

Vliv kombinace kozího a kravského mléka na vlastnosti sýra

Bc. Zuzana Charousová

Diplomová práce
2016

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Zuzana Charousová**

Osobní číslo: **T130228**

Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie potravin**

Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv kombinace kozího a kravského mléka na vlastnosti sýra**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte chemické složení a vlastnosti kozího a kravského mléka.
2. Stručně popište skupiny sýrů tradičně vyráběných z kozího mléka.
3. Charakterizujte zrání sýrů.

II. Praktická část

1. Založte skladovací pokus modelových vzorků sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou vyrobených z různých poměrů kozího a kravského mléka.
2. Porovnejte vlastnosti modelových sýrů v průběhu zrání.
3. Vyhodnoťte výsledky, diskutujte je s literaturou a vyvodte závěry.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., COGAN, T.M. GUINEE, T.P. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 General Aspects. 3rd edition. London: Elsevier Academia Press. 2004. ISBN0-1226-3652-X

[2] ROGINSKI, H., FUQUAY, J., FOX, P. F. Encyclopedia of Dairy Science. London: Academic Press. 2003. ISBN 0-12-227235-8.

[3] GRIFFITHS, M. W. Improving the safety and quality of milk Volume2: Improving quality in milk products. Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. 2010. ISBN 978-1-84569-943-7.

[4] WILLIAMS, C., BUTTRISS, J. improving the at content of foods. Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. 2006. ISBN 978-1-84569-107-3.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

20. ledna 2016

Termín odevzdání diplomové práce:

29. dubna 2016

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Jirí Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: *Charousova Zuzana*

Obor: *Technologie potravin*

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 *29.4.2016*

Zuzana Charousova

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 nevydělečně 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). Odpirá-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 přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na studium vlivu kombinací kozího a kravského mléka na vlastnosti sýrů holandského typu během zrání. Bylo vyrobeno a sledováno 5 skupin sýrů s různou kombinací mléka kozího a kravského v procentuálním poměru (kozí : kravské) 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100. V různých stupních zralosti byly sledovány vybrané parametry: základní chemická analýza (obsah sušiny, hodnota pH a obsah soli), texturní profilová analýza, proteinový profil, obsah volných aminokyselin (FAA) a dále organoleptické vlastnosti. Nejvýznamnější rozdíly mezi vzorky byly zaznamenány v intenzitě proteolýzy. V sýrech s obsahem kozího mléka se proteolýza projevovala intenzivněji než ve vzorku z čistě kravského mléka, což mělo dále vliv i na organoleptické vlastnosti.

Klíčová slova: kozí mléko, proteolýza, texturní vlastnosti

ABSTRACT

The thesis focuses on research of goat milk and cow milk combination during ripening of Dutch-type cheeses. During the experiment, Dutch-type cheeses' model samples with different combination of goat and cow milk were produced and analyzed. Five combinations of milk were observed (goat milk : cow milk proportion 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100). These samples were taken and analyzed during different phases of ripening. Analysis is focused on following parameters: elementary chemical analysis (dry matter content, pH range, salt content), texture profile properties, protein profile, FAA content and organoleptic properties. The most significant sample differences were identified in proteolysis intensity. Compared with entirely cow milk samples, more intensive proteolysis rate was proved in combined goat and chat milk samples. These results influenced organoleptic properties of produced cheeses.

Keywords: goat milk, proteolysis, texture properties

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí práce doc. Ing. Vendule Pachlové, Ph.D. za ochotu, trpělivost, odborné vedení, cenné rady a připomínky při zpracování mé diplomové práce.

Dále chci poděkovat Ing. et Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc při práci na praktické části diplomové práce.

V neposlední řadě patří velký dík také mé rodině a příteli, kteří mi v průběhu celého studia projevovali podporu.

Motto:

„Nenič si radost z toho, co máš, smutněním po tom, co stále nemáš. Uvědom si, že to, co máš, jednou bývalo tím, v co jsi jen doufal.“

Epikuros, starořecký filozof (341–270 př. n. l.)

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A VLASTNOSTI KOZÍHO MLÉKA	12
1.1 BÍLKOVINY KOZÍHO MLÉKA.....	13
1.1.1 Kasein.....	14
1.1.2 Syrovátkové bílkoviny.....	17
1.2 TUK KOZÍHO MLÉKA.....	18
1.3 DALŠÍ SLOŽKY KOZÍHO MLÉKA.....	20
2 SÝRY TRADIČNĚ VYRÁBĚNÉ Z KOZÍHO MLÉKA	23
2.1 FRANCOUZSKÉ KOZÍ SÝRY.....	23
2.2 ŘECKÉ KOZÍ SÝRY.....	26
2.3 ŠPANĚLSKÉ KOZÍ SÝRY.....	26
3 ZRÁNÍ SÝRŮ	27
3.1 ZMĚNY MLÉČNÉHO CUKRU.....	27
3.2 PROTEOLÝZA.....	28
3.2.1 Biogenní aminy.....	29
3.3 LIPOLÝZA.....	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
4 CÍL PRÁCE	33
5 MATERIÁL A METODIKA	34
5.1 VÝROBA MODELOVÝCH VZORKŮ.....	35
5.2 ODBĚR VZORKŮ.....	37
5.3 ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA.....	38
5.3.1 Stanovení obsahu sušiny.....	38
5.3.2 Stanovení pH.....	39
5.3.3 Stanovení obsahu soli.....	39
5.4 TEXTURNÍ PROFILOVÁ ANALÝZA.....	40
5.5 SENZORICKÁ ANALÝZA.....	42
5.6 STANOVENÍ PROTEINOVÉHO PROFILU POMOCÍ SDS-PAGE.....	42
5.7 EXTRAKCE A STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN.....	47
6 VÝSLEDKY	49
6.1 ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA.....	49
6.1.1 Obsah sušiny.....	49
6.1.2 Hodnoty pH.....	50
6.1.3 Obsah soli.....	51
6.2 TEXTURNÍ PROFILOVÁ ANALÝZA.....	52
6.2.1 Pevnost.....	52
6.2.2 Soudržnost.....	53
6.2.3 Lepivost.....	54

6.3	SENZORICKÁ ANALÝZA	55
6.4	PROTEINOVÝ PROFIL	57
6.4.1	Odběr po prokysání	57
6.4.2	Odběr po 14 dnech zrání	58
6.4.3	Odběr po 28 dnech zrání	60
6.4.4	Odběr po 56 dnech zrání	62
6.4.5	Odběr po 84 dnech zrání	64
6.5	ANALÝZA VOLNÝCH AMINOKYSELIN.....	66
7	SOUHRNNÁ DISKUSE.....	68
8	ZÁVĚR.....	71
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	73
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	78
	SEZNAM OBRÁZKŮ	79
	SEZNAM TABULEK.....	80
	SEZNAM PŘÍLOH.....	81

ÚVOD

Kozí mléko a výrobky z něj si svým charakteristickým a nezaměnitelným aroma a specifickou chutí získávají stále větší počet příznivců z řad gurmánů. Stále častěji se ovšem setkáváme s oblibou i u běžných konzumentů, kteří ocení především řadu zdravotních benefitů, kterou konzumace této nutričně velmi bohaté potraviny skýtá.

Kozí mléko se svým složením v mnohém podobá mléku kravskému, má ovšem svá specifika. Mnohé studie prokázaly příznivý vliv na imunitní a nervový systém člověka, zlepšení stavu ekzematické pokožky, zmírnění projevů alergií a astmatu, zlepšení potíží s trávicím systémem a dokonce se považuje za účinnou prevenci proti rakovině. [1]

Jelikož je kozí mléko dražší surovinou než mléko kravské, lze ve většině případů hovořit o exkluzivních a velmi kvalitních výrobcích, které si i přes svou vyšší cenu, stále více razí cestu na trhu. Tento důvod ovšem může mít za následek i falšování kozích sýrů, kdy nepositivní výrobci mohou za účelem snížení nákladů mísit kozí mléko s mlékem jiného živočišného druhu v určitém poměru, který nemusí být běžným konzumentem ve finálním výrobku rozpoznatelný. Cílem práce bylo popsat vliv kombinace kozího a kravského mléka na vlastnosti sýrů během zrání.

Holandské sýry jsou sýry polotvrdé či tvrdé s nízkodohřívanou sýřeninou nejčastěji vyráběné z kravského mléka. Můžeme se ovšem v menším měřítku setkat i se sýry tohoto typu vyrobenými z mléka kozího. Nejznámějšími typy holandských sýrů jsou Eidam a Gouda.

Cílem práce bylo popsat vliv kombinace kozího a kravského mléka na vlastnosti sýrů během zrání. Kravské mléko jako surovina pro výrobu bylo v této práci zvoleno jako standard ke srovnání s mlékem kozím, které není při výrobě těchto sýrů tolik typické. Byly použity i směsné kombinace těchto druhů mlék ke stanovení rozdílů v biochemických, texturních a organoleptických vlastnostech v průběhu zrání.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A VLASTNOSTI KOZÍHO MLÉKA

Kozí mléko je sekretem mléčné žlázy přežvýkavce rodu *Capra* (koza). Tato kapitola se zabývá především mlékem druhu *Capra aegagrus hircus* (koza domácí), která se vyvinula z předchůdce domestikovaných plemen - kozy bezoárové (*Capra aegagrus*). [1] K domestikaci došlo před 11 tisíci lety v dnešním východním Turecku a Íránu. Ze všech domácích zvířat byla koza osadníky z Blízkého východu nejrychleji rozšířena do okolních oblastí, zřejmě jako mobilní zásobárna potravy na cestách. Pro svou nenáročnost a mnohostranný užitek je často nazývána „krávou chudých“. [2] Archeologické nálezy dokazující chov ovcí a koz poblíž lidských sídel pocházejí již z období osídlování našeho území neolitickými zemědělci – tj. přibližně od poloviny 5. tisíciletí př. n. l. [3] Dnes již obývá všechny kontinenty a dobře se jí daří na pestré škále biotopů od vysokohorských oblastí až po pouště a tropické pralesy. [4]

Kozí mléko řadíme stejně jako mléko všech přežvýkavců mezi mléka kaseinová. Kaseinová mléka obsahují minimálně 75 % kaseinových bílkovin z celkového množství čistých bílkovin. Vedle mlék kaseinových rozlišujeme ještě mléka albuminová, která však mají z technologického hlediska minimální význam. [5]

Složení kozího mléka kolísá v poměrně širokých mezích. Je ovlivněno mnoha faktory, především hraje významnou roli plemeno, stadium laktace, věk, výživa, způsob chovu, životní prostředí, způsob dojení, podmínky skladování a další. [6]

Hlavní složky mléka jsou voda, proteiny, mléčný tuk, lipoproteiny, sacharidy, volné aminokyseliny, minerální látky, vitaminy. Tyto složky jsou obsaženy v mléku všech savců, ale v rozdílných koncentracích.

Pro srovnání je seznam základních složek kozího, kravského a mateřského mléka uveden v Tabulce 1.

Tab. 1: Srovnání základních složek v kozím, kravském a mateřském mléce (uvedeno v hm. %) [7]

Složka [hm. %]	Kozí	Kravské	Mateřské
Voda	87,5	87,3	87,6
Tuk	3,5 – 3,9	3,5 - 3,9	4,0 – 4,2
Tukuprostá sušina	8,9 – 10,6	9,0 – 9,5	8,9 – 10,0
Laktóza	4,1 - 4,3	4,5 - 4,7	6,8 – 7,0
Celkové bílkoviny	2,9 - 3,4	3,2 – 3,4	1,1 - 1,2
Kasein	2,4 – 3,0	2,6 – 3,1	0,3 - 0,4
Albumin, globulin	0,5 - 0,6	0,6 – 0,7	0,3 - 0,7
Dusíkaté látky nebílkovinné	0,4 - 0,5	0,2 – 0,5	0,2 - 0,5
Popeloviny	0,8 - 1,0	0,6 - 0,7	0,2 - 0,3
Energetická hodnota (kJ/100 ml)	293,1 – 322,4	288,9 – 305,6	280,0–285,0

1.1 Bílkoviny kozího mléka

Bílkoviny v kozím mléce jsou zastoupeny v přibližně stejném množství jako v mléce kravském. Liší se však od mléka kravského poměrnou skladbou bílkovin. Hlavní syrovátkové bílkoviny kozího mléka jsou α -laktalbumin a β -laktoglobulin, z kaseinových bílkovin potom α_{S1} -kasein, který je ovšem zastoupen v menším množství než v mléce kravském, dále κ -kasein, β -kasein. Právě α_{S1} -kasein má v mléce zvláštní význam při výrobě sýrů. Ovlivňuje reakci na syřidlo a tepelné změny při výrobě. Dostatek α_{S1} -kaseinu se projevuje tužší konzistencí sýrů. [1]

Obsah jednotlivých bílkovinných frakcí v kravském a kozím mléce je pro srovnání uveden v Tabulce 2.

