detekovanými látkami se vyskytuje celá řada sensoricky aktivních složek. Pro tuto studii byly pomocí SPME vybrány a kvantitativně hodnoceny tyto látky: 2-butanon, 2-butanol, fenylethylalkohol, 2-nonanon. Tyto sloučeniny byly námi vybrány, neboť patří k silným aromatickým látkám, které se vyskytovaly v naší analýze v průběhu zrání tvarůžků.

Jako jedna z hlavních nevýhod mikroextrakce tuhou fází bývá uváděna horší reprodukovatelnost kvantitativních údajů. Přesto je možné s přijatelnou chybou (relativní směrodatná odchylka opakovaných měření do 10 %) sledovat kvantitativní změny v relativním zastoupení jednotlivých těkavých složek.

➤ 2-Butanon

Během zrání tvarůžků dochází k přeměně 2,3-Butandionu na 2-butanon a sekundární alkohol 2-butanol, pravděpodobně vlivem NSLAB [40]. 2-butanon patří do skupiny methylketonů, které jsou sledovány v sýrech jako produkty rozkladu, především mastných kyselin.

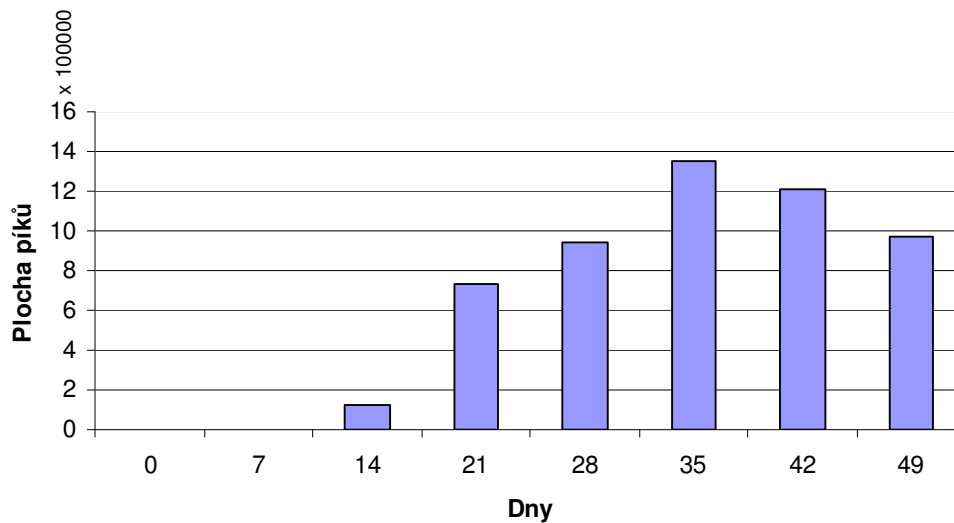


Obrázek 8: Grafické znázornění plochy píku 2-Butanon v závislosti na době zrání

Z grafického znázornění (obr. 8) je patrné, že v průběhu zrání došlo k signifikantnímu nárůstu 2-butanonu ve vzorku, přičemž nejvyšších hodnot bylo dosaženo 42. den. V této době končí doporučená spotřeba výrobku. Ve 49. dnu došlo k poklesu koncentrace 2-butanonu, což může být způsobeno nestabilitou methylketonů.

➤ **2-Butanol**

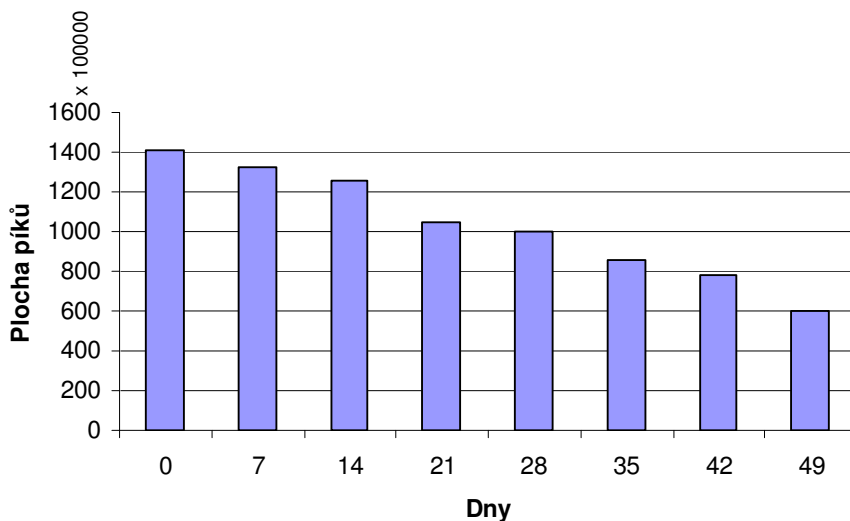
Vzniká rozkladem 2,3-butandienu, ale je také považován za jeden z hlavních degra-
dačních produktů aminokyseliny fenylalaninu.



Obrázek 9: Grafické znázornění plochy píku 2-Butanolu v závislosti na době zrání

Vlivem zrání tvarůžků byl od 14. dne pozorován nárůst této látky. Koncentrace látky stoupala až do 35. dne, kdy jsou tvarůžky údajně nejvhodnější ke konzumaci. Po této době docházelo k postupnému ubývání a na konci zrání byla hodnota 2-butanolu přibližně stejná jako ve 28. dnu jak je patrné z grafického znázornění (obr. č. 9).

➤ Fenylethylalkohol

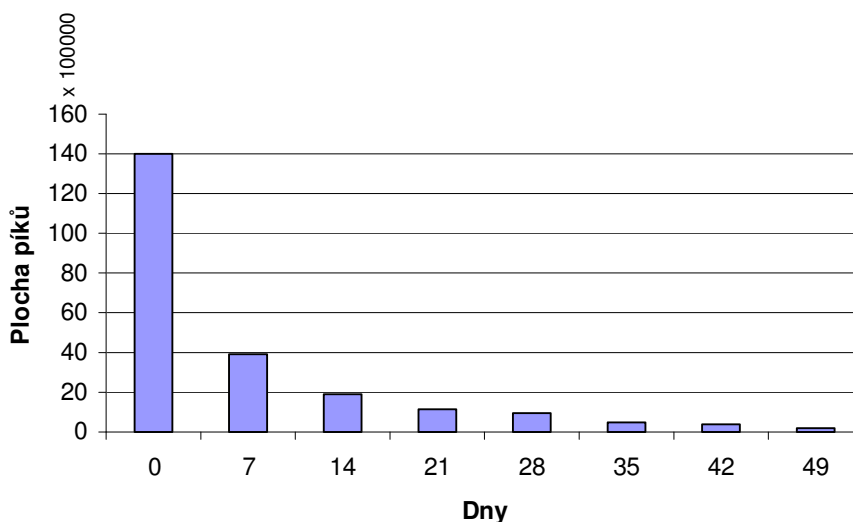


Obrázek 10: Grafické znázornění plochy píku fenylethylalkoholu v závislosti na době zrání

Nejvyšší koncentrace fenylethylalkoholu byla zjištěna u velmi čerstvého sýru. S prodlužující se délkou zrání hodnota fenylethylalkoholu klesala. Z obrázku č. 10, lze pozorovat pokles koncentrace této aromatické sloučeniny během zrání tvarůžků. Samotný fenylethylalkohol vzniká částečně dekarboxylací fenylalaninu přes meziprodukt fenylacetaldehyd (viz kap. 8).

➤ **1-Butanol-3-methyl**

Tato alkoholická sloučenina je katabolitem produktu aminokyseliny leucinu [43].



Obrázek 11: Grafické znázornění plochy píkú 1-Butanol,3-methyl v závislosti na době zrání

Z hodnot uvedených v obrázku č. 11 je patrné, že během zrání dochází ke snížení koncentrace 3-methyl butanolu. Tento výsledek můžeme chápat jako kladný, protože jsou-li alkoholy či aldehydy přítomny ve vysoké koncentraci, mohou způsobovat nepříjemnou vůni i chuť tvarůžků [41]. Tato vada může pocházet ze špatné kvality mléka pro zpracování [31].

Veškeré sloučeniny které jsme identifikovali v tvarůžcích jsou zaznamenány v příloze III. Dále je možné pozorovat v příloze II., pomocí chromatogramů rozdíl mezi čerstvě zabalenými tvarůžky a tvarůžky ve 49.dni zrání (týden po doporučeném datu spotřeby).

Z alkoholických sloučenin jsme zaznamenali během zrání tvarůžků nárůst koncentrace 2-propanolu, 2-nonanolu a 4-ethylfenolu. U ostatních identifikovaných alkoholických sloučenin jsme zaregistrovali ve 42.dni zrání tvarůžků pokles koncentrace. Koncentrace aldehydů námi zjištěných hodnot během zrání rostla. Sloučeniny síry nebyly ze začátku detekovány, ale během zrání jejich koncentrace rostla.

Koncentrace sloučenin ketonů rostla po dobu doporučeném datu spotřeby (42.den), a po této době, byl zaznamenán pokles koncentrace. V průběhu zrání byl dále zaznamenán nárůst veškerých fenolických sloučenin. Koncentrace námi identifikovaných kyseliny v průběhu zrání rostla, avšak výjimku tvoří kyseliny 2-methylbutanová a 3-methylbutanová, kde byl zaznamenán ve 49.dni zrání, pokles koncentrace. U obou sloučenin esterů a terpenů byl zaznamenán ve 42.dni pokles koncentrace v průběhu zrání.

7.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin

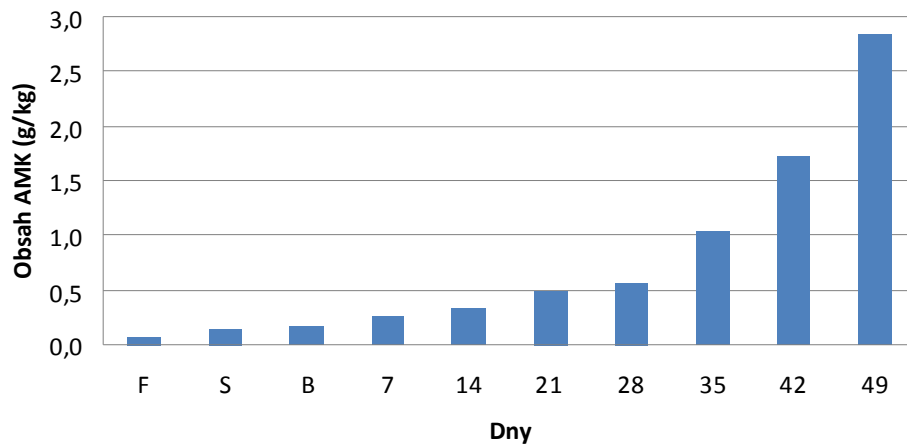
Pomocí analyzátoru AAA400 byl analyzován vzorek tvarůžků a následně byl stanoven obsah jednotlivých esenciálních aminokyselin.

V průběhu zrání došlo k nárůstu všech sledovaných AMK, což má za následek rozklad bílkovin na peptidy, jak je již uvedeno v kapitole o zrání sýrů (2.1.5). Některé volné AMK stejně jako mnohé nižší peptidy jsou senzory aktivními látkami a mohou proto ovlivňovat organoleptické vlastnosti sýrů.

Z aminokyselin byly vybrány: fenylalanin (Phe), leucin (Leu), methionin (Met), kyselina asparagová (Asp) a arginin (Arg). Tyto AMK jsme vybrali z důvodu pravděpodobné tvorby sloučenin, jenž se podílejí na aroma sýrů.

➤ **Fenylalanin**

Tato aminokyselina je sensoricky aktivní a vyznačuje se hořkou chutí.



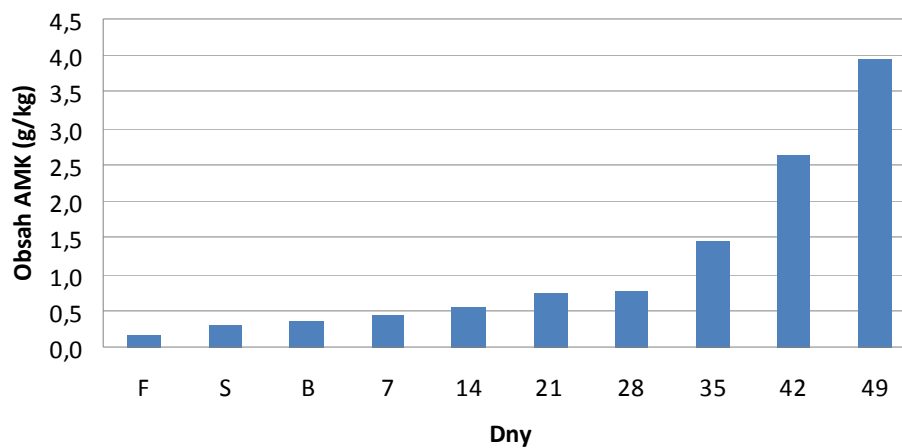
Obrázek 12: Grafické znázornění obsahu fenylalaninu v závislosti na době zrání

Vysvětlivky: F-Po formování , S-po sušení, B-po balení.

Z obrázku č.12 lze pozorovat, že během zrání došlo k nárůstu obsahu fenylalaninu hlavně díky rozvíjející se proteolýze. Koncentrace fenylalaninu byla během prvních třech týdnů obdobná. Od čtvrtého týdne postupně docházelo k jeho nárůstu a nejvyšší hodnota byla zjištěna na konci zrání ve 49. dnu.

➤ Leucin

Mezi další sensoricky aktivní AMK patří bezpochybně také leucin. Tato aminokyselina je významným aspektem v průběhu proteolýzy, neboť je využívána mnohými mikroorganismy.



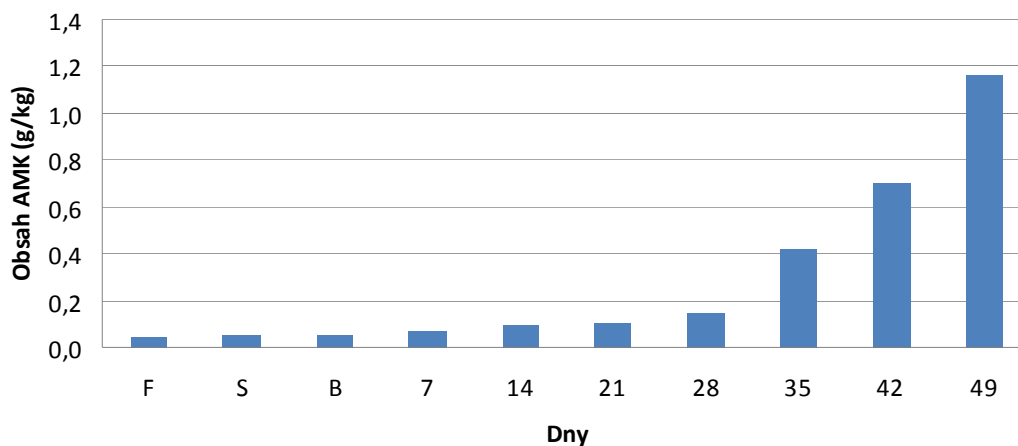
Obrázek 13: Grafické znázornění obsahu leucinu v závislosti na době zrání

Vysvětlivky: F-Po formování, S-po sušení, B-po balení.