Tab. 2: Obsah proteinů v kravském a kozím mléce (g/l) [8]

	Kravské mléko	Kozí mléko
Celkové proteiny	32-34	28-32
Kasein	26-37	22-28
• α_{S1} -kasein	11-15	10
• α_{S2} -kasein	3-4	3
• β -kasein	9-11	11
• κ -kasein	2-4	4
Syrovátkové bílkoviny	5,8-6,5	5,5-6,5
• α -laktoalbumin	0,6 – 1,5	1,2
• β -laktoglobulin	3-4	3,1
• Sérum albumin	0,4	0,5
• Laktoferin	0,1	0,02-0,2
• Imunoglobuliny	1	1

1.1.1 Kasein

Samotné mléko je výrazně chudší na bílkoviny než mléčné výrobky jako jsou např. sýry. To je dáno především vysokým podílem vody v mléce. Vysoký obsah bílkovin v sýrech je způsoben hlavní složkou tvořící sýřeninu – kaseinem. [9] Kasein tvoří základ sýrů a tvarohů, u zrajících sýrů je pak enzymaticky rozkládán na jednodušší produkty.[12]

Frakce kaseinu jsou syntetizovány v ribozomech endoplazmatického retikula buněk mléčné žlázy a transportovány do Golgiho aparátu, kde jsou fosforylovány (fosfor je vázán hlavně esterickou vazbou přes hydroxylovou skupinu serinu a threoninu). [9]

Kasein se v mléce shlukuje do tzv. micel, jejichž velikost závisí na obsahu dalších látek, hlavně vápníku a fosforu. Pro tvorbu sýřeniny je ideální obsah nad 120 mg vápníku/100g sušiny. Dle Mátlová a Sztankóová [10] se obsah vápníku pohyboval v kozím mléce od 89,1 do 160,5 mg /100 g s průměrem 117,3 mg /100 g.

Kaseinové bílkoviny jsou v mléce přítomny téměř z 95 % ve formě kaseinových micel. Micela je koloidní částice, obsahuje obvykle kolem 94 % proteinů a 6 % nízkomolekulárních látek (zejména koloidní fosforečnan vápenatý, citronany a některé další ionty). Kaseinovou micelu je možno charakterizovat jako elipsoidní částici. Její kaseinové frakce srážející se za přítomnosti vápenatých iontů (α_{S1} -kasein, β -kasein, α_{S2} -kasein) jsou vázány ve vnitřní části micel a jsou zde stabilizovány koloidním fosforečnanem vápenatým a hydrofobními interakcemi, dalšími interakcemi přispívajícími k integritě kaseinové micely jsou pravděpodobně vodíkové a disulfidické můstky. Na povrchu kaseinové micely se nachází především κ -kasein tvořící svým hydrofilním segmentem (obsahujícím sacharidickou složku) na povrchu micely vlající tzv. vláskovou strukturu. Tato struktura micelu stabilizuje a chrání před jejím vysrážením. Stabilizační vrstva však může být porušena působením syřidla, slehnutím hydratačního obalu působením např. etanolu a také změnou pH k izoelektrickému bodu kaseinu (pH 4,6). Při porušení stabilizační vrstvy dochází k destabilizaci kaseinových micel a často k jejich koagulaci. [5]

V mléce jsou přítomny tyto kaseinové frakce: α_{S1} -kasein, α_{S2} -kasein, β -kasein, κ -kasein. V kozím mléce je na rozdíl od mléka kravského nižší obsah frakce α_{S1} -kasein, která je zodpovědná za pevnost syřeniny. [10] Na druhé straně pak kozí mléko obsahuje více κ -kaseinu a β -kaseinu, kdy β -kasein je zde hlavním kaseinem. Tyto rozdíly mohou být ovšem do jisté míry ovlivněny šlechtěním a genetickým polymorfismem. [9] Kozí mléko se z důvodu rozdílnosti ve složení kaseinových frakcí sráží rychleji než mléko kravské, ale zato tvoří méně pevnou a jemnější syřeninu. Jemnější, šupinkovitý koagulát podléhá v trávicím traktu rychlejší enzymové hydrolýze, což způsobuje lepší stravitelnost výrobků z kozího mléka. [36]

Na obsahu kaseinu je závislá výtěžnost mléka, coby ekonomicky významný ukazatel kvality, udávaný v sýrových jednotkách (množství sýra vyrobeného z 1 kg mléka). [10] Dále má na výtěžnost vliv i obsah mléčného tuku, což má ovšem nepříznivý vliv na obsah bílkovin a tím se snižuje koagulační schopnost mléka. [36,37] Pokles obsahu bílkovin v mléce o 1 % zvyšuje spotřebu mléka při výrobě sýra o 0,3 - 0,5 litru. [38] Výrazný je u druhových mlék rozdíl v obsahu kaseinu v micelách a v „rozpuštěné“ formě. Se snižující se teplotou mléka se zmenšuje velikost kaseinových micel a tím i jejich schopnost srážet se syřidlem a zůstávají v mléce v „rozpuštěné formě“. Při 20 °C je podíl rozpustné formy kaseinu u kozího mléka kolem 10 %, zatímco u kravského mléka 1 %. Při teplotě skladování 5 °C je uváděn podíl rozpustného kaseinu u kozího mléka 25 %, zatímco u kravského pouze 10 %.

Vzhledem ke značnému podílu rozpustného kaseinu přechází velké množství bílkovin do syrovátky a výtěžnost se zhoršuje. [36,39] Průměrná výtěžnost sýrů z kozího mléka v průběhu laktace byla dle Konečná [44] 18 % (tedy z 1 kg mléka bylo vyrobeno 180 g sýra).

Polymorfizmem se v genetice rozumí existence více variant (alel) určitého genu. Kozí mléko představuje z pohledu genetiky rozsáhlý komplex těchto variant a to především v kaseinových frakcích. Zkoumání genetického polymorfizmu kaseinových genů (α_{S1} -kasein, β -kasein, α_{S2} -kasein a κ -kasein) má zvyšující se tendenci právě u koz, protože polymorfismus mléčných kaseinů je ve spojitosti nejen s kvantitativní, ale i kvalitativní variabilitou (obsahová složka, koagulační vlastnosti mléka, výtěžnost sýra a jeho stabilita, velikost a mineralizace micel). [10] Polymorfismus na lokusu α_{S2} -kaseinu ovlivňuje hladinu syntézy kaseinu. Genotyp α_{S1} -kaseinu ovlivňuje obsah celkových proteinů, celkových kaseinů a tuku a má přímý vliv na jeho vlastnosti při technologickém zpracování mléka. Alela pro kozí β -kasein má minimální vliv na obsah kaseinu. Genotyp kaseinu ovlivňuje strukturu sýrů a fermentovaných mléčných výrobků. [11]

- **α_{S1} -kasein**

α_{S1} -kasein je zodpovědný za velkou individuální variabilitu obsahu kaseinu v mléce. Významně ovlivňuje koagulační vlastnosti mléka, výtěžnost sýra, sensorické a technologické vlastnosti (formování micel, které určují kvalitu sraženiny). V současnosti je pro tento lokus popsáno 17 variant (alel), které se od sebe liší rozdílným stupněm syntézy proteinu. Dle obsahu α_{S1} -kaseinu v mléce jsou genetické varianty α_{S1} -kaseinu klasifikovány do čtyř skupin:

silné alely: A, B1, B2, B3, B4, C, H, L, M, (syntéza 3,5 – 4,2 g proteinu/ litr mléka)

střední alely: E, I (1,4 – 1,7 g proteinu/ litr mléka)

slabé alely: D, F, G (0,4 – 0,6 g proteinu/ litr mléka)

nulové alely: 01, 02, N (absence α_{S1} -kaseinu).

Typ mléka A (silné alely) má vyšší obsah kaseinů (g/kg), tuků, celkové sušiny a proteinu, ale má menší velikost micel, a obsah vápníku je nižší v porovnání s mlékem typu F (slabé alely). U mléka typu F se setkáváme s většími micelami než u varianty A, B a E. Má lepší tepelnou stabilitu, ale vyšší náchylnost k lipolýze (štěpení tuků) než mléko typu A, takže rychleji žlukne, to má negativní vliv při dlouhodobé manipulaci (uskladnění) mléka.

Zvláštěností kaseinové frakce je, že při snižování množství α_{S1} -kaseinu v mléce, se zvyšuje relativní množství β , κ a α_{S2} kaseinů, zároveň i průměr micel je větší.

- **α_{S2} -kasein**

V současnosti je pro tento lokus definováno 8 genetických variant: A, B, C, D, E, F, G, 0, které jsou spojeny s rozdílným obsahem α_{S2} -kaseinu v mléce. Varianty A, B, C, E, F a G se vyznačují normálním obsahem kaseinu v mléce, varianta D se vyznačuje sníženým obsahem a varianta nula (0) se vyznačuje absencí α_{S2} -kaseinu. Efekt jednotlivých variant tohoto lokusu a jeho funkce doposud nebyl jednoznačně popsán, je předpoklad, že spolu s ostatními kaseinovými frakcemi se podílí na sensorických a technologických vlastnostech mléka.

- **β -kasein**

V kozím mléce má β -kasein nejvyšší zastoupení, přibližně 50 % z celkového obsahu kaseinu, což představuje okolo 10 g/l. V současnosti je tento lokus definovaný 8 genetickými variantami, které jsou rozděleny do dvou úrovní podle kaseinového obsahu. Varianty: A, A1, B, C, D, E se vyznačují normálním obsahem, nulové varianty: 0, 0' se vyznačují úplnou absencí β -kaseinu v mléce. Nízký obsah je spojen se zmenšováním velikosti micel, prodloužením času srážení a nestabilní pevností sraženiny.

- **κ -kasein**

Určuje nutriční vlastnosti mléka (stravitelnost mléčné bílkoviny) a formování a stabilizaci micel, čímž ovlivňuje jeho technologické vlastnosti, výtěžnost a organoleptickou kvalitu. Současný výzkum popisuje 21 variant, z nich 16 (alely D, E, K a M s podobným izoelektrickým bodem IP = 5,66 a alely A, B, C, X, Y, C', F, G, H, I, J, L, B' a B'' s IP = 5,29) je popsáno u evropských plemen, a nové varianty N, O, P, Q a R nalezené v r. 2009 u indického plemene Jakhrana. [10]

1.1.2 Syrovátkové bílkoviny

Syrovátkové (sérové) proteiny jsou globulární, hydrofóbní proteiny, jejichž disulfidické vazby umožňují vytvářet řetězce charakteristického, kompaktního a sférického tvaru. Porušením disulfidických vazeb dochází ke změně struktury a k denaturaci proteinů. Denaturovaný protein je schopný vázat větší množství vody a tím pozitivně ovlivňuje strukturu a funkční vlastnosti některých potravinářských výrobků.

Základní vlastnosti sérových bílkovin jsou tyto: nesráží se působením syřidla, zůstávají rozpustné při pH 4,6 a jsou rozpustné v nasycených roztocích chloridu sodného.

Hlavními syrovátkovými proteiny jsou α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin a imunoglobuliny.

V polymorfismu α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu byly u kozího mléka identifikovány dvě varianty každého proteinu. [5,11]

Množství jednotlivých sérových bílkovin v kozím i kravském mléce je uvedeno v Tabulce 2.

1.2 Tuk kozího mléka

Lipidy jsou nejdůležitější složky mléka z hlediska ceny, výživových, fyzikálních a senzorních vlastností, které dodávají mléčným výrobkům. Triacylglyceroly (TAG) tvoří největší skupinu (téměř 98 %), včetně velkého množství esterifikovaných mastných kyselin. Složení TAG je velmi složité. Spolu s TAG obsahuje kozí mléko další jednoduché lipidy (diacylglyceroly, monoacylglyceroly, estery cholesterolu), složité lipidy (fosfolipidy) a sloučeniny rozpustné v tucích (steroly, estery cholesterolu, uhlovodíky). [16]

Tuk se v kozím mléce vyskytuje stejně jako v mléce všech ostatních druhů ve formě tukových kuliček. Kozí mléko v porovnání s kravským mlékem obsahuje tukové kuličky menších rozměrů (2,7 μm) a ve větším množství. Tím je tuk kozího mléka lépe stravitelný a účinnější v metabolismu tuků. Složení proteinové a fosfolipidové membrány tukové kuličky je podobné jako u mléka kravského. [11] V kozím mléce je absence aglutininu, který je u mléka kravského zodpovědný za shlukování tukových kuliček, proto po ochlazení a stání kozího mléka k agregaci tukových kuliček nedochází. [1]

Kozí mléko vykazuje oproti kravskému mléku významné rozdíly ve složení tukové frakce. Obsahuje vyšší koncentrace volných mastných kyselin, které jsou produkty hydrolýzy a v závislosti na typu a koncentraci jsou zodpovědné za charakteristickou vůni a chuť kozího mléka. Mimo volných mastných kyselin se charakteristická vůně a chuť přisuzují i relativně vyššímu obsahu mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem. Jsou to především kyseliny máselná, kaprinová, kaprylová, kapronová, laurová, myristová, palmitová, olejová, linolenová, arachidonová. [11] Kyseliny kaprinová, kaprylová a kapronová, jejichž název vychází z latinského pojmenování pro kozu, mají právě v kozím mléce dominantní zastoupení. V porovnání s kravským obsahuje kozí mléko větší množství nenasyce-

ných mastných kyselin linolové a linolenové, které podporují imunitní systém. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které dodávají kozímu mléku specifickou chuť, způsobují také lehčí stravitelnost tuku. Lepší stravitelnosti je zde dosaženo tím, že lipázy snáze štěpí esterové vazby mastných kyselin s kratším řetězcem než u mastných kyselin s delším řetězcem. [15, 44] Významné bioaktivní vlastnosti ve výživě lidí zabezpečuje vysoký obsah triacylglycerolů s krátkými a středně dlouhými řetězci nasycených mastných kyselin (C 4:0 – C 12:0). Obsah mastných kyselin s krátkými řetězci je v kozím mléce 15 – 18 % oproti 5 – 9 % v mléce kravském. [11] Celkový obsah tuku a obsah jednotlivých mastných kyselin v kozím, kravském a mateřském mléce dokumentuje Tabulka 3.

Tab. 3: Obsah tuku a vybraných mastných kyselin v kozím, kravském a mateřském mléce. Jednotlivé mastné kyseliny jsou vyjádřeny jako % ze všech mastných kyselin. [17]

	Kozí	Kravské	Mateřské
Tuk [hm. %]	3,5 – 3,9	3,5 – 3,9	3,8 - 4,0
Kyselina máselná	2,1 – 3,0	8,0 – 11,0	4,0 – 8,0
Kyselina kapronová	2,2 - 2,5	1,0 – 5,0	1,0 – 4,0
Kyselina kaprylová	2,5 - 2,8	1,0 – 3,0	2,0 – 4,0
Kyselina kaprinová	9,6 – 10,6	2,0 – 5,0	2,0 – 6,0
Kyselina laurová	4,8 – 6,0	3,0 – 6,0	4,0 – 9,0
Kyselina myristová	9,2 - 12,3	9,0 – 14,0	8,0 -14,0
Kyselina palmitová	25,6 - 31,3	20,0 – 32,0	18,0 – 35,0
Kyselina palmitoolejová	1,3 - 2,6	0,9 – 1,8	0,5 – 0,7
Kyselina stearová	6,0 – 10,7	8,0 – 14,0	7,0 – 15,0
Kyselina olejová	18,2 - 21,4	17,0 – 26,0	18,0 – 28,0
Kyselina linolová	2,7 - 3,6	0,3 – 2,2	2,0 – 5,2
Kyselina α-linolenová	0,4 – 0,5	0,1 – 0,8	0,1 – 1,1

1.3 Další složky kozího mléka

Sacharidy

Základním sacharidem kozího mléka je disacharid laktóza. Laktóza se syntetizuje přímo v mléčné žláze savců z glukózy a galaktózy. Při syntéze laktózy je spotřebováno až 70 % glukózy cirkulující v krvi dojnice. Obsah laktózy ve sladkém mléce je vyšší oproti výrobkům připraveným homofermentativním mléčným kvašením (1 % a méně). Proto jsou tyto výrobky ve výživě dobře snášeny i osobami s deficiencí enzymu laktázy, který je zodpovědný za štěpení laktózy na příslušné monosacharidy v tenkém střevě. Velká část populace tento enzym produkuje pouze v dětském věku a v dospělosti má u řady jedinců sníženou aktivitu či zcela chybí a konzumace sladkého mléka se stává problematickou. Většina takto postižených osob dobře snáší příjem kysaných mléčných výrobků a nemusí se proto mléka ve výživě vzdát úplně. Dalšími minoritními sacharidy mléka jsou oligosacharidy, glykoproteiny, glykopeptidy a sacharidy nukleotidů. [5,11,14]

Některé oligosacharidy mají probiotické a prebiotické účinky a tím podporují růst bifidogenní mikroflóry, čímž ochraňují sliznici střeva před patogenními procesy. Dále mohou hrát důležitou roli při vývoji mozku novorozenců. [14,22]

Minerální látky

Obsah minerálních látek se mění v závislosti na stádiu laktace, na výživě a také je ovlivněn genetickou variabilitou. Kozí mléko je v porovnání s kravským bohatší na vápník, fosfor, draslík, hořčík a chloridy, oproti tomu obsahuje menší množství sodíku, jodu a mědi. V koloidní fázi se vyskytuje 30 - 35 % vápníku a fosforu (ve formě koloidního fosforečnanu vápenatého). Hořčík se nachází z více jak 50 % v rozpustné fázi. Koncentrace zinku je závislá na výživě. [11] Zastoupení minerálních látek v kozím, kravském a mateřském mléce je uvedeno v Tabulce 4.

Tab. 4: Obvyklé zastoupení minerálních látek v syrovém mléce - vyjádřeno v mg.l^{-1} [18]

Prvky nebo ionty (mg/l)	Kozí	Kravské	Mateřské
Vápník	1589	1216	307
Železo	0,8	0,7	1,2
Sodík	380	610	170
Hořčík	130	100	40
Fosfor	1290	920	160
Chloridy	1500	1180	430
Draslík	1770	1440	550
Zinek	3,3	4,8	
Jód	–	0,54	0,06

Vitaminy

Kozí mléko obsahuje vyšší množství vitamínu A, niacinu (B_3), thiaminu (B_1), riboflavinu (B_2) a kyseliny pantotenové (B_5). Nízký obsah vitaminů C, D, kobalaminu (B_{12}), pyridoxinu (B_6) a kyseliny listové (B_9). V deficitu vitamínu C a D se shoduje s mlékem kravským a pro výživu kojenců je nutné je fortifikovat. Kozí mléko neobsahuje provitamin vitamínu A – β -karoten, který je zcela přeměněn na retinol. Kozí mléko i výrobky z něj proto mají čistě bílou barvu. [1,11] Obsah jednotlivých vitaminů v kozím, kravském a mateřském mléce je uveden v Tabulce 5.

Tab. 5: Obsah vitaminů v kozím, kravském a mateřském mléce (ve 100g mléka) [19, 20, 21]

Vitaminy rozpustné v tucích	Kozí	Kravské	Mateřské
A (mg)	0,04	0,04	0,06
D (mg)	0,06	0,08	0,06
E (mg)	0,04	0,11	0,23
Vitaminy rozpustné ve vodě			
B₁ (mg)	0,05	0,04	0,02
B₂ (mg)	0,14	0,17	0,03
B₃ (mg)	0,20	0,09	0,16
B₅ (mg)	0,31	0,34	0,18
B₆ (mg)	0,05	0,04	0,01
B₈ (μg)	2,0	2,0	0,7
B₉ (μg)	1,0	5,3	5,2
B₁₂ (μg)	0,06	0,35	0,04
C (mg)	1,3	1,0	4,0

2 SÝRY TRADIČNĚ VYRÁBĚNÉ Z KOZÍHO MLÉKA

Sýry z kozího mléka se těší obrovské oblibě konzumentů na celém světě. Pro svou výraznou chuť a typické aroma jsou vyhledávanou lahůdkou gurmánů. V této kapitole jsou představeny sýry tradičně vyráběné v zemích Evropy. Mezi největší producenty kozích sýrů patří Francie, Řecko a Španělsko.

2.1 Francouzské kozí sýry

Francie produkuje více než 50 druhů kozích sýrů. V roce 2001 byla produkce kozího mléka 460 000 tun. V roce 2009 to bylo již 623 000 t se stoupající produkcí a klesajícím stavem kusů bez tržní produkce mléka. Objem produkce sýrů se pohybuje okolo 75 000 tun za rok, z toho je cca. 23 % vyráběno na farmách.

Většina francouzských kozích sýrů jsou měkké varianty, při jejichž výrobě převažuje srážení kyselinou mléčnou produkovanou startérovými mikroorganismy s nízkými přídávky syřidla a koagulací při 18-24°C/ 16-48 hodin. [47]

Mnoho sýrů je s označením chráněného původu. Zákon o ochraně původu byl poprvé ustanoven roku 1919. Dnes prosazuje dodržování směrnic zvláštní odbor francouzského ministerstva zemědělství, Institut National des Appellations d'Origine (INAO). Označení AOC čili Appellation d'Origine Côtrolée zaručuje, že prvotřídní produkt byl vyroben v určité oblasti Francie v souladu se stanoveným výrobním postupem. Pro sýraře toto přísné označení znamená, že jsou jejich výrobky chráněny před napodobeninami horší jakosti. Pro konzumenty je doložka AOC nejen významným ukazatelem kvality, ale také rozlišuje sýry, které se mohou navzájem podobat.

Čtyři hlavní kategorie výroby povolené předpisy AOC jsou fermier, artisanal, coopérative a industriel. Kategorie fermier není zárukou kvality, pouze naznačuje, že sýr byl vyroben v souladu s tradiční metodou. Specifika hlavních kategorií a podmínky výroby jsou uvedeny v Tabulce 6.

Chráněné označení původu získalo ve Francii 9 druhů kozích sýrů: Chabichou du Poitou, Crottin de Chavignol, Picodon de la Drome nebo Picodon de l'Ardèche, Péladron, Pouligny Saint-Piere, Rocamadour, Sainte-Maure de Touraine, Selles-sur-Cher a Valençay, které představují společně produkci přes 5000 tun za rok. Dále za zmínku stojí sýry camembertského typu vyráběné z kozího mléka v regionu Poitou. [48]

Tab. 6: Kategorie AOC a podmínky výroby [48]

Kategorie	Podmínky výroby	Objem výroby	Místo prodeje výroby
Fermier	Zpracování mléka zvířat z vlastní farmy a výroba sýra dle tradičních postupů. Mléko z cizího statku není dovoleno a používá se pouze nepasterované.	Nízký až střední	Oblastní trhy a několik prodejen sýrů ve větších městech. Některé druhy se vyvázejí
Artisanal	Zpracování mléka z vlastní farmy nebo nákup mléka. Výrobce je zároveň vlastníkem provozny, ale mléko může pocházet z cizí produkce.	Střední až vysoký	Oblastní trhy, prodejny sýra v centru měst a jeho okolí.
Coopératives	Sýr vyrábějí členové družstva v jediné provozovně z dodávaného mléka.	Vysoký	Po celé Francii
Industriel	Mléko se vykupuje od několika výrobců, někdy i ze vzdálené oblasti. Výroba je průmyslová.	Nízký	Po celé Francii. Vývoz do zahraničí.

Chabichou du Poitou

Označení AOC získal v roce 1990

Region: Poitou-Charentes Charente, Deux Sèvres, Vienne

Tento sýr má lahodnou, mírně nasládlou chuť se slaným podtónem a nevýraznou kyselostí. Měkká nedohříváná a nelisovaná hmota se stejnoměrnou strukturou stářím tvrdne a začíná se drodit. Bílá plíseň na povrchu.

Crottin de Chavignol

Označení AOC získal v roce 1976

Region: Burgundsko, Nièvre; Val-de-Loire, Centre, Cher, Loire

Známý také jako Chavignol by měl mít tmavý, tvrdý a sukovitý povrch. Srážení musí být především kyselé s nepatrným přídavkem syřidla. Teplota při zrání musí být nízká a místnost dobře odvětrávaná. Zrání smí probíhat pouze na místech vyznačených AOC a musí trvat nejméně 10 dní od data výroby. Po pěti týdnech vysychá a zmenšuje se, výrazně voní, má pevnou strukturu a robustní chuť. Po čtyřech měsících váží z původních 140g pouhých 40g, kůra je drsná a tvrdá a doporučuje se ji odstranit.

Picodon de la Drôme nebo Picodon de l'Ardèche

Region: Označení AOC získal v roce 1983

Oblast Picodonu vroubí oba břehy Rhône. Department Drôme leží na východ od řeky, Ardèche na západ.

Název sýra pochází ze starého jazyka a znamená kořeněný. Podnebí v místě je suché a rostliny a keře zde mají výraznou chuť i vůni což se promítá i do mléka a výsledného produktu. Sýr má velmi vyschlou hmotu.

Valençay

Označení AOC získal v roce 1998

Region: Centre Indre

Sýr tvaru pyramidy s useknutou špičkou. Při výrobě se odkapaná sýřenina vloží do formy, po vyjmutí se obalí v nasoleném popelu z dřevěného uhlí a nechá se dozrát při 80% vzdušné vlhkosti v dobře větrané místnosti. Po affinaci v délce tří týdnů pokrývá povrch přirozená plíseň – bílá až namodralá. Měkká vlhká hmota, nedohříváná, nelisovaná. [48]

2.2 Řecké kozí sýry

Produkce kozího mléka v Řecku dosahovala v roce 2001 450 000 tun.