Kolísavost obsahu leucinu od naformování tvarůžků až po dobu prvních dvou týdnů zrání je patrná z analýzy obrázku 13. Od počátku třetího týdne zrání pozorujeme nárůst obsahu leucinu, jehož nejvyšší koncentrace je dosažena opět na konci zrání, kde již proběhla proteolýza.

➤ **Kyselina Asparagová**

Dále byla analyzována kyselina asparagová (Asp.), která je AMK. Jedná se o polární, hydrofilní AMK, která se vyznačuje kyselou chutí.

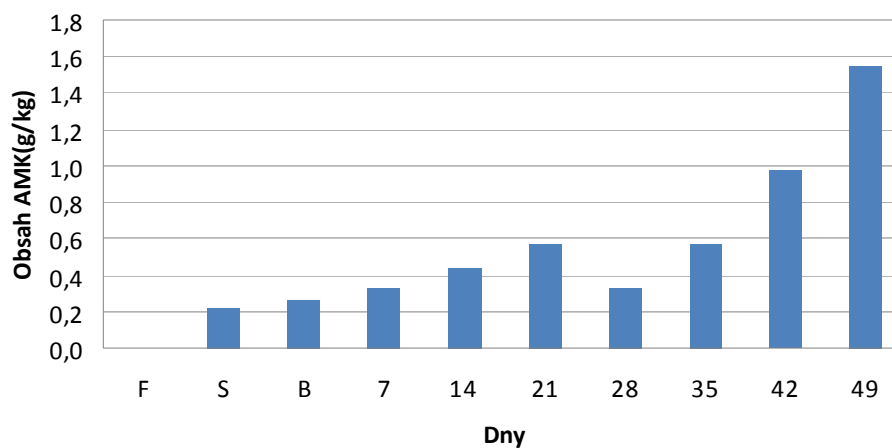


Obrázek 14: Grafické znázornění obsahu kyseliny asparagové v závislosti na době zrání

Vysvětlivky: F-Po formování , S-po sušení, B-po balení.

Z uvedeného grafu č.14 je patrné, že dochází k nárůstu kyseliny asparagové ve 28.dni zrání sýrů. Zvyšuje se kyselost, a proto tvarůžky získávají během zrání kyselejší chuť. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána týden po doporučeném datu spotřeby (49.den).

➤ Methionin

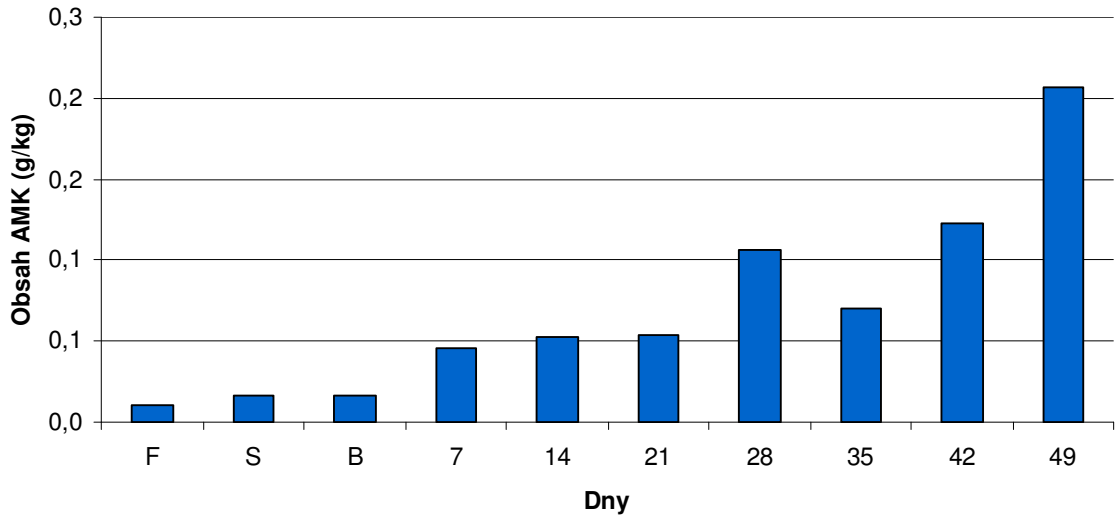


Obrázek 15: Grafické znázornění obsahu AKM methionin v závislosti na době zrání

Vysvětlivky: F-Po formování , S-po sušení, B-po balení.

Z uvedeného grafického znázornění, pozorujeme nárůst methioninu již během sušení tvarůžků. Nejvyšší obsah methioninu, byl zaznamenán ve 49.dnu. Zvyšující se obsah methioninu vede k tvorbě nejvýznamnějších thiolových sloučenin. Také vlivem jeho rozkladu nastává rozvoj aromatických sloučenin [42].

➤ Arginin



Obrázek 16: Grafické znázornění obsahu AKM arginin v závislosti na době zrání

Vysvětlivky: F-Po formování , S-po sušení, B-po balení.

Z obrázku 16, lze pozorovat nárůst obsahu argininu od 28 dne. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána týden po doporučeném datu spotřeby, tudíž ve 49 dnu. Nízký obsah argininu v sýru je následkem mléčného kvašení. Arginin je vlivem četných LAB spotřebován za vzniku NH_3 . Zpočátku je arginin hydrolyzován na NH_3 a citrulin. Posléze dochází k fosforylaci citrulinu na ornitin [34].

V příloze V. jsou graficky znázorněny změny jednotlivých AMK během zrání tvarůžků.

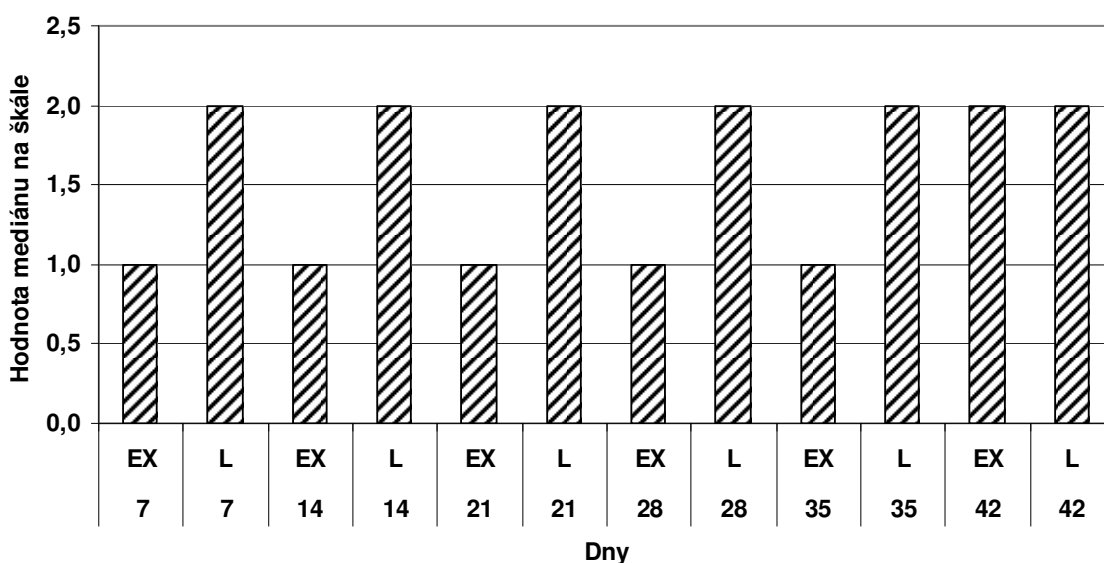
7.3 Senzorická analýza

Komplexního hodnocení olomouckých tvarůžků se účastnilo šest expertů a dvacet šest zkušených hodnotitelů, kteří hodnotili intenzitu vjemu (společné hodnocení vůně a chuti) v jednotlivých kategoriích podle dotazníku uvedeného v příloze.

Senzorická analýza byla zaměřena na vjemy, jenž mají souvislost s látkami, které jsme získali z plynové chromatografie a obsahu volných AMK.

Z následujících grafů lze pozorovat odlišné sensorické hodnocení mezi vybranými posuzovateli a experty.

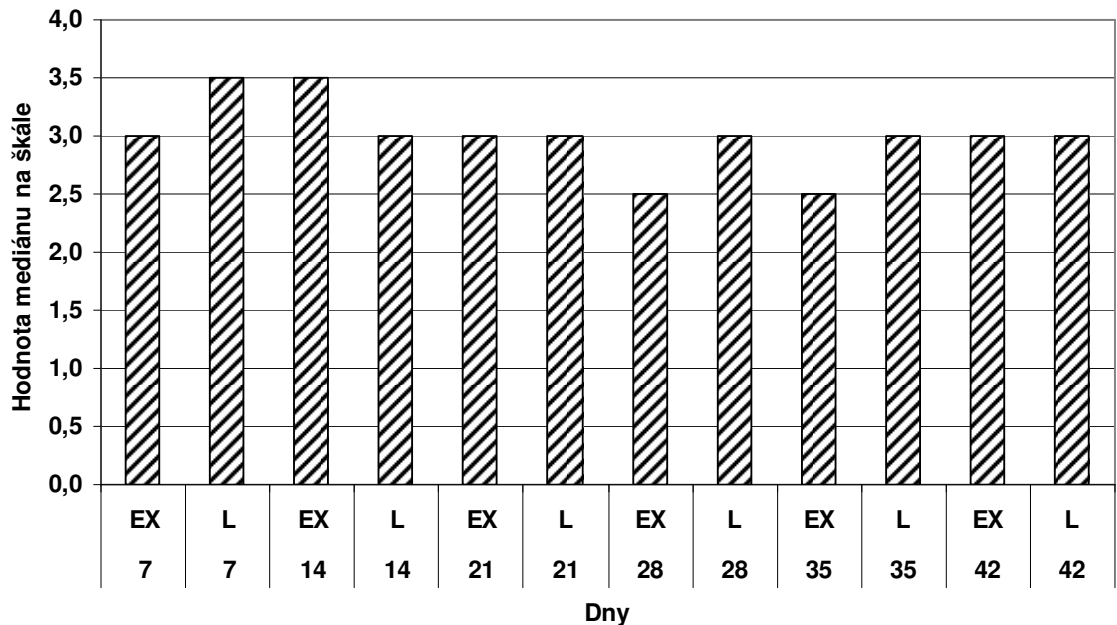
- **Hořká chuť**



Obrázek 17: Grafické znázornění sensorického hodnocení hořké chuti.

Obrázek č.17 znázorňuje hodnocení hořké chuti od expertů a vybraných posuzovatelů. Po celou dobu zrání byla hořká chuť hodnocena vybranými posuzovateli hodnotou mediánu na škále 2,0. Naopak experti hodnotili vzorky během prvních třech týdnů hodnotou mediánu na škále 1,0, po této době došlo k vyrovnání hodnot s vybranými posuzovateli. Z grafu č.17, lze srovnávat odlišné hodnocení mezi jednotlivými posuzovateli, jenž v poslední týdnu, před datem ukončení spotřeby se shodli na intenzitě hořké chuti daného výrobku.

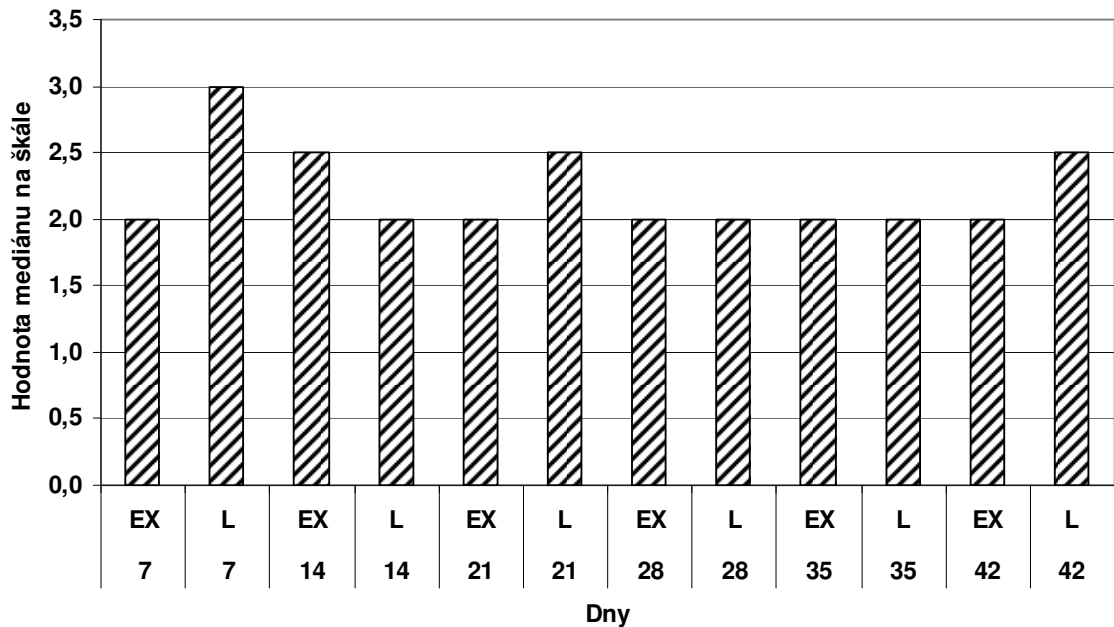
- Kyselá chuť



Obrázek 18: Grafické znázornění sensorického hodnocení kyselé chuti

Vybraní posuzovatelé hodnotili nejvyšší stupeň kyselosti v čerstvých sýrech. V následujících týdnech již hodnotili kyselou chuť hodnotou mediánu na škále 3,0. Experti hodnotili v prvním týdnu zrání kyselost hodnotou mediánu na škále 3,0 a v následujícím týdnu zaregistrovali mírný nárůst kyselosti. V posledním týdnu se experti shodli s vybranými posuzovateli a ohodnotili kyselost sýru hodnotou mediánu na škále 3,0.