Féta

Patří mezi nejznámější sýry produkované v Řecku z kozího mléka. Vyrábí se ze 100 % kozího mléka, ze směsi kozího mléka s ovčím nebo ze 100 % mléka ovčího. Jedná se o sýr tvarohovité konzistence s obsahem tuku 45 - 60 %, který zraje ve slaném nálevu až 12 měsíců. Je velmi oblíbenou součástí zeleninových salátů. [47,49]

Kefalotyri

Sýr tradičně vyráběný z čerstvého ovčího a kozího mléka. Konzistence je tvrdé s malými nepravidelnými oky a slanější chuti. Zraje po dobu tří měsíců ve vlhkých sklepech. [49]

2.3 Španělské kozí sýry

Produkce kozího mléka ve Španělsku dosahovala v roce 2001 320 000 tun. Španělsko je tak třetím největším producentem kozího mléka v EU.

Území Španělska zabírá převážnou část Pyrenejského poloostrova a téměř z 90 % je ohraničeno moří. Jádro země tvoří centrální náhorní plošina, kterou obklopují majestátní pohoří a protéká jí množství řek, které zavlažují nížinné oblasti. Klimatické podmínky jsou velmi různorodé v závislosti na charakteru konkrétní oblasti, což se projevuje v nemalé míře v zemědělství i potravinářství. Španělské sýry se liší kraj od kraje. Sýry z kozího mléka dominují především oblastem u Středozemního moře.

El Pastor

Sýr vyrobený z pasterizovaného kozího mléka, krémové konzistence s plísní na povrchu. Má mírně pikantní chuť s nádechem koziny. Oblíbený do salátů, na pizzu či do zapékaných pokrmů. Vyrábí se i v jemné variantě s kousky ananasu, chuť je nasládlá a je vhodným doplňkem ke sladkým dezertním vínům. [49]

3 ZRÁNÍ SÝRŮ

Zrání sýrů je jednou z posledních a nejdůležitějších fází výroby. V této fázi dochází u sýrů k získávání typické barvy, chuti, vůně, konzistence a také se dotváří typický konečný vzhled sýrů, kdy se sýr mění z hmoty s dobře viditelnými slepenými zrny v plastické stejnorodé a soudržné těsto (v některých případech s výskytem děr či ok). Jedná se o složitý biochemický proces, při němž se uplatňují především bakterie mléčného kvašení (BMK) a proteolytické enzymy syřidla. V průběhu zrání se uplatňují především bakterie rodu *Lactococcus*, *Lactobacillus* a *Streptococcus* buď jako mezofilní (smetanový zákys) nebo termofilní (např. *Lbc. helveticus*, *Str. thermophilus*). Ke změnám dochází především díky mikrobiálním enzymům (enzymy startovacích kultur a enzymy pocházející z jejich odumřelých buněk), přirozeným enzymům mléka (plasmin, katepsin D, proteinázy somatických buněk) a enzymům syřidla (chymosin, pepsin). Zráním se mění jednotlivé složky čerstvého sýra. Největším změnám podléhá mléčný cukr (laktóza), mléčné bílkoviny a tuk, dále se mění také obsah solí. Chuť a vůně sýrů vznikají následkem proteolýzy, lipolýzy a následnou tvorbou aromatických látek. Produkty všech těchto pochodů mohou navzájem společně dále reagovat a tak vzniká mnoho nových látek ovlivňujících výsledné organoleptické vlastnosti sýra, které jsou do značné míry ovlivněny i chemickým složením druhového mléka. Dochází k postupnému odparu vody a proteolýze, pH sýra mírně vzrůstá díky enzymové aktivitě. [13]

Produkty vznikající v průběhu zrání, které mají významný vliv na aroma různých typů sýrů jsou uvedeny v Tabulce 7.

3.1 Změny mléčného cukru

Během prvních 24 hodin se vlivem BMK přemění téměř veškerá laktóza na kyselinu mléčnou. Nejrozsáhlejší fermentace laktózy probíhá už při procesu formování sýrů. Část laktózy odchází se syrovátkou v průběhu zpracování sýřeniny. U sýrů holandského typu se obsah laktózy a tím pádem i kyseliny mléčné snižuje částečným praním sýrového zrna. V sýrové hmotě se zadrží v závislosti na synerezi 1,5 – 3 % laktózy, z níž se vytvoří přibližně 2 % kyseliny mléčné. Tzv. kyselostní křivka udává optimální průběh kyselosti různých druhů sýrů od zasýřeného mléka až po hotový výrobek. Hodnota pH po 24 hodinách má rozhodující význam pro další průběh zrání a výslednou jakost výrobku. U sýrů s nízkodohříváním sýřeninou jsou poslední zbytky laktózy rozloženy do 3 až 5 dnů. Požadované pH u nízkodohřívání sýrů po vysolení je 5,0, optimálně 5,1 – 5,2, při hodnotě

pH nižším než 5 jsou již překysané a často tvarohovité. Vzniklá kyselina mléčná reaguje s vápníkem uvolněným z kaseinu a vzniká mléčnan vápenatý. V průběhu zrání se kyselina mléčná vlivem BMK a dalších přítomných mikroorganismů v závislosti na druhu sýra (jako jsou např. plísně, bakterie propionového kvašení, kvasinky) a enzymů účastnících se dalšího zrání dále rozkládá např. na kyseliny propionovou či octovou, vodu a oxid uhličitý. V této fázi se pH sýra zvyšuje na 5,5 – 6,0 a vytvářejí se příznivé podmínky pro rozklad bílkovin. Část mléčné kyseliny se dále váže na rozkladné produkty bílkovin a část zůstává ve volné formě, kdy dodává sýru typickou příchut' a napomáhá udržovat kyselou reakci, která brání hnilobnému rozkladu bílkovin. [13, 45]

3.2 Proteolýza

Proteolýza je v sýrech v průběhu zrání katabolizována proteázami a peptidázami. Nejvýznamněji se uplatňují enzymy syřidla, enzymy nativního mléka, BMK a nezákysových BMK. V průběhu prvních dní odumírá až 95 % BMK (především v důsledku solení) a jejich endoproteázy poté štěpí bílkoviny od polypeptidů přes dipeptidy až na jednotlivé aminokyseliny. Za štěpení je zodpovědný také přírůdek syřidla a v případě tepelně neošetřeného mléka i proteinázy nativního mléka. Z volných aminokyselin převládají v sýrech alanin, valin, methionin, leucin, lysin, kyselina glutamová a threonin – každá z nich má svou specifickou chuť a podílí se spolu s peptidy s krátkým řetězcem na výsledné chuti sýra. Z volných aminokyselin (FAA) může dále vznikat celá řada dalších sensoricky aktivních látek. Pokud zrání probíhá při nevhodných podmínkách, mohou vznikat nežádoucí a škodlivé produkty degradace (např. amoniak, močovina, kyselina máselná, biogenní aminy, vodík). Biogenní aminy mohou mít v nižších koncentracích na organismus ovšem i pozitivní vliv, ve vyšších koncentracích jsou však toxické. Dále vznikají při rozkladu bílkovin sensoricky aktivní těkavé mastné kyseliny (octová, propionová, máselná, valerová, kapronová aj.), projevující se taktéž výrazně v chuti a vůni. Úroveň proteolýzy v průběhu zrání je významným faktorem pro jakost konečného výrobku. Množství volných aminokyselin v sýrech je ukazatelem proteolytické aktivity enzymů v průběhu zrání. [13, 45,46,47]

Tab. 7: Charakteristické produkty mající vliv na aroma sýrů. Vznik z aminokyselin, sacharidů a tuků při zrání různých typů sýrů. [51]

	Gouda	Čedar	Camembert	Švýcarského typu
Aminokyseliny	3-Methylbutanal	3-Methylbutanal	3-Methylbutyrate	Methional
	3-Methylbutanol	Kys. isovalerová	3-Methylbutanal	3-Methylbutanal
	Methanethiol	Methional	Methional	Skatole
	Dimethylsulphide (DMS)	Methanethiol	Methanethiol	
		DMDS	DMS	
	2-Methylpropanol	DMTS	Benzaldehyde	
	Dimethyltrisulphide (DMTS)		Phenylacetaldehyde	
Sacharidy	Diacetyl	Kys. propionová	2,3-Butanedione	Kys. propionová
		Diacetyl		Diacetyl
Tuky	Kys. máselná	Kys. máselná	1-Octen-3-ol	
	Butanon	Kys. octová	Kys. máselná	
	Hexanal	1-Octen-3-one	1-Octen-3-one	
	Pentanal	Butanone	2-Undecalactone	
			γ -Decalactone	

3.2.1 Biogenní aminy

Biogenní aminy (BA) jsou nízkomolekulární bazické dusíkaté látky, vykazující biologické účinky. V potravinách vznikají převážně dekarboxylací aminokyselin působením bakteriálních enzymů obsahujících jako kofaktor pyridoxal-5-fosfát. Dále vznikají působením nativních enzymů nebo aminací a transaminací aldehydů a ketonů. [29]

Jak již bylo zmíněno, BA mají v lidském organismu své fyziologické účinky, ale ve vyšších dávkách mohou být pro organizmus toxické. Jsou důležitým zdrojem dusíku pro syntézu hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a proteinů. Histamin se v lidském těle vyskytuje přirozeně jako součást žírných buněk a bazofilních granulocytů. Odtud je histamin uvolňován do krevního oběhu v případě, že je tělo vystaveno alergické reakci. Ve zdravém lidském organismu řídí histamin sekreci žaludeční kyseliny, přenos nervového vzruchu,

sekreci hlenu, hojení ran, imunomodulaci a krvetvorbu. Toxicita se obvykle projevuje výskytem kožních vyrážek, otoků či kopřivkou, nevolností, zvracením, průjmami, bušením srdce a dalšími příznaky, které většinou odeznívají zpravidla v průběhu několika hodin. [29,30] Biogenní aminy jsou v trávicím traktu metabolizovány pomocí enzymů monoaminooxidázy a diaminooxidázy. Kapacita je ovšem omezená a při vysokém příjmu se do krevního oběhu dostávají oxidační produkty biogenních aminů. Aktivita enzymů může být navíc omezena i příjmem některých léků (inhibitory monoaminooxidáz) či konzumací alkoholu, který je odbouráván přednostně. [31,32,33]

Sýry patří mezi potraviny s vyšším rizikem tvorby biogenních aminů. Obsahují histamin, tyramin, tryptamin, kadaverin, fenylethylamin a putrescin. Obsah je závislý mimo jiné na druhu použité startovací kultury při výrobě daného sýra. Koncentrace se může zvyšovat vlivem působení kontaminující mikroflóry. Množství roste během zrání a skladování. [34,35]

Hlavními předpoklady pro vznik BA působením mikroorganismů jsou:

- dostupnost volných aminokyselin
- přítomnost mikroorganismů produkujících dekarboxylační enzymy (dekarboxylázy)
- vhodné podmínky pro růst bakterií a produkci enzymů.

Významným předpokladem tvorby BA je tedy proteolýza, ať už bakteriální nebo autolytická. Vzhledem k tomu, že mikrobiální kažení potravin může být doprovázeno zvýšenou produkcí dekarboxylačních enzymů, může přítomnost biogenních aminů sloužit i jako užitečný nástroj pro hodnocení rozsahu kažení potravin. Dekarboxylázy aminokyselin se vyskytují u některých bakteriálních druhů rodů *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* a *Shigella*. U mléčných bakterií jde o rody *Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Streptococcus*. [29]

3.3 Lipolýza

Lipolýza je významný biochemický děj, při němž dochází vlivem lipáz k uvolňování mastných kyselin z triacylglycerolových jednotek za vzniku dalších sensoricky aktivních látek např. esterů MK. Lipázy mohou pocházet přímo z mléka (nativní lipázy) a uplatňují se především u sýrů z nepasterovaného mléka, dalším významným zdrojem mohou být mikrobiální lipázy pocházející z BMK či nezákysových BMK. Ve větší míře probíhá lipolýza

především u sýrů plísňových působením naočkovaných plísní hydrolytickou či oxidační cestou, a je zde do jisté míry pro vývoj chuti žádoucí. U dalších typů sýrů jako jsou gouda, čedar a švýcarské typy sýrů probíhá lipolýza většinou v nepatrném rozsahu. Nízké koncentrace volných MK (FFA) v těchto sýrech mohou pozitivně ovlivnit vývoj chuti a vůně výsledného produktu, nicméně pokud zde lipolýza probíhá ve větší míře, lze už hovořit o nežádoucím vlivu na organoleptické vlastnosti sýrů. Nežádoucím vlivem rozkladu tuku může být vznik cizích příchutí, u sýrů jde většinou o plesnivou chuť a zatuchlý zápach, které bývají způsobeny vlivem lipáz kontaminující mikroflóry především plísněmi rodu *Aspergillus*, *Mucor* a *Oospora* a dále mikroorganismy rodu *Alcaligenes*, *Bacillus* a *Proteus*. [13, 46]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo popsat vliv kombinace kozího a kravského mléka v různých poměrech na vlastnosti sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou v průběhu zrání.

Pro naplnění těchto cílů bylo třeba zpracovat literární rešerši týkající se:

- chemického složení a vlastností kozího a kravského mléka,
- problematiky zrání sýrů.

Pro zpracování praktické části diplomové práce bylo třeba naplnit tyto dílčí cíle:

- Založit skladovací pokus modelových vzorků sýrů holandského typu s nízkodohřívanou sýřeninou vyrobených z různých poměrů kozího a kravského mléka.
- Porovnat vybrané vlastnosti modelových sýrů v průběhu zrání se zaměřením zejména na intenzitu proteolýzy, proteinový profil a texturní vlastnosti.
- Porovnat organoleptické vlastnosti modelových vzorků sýrů.

5 MATERIÁL A METODIKA

Byly vyrobeny modelové vzorky sýrů v pěti různých kombinacích kozího a kravského mléka.

- 100:0 (100 % kozího mléka)
- 75:25
- 50:50
- 25:75
- 0:100 (100 % kravského mléka)

Z každé z těchto pěti šarží bylo vyrobeno 12 bloků. Následně byly 1. den po výrobě – tedy po prokysání vzorků ve zrací komoře ($12\pm 1^\circ\text{C}$) z každé šarže odebrány dva bloky pro analýzu. Zbylé vzorky byly nasoleny, ošetřeny ochranným přípravkem Delvacid (antimykotikum, BioPro, Francie), zabaleny do smrštitelného obalu a umístěny do zrací komory o teplotě $12\pm 1^\circ\text{C}$ po definovanou dobu zrání.

Vzorky byly pro analýzy odebírány:

- 1 den po výrobě,
- 14 dní po výrobě,
- 28 dní po výrobě,
- 56 dní po výrobě,
- 84 dní po výrobě.

Dále byly vyrobeny vzorky pro sensorickou analýzu a to ve třech různých kombinacích kozího a kravského mléka:

- 100:0 (100 % kozího mléka)
- 75:25
- 25:75

5.1 Výroba modelových vzorků

Suroviny:

- Kozí mléko – vlastní domácí produkce
- Kravské mléko – z mlékomatu
- Mezofilní kultura Flora Danica, Chr. Hansen, Dánsko
(*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*,
Lactococcus lactis subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*)
- Chlorid vápenatý 36 % roztok, Milcom a.s., Česká Republika
- Syřidlo Chymax M, Chr. Hansen, Dánsko
- Delvacid, BioPro, Francie
- Potravinářská sůl bez jódu

Pomůcky:

- Elektrický vařič
- Nerezové hrnce
- Elektrické míchadlo (IKA RW14 Basic)
- Hrnc s elektrickou regulací teploty (Hendi BV)
- Automatická pipeta
- Odměrný váleček
- Sýrařský nůž
- Cedník
- Kádinka
- Naběračka
- Sýrařská plachetka
- Předlisovací forma
- Lisovací formy
- Závaží
- Prokysávací box
- Smrštiteľný obal
- Vakuová balička
- Zrací komora

Postup výroby:

Bylo připraveno 8 litrů mléka (v poměru dle požadované výsledné koncentrace jednotlivých mlék). Pasterace mléka probíhala při 74 °C s výdrží 30 sekund, následně bylo mléko zchlazeno na 32 °C a inokulováno čistou mlékařskou kulturou (Flora Danica, Chr. Hansen, Dánsko) v množství 0,16 g a byly přidány 4 ml CaCl₂ (Milcom a.s., Česká republika). Kultivace probíhala 30 minut při teplotě 32 °C. Zaočkované mléko bylo zasýřeno 256 µl syřidla (Chymax M, Chr. Hansen, Dánsko) rozmíchaného v cca 3 ml vody a po dobu 30 minut probíhalo srážení. Sýřenina byla rozkrájena na hranoly o rozměrech 2 × 2 cm a po dobu 10 minut se nechala v klidu pro vytužení. Po uplynutí této doby probíhalo 30 minut ruční míchání, během kterého byla sýřenina drobena. Následně byly odebrány 2,3 litry syrovátky a za stálého míchání došlo k dohřívání zrna na teplotu 37 °C prostřednictvím přímého přídávku 1,75 litru prací vody o teplotě 60 °C. Dosoušení probíhalo 30 minut za stálého míchání a důsledného dodržování teploty na 37 °C. Po ukončení dosoušení byla sýřenina slita do předlisovací formy a dvakrát otočena po uplynutí 10 minut (celková doba předlisování činila 30 minut). Předlisovaná sýřenina byla dále rozdělena na 12 dílů a vložena do forem vystlaných sýrařskou plachetkou. Lisování s postupně se zvyšujícím tlakem probíhalo po dobu 120 minut. Hmotnost závaží byla vždy po 30 minutách navýšena tak, aby výsledná zátěž byla přibližně 70 kg/1 kg sýra. Hmotnost jednotlivých vylisovaných bloků byla přibližně 90g. Po ukončení lisování byly sýry vyjmuty z forem a uloženy do prokysávacího boxu v němž prokysaly do druhého dne ve zrací komoře s teplotou 12±1 °C.

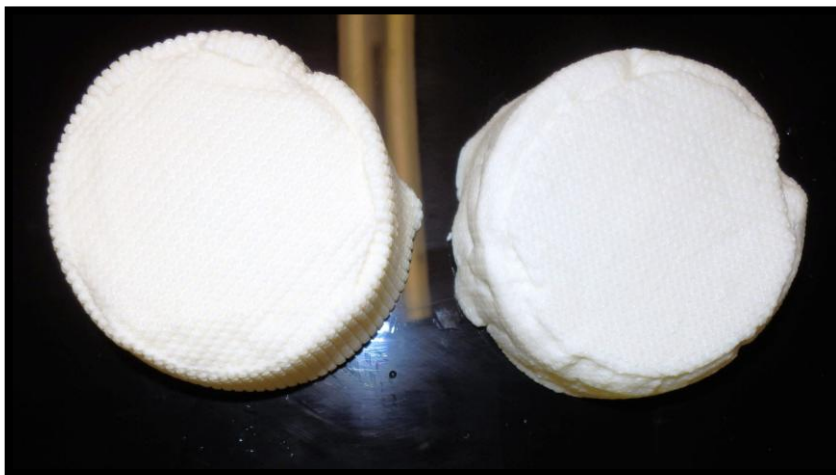
Po prokysání byl proveden odběr vzorků v 1. odběrovém dni a ostatní vzorky byly nasoleny v lázni s 20% koncentrací NaCl po dobu 30 minut. Po nasolení byly bloky dále ošetřeny antimikotickým přípravkem (Delvocid, BioPro, Francie) a vakuově zabaleny do zrací fólie po jednom kusu. Zabalené bloky dále zrály ve zrací komoře při teplotě 12±1°C, po požadovanou dobu zrání.

5.2 Odběr vzorků

Při každém z odběrů byly odebrány 2 bloky sýra pro následné analýzy.

Odběrové dny:

- 1 den po výrobě,
- 14 dní po výrobě,
- 28 dní po výrobě,
- 56 dní po výrobě,
- 84 dní po výrobě.



Obr.1: Sýrové bloky po prokysání – 1. odběrový den (á 90g). Zleva: vzorek 0:100 (100 % kravského mléka – krémové zbarvení), vzorek 100:0 (100 % koziho mléka – křídově bílé zbarvení)

Postup odběru vzorků:

- Ihned po odběru vzorky vybaleny z vakuového balení
- Příprava vzorku pro texturní profilovou analýzu (TPA) a provedení TPA
- Změření hodnoty pH vpichovým pH metrem
- Nastrouhání celého bloku na jemném struhadle
- Stanovení obsahu sušiny
- Stanovení obsahu soli
- Lyofilizace vzorku

Vzorky upravené lyofilizací sloužily pro analýzu proteinového profilu a volných aminokyselin (FAA).

Seznam přístrojů lyofilizace:

- Analytické váhy A&D GH-200 EC
- Hlubokomrazicí box MDF-U3286S, SANYO, prodejce Schoeller instruments, ČR, Praha
- Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST, prodejce LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc

5.3 Základní chemická analýza

5.3.1 Stanovení obsahu sušiny

Sušina se v průběhu zrání mění vlivem skladování, použitého balicího materiálu a také částečným vysycháním probíhajícím v průběhu zrání.

ČSN EN ISO 5534 je mezinárodní norma specifikující referenční metodu pro stanovení obsahu celkové sušiny v sýrech a tavených sýrech. [52]

Pomůcky:

- Vysoušecí misky s víčkem
- Křemičitý písek
- Skleněná tyčinka
- Analytické váhy
- Sušárna Venticell (Brněnská Medicinská Technika a. s., Česká republika)
- Exsikátor

Postup:

Vysoušecí miska s víčkem a s navážkou křemičitého písku byla předem předsušená a byla zaznamenána celková hmotnost. Na analytických vahách byl do misky navážen nastrouhavý vzorek sýra v množství 3 g, smíchán pomocí skleněné tyčinky se suchým křemičitým pískem a sušen v sušárně při teplotě 102 ± 2 °C po dobu 5 hodin. Vysušené vzorky byly pro vychlazení vloženy do exsikátoru a poté zvaženy.

Stanovení obsahu sušiny bylo provedeno výpočtem dle vzorce:

$$\% \text{ sušiny} = \frac{\text{zbytek po vysušení}}{\text{navážka}} \times 100$$

Sušina byla u každého z odebraných bloků stanovována dvakrát, tedy pro každou šarži v daném odběrovém dni celkem čtyřikrát.

5.3.2 Stanovení pH

Pomůcky:

- pH tester s pevnou vpichovou elektrodou - pH Spear Eutech, EUTECH INSTRUMENTS The Netherlands, Nijker

Postup:

Hodnota pH byla měřena pomocí automatického kalibrovaného pH metru s vpichovou elektrodou.

Hodnota pH byla měřena u každého z odebraných bloků celkem třikrát, tedy pro každou šarži v daném odběrovém dni celkem šestkrát.

5.3.3 Stanovení obsahu soli

Obsah NaCl v jednotlivých blocích byl stanoven argentometrickou metodou, kterou popsali Indra a Mizera [53]. Jedná se o titrační metodu, kde se jako činidlo používá dusičnan stříbrný a jako indikátor je zde chroman draselný, který v bodě ekvivalence vytváří hnědočervenou sraženinu chromanu stříbrného.

Pomůcky:

- Třecí miska s tloučkem
- Titrační aparatura
- Analytické váhy

Použité chemikálie:

- 0,1 mol/l dusičnan stříbrný
- 5% chroman draselný

Postup:

Nastrouhaný vzorek sýra o hmotnosti 1 g byl rozmělněn v třecí misce s 10 ml teplé vody (60 °C). Jako indikátor byl přidán 5% chroman draselný v množství 2 ml. Byla provedena titrace dusičnanem stříbrným o koncentraci 0,1 mol/l do dosažení bodu ekvivalence.

Obsah NaCl byl stanovován u každého z odebraných bloků dvakrát, tedy pro každou šarži v daném odběrovém dni celkem čtyřikrát.