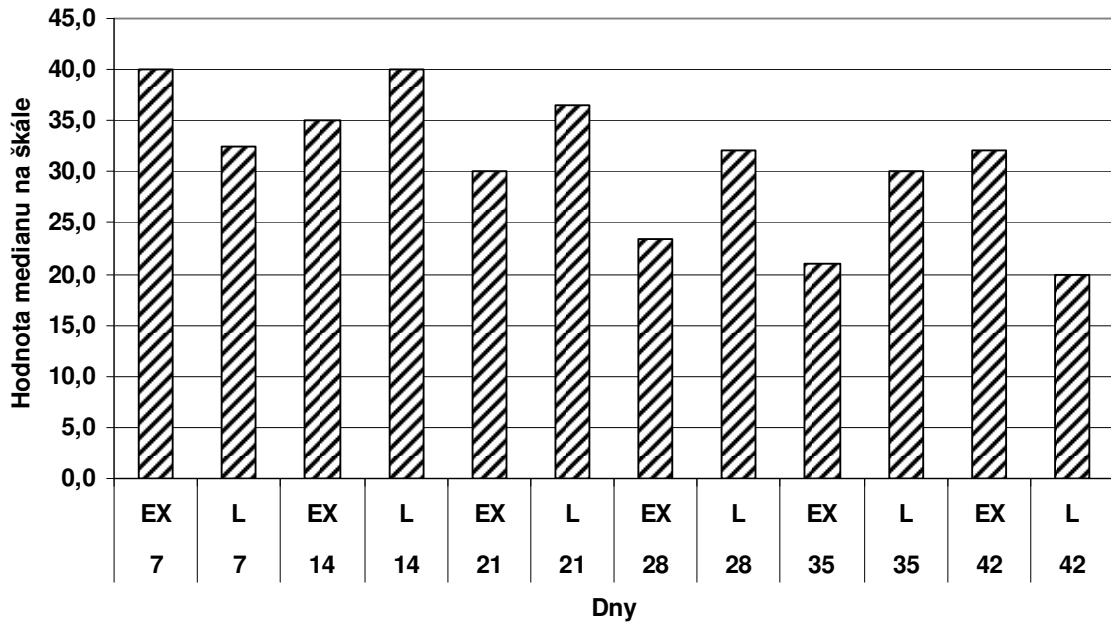
- Slaná chuť



Obrázek 19: Grafické znázornění senzoričkého hodnocení slané chuti

Nejvyšší stupeň slanosti hodnotili vybraní posuzovatelé v prvním týdnu zrání. V dalších týdnech zrání vnímali mírný pokles slané chuti. Koncem doporučené doby spotřeby ohodnotili posuzovatelé nárůst slané chuti hodnotou mediánu na škále 2,5. Naopak experti zaznamenali nejvyšší stupeň slanosti v druhém týdnu zrání a nadále hodnotili pokles slané chuti hodnotou mediánu na škále 2,0.

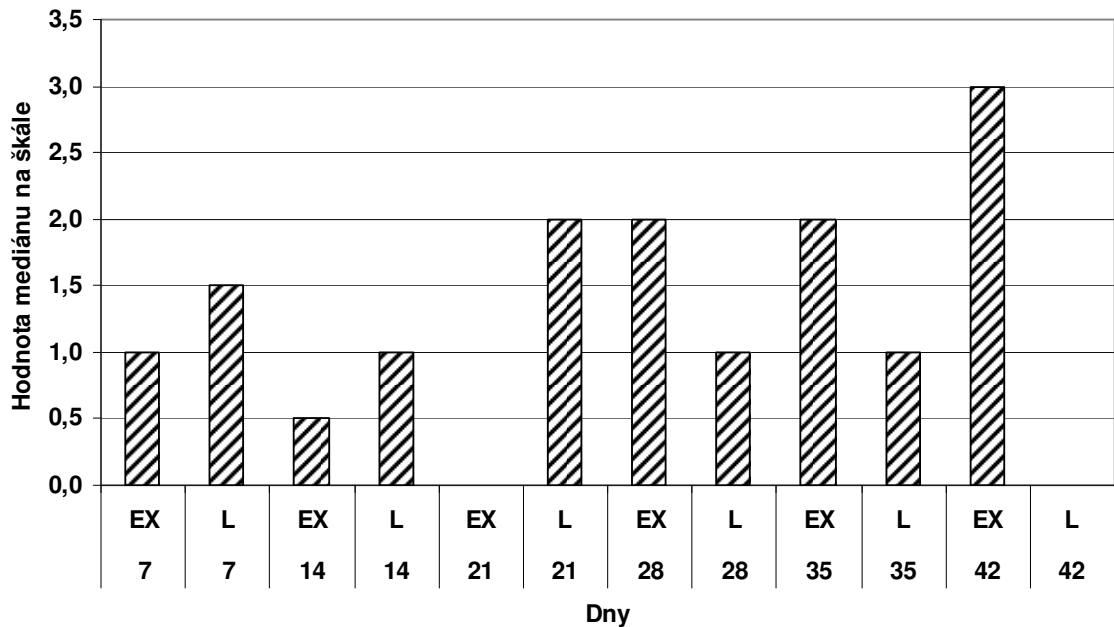
- Mléčná chuť



Obrázek 20 Grafické znázornění senzoryckého hodnocení mléčné chuti

Z grafického znázornění je možno pozorovat pokles mléčné chuti, způsoben vlivem zrání tvarůžků. Vybraní posuzovatelé vyhodnotili nejvyšší práh mléčné chuti v prvním týdnu zrání a během následující doby zrání zaznamenali již jen pokles mléčné chuti. Experti vnímali mléčnou chuť nejvíce v prvním týdnu a v dalších týdnech zaznamenali taktéž pokles této chuti.

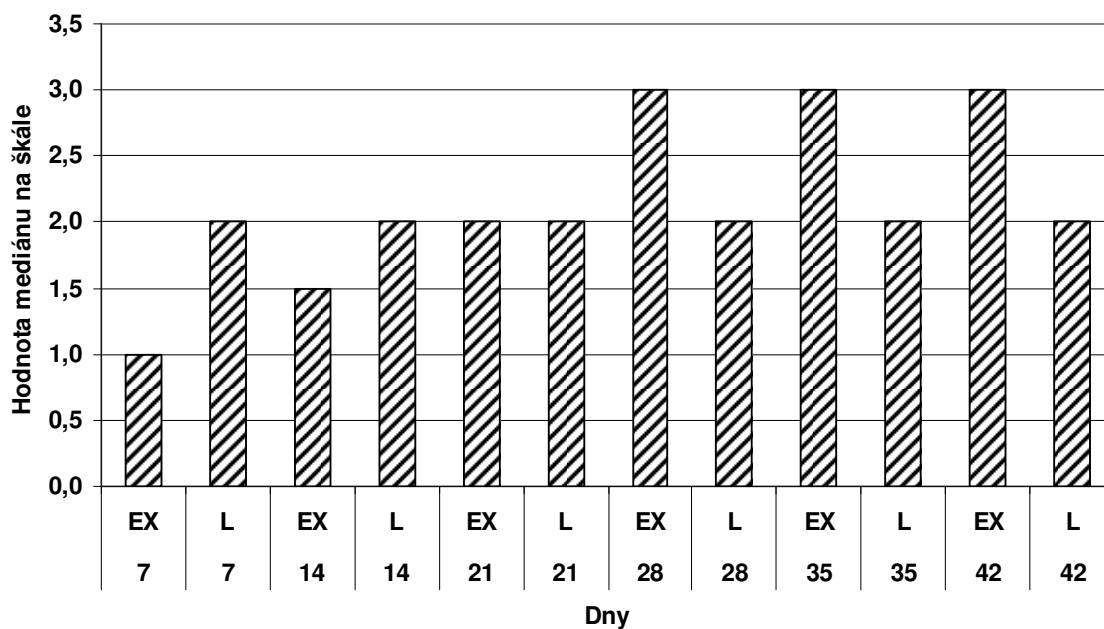
- Palčivá chuť



Obrázek 21 Grafické znázornění sensorického hodnocení palčivé chuti

Podle obrázku 21, lze pozorovat, že nárůst palčivé chuti byl vnímán vybranými posuzovateli v prvním týdnu zrání. V následujícím týdnu zaznamenali pokles palčivé chuti a ve 42.dni zrání tuto chuť již nezaregistrovali. Naopak experti ve 21.dni zrání nezaznamenali palčivou chuť, ale během zrání vnímali intenzivní nárůst této chuti.

- Celkové hodnocení chuti tvarůžků



Obrázek 22: Grafické znázornění celkového hodnocení chuti tvarůžků

Z grafického znázornění si je patrný rozdíl v hodnocení celkové chuti tvarůžků vybranými posuzovateli a experty. Vybraní posuzovatelé po celou dobu zrání hodnotili tvarůžky na škále 2,0. Naopak experti kladně hodnotili nárůst celkové chuti od prvního týdnu zrání až do konce datu spotřeby.

8 DISKUZE

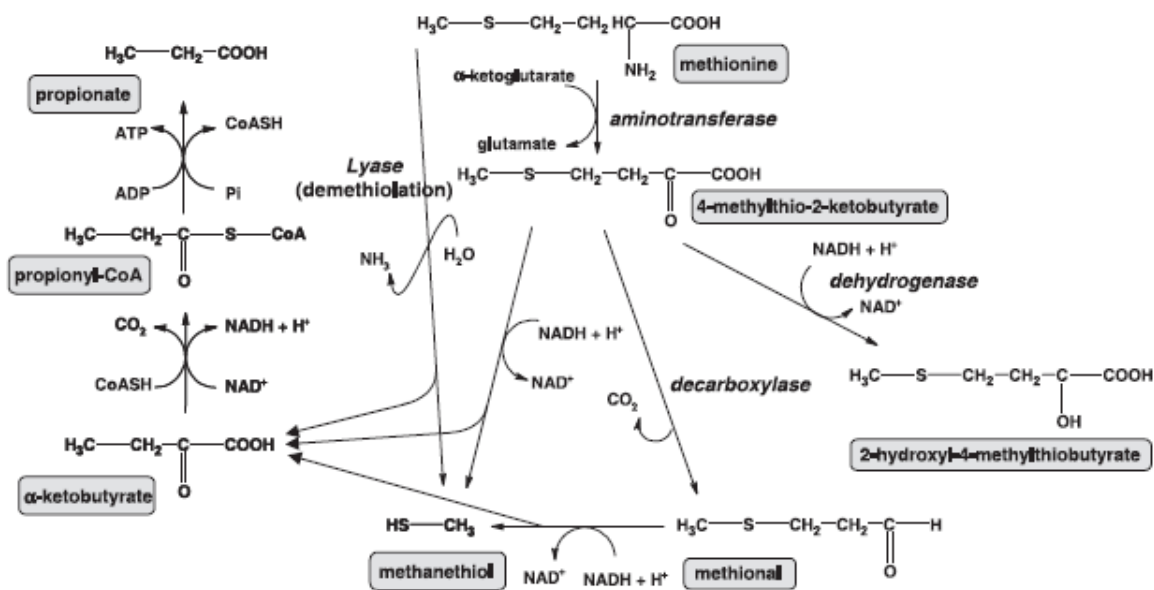
Během zrání tvarůžků jsme analyzovali jednotlivé AMK a sloučeniny, které mají pravděpodobně vliv na aroma sýru.

Katabolické reakce AMK, vedou k tvorbě různých sloučenin s odlišnými aromatickými vjemy, které představují typické aroma jednotlivých sýrů.

Mezi hlavními prekurzory aromatických látek patří AMK (fenylalanin, tyrosin, tryptofan) s rozvětveným řetězcem AMK (leucin, isoleucin, valin) a v neposlední řadě methionin. Námi měřené AMK jsou uvedeny v příloze V., kde můžeme sledovat nárůst či pokles obsahu jednotlivých AMK, během zrání sýru. Nyní se zaměříme na AMK, které nám nejvíce ovlivnili vůni a chuť tvarůžků.

Jedním z nejdůležitějších AMK je methionin, jehož nárůst obsahu je zaznamenán z grafického znázornění (obr.č.15). Methionin se vyznačuje tvorbou silných aromatických sloučenin.

Mezi hlavními aromatickými sloučeninami vyprodukované z AMK (Met) patří methional, methanethiol a jeho oxidační produkty dimethyl disulfid (DMDS) a dimethyl trisulfid (DMTS) [42]. Schématické znázornění tvorby DMDS a DMTS je v příloze IV.

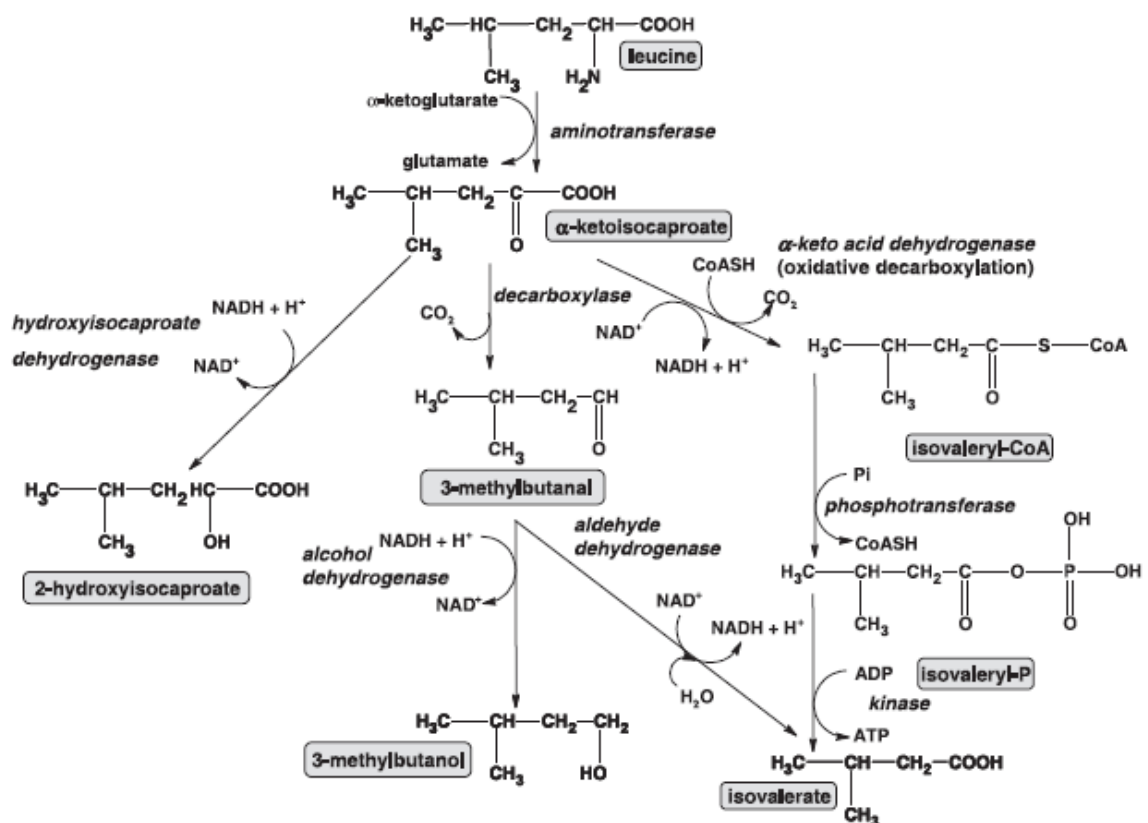


Obrázek 23: Schématické znázornění katabolismu methioninu a tvorba těkavých sloučenin síry [38].

Brevibacterium brevis, který se přidává kvůli zlepšení povrchové mikroflory je také významným producentem methanliolu a dimethylsulfidů [42].