5.4 Texturní profilová analýza

K hodnocení textury byla použita sofistikovaná instrumentální metoda – texturní profilová analýza, jejíž provedení je založeno na kompresních testech, kdy je simulováno stlačení vzorku mezi stoličkami v průběhu žvýkání. [50]

Pomůcky:

- Texturní analyzátor - TA.XT Plus, Stable Micro Systems, Velká Británie
- Sonda o průměru 50 mm
- Forma pro výkroj vzorku ve tvaru válce o průměru 40 mm
- Kráječ s rozstupem strun 15 mm
- Program Exponent Lite

Postup:

Ze středu každého odebraného bloku byl vykrojen jeden vzorek pro následnou texturní profilovou analýzu. Vzorek sýra ve tvaru válce o průměru 40 mm a výšce 15 mm s rovným a hladkým povrchem byl vložen do analyzátoru. Pomocí sondy pohybující se rychlostí 1 mm.s⁻¹ došlo ke dvěma po sobě následujícím kompresím vzorku. Komprese vzorku byla provedena o 25 % (vztaženo k jeho původní výšce). Hodnota pevnosti [N] byla získána jako maximální síla naměřená během kompresního testu. [40]

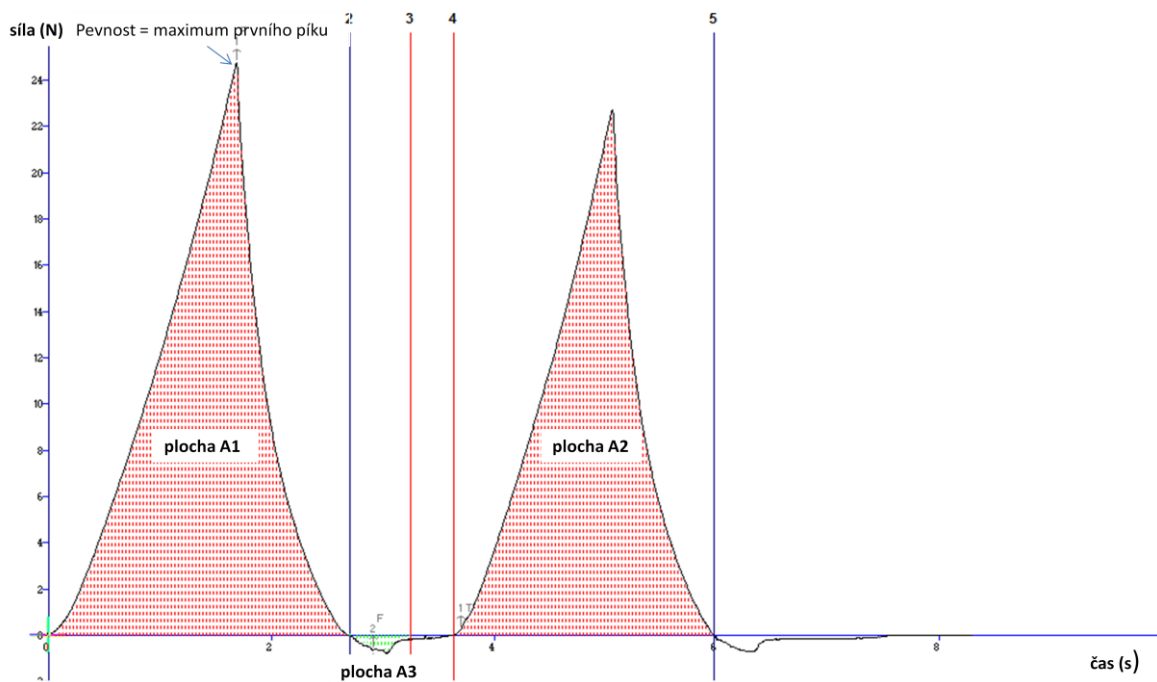
Další sledované parametry - soudržnost a lepidlost byly vyhodnoceny pomocí programu Exponent Lite.

Pevnost - mechanická texturní vlastnost vztahující se k síle potřebné k dosažení deformace nebo penetrace výrobkem, vyjádřena jako maximální hodnota píku během prvního kompresního cyklu. [41]

Soudržnost - mechanická texturní vlastnost vztahující se ke stupni, do něhož může být látka deformována, než se rozpadne, neboli vyjadřuje sílu vnitřních vazeb tvořící texturu produktu. Lze ji vypočítat jako bezrozměrný poměr ploch $A2/A1$. [41]

Lepivost - mechanická texturní vlastnost vztahující se k síle potřebné k odstranění látky, která lepe k ústům nebo k podkladu. Je to práce potřebná k překonání přitažlivých sil mezi povrchem potravin a čidlem přístroje. Lze ji vypočítat jako poměr ploch $A3/A1$. Jednotkou je N·s. [41]

Na Obrázku 2 je zobrazena zátěžová křivka popisující závislost síly, kterou vynakládá penetrující sonda při průniku materiálem, na čase měření. Jsou zde vyznačeny plochy jednotlivých píků, používané při výpočtech.



Obr. 2: Křivka texturní profilové analýzy (závislost síly [N] na čase [s]).

5.5 Senzorická analýza

Senzorická analýza vzorků byla provedena po 3 měsících zrání u vzorků 100:0, 75:25 a 25:75. Hodnocení bylo provedeno 25 zasvěcenými posuzovateli (posuzovatelé, kteří se již sensorické zkoušky v minulosti zúčastnili, avšak nejsou na ně specifikovány žádné bližší požadavky). Posuzovatelé byly studenti 1. ročníku navazujícího magisterského studia, oboru Technologie potravin na Fakultě technologické UTB ve Zlíně.

Pro účely sensorické analýzy byl zpracován dotazník (viz. Příloha PII Sensorický dotazník), který byl předložen při sensorické analýze hodnotícím posuzovatelům.

Při hodnocení stupnicovou metodou byly hodnoceny čtyři skupiny parametrů:

- Vzhled a barva
- Konzistence
- Chuť a vůně
- Pachuť

Při hodnocení pořadovým preferenčním testem byla použita číselná stupnice, kdy hodnotitelé přiřadili ke vzorkům čísla 1 – 3 dle osobních preferencí.

Dále byl hodnotitelům vymezen prostor pro osobní poznámky, aby mohli slovně zhodnotit jednotlivé vzorky.

5.6 Stanovení proteinového profilu pomocí SDS-PAGE

SDS-PAGE (sodium dodecylsulfát polyakrylamidová gelová elektroforéza) je separační metoda určená ke stanovení proteinů na základě jejich odlišné molekulové hmotnosti. Podstatou separace v elektrickém poli je přítomnost aniontového detergentu dodecylsulfátu sodného (SDS), který se shodně váže na všechny bílkoviny v poměru 1,4 g SDS/1 g bílkoviny a uděluje jim záporný náboj přímo úměrný jejich hmotnosti. Po nanesení vzorku na polyakrylamidový gel a umístění do elektrického pole dochází k migraci proteinů ke kladné elektrodě (anodě). Během migrace jsou proteiny v polyakrylamidovém gelu separovány na principu molekulového síta. Menší proteiny pronikají póry gelu snadněji než větší, které musí odolávat většímu odporu. Pro analýzu se gely dále barví a vyhodnocují a je možné určit relativní molekulovou hmotnost separovaných proteinů srovnáním délky migrace se standardem (markerem) o známé molekulové hmotnosti. [42,43]

Použité chemikálie:

Tris pufr pro separační gel (pH 8,8)

- Tris (Sigma) 18,15 g
- Deionizovaná voda 50 ml

Pomocí koncentrované HCl (Sigma) bylo upraveno pH na hodnotu 8,8 a bylo doplněno deionizovanou vodou do 100 ml. Uchování při teplotě 4 °C.

Tris pufr pro koncentrační gel (pH 6,8)

- Tris (Sigma) 6,0 g
- Deionizovaná voda 50 ml

Pomocí koncentrované HCl (Sigma) bylo upraveno pH na hodnotu 6,8 a bylo doplněno deionizovanou vodou do 100 ml. Uchování při teplotě 4 °C.

Elektrodotý pufr

- Elektrodotý pufr dle Laemliho (SERVA) 100 ml
- Deionizovaná voda 900 ml

Elektrodotý pufr dle Laemliho 10x koncentrovaný (SERVA) před použitím doplněn deionizovanou vodou do požadovaného objemu v poměru 1:9.

30% roztok akrylamidu

- Akrylamid 29,2 g
- N,N'-metylen-bisakrylamid 0,8 g

Doplnění do 100 ml deionizovanou vodou. Uchování při 4 °C v tmavé lahvi.

Obě látky jsou toxické, při přípravě roztoku je nutno použít rukavice.

Vzorkový pufr - 0,062 M Tris HCl, 5% merkptoetanol, 10% glycerol

- Tris-HCl 0,0977 g
- Merkptoetanol 0,5 g
- Glycerol 1,0 g
- Bromfenolová modř 0,01 g

pH upraveno na 6,8 a doplněno deionizovanou vodou do 100 ml.

Fixační roztok - 10% kyselina trichloroctová

- Kyselina trichloroctová 50 g
- Deionizovaná voda 100 ml

Rozpuštění a doplnění deionizovanou vodou do 1 l.

Barvicí roztok

- 0,25% Coomassie Blue R-250 v 50% (v/v) metanolu a 10% (v/v) kyselině octové
- 0,25% Coomassie Blue R-250 1,25 g
- Metanol 250 ml
- Kyselina octová 50 ml

Doplněno deionizovanou vodou do 500 ml.

Odbarvovací roztok

- 25% (v/v) metanol a 10% (v/v) kyselina octová
- Metanol 250 ml
- Kyselina octová 100 ml

Doplněno deionizovanou vodou do 1 l.

Příprava gelů:**17% separační gel**

30% roztok akrylamidu	14,25 ml
Tris pufr	6,25 ml (pH 8,8)
Deionizovaná voda	4 ml
10% SDS	250 µl
10% persíran amonný	250 µl
N,N,N',N' - tetrametylendiamin (TEMED)	10 µl

5% koncentrační gel

30% roztok akrylamidu	2,04 ml
Tris pufr	3 ml (pH 6,8)
Deionizovaná voda	6,9 ml
10% SDS	120 μ l
10% persíran amonný	60 μ l
N,N,N',N'- tetrametylendiamin (TEMED)	15 μ l

Příprava vzorků k analýze:

Do zkumavky byl navážen 1 g lyofilizovaného vzorku sýra a následně přidány 3 ml deionizované vody (ředění 1:3). Zazátkovaná zkumavka byla pro důkladnou homogenizaci vložena do třepačky a třepána 20 minut. Vzorek byl inkubován po dobu 4 hodin při teplotě 40 °C. Po inkubaci byly zkumavky vloženy do centrifugy a odstředovány po dobu 5 minut při 6000 ot./min. Z prostřední části zkumavky (aby se zabránilo nasátí sedimentu ze dna a tuku z horní části zkumavky) bylo odpipetováno 100 μ l vzorku do eppendorfy. Ke vzorku bylo přidáno 25 μ l 20% SDS, 12,5 μ l merkaptoetanolu a 115 μ l vzorkového pufru. Vše bylo promícháno na vortexu a inkubováno v lázni po dobu 10 minut. Takto připravené vzorky byly do vlastní analýzy uchovávány při mrazírenských teplotách.

Postup:

Pro vlastní analýzu byla použita vertikální elektroforetická aparatura (Bio-Rad). Aparatura se skládá z vlastní vany, víka, osmi tvarovaných skel v párovém uspořádání, dvou držáků gelů, těsnění a hřebínků. Slouží pro dva gely současně.

Pro separaci byl zvolen 17% separační gel. Byl připraven smícháním všech složek a ihned aplikován pomocí pipety mezi skla v množství 5 ml (do výšky zhruba 3 cm od horního okraje), případné bubliny byly ihned odstraněny propíchnutím. Gel byl převrstven malým množstvím vody, aby se vytvořil hladký vodorovný povrch a zabránilo se polymeraci na vzduchu. Při pokojové teplotě takto gel polymeroval po dobu 60 minut. Dále byl připraven 5% koncentrační gel. Z povrchu separačního gelu byla pomocí filtračního papíru odsáta přebytečná voda a tento byl převrstven roztokem koncentračního gelu v množství 2 ml

(tedy těsně pod horní hranu skla). Do takto připraveného gelu byl opatrně vsunut hřebínek pro vytvoření jamek pro následnou aplikaci vzorku. Byly opět odstraněny případné vzduchové bubliny. Ve vlhké komůrce polymeroval připravený gel do druhého dne při pokojové teplotě. Druhý den byly gely připraveny pro nanesení vzorku. Byl opatrně vyjmut plastový hřebínek tak, aby se gel nepoškodil. Gely byly vloženy do aparatury a byl nalit elektrodový pufr do spodního prostoru aparatury a také tak, že došlo k převrstvení jamek. Do jamek byly pomocí pipety nanášeny vzorky v množství 25 μ l vzorku a 20 μ l molekulového hmotnostního standardu. Pro první odběrový den byly vzorky nanášeny ve formě neředěné i ředěné v poměru 1:3. Pro další odběrové dny byly pak nanášeny vzorky pouze ředěné a to opět v poměru 1:3.

Pořadí vzorků nanášených na gel:

100:0 – 75:25 – 50:50 – 25:75 – 0:100

Jakmile byly všechny jamky zaplněny vzorky a standardem byla aparatura uzavřena víkem, připojena ke zdroji stejnosměrného proudu a spuštěna. Pro každý z gelů byla zvolena díky jeho vlastnostem odlišná hodnota proudu. Pro putování koncentračním gelem byla hodnota proudu nastavena na 35 mA, a jakmile doputovaly proteiny k rozhraní se separačním gelem, byla zvýšena na 45 mA. Elektroforéza byla ukončena, jakmile doputovalo čelo elektroforézy ke spodní hranici separačního gelu.

Gel byl po oddělení skel opatrně vyjmut a skalpelem byl odříznut koncentrační gel. Separační gel byl fixován 30 minut ve fixačním roztoku. Po vyjmutí z roztoku byl opláchnut destilovanou vodou a barven. Barvení probíhalo 1 hodinu. Poté byl gel opět opláchnut destilovanou vodou a vložen do odbarvovacího roztoku, který byl dle potřeby vyměňován za čerstvý. Takto připravený gel byl sejmut digitálním fotoaparátem a dále vyhodnocen pomocí programu Bio-1D.

5.7 Extrakce a stanovení volných aminokyselin

Seznam použitých chemikálií:

Příprava pufrů

- Kyselina citronová, p.a. LACHNER
- Citronan litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o.
- Chlorid litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o.
- Hydroxid litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o.

Příprava ninhydrinu

- Ninhydrin, pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.
- Methylcellosolv pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.
- Hydrintantin pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.
- Acetátový pufr pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.

Seznam použitých přístrojů:

Stanovení FAA

- Analytické váhy A&D GH-200 EC.
- 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.

Příprava vzorků pro stanovení volných aminokyselin:

Vzorky pro derivatizaci byly připraveny z předem lyofilizovaných vzorků sýra uchovávaných při mrazírenských teplotách (-18°C). Lyofilizované vzorky byly extrahovány lithno-citrátovým pufrům.

Do 15 ml zkumavky byl navážen 1g lyofilizovaného vzorku a přidáno 10 ml lithno-citrátového pufru. Zkumavka byla zazátkována, obsah byl promíchán na vortexu a třepán po dobu 30 minut na třepačce. Bylo provedeno odstředění při 6000 otáčkách po dobu 20 minut. Supernatant byl slit do odměrné baňky o objemu 25 ml. K pevnému podílu, který

zůstal ve zkumavce, bylo přidáno 7 ml lithno-citrátového pufru, promícháno na vortexu a třepáno na třepačce po dobu 20 minut. Odstředění 6000 otáček/ 20 min. Supernatant přelit k předešlému do 25 ml odměrné baňky. Přídavek 7 ml lithno-citrátového pufru, třepání, odstředění a slítí supernatantu se opakovalo ještě jednou. Odměrná baňka byla doplněna po rysku lithno-citrátovým pufrem. Každý vzorek byl odpipetován do 4 ependorfe. Bylo provedeno odstředění při 15000 otáčkách po dobu 45 minut. Bezprostředně před analýzou byly vzorky přefiltrovány přes stříkačkový filtr s porozitou 0,45 μm a dávkovány do chromatografického systému. Byla použita iontově výměnná chromatografie s postkolonovou ninhydrinovou derivatizací. Vlnová délka 254nm, $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, průtok 0,45 ml/min., použitá kolona – Agilent Eclipse Plus C18 RRHD o rozměrech 3 x 50 mm. Eluční program je zaznamenán v Příloze P I.

6 VÝSLEDKY

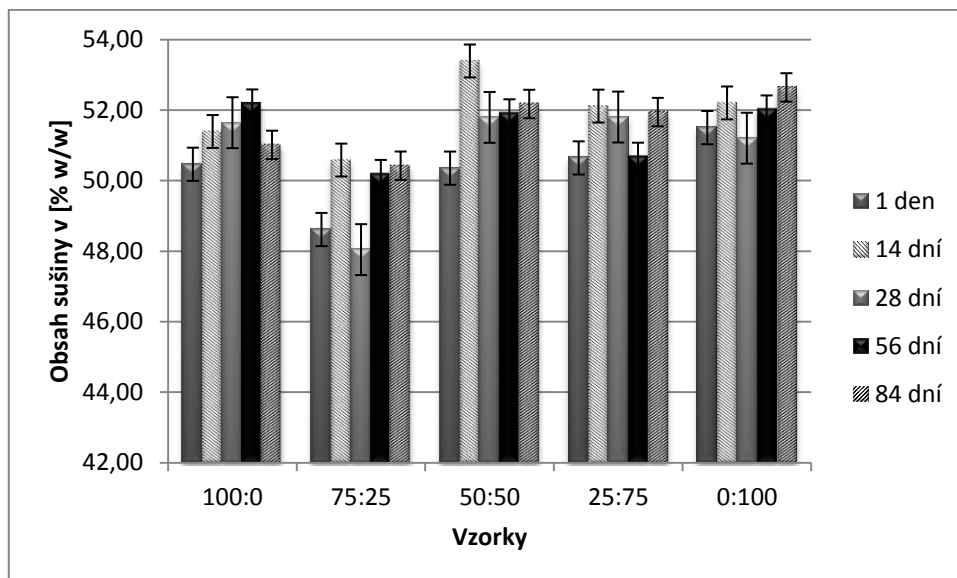
Ve stanovené odběrové dny byla ve vzorcích provedena texturní profilová analýza a základní chemická analýza. Z lyofilizovaných vzorků byly uskutečněny analýzy proteinového profilu pomocí SDS-PAGE a obsahu volných aminokyselin. Pomocí analýz byl vyhodnocen vliv různé kombinace druhových mlék na vlastnosti sýrů holandského typu v průběhu zrání.

6.1 Základní chemická analýza

6.1.1 Obsah sušiny

V modelových vzorcích byla provedena analýza obsahu sušiny. Obsah sušiny byl v každém odběrovém dni a z každé šarže měřen celkem čtyřikrát. V grafu (Obrázek 3) je zaznamenána vždy průměrná hodnota z těchto čtyř měření.

U vzorků 100:0, 50:50, 25:75 a 0:100 se obsah sušiny pohyboval v prvním odběrovém dni v rozmezí od 50,4 % do 51,5 %. Vzorek 75:25 se ve srovnání s ostatními vzorky vymyká v obsahu sušiny, kdy v prvním odběrovém dni byla zjištěna hodnota 48,6 %. Nižší obsah sušiny byl pravděpodobně způsoben nedolisováním vzorku. Vývoj obsahu sušiny v dalších odběrových dnech u vzorku 100:0 se zvyšoval až do 56. dne, kdy vzorek dosahoval obsahu sušiny 52,2 %, poté obsah sušiny do 84. dne poklesl na hodnotu 51,0 %. U vzorku 75:25 vzrostl obsah sušiny ve 14. dni na hodnotu 50,6 %, ve 28. dni opět poklesl na hodnotu nižší než v 1. odběrovém dni, poté obsah sušiny vzrůstal, až k poslednímu odběrovému dni kdy dosáhl hodnoty 50,4 %. U vzorku 50:50 obsah sušiny výrazně vzrůstal ve 14. dni, poté poklesl na hodnotu 51,8 % ve 28. dni a mírně vzrůstal, až k poslednímu odběrovému dni kdy dosahoval hodnoty 52,2 %. U vzorku 25:75 došlo ve 14. dni ke vzrůstu obsahu sušiny na 52,1 %, v následujících dvou odběrových dnech obsah poklesl na hodnotu 50,7 % v 56. dni a k 84. dni měl opět vzrůstající tendenci, kdy dosáhl hodnoty 51,9 %. U vzorku 0:100 ve 14. dni došlo k nárůstu sušiny na 52,2 %, ve 28. dni k poklesu na 51,2 % a poté sušina stoupala, až k poslednímu odběrovému dni kdy dosahovala hodnoty 52,6 %.

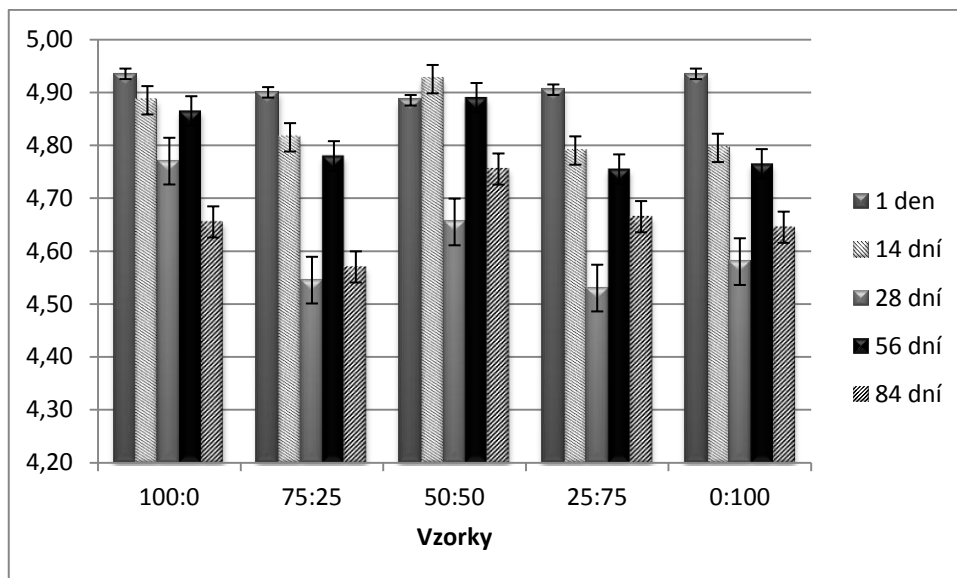


Obr. 3: Obsah sušiny v průběhu zrání

6.1.2 Hodnoty pH

V modelových vzorcích byly sledovány hodnoty pH v jednotlivých odběrových dnech. Měření bylo provedeno v každém vzorku celkem třikrát a vždy byly odebrány dva bloky sýrů ze šarže. Na Obrázku 4 je zaznamenána vždy průměrná hodnota z těchto šesti měření.

Jak je patrné z grafu (Obrázek 4) hodnoty pH se u všech vzorků v prvním odběrovém dni pohybovaly v rozmezí pH 4,89 – 4,94. U všech vzorků, kromě vzorku 50:50, ve kterém byl ve 14. dni sledován mírný nárůst pH, došlo v průběhu 28 dní k poklesu pH. Nejnižší pokles nastal u vzorku 100:0 a to na hodnotu 4,77. U ostatních vzorků se pH ve 28. dni snížilo na hodnoty v rozmezí 4,53 – 4,66. V 56. dni zrání byl u všech vzorků zaznamenán výrazný vzrůst hodnoty pH. K 84. dni byl u všech vzorků zaznamenán pokles pH na hodnoty v rozmezí 4,57 – 4,76. Nejméně kolísavé změny pH probíhali v průběhu celého zrání u vzorku ze 100% kozího mléka.

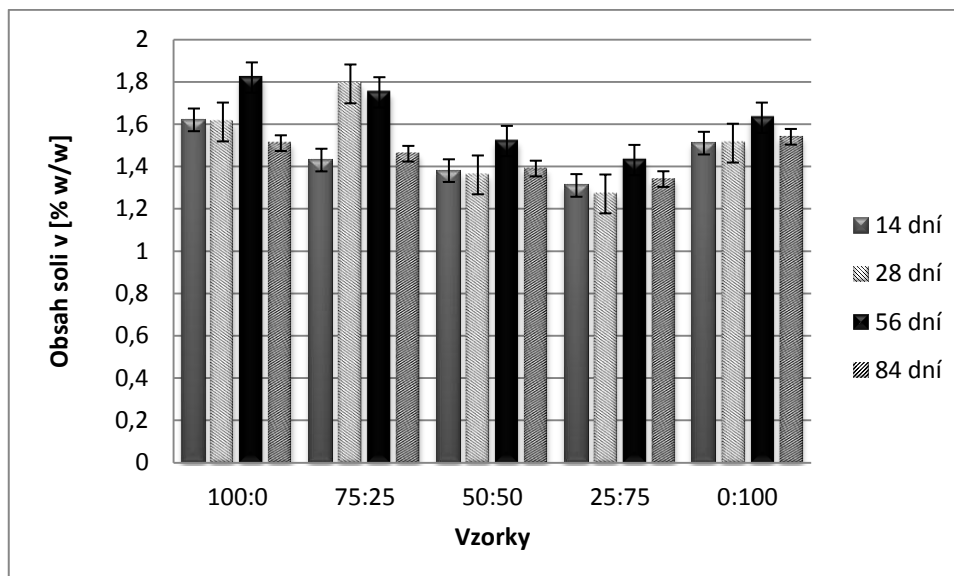


Obr. 4: Hodnoty pH v průběhu zrání

6.1.3 Obsah soli

V modelových vzorcích byl měřen obsah soli v jednotlivých odběrových dnech. Měření bylo provedeno vždy v každém vzorku celkem dvakrát a byly provedeny dva paralelní odběry. Výsledné hodnoty znázorněné na Obrázku 5, jsou tedy průměrné ze čtyř měření.

Obsah soli naměřený v sýrech se po dobu zrání výrazně neměnil. U vzorků 100:0, 50:50, 25:75, 0:100 byly zjištěny nejvyšší hodnoty v 56. dni. U kombinace 75:25 byla nejvyšší koncentrace soli naměřena ve 28. dni. Koncentrace soli se v 84. dni pohybovala v rozmezí 1,34 – 1,54 %. Kdy nejvyšší koncentrace soli byla stanovena v sýrech z jednodruhových mlék.