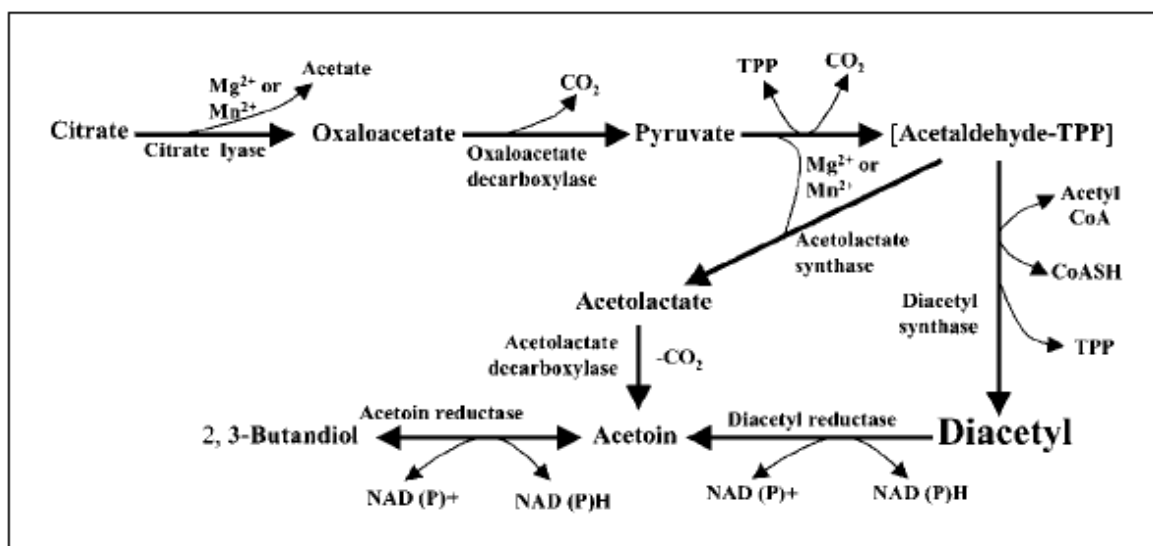
Sloučeniny síry methanthiol, DMDS a DMTS se podílejí na typickém aroma sýru. Dalo by se říci, že tyto sírné látky dodávají tvarůžkům tzv. syrovátkovou vůni a sloučenina DMTS vytváří dojem štiplavé vůně. Tyto sírné sloučeniny nebyly v čerstvých tvarůžcích zaznamenány, ale během zrání sýru došlo k rozvoji těchto látek.

Další neodmyslitelným původcem aroma tvarůžků patří nižší mastné kyseliny. Námi zjištěných sloučenin v tvarůžcích patří například kys. propanová, butanová, 3-methylbutanová, 2-methylbutanová, 2-methylpropanová. Tyto kyseliny jsou tvořeny z AMK valinu, isoleucinu a leucinu [43]. Byl zaznamenán nárůst AMK dle zjištěných hodnot během zrání tvarůžků. Výsledek analýzy pomocí GC vykazuje pokles koncentrace kyselin 3-methylbutanové a 2-methylbutanové během zrání, naopak u kyselin propanové a butanové došlo k nárůstu obsahu. Můžeme se domnívat, že pokles kyselin 3-methylbutanové a 2-methylbutanové je způsoben nedostačujícím prozráním tvarůžků.



Obrázek 24: Schématické znázornění katabolismu leucinu [38].

Další důležitou sloučeninou řadící se mezi ketony patří 2,3-butandion, který se podílí na aroma zrajících sýrů. Je charakteristický svoji máselnou chutí. Vzniká vlivem metabolických drah (citrátový cyklus) při aerobní oxidaci lipidů a proteinů za pomoci startérových kultur (např. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) [44].



Obrázek 25: Schématické zobrazení vzniku 2,3-butadienu [26].

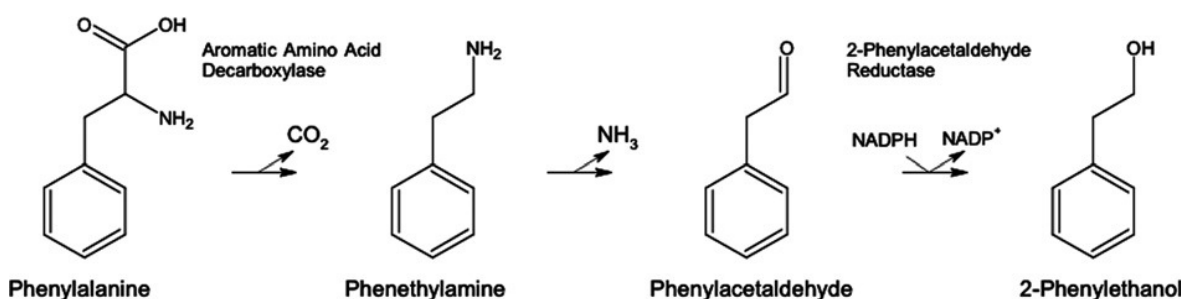
Vysoká koncentrace této sloučeniny byla zaznamenána v čerstvém sýru a během zrání zanikla, dle námi naměřených hodnot.

Ketony jsou přechodné sloučeniny, které mohou být sníženy na sekundární alkoholy (2-butanol). Vlivem NSLAB dochází ke snížení 2,3-butanedionu na 2-butanon a 2-butanol. Nárůst methyl ketonů je typický u všech sýrů. Během zrání sýru byly tyto sloučeniny zaznamenány i v analýze našeho výzkumu. Z grafického znázornění č.8 lze pozorovat nárůst 2-batanonu v prvním týdnu zrání a z grafu č. 9 byl zaznamenán nárůst 2-butanolu v druhém týdnu zrání. Zvýšená hodnota methyl ketonů vlivem zrání svědčí o vyšší prozrálosti sýrů, a ty pak mohou být označovány jako vysoce kvalitní [45].

Mezi další námi analyzované ketony patří např. 2-nonanon, 2-decanon, 4-undecanon, které jsou často spojovány s květinovou nebo také zatuchlou vůní. U čerstvých sýrů byly tyto sloučeniny zaznamenány jen v minimální míře, ale během zrání tvarůžků se jejich kon-

centrace zvýšila. Syntéza těchto sloučenin je spojena v souvislosti s enzymatickou aktivitou.

Z hlediska ovlivnění aroma je patrně zajímavou látkou fenylethylalkohol, jehož těžká vůně připomíná vůni růží. Fenylethylalkohol je jedním z degradačních produktů aminokyselin fenylalaninu [46]. Zajímavostí je, že z grafického znázornění č.12, lze pozorovat nárůst fenylalaninu, zatímco u grafu č. 10 sleduje pokles fenylethylalkoholu. Poznatky načerpané studiem odborné literatury ukázali, že nejvyšší koncentrace fenylethylalkohol je u čerstvých sýrů a během zrání dochází ke snížení koncentrace[46]. Pravděpodobně je pokles způsoben proteolýzou tvarůžků během zrání.



Obrázek 26: Metabolismus fenylalaninu

Po zpracování dotazníku je možné říci, že vybraní posuzovatelé i experti nejčastěji hodnotili během zrání tvarůžky jako slaný a kyselý sýr (toto hodnocení dobře odpovídá s technologií výroby olomouckých tvarůžků). Vybraní posuzovatelé a experti se shodli v poklesu vnímání mléčné chuti během zrání tvarůžků. Dále experti vnímali během zrání sýru nárůst hořké a palčivé chuti. Naopak vybraní posuzovatelé hodnotili, že během zrání došlo k poklesu palčivé chuti a hořkou chuť vyhodnotili za neměnnou během zrání. Tuto odlišnost můžeme chápat jako nezkušenost vybraných posuzovatelů, jelikož sýry s nízkým obsahem tuku výrazně zhoršuje vnímání chuti.

Tendenci k hořknutí mají zvláště hydrolyzáty kaseinu, neboť obsahují větší množství hydrofobních aminokyselin. Hořká chuť se částečně maskuje přidávkem kultury *Brevibacterium brevis*, která vykazuje vysokou proteolytickou aktivitu a hydrolyzuje případně vzniklé hořké peptidy [47].

ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na sledování změn aroma olomouckých tvarůžků v průběhu zrání.

V teoretické části byla popsána technologie výroby olomouckých tvarůžků, vady tvarůžků a biochemické procesy, které probíhaly během zrání.

Praktická část demonstrovala zrací pokus olomouckých tvarůžků, kdy jsme sledovali změny aromatických látek, volných aminokyselin a sensorickou jakost v období od naformování až po týden doporučeném datu spotřeby:

- chemické analýzy se soustředily na těkavé látky zodpovědné především za aroma tvarůžků. Těkavé látky byly izolovány technikou mikroextrakce tuhou fází a analyzovány plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Ve vůni tvarůžků bylo identifikováno celkově 46 organických látek, které vznikaly nebo zanikaly během zrání. Sensoricky nejvýznamnějším látkám patří především látky sirné (methanthiol, dimethyldisulfid, dimethyltrisulfid), dále nižší mastné kyseliny (kys. butanová, 3-methylbutanová, 2-methylbutanová) a fenylethylalkohol;
- obsah volných aminokyselin byl v rozmezí 0,001 – 5,337 mg dané aminokyseliny na kg sýru. Během zrání vlivem proteolýzy docházelo k růstu obsahu jednotlivých AMK, které jsou prekurzory aromatických sloučenin (methionin, fenylalanin, leucin...);
- V průběhu sensorické analýzy vnímali posuzovatelé, kyselost a slanost sýrů jako konstantní neboli neměnnou během zrání. Dále experti vnímali nárůst hořké a palčivé chuti. Vybraní posuzovatelé hořkou chuť klasifikovali jako neměnnou, naopak hodnotili pokles palčivé chuti během zrání tvarůžků.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KNĚZ, V.: *Výroba sýrů*, Praha, SNTL, 1960
- [2] HOJDAR, J., KNĚZ, V., FIALA, V.: *Mlékaření–máslařství- sýrařství*, Praha 1948
- [3] CHROMEČKOVÁ, M.: Analýza olomouckých tvarůžků plynovou chromatografií, bakalářská práce, Olomouc 2008
- [4] FORMAN L. a kol.: *Mlékárenská technologie 2.*, Vydavatelství VŠCHT, Praha 1996
- [5] OLŠENSKÝ, Č.: *Všeobecná a mlékárenská mikrobiologie pro průmyslové školy mlékárenské*, Praha, SPN, 1958
- [6] DOLEŽÁLEK, J.: *Mikrobiologie mlékárenského a tukařského průmyslu*, Praha, SNTL, 1962
- [7] OLŠANSKÝ, Č. a kol.: *Výzkum výroby Olomouckých tvarůžků*, Kroměříž 1956
- [8] HYNKOVÁ, M.: *Problematika výroby olomouckých tvarůžků*, Praha 1994
- [9] TEUBNER, Ch. a kol.: *Velká kniha o sýru*, Perfekt, Bratislava 1998
- [10] JAY, J. M.: *Modern food microbiology*, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg 2000
- [11] INDRA, Z., MIZERA, J.: *Chemické kontrolní metody pro obor zpracování mléka*, Praha 1992
- [12] BOHMOVÁ, J.: *Výzkum výroby průmyslového tvarohu a olomouckých tvarůžků*, závěrečná práce, Praha 1990
- [13] BALLHORN, K.: *Sauermilchkaserei*, VEB Fachbuchverlag, Leipzig 1985
- [14] STRAKOVÁ, E.: *Vliv technologie výroby tvarohu na kvalitu sýra olomoucké tvarůžky*, diplomová práce, VŠCHT, Praha 1991
- [15] Formování tvarůžků: dostupný z www stránek:
<http://www.denik.cz/ekonomika/tvaruzky-olomouc.html>
- [16] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Academia, 2002
- [17] Balení tvarůžků: dostupný z www stránek: <http://www.muzeum-tvaruzky.cz>
- [18] *Olomoucké tvarůžky*, Dostupný z www: <http://www.tvaruzky.cz/>
- [19] RICHARD K. ROBINSON: *Dairy microbiology handbook*, 2008, ISBN 978-1-4200-5326-5
- [20] LUND, B. M., BAIRD-PARKER, T.C., GOULD, G. W.: *The Microbiological Safety and Quality of Food*, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg 2000

- [21] HRABĚ, J. BŘEZINA, P. VALÁŠEK, P.: *Technologie výroby potravin živočišného původu*, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006, ISBN 80-7318-405-2
- [22] GAJDŮŠEK, S.: *Mlékařství II*, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1998, ISBN 80-7157-342-6
- [23] ADAMS, M.R., MOSS, M.O.: *Food Microbiology*. RSC Publishing, Cambridge, 2008
- [24] CAPLICE, E., FITZGERALD, G.F.: Food fermentations: role of microorganism in food production and preservation., *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149s., 1999
- [25] VISSER, S.: Proteolytic enzymes and cheese ripening: Proteolytic enzymes and their relation to Cheese Ripening and Flavor; *Journal of Dairy Science*, Vol. 76, 1993
- [26] SINGHL, T.K., DRAKE, M.A., CADWALLADER, K.R.: Flavor of Cheddar Cheese: A Chemical and Sensory Perspective, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 2, 139-162 s., 2003
- [27] GONZÁLEZ, M., HERNÁNDEZ-HIERRO, J.M., VIVAR-QUINTANA, A.I., REVILLA, C., GONZÁLEZ-PERÉZ, C.: The application of near infrared spectroscopy technology and a repote reflectance fibre-optic probe for the determination of peptides in cheeses (cow's, ewe's and goat's) with different ripening times, *Food Chemistry*, 114, 1564–1569s., 2009
- [28] BIEDE, S. L. HAMMOND, E. G.: Swiss Cheese Flavor: II. Organoleptic Analysis I, II ; *Journal of Dairy Science*, Vol. 62, No. 2, 1979
- [29] LESZEK STEPANIAK: Dairy enzymology, *International Journal of Dairy Technology*, Vol 57, No 2/3 May/August 2004
- [30] McSWEENEY, P. L. H., FOX, P. F., COGAN, T. M., GUINEE, T. P.: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Elsevier, Amsterdam 2004
- [31] CURIONIA, P.M.G. BOSSETB, J.O: *Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry*, *International Dairy Journal*, Vol.12, 959-984 s., 2002

- [32] REQUEN, T. MOHEDANO, M. PLAZA, M. PELÁEZ, C. LOPEZ, P. PALENCIA, P. CUESTA, C.: Enhancement of 2-methylbutanal formation in cheese by using a fluorescently tagged Lactacin producing *Lactococcus lactis* strain ; *International Journal of Food Microbiology*, 93, 335–347s., 2004
- [33] NORONHA, N. CRONIN, D. O'RIORDAN, D. O'SULLIVAN, M.: Flavouring reduced fat high fibre cheese products with enzyme modified cheeses (EMCs) ; *Food Chemistry*, 110, 973–978 s., 2008
- [34] CHRISTEN, J.E. DUDLEY, E.G. PEDERSON, J.A. STEELE, J.L.: Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria, University of Wisconsin-Madison (USA), 217-246 s., 1999
- [35] FORDE, A. FITZGERALD, G.: Biotechnological approaches to the understanding and improvement of mature cheese flavour, Elsevier science, 484-489s., 2000
- [37] GERRIT, S. SMIT, A.: Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products, *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 591–610s., 2005
- [36] McSWEENEY, P.L.H.: Biochemistry of cheese ripening, *International Journal of Dairy Technology*, Vol.57, no.2/3 May/August, 2004
- [37] KONDYLIA, E., KATSIARIA, M.C., MASOURASB, T. VOUTSINASA L.P.: *Free fatty acids and volatile compounds of low-fat Feta-type cheese made with a commercial adjunct culture*, *Food Chemistry* ,79, 199–205 s., 2002
- [38] MARILLEY, M.G., CASEY M.: Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains, *International Journal of Food Microbiology*, 90, 139–159s., 2004
- [39] BUŇKA, F. HRABĚ, J. VOSPĚL, B.: *Senzorická analýza potravin I.*, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, ISBN 978-80-7318-9
- [40] BINTSIS, T. ROBINSON, R.K.: *A study of the effects of adjunct cultures on the aroma compound of Feta-type cheese*, *Food Chemistry*, 88, 435-331 s., 2004
- [41] AYAD, E.H.E. AWAD, S. ATTAR, A.: Characterisation of Egyptian Ras cheese. 2. Flavour formation, *Food Chemistry* ,86, 553–561s., 2004
- [42] MIREILLE, Y. LIESBETH, R.: Cheese flavour formation by amino acid catabolism, *International Dairy Journal*, Vol. 11, 185-201s., Pages, 2001
- [43] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J.: *Chemie potravin*, Praha 1983

- [44] KONDYLIA, E., KATSIARIA, M.C., MASOURASB, T. VOUTSINASA L.P.: *Free fatty acids and volatile compounds of low-fat Feta-type cheese made with a commercial adjunct culture*, Food Chemistry ,79, 199–205 s.,2002
- [45] CARPINO, S., MALLIA, S., LA TERRA, S., MEILILLI, C., LICITRA, G., ACREE, T. E. D., BARBANO, M., VAN SOEST, P. J.: *Composition and Aroma Compounds of Ragusano Cheese: Native Pasture and Total Mixed Rations*, International Dairy Journal 87, 816-830s., 2004
- [46] DENISE, M., TIEMAN, A., HOLLY, M., LOUCAS, B., JOO YOUNG KIM, CLARK, D. G., KLEE, H. J.: *Tomato phenylacetaldehyde reductases catalyze the last step in the synthesis of the aroma volatile 2-phenylethanol*, Phytochemistry ,68, 2660–2669S., 2007
- [47] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*, OSSIS, Tábor, 2002

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AMK	aminokyseliny
BMK	bakterie mléčného kvašení
FAA	volné aminokyseliny
GC	plynová chromatografie
HS/SPME	mikroextrakce tuhou fází
NSLAB	nestartérové kultury bakterií mléčného kvašení
RK	regulátor kyselosti
°SH	kyselost podle Soxhleta-Henkela

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Formování a ukládání tvarůžků na rošty[15].	20
Obrázek 2: Znárodnění balení olomouckých tvarůžků [17].....	21
Obrázek 3: Metabolizmus bakterii mléčného kvašení [26].	27
Obrázek 4: Schematické znárodnění systému plazminu v mléce [30].....	29
Obrázek 5: Schématické znárodnění vzniku sensoricky aktivních látek z mastných kyselin v průběhu zrání sýrů [38].	32
Obrázek 6: Plynový chromatograf Agilent 6890	39
Obrázek 7: Analyzátor aminokyselin AAA 400	40
Obrázek 8: Grafické znárodnění plochy píku 2-Butanon v závislosti na době zrání.....	44
Obrázek 9: Grafické znárodnění plochy píku 2-Butanolu v závislosti na době zrání.....	45
Obrázek 10: Grafické znárodnění plochy píku fenylethylalkoholu v závislosti na době zrání	46
Obrázek 11: Grafické znárodnění plochy píku 1-Butanol,3-methyl v závislosti na době zrání	47
Obrázek 12: Grafické znárodnění obsahu fenylalaninu v závislosti na době zrání	49
Obrázek 13: Grafické znárodnění obsahu leucinu v závislosti na době zrání.....	50
Obrázek 14: Grafické znárodnění obsahu kyseliny aspargové v závislosti na době zrání	51
Obrázek 15: Grafické znárodnění obsahu AKM methionin v závislosti na době zrání.....	52
Obrázek 16: Grafické znárodnění obsahu AKM arginin v závislosti na době zrání.....	53
Obrázek 17: Grafické znárodnění sensorického hodnocení hořké chuti.....	54
Obrázek 18: Grafické znárodnění sensorického hodnocení kyselé chuti.....	55
Obrázek 19: Grafické znárodnění sensorického hodnocení slané chuti	56
Obrázek 20 Grafické znárodnění sensorického hodnocení mléčné chuti	57
Obrázek 21 Grafické znárodnění sensorického hodnocení palčivé chuti	58
Obrázek 22:Grafické znárodnění celkového hodnocení chuti tvarůžků	59
Obrázek 23: Schématické znárodnění katabolismu methioninu a tvorba těkavých sloučenin síry [38].	60
Obrázek 24: Schématické znárodnění katabolismu leucinu [38].....	61
Obrázek 25: Schématické zobrazení vzniku 2,3-butadienu [26].	62
Obrázek 26: Metabolizmus fenylalaninu	63

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Olomoucké tvarůžky – druhy výrobků [18]</i>	22
<i>Tabulka 3: Látky zjištěné ve vzorku olomouckých tvarůžků během zrání pomocí GC I.....</i>	42
<i>Tabulka 4: Látky zjištěné ve vzorku olomouckých tvarůžků během zrání pomocí GC II.</i>	43

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Dotazník pro senzorické hodnocení

Příloha II: Chromatogram olomouckých tvarůžků

Příloha III: Tabulka GC

Příloha IV: Schématické znázornění vzniku dimethyl disulfidu a dimethyl trisulfidu.

Příloha V: Grafické znázornění jednotlivých aminokyselin v průběhu zrání

Příloha VI: Jednotlivé chromatogramy v průběhu zrání tvarůžků

PŘÍLOHA P I : DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ**Dotazník pro hodnocení Pravých Olomouckých tvarůžků**

Jméno a příjmení:

Věk:

Datum:

Hodina:

Úkol 1

Vzorek sýru je umístěn na talíři. Nejprve si k sýru přivoňte a poté ochutnejte. Důležité je, abyste sýr nežvýkali a nepolykali příliš rychle. Sýr tak dostane šanci uvolnit všechny své čichové a chuťové složky.

1. Konzistence povrchu

- 1) Povrch jemný s mírným zřetelným jádrem položeným do středu, stejnoměrně pokrytý mazem.
- 2) Nepatrné odchylky (roztékavé, gumovité, výskyt dutinek a trhlinek..)
- 3) Mírné odchylky
- 4) Hrubé odchylky
- 5) Naprosto nepřijatelný povrch (velké trhliny, velké hrudky....)

2. Barva na povrchu

- 1) Velmi světlá až bílá barva
- 2) Světle zlatožlutá barva
- 3) Zlatožlutá s oranžovým nádechem
- 4) Tmavší zlatožlutá či oranžová barva
- 5) Velmi tmavá barva, různých netypických odstínů (modrá, hnědá....)

3. Intenzita vůně

- 1) Vůně nepatrná téměř žádná
- 2) Méně výrazná vůně, čistá bez cizorodých pachů

- 3) Výrazná vůně, charakteristická pro daný výrobek
- 4) Silně výrazná vůně avšak bez cizorodých pachů
- 5) Příliš výrazná vůně

4. Intenzita cizích pachů

- 1) Cizí pachy nebyly detekovány
- 2) Slabá přítomnost cizích pachů, avšak stále akceptovatelný výrobek
- 3) Silná přítomnost cizích pachů (vůně zatuchlá, štiplavá, po hnilobě, plísni atd.)

5. Celková chuť

- 1) Nevýrazná
- 2) Méně výrazná
- 3) Chuť typická pro daný výrobek
- 4) Výraznější chuť
- 5) Příliš výrazná chuť

6. Intenzita cizích pachutí

- 1) Cizí pachuti nebyly detekovány
- 2) Slabá přítomnost cizích pachutí, avšak stále akceptovatelný výrobek
- 3) Silná přítomnost cizích pachutí (chuť zatuchlá, štiplavá, po hnilobě, plísni atd.)

7. Kyselost

- 1) Velmi kyselá chuť
- 2) Intenzita kyselosti nepatrně větší
- 3) Intenzita kyselosti optimální
- 4) Intenzita kyselosti nepatrně menší
- 5) Nepatrně nakyslá chuť

8. Slanost

- 1) Velmi slaná chuť
- 2) Intenzita slanosti nepatrně větší
- 3) Intenzita slanosti optimální
- 4) Intenzita slanosti nepatrně menší
- 5) Slanost prakticky nebyla detekována

9. Hořkost

- 1) Hořká chuť nebyla detekována
- 2) Nepatrná intenzita hořké chuti
- 3) Slabá intenzita hořké chuti
- 4) Silná intenzita hořké chuti
- 5) Velmi silná intenzita hořké chuti

10. Celkové hodnocení výrobku

- 1) Vynikající
- 2) Výborný
- 3) Dobrý – standardní jakost
- 4) Méně dobrý
- 5) Nevyhovující

Úkol 2

Soustředte se na jednotlivé deskriptory chuti a zhodnoťte ji pomocí poměrových stupnic. Intenzitu vjemů vyjádřete pomocí znaku na níže uvedené úsečce. Úsečky neprodlužujte. Počátek úseček je vlevo a odpovídá stavu, kdy jste daný deskriptor nedetekovali. Od počátku směrem doprava roste intenzita sledovaného znaku.

Mléčně sýrová

Tučná

Žluklá

Zatuchlá

Hnilobná

Palčivá

Kvasničná

Úkol 3

Soustředte se na jednotlivé deskriptory chuti a uveďte, které (výše nejmenované) deskriptory jste detekovali (včetně charakteristických chutí i pachutí). Neuvádějte „tvarůžkovou“ příchut’.

Úkol 4

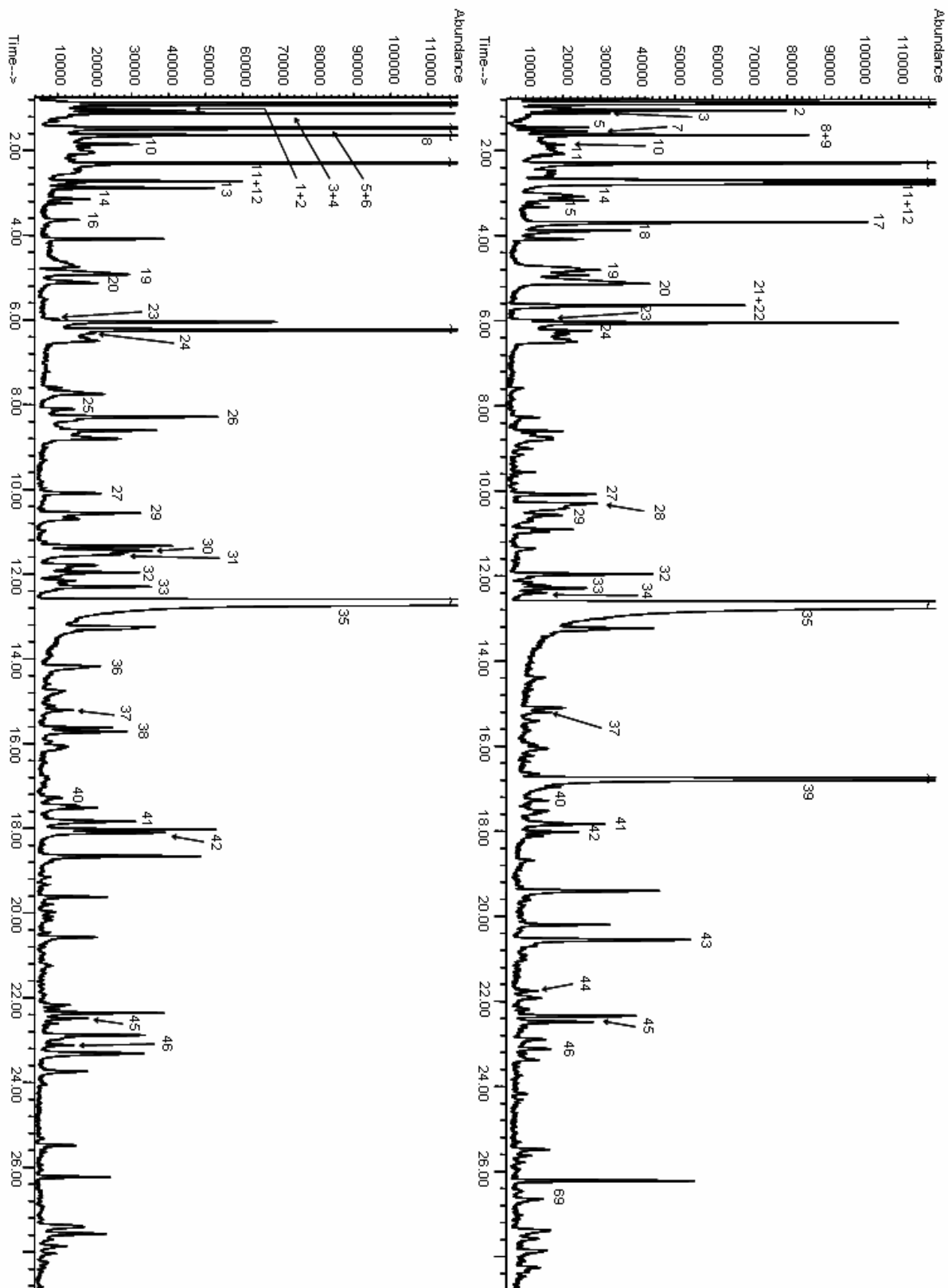
Popište, jakými deskriptory by se měl vyznačovat výrobek (Pravý Olomoucký tvarůžek) v optimální zralosti.

Popište jinými deskriptory, co si představujete pod „tvarůžkovou“ příchutí.

Příloha P II: Chromatogram olomouckých tvarůžků

49.den

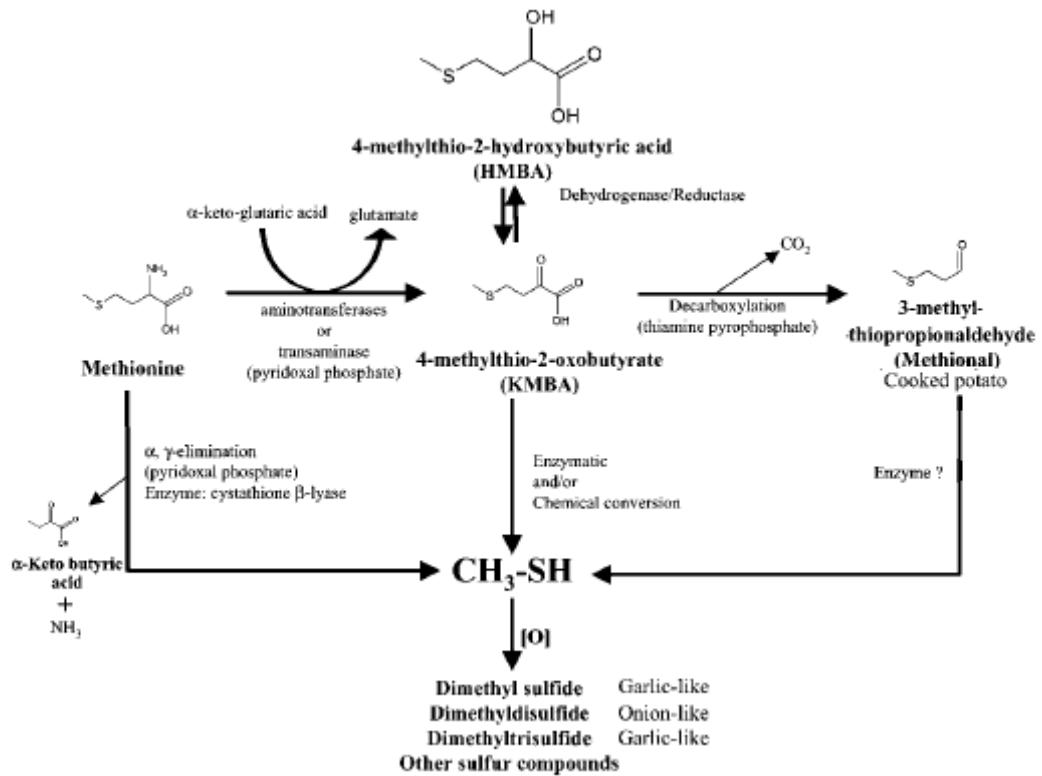
Po balení



Příloha III: Tabulka GC

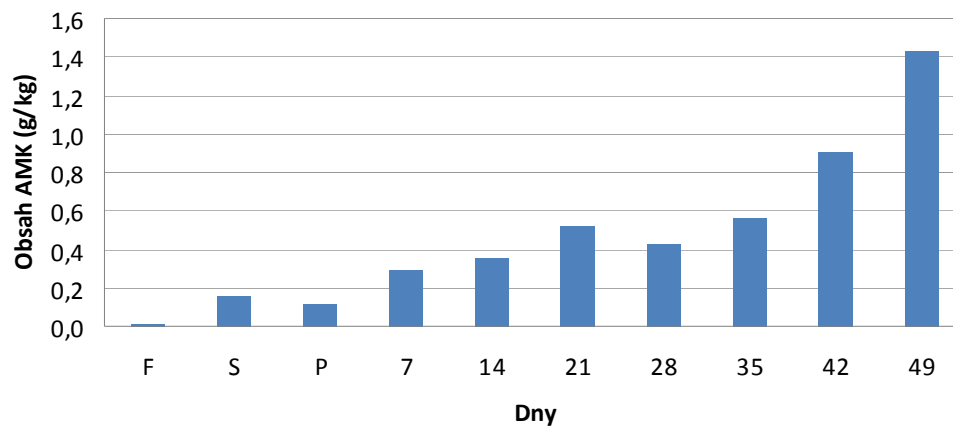
název		Rt	Po balení	49.den
			plocha (SIM)	plocha (SIM)
1	methanethiol	1,017	ND	41202
2	ethanol	1,052	224819	114051
3	aceton	1,117	150218	581116
4	2-propanol	1,125	ND	382903
5	2-butanon	1,462	273501	2386803
6	2-butanol	1,486	ND	972851
7	ethyl acetát	1,543	118818	ND
8	Kyselina octová	1,625	148809	651719
9	2-methylpropan-1-ol	1,635	173399	ND
10	3-methylbutanal	1,863	12024	38952
11	3-methyl-1-butanol	2,723	14016184	170456
12	2-methyl-1-butanol	2,779	854168	31963
13	dimethyl disulfid	2,888	ND	26687
14	Kyselina 2-methylpropanová	3,088	474789	105263
15	2-methylpropyl acetát	3,33	67689	ND
16	Kyselina butanová	3,645	ND	74656
17	2,3-butan diol	3,683	1320993	ND
18	1,3-butan diol	3,878	617929	ND
19	Kyselina 3-methylbutanová	4,81	865304	504690
20	Kyselina 2-methylbutanová	5,134	637060	177206
21	3-methylbutyl acetát	5,637	423639	ND
22	2-methylbutyl acetát	5,687	92111	ND
23	2-heptanon	5,983	88903	36773
24	2-heptanol	6,308	54693	34632
25	Benzaldehyd	8,1	ND	206469
26	dimethyl trisulfid	8,289	ND	659587
27	Limonen	10,085	76161	51783
28	benzyl alkohol	10,307	390375	ND
39	2-fenylacetaldehyd	10,573	299217	695703
30	p-kresol	11,453	ND	376447
31	m-kresol	11,532	ND	270838
32	2-nonanon	11,954	324670	245719
33	2-nonanol	12,289	161467	306380
34	Nonanal	12,319	32490	ND
35	2-fenylethanol	12,705	140719390	59601440
36	4-ethyl fenol	14,177	ND	420185
37	Dodecan	15,203	30070	32925
38	dimethyl tetrasulfid	15,714	ND	141772
39	2-fenylethyl acetát	16,768	2868612	ND
40	4-undecanon	17,274	20064	16829
41	2-undecanon	17,832	144992	152094
42	2-undecanol	18,111	35204	211407
43	2-fenylethyl -2-methylprotanoát	21,756	69574	ND
44	2-fenylethyl butanoát	21,756	69574	ND
45	10-undecen-1-yl acetát	21,925	50338	ND
46	2-tridecanon	23,118	53076	47883

**PŘÍLOHA IV: SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ TVORBY
DIMETHYL DISULFIDU A DIMETHYL TRISULFIDU.**

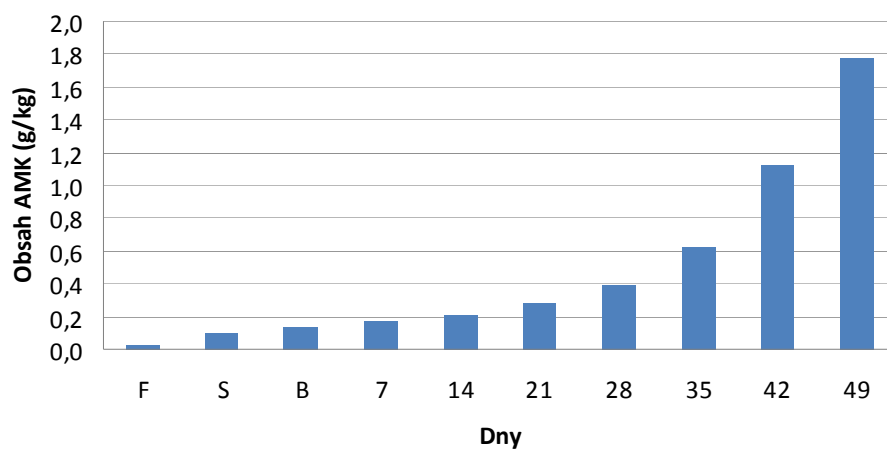


PŘÍLOHA V: GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ JEDNOTLIVÝCH AMINOKYSELIN V PRŮBĚHU ZRÁNÍ

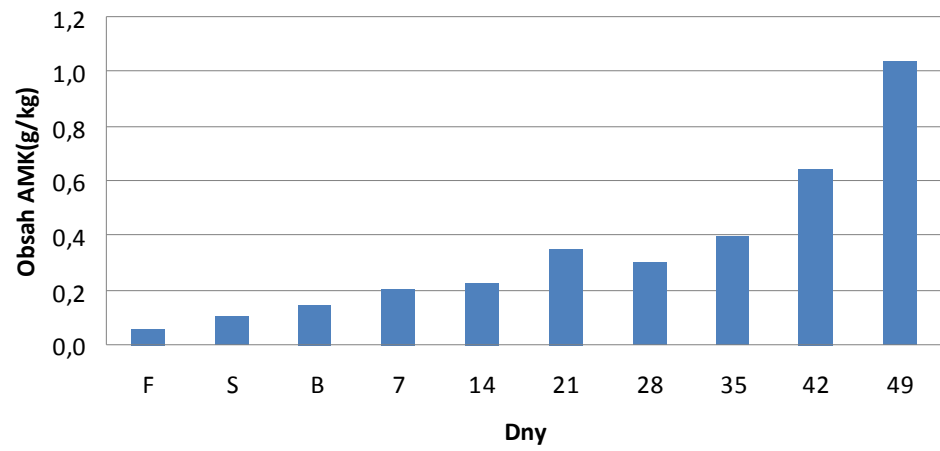
Orn



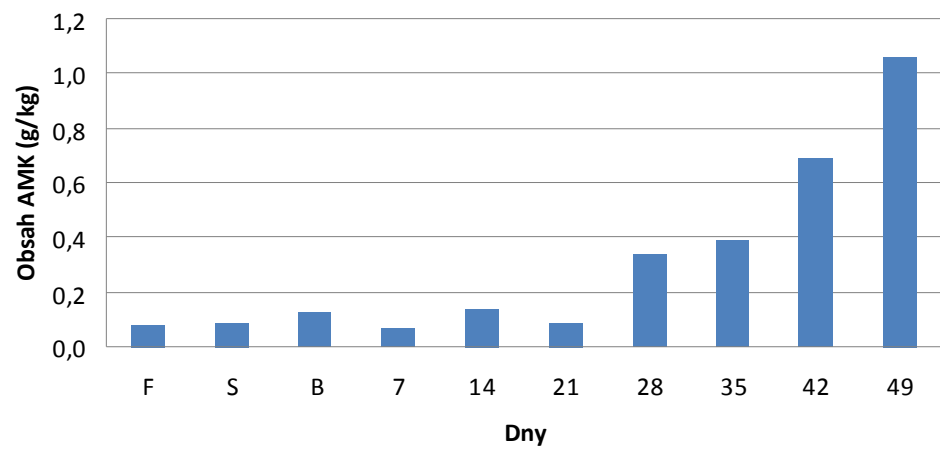
His



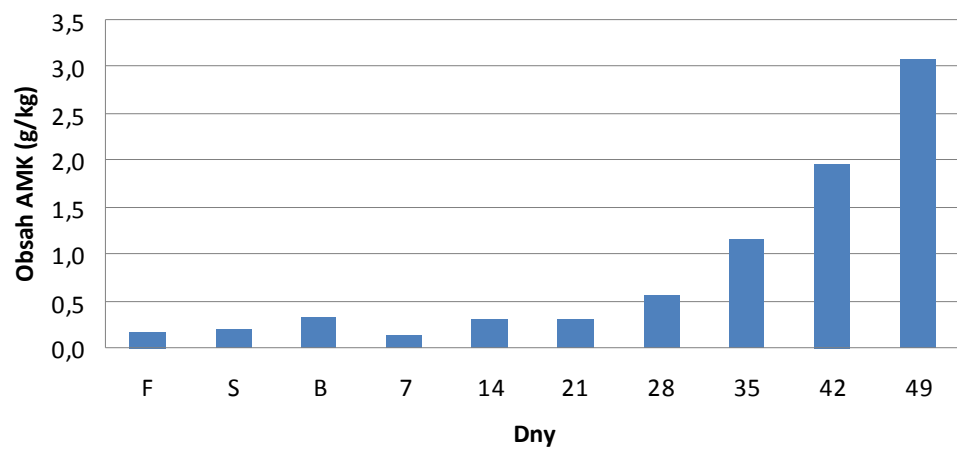
K.cys



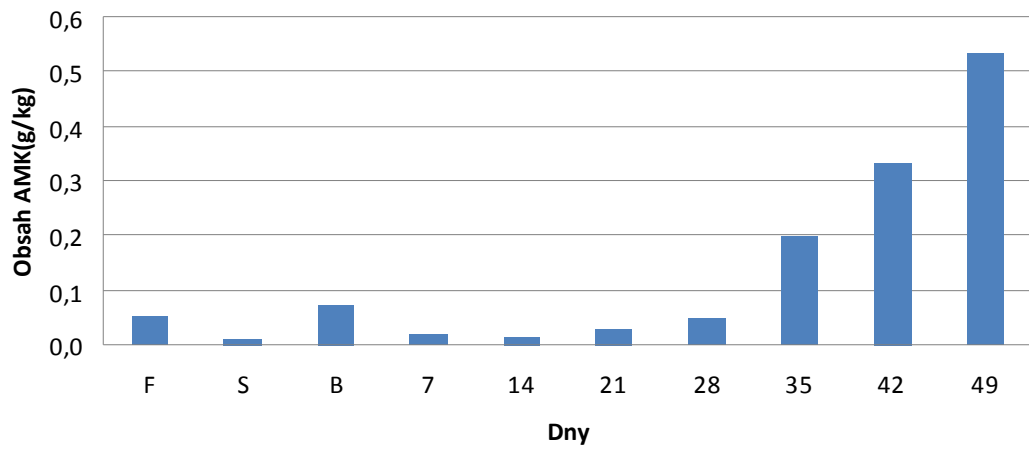
Thr



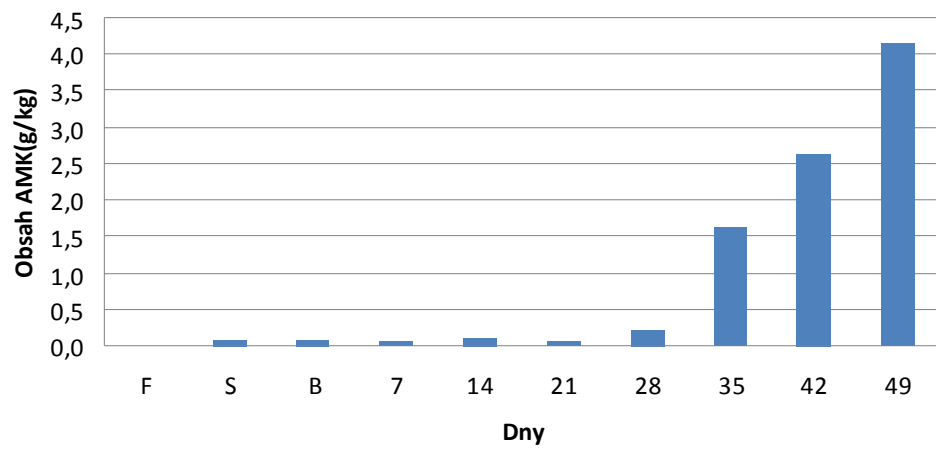
Pro



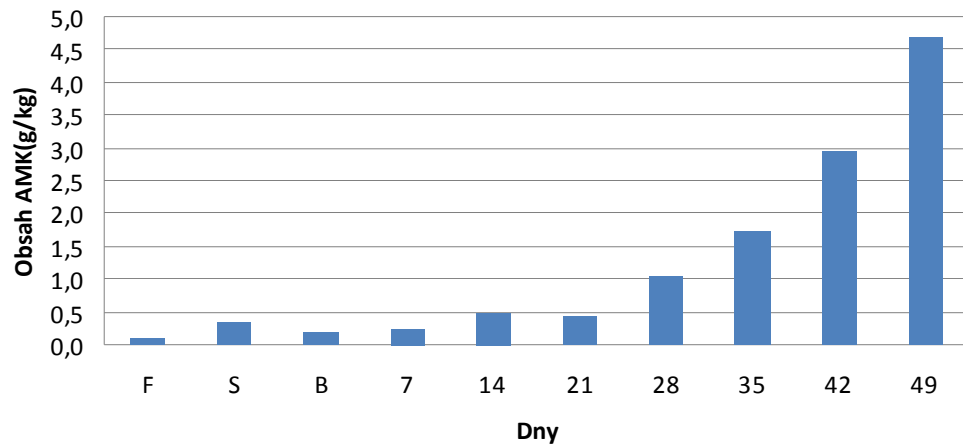
Ser



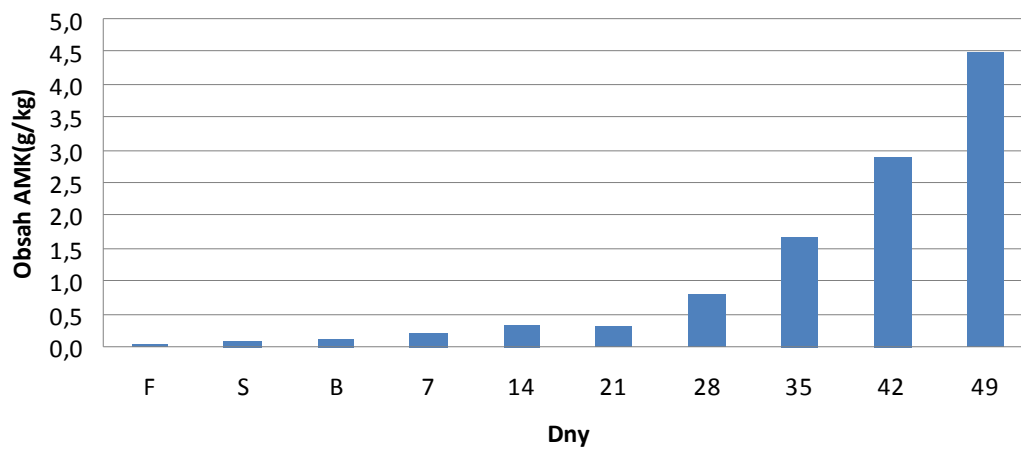
Asn



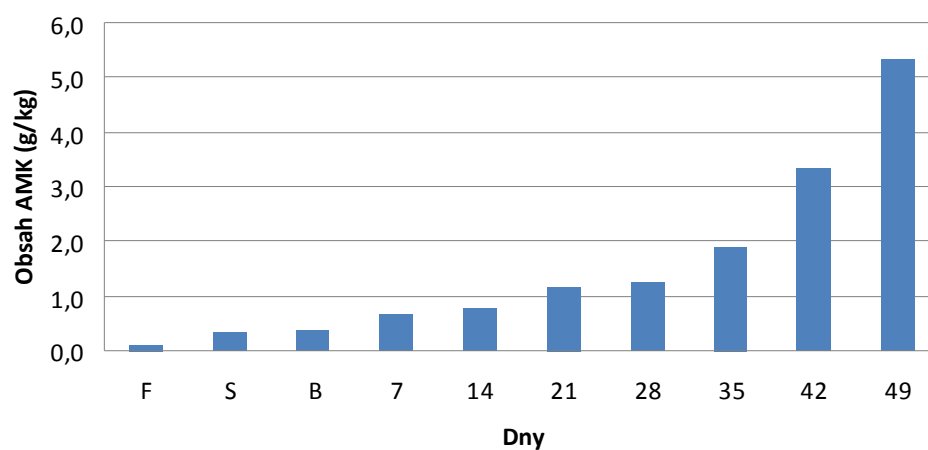
Gln



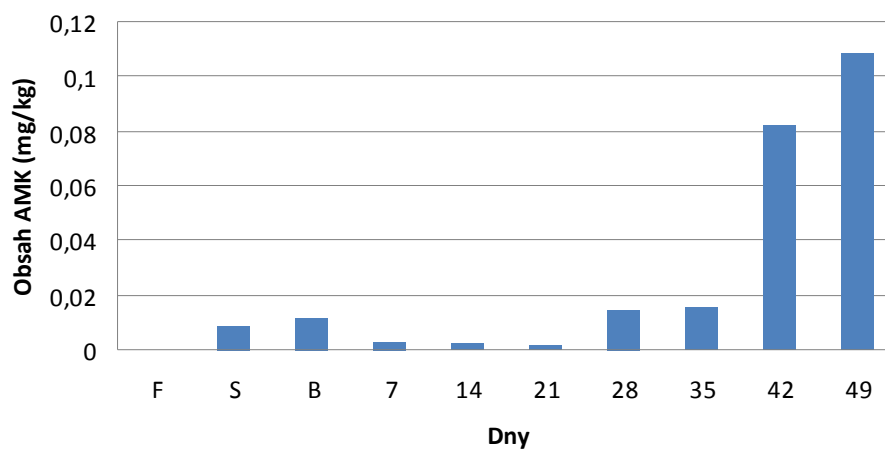
Glu



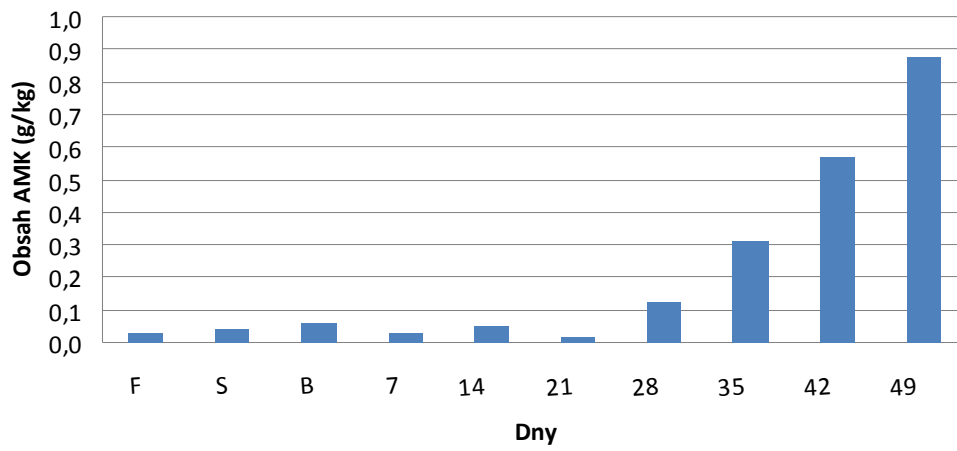
Iys



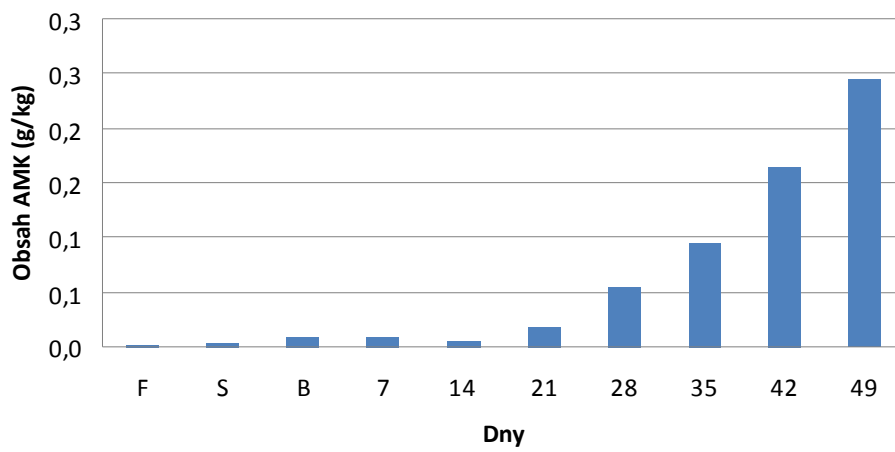
Ala



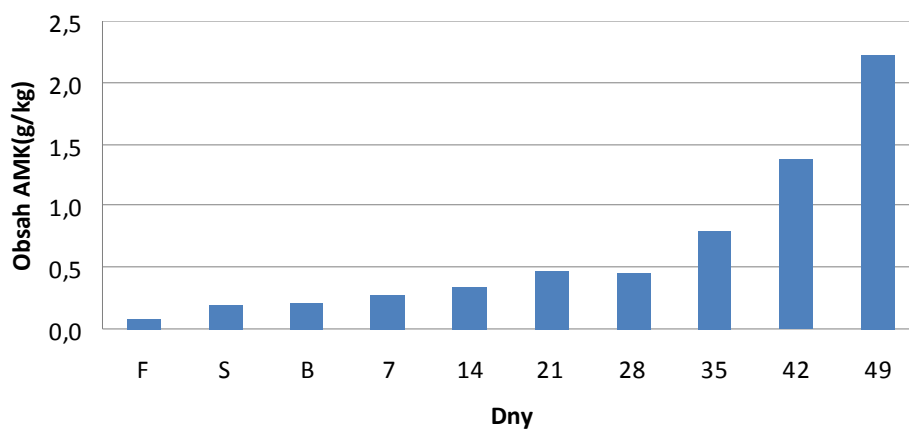
Gly



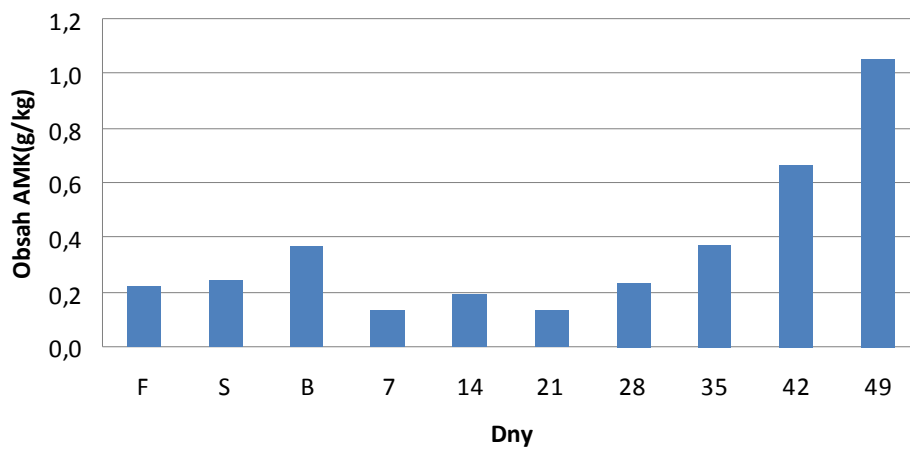
Cit



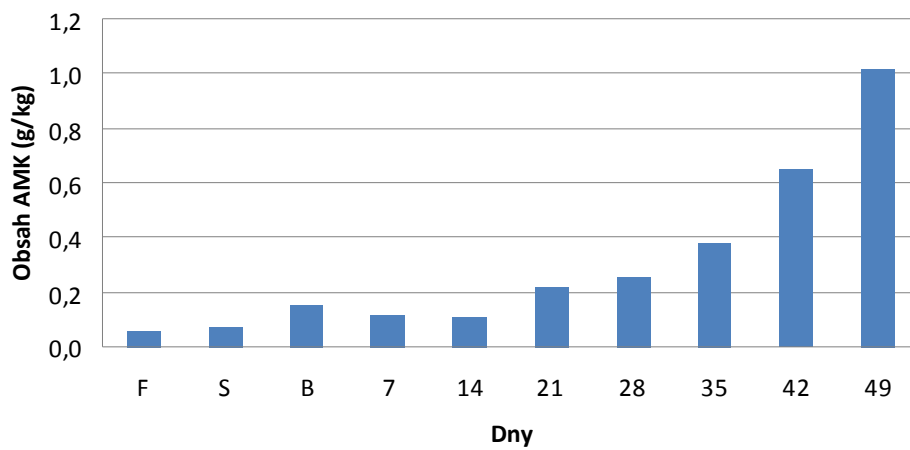
Ile



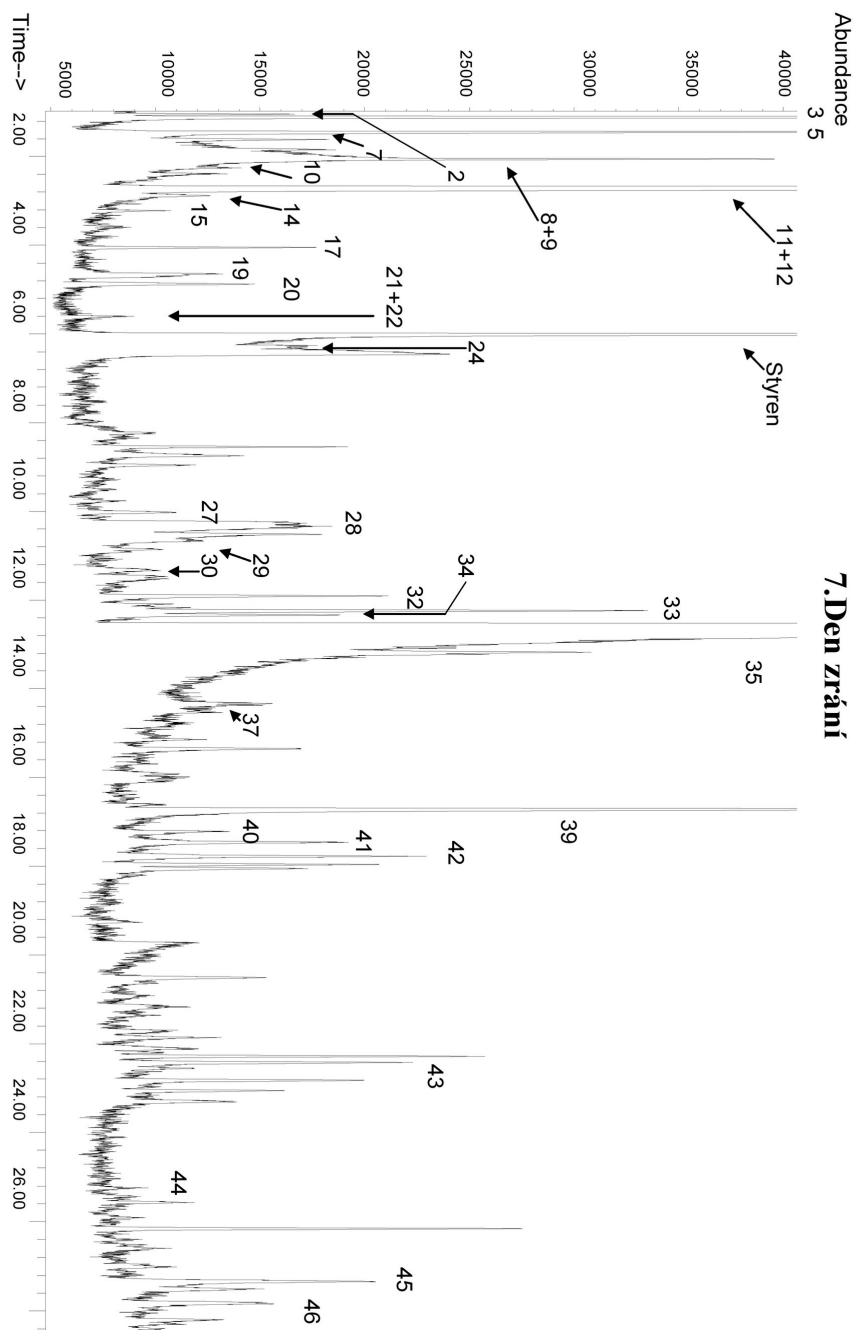
C.am.but.



Tyr

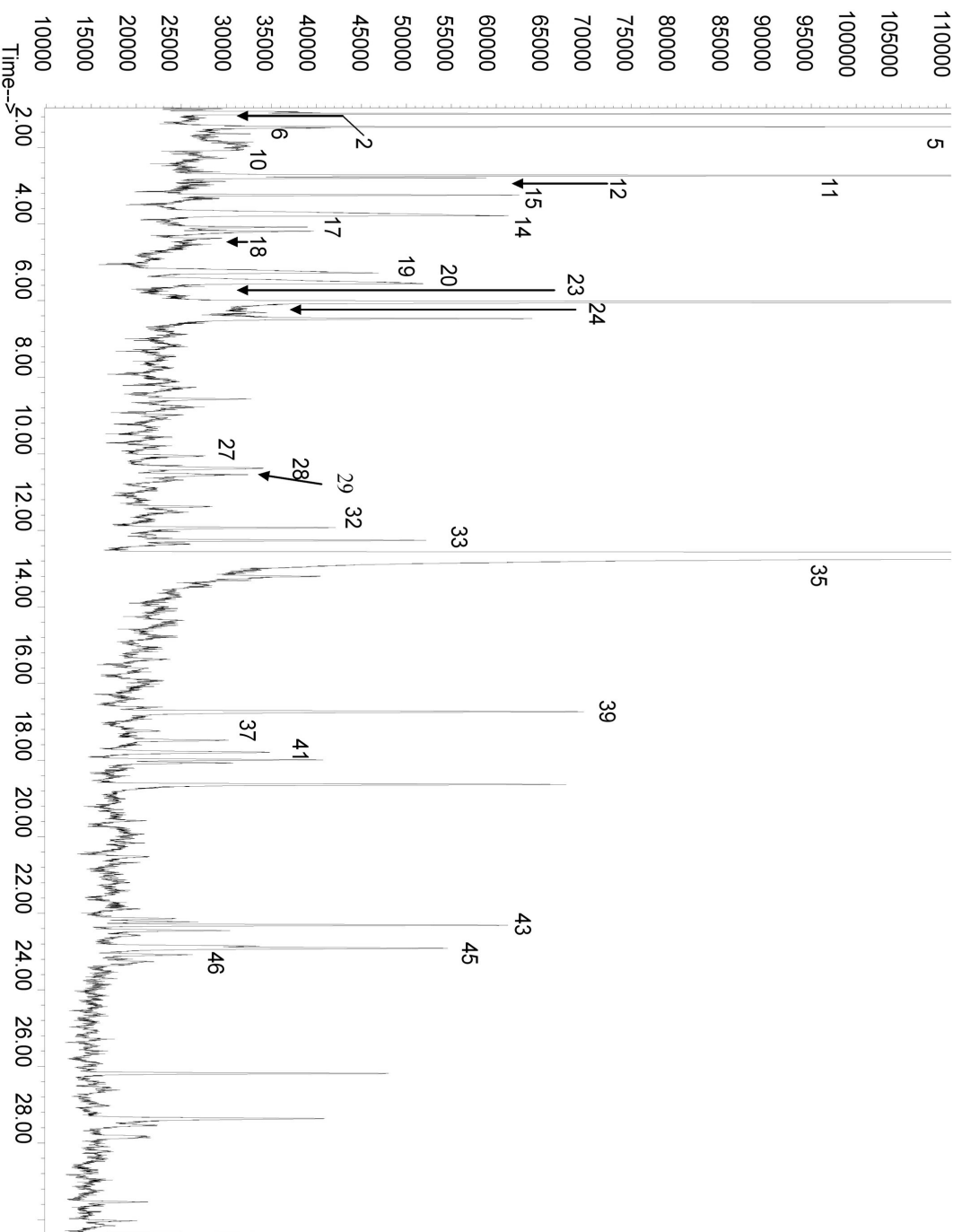


Příloha VI: Jednotlivé chromatogramy v průběhu zrání tvarůžků

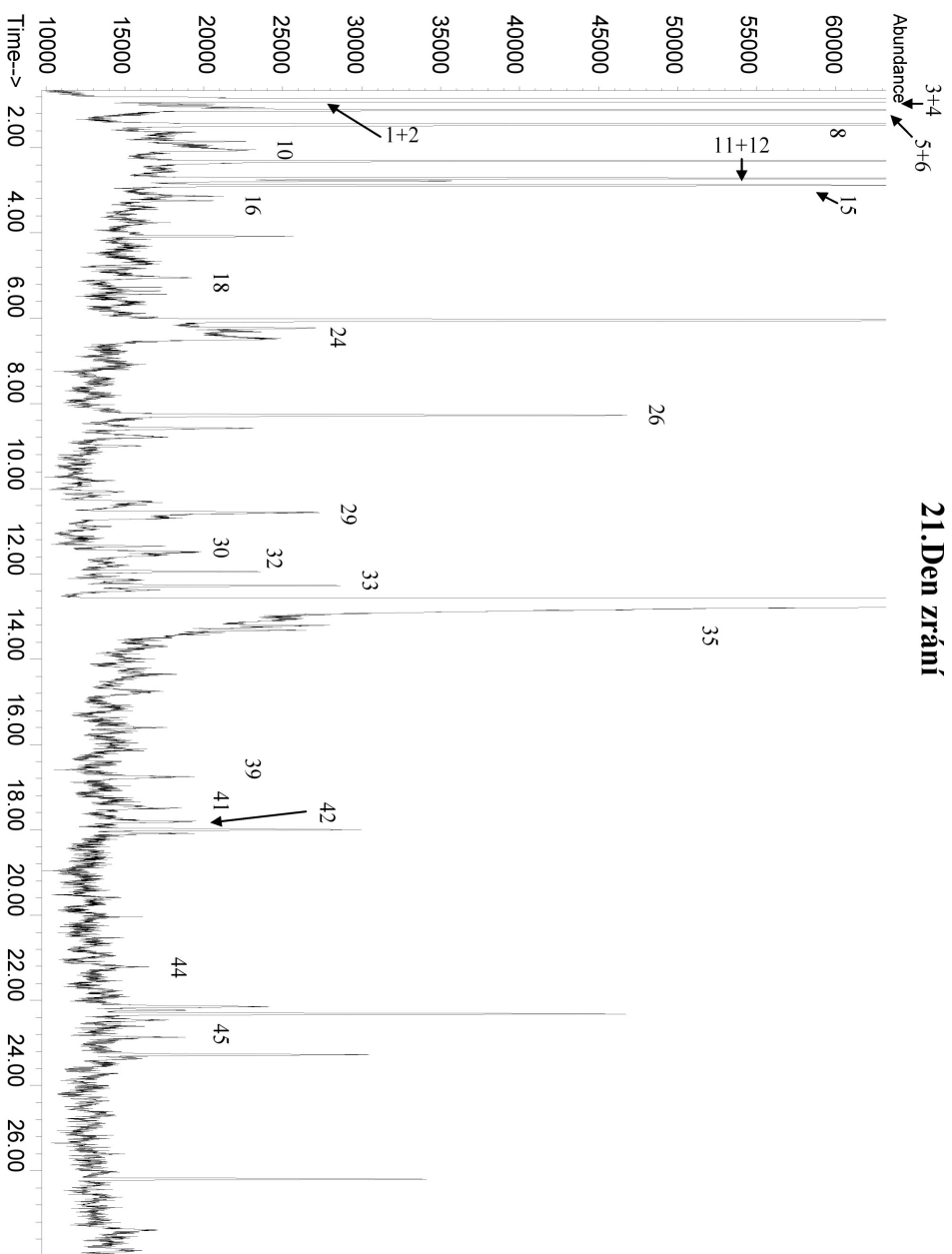


Abundance 3

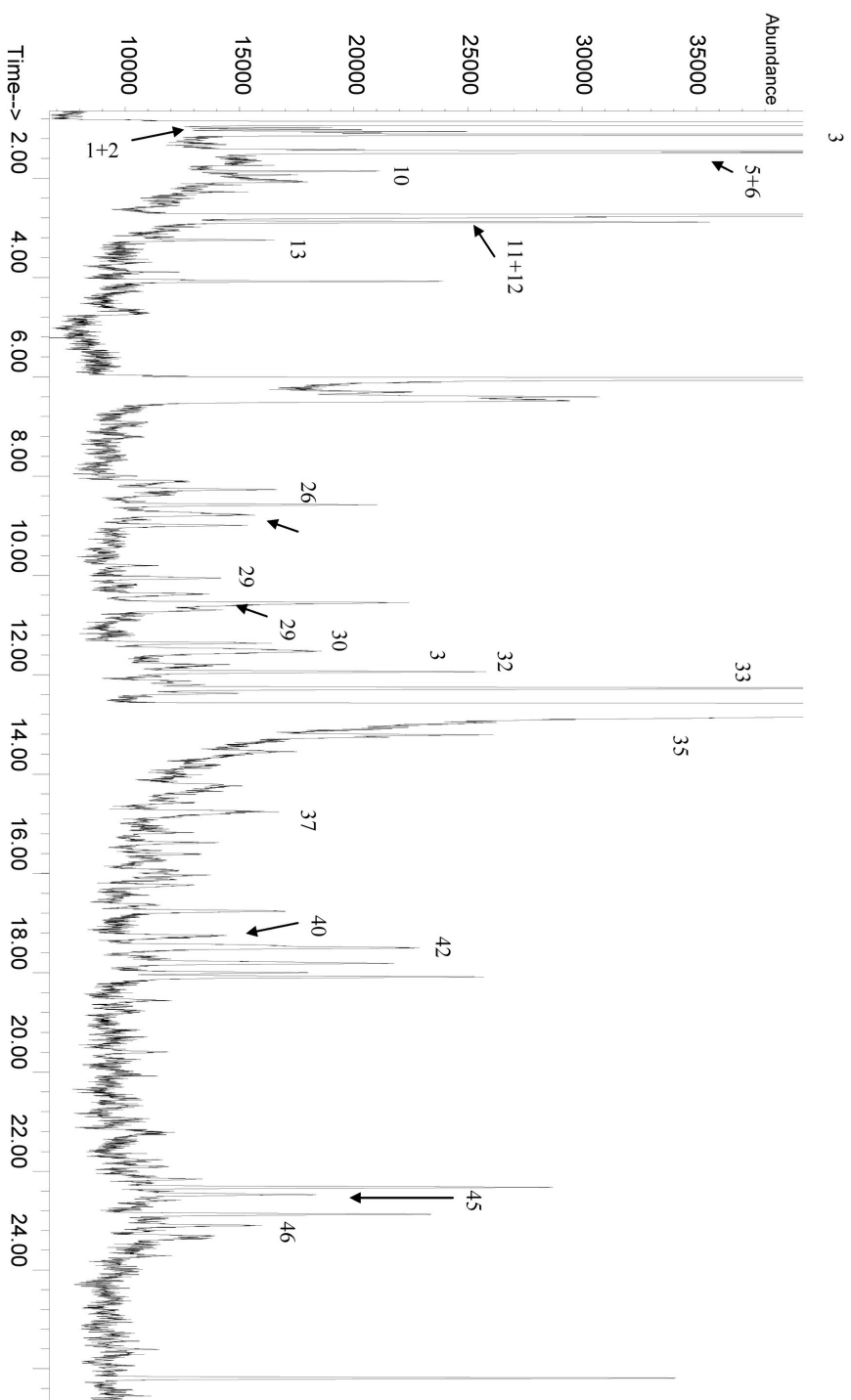
14. Den zřítí

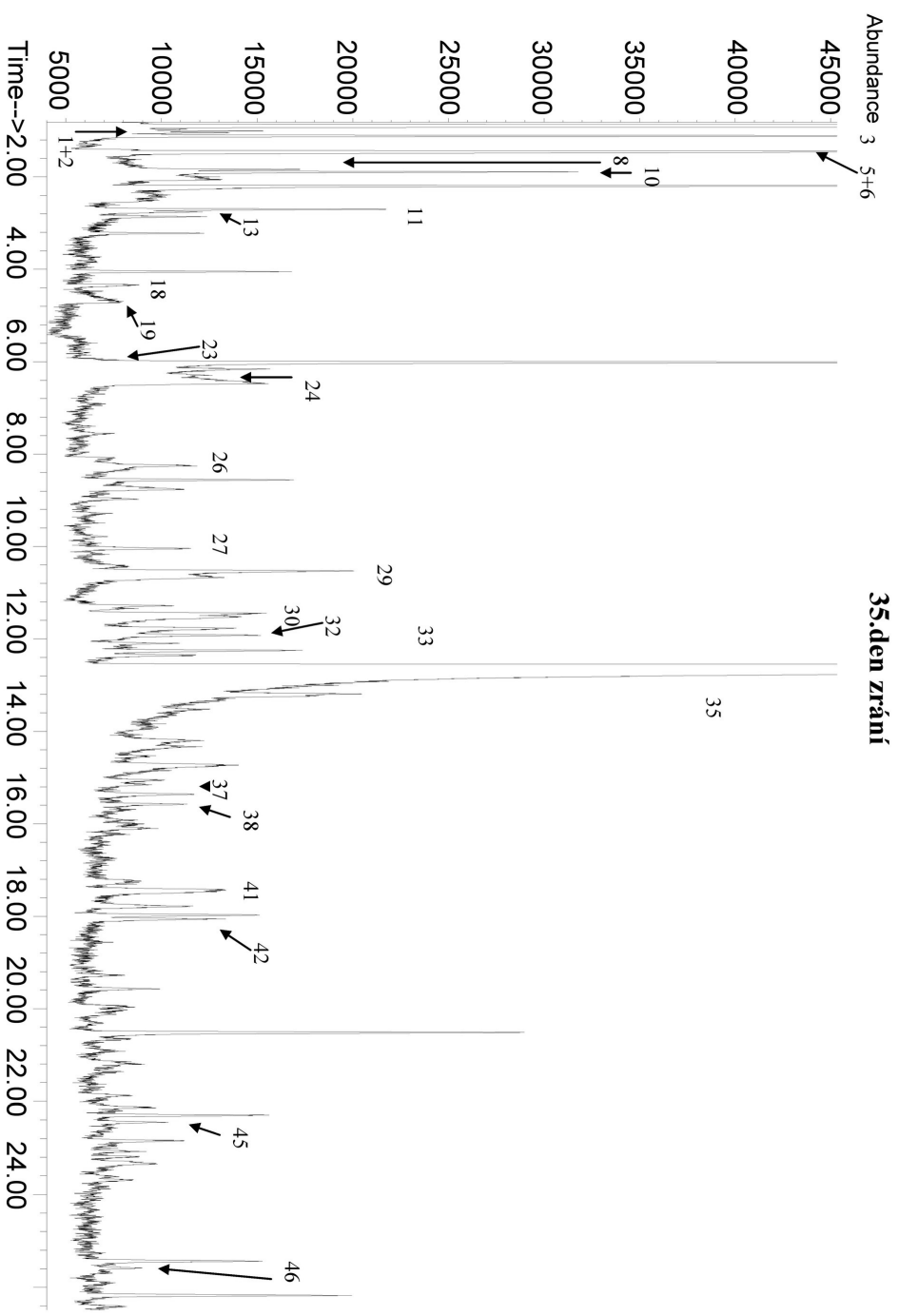


21. Den zrání



28. Den zrání





42. Den zrání