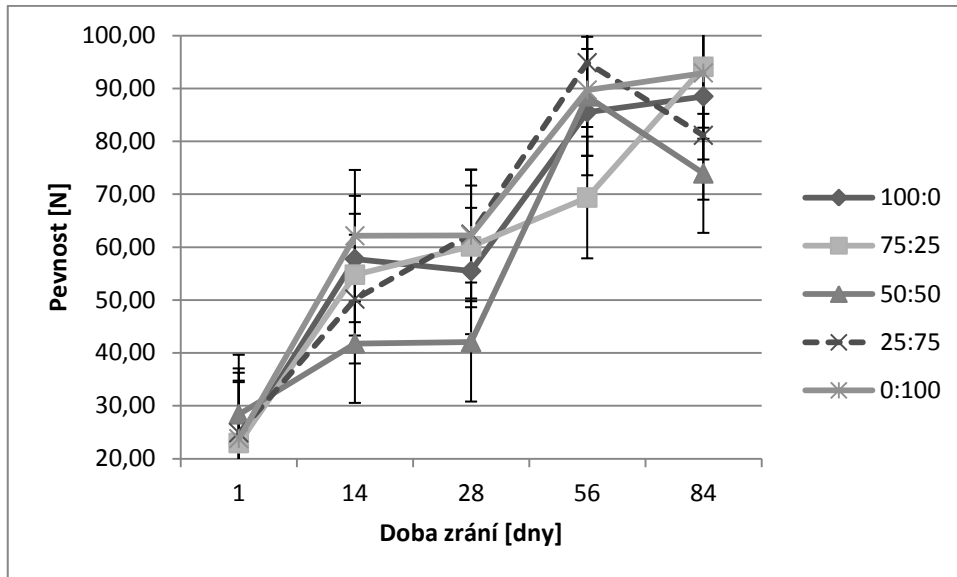
Obr. 5: Obsah soli v průběhu zrání

6.2 Texturní profilová analýza

6.2.1 Pevnost

Pevnost byla stanovena jako maximální hodnota píku během první komprese. Pevnost byla v každém odběrovém dni měřena ze dvou bloků sýrů stejné šarže. Získané výsledky jsou průměrem těchto dvou sýrů a jsou zobrazeny na Obrázku 6.

Výsledky měření pevnosti ukazují na vzrůstající trend pevnosti sýrů ze všech šarží výroby až do 56. dne, což je možné vidět na Obrázku 6. V prvním odběrovém dni měly vzorky hodnotu pevnosti v rozmezí 22,80 – 24,89 N. Vyšší hodnota 28,38 N byla naměřena u vzorku 50:50. V průběhu prvního měsíce se vzorky v nárůstu pevnosti výrazně nelišily, ve 28. dni dosahovala pevnost hodnot v rozmezí 55,47 – 62,44 N, pouze vzorek 50:50 měl nárůst pevnosti výrazně nižší a to na 42,04 N ve 28. dni. V průběhu druhého měsíce u něj však pevnost dramaticky vzrostla a vyrovnala se tak v 56. dni hodnotám ostatních vzorků. U vzorku 75:25 ovšem v průběhu 2. měsíce zrání vzrůstala pevnost mnohem pozvolněji než u ostatních vzorků a v 56. dni byla naměřena hodnota 69,37 N. V 84. dni byl zjištěn pokles pevnosti u vzorků 50:50 a 25:75. U ostatních vzorků byl zaznamenán další nárůst pevnosti.

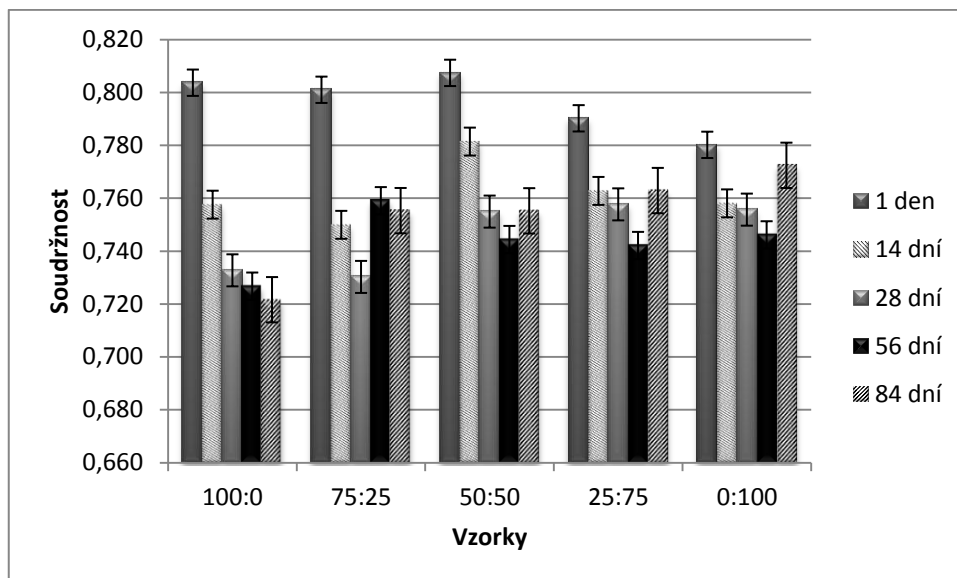


Obr. 6: Vývoj pevnosti v průběhu zrání

6.2.2 Soudržnost

Soudržnost je definována jako bezrozměrná veličina s tím, že čím více se naměřená hodnota blíží číslu jedna, tím je vzorek považován za soudržnější. Byla určena z grafu získaného jako výstup z textuometru jako poměr ploch píků A2/A1. Soudržnost byla v každém odběrovém dni měřena ze dvou bloků sýrů stejné šarže. Získané výsledky jsou průměrem těchto dvou odběrů a jsou zobrazeny na Obrázku 7.

Jak je patrné z Obrázku 7 soudržnost měla u vzorku obsahujícího pouze kozí mléko (100:0) po celou dobu zrání klesající tendenci. U vzorku 75:25 byl zaznamenán klesající trend soudržnosti do 28. dne zrání přičemž v 56. dni došlo k výraznému nárůstu soudržnosti a v posledním odběrovém dni (84. den zrání) byl opět zaznamenán mírný pokles. U vzorků 0:100, 25:75, 50:50 soudržnost klesala do 56. dne zrání, ačkoliv v 84. dni zrání u všech tří šarží vzorků 0:100, 25:75, 50:50 došlo ke zvýšení soudržnosti.

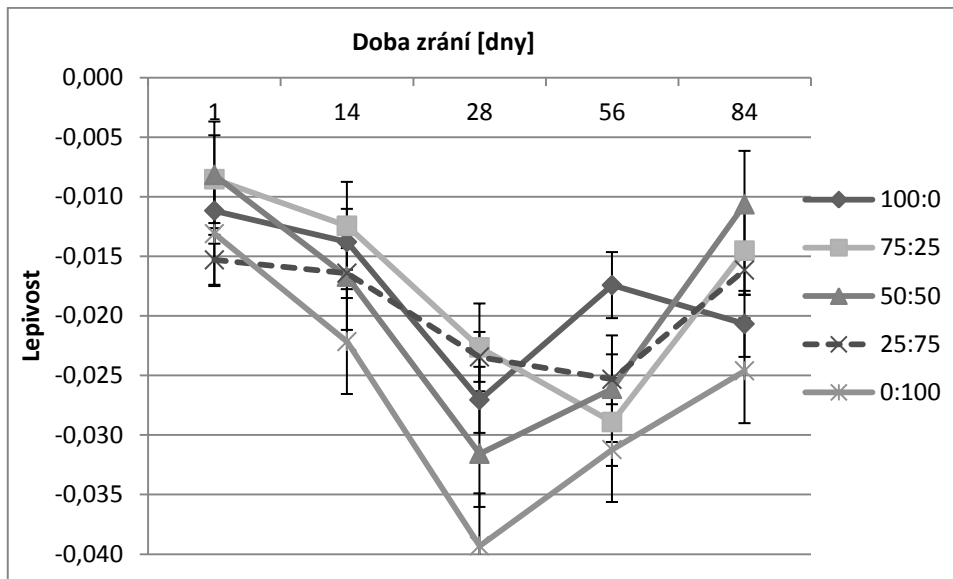


Obr. 7: Vývoj soudržnosti v průběhu zrání

6.2.3 Lepivost

Posledním sledovaným parametrem texturního profilu byla lepivost. Z grafu získaného jako výstup z textuometru byla v našem případě vyjádřena jako poměr ploch A3/A1. V tomto případě se lepivost vyjadřuje jako bezrozměrná veličina. Lepivost byla v každém odběrovém dni měřena ze dvou bloků sýrů stejné šarže. Získané výsledky jsou průměrem těchto dvou odběrů a jsou zobrazeny na Obrázku 8.

Lepivost u všech vzorků klesala přibližně do poloviny sledované doby zrání a poté začala opět narůstat. Nízkých hodnot dosahovaly vzorky 0:100, 50:50 a 100:0 ve 28. dni a vzorky 25:75 a 75:25 v 56. dni. Dále až do 84. dne lepivost u všech vzorků rostla s výjimkou vzorku 100:0, u kterého byl pozorován mírný pokles.



Obr. 8: Vývoj lepivosti v průběhu zrání

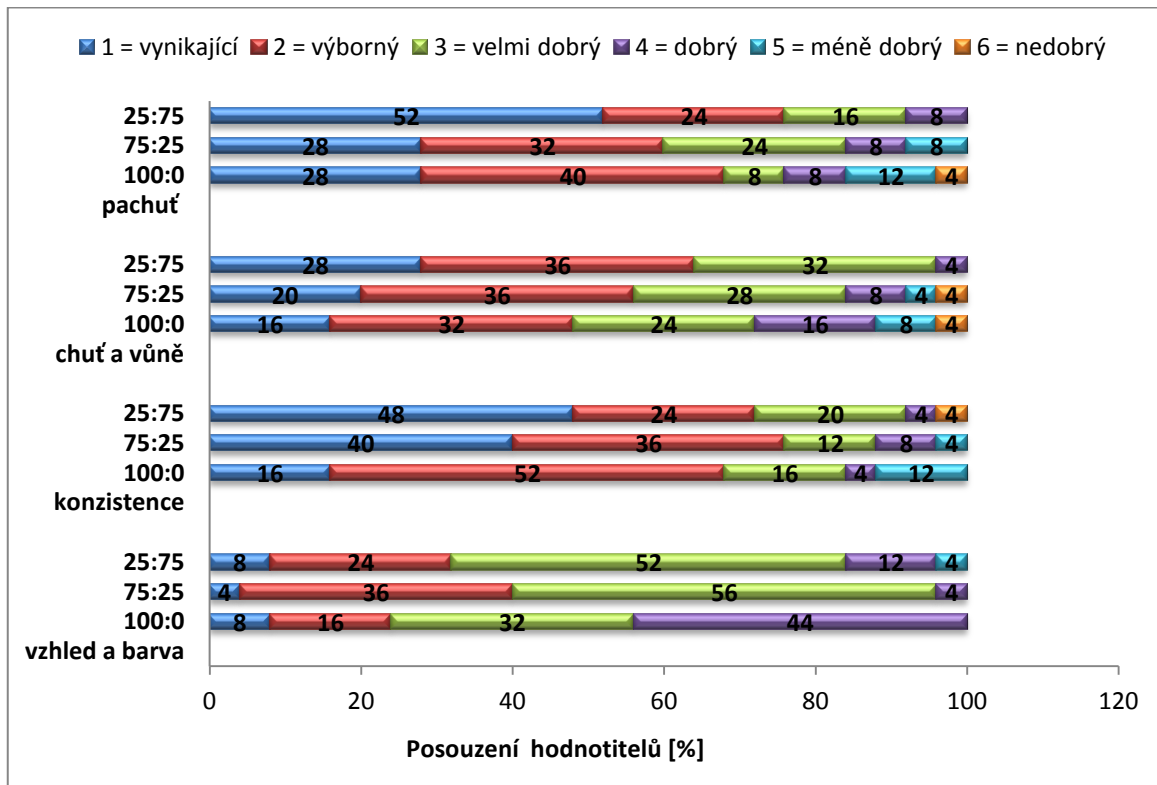
6.3 Senzorická analýza

Hodnocení se zúčastnilo 25 studentů Fakulty technologické UTB ve Zlíně oboru Technologie potravin. Vzorky byly hodnoceny stupnicovou metodou, kdy bylo hodnotiteli každému sledovanému parametru u jednotlivých vzorků přiřazeno číslo dle přiložené hédonické stupnice. Hédonické stupnice se pro každý parametr skládaly ze sedmi bodů, kdy 1 = vynikající, 2 = výborný, 3 = velmi dobrý, 4 = dobrý, 5 = méně dobrý, 6 = nedobrý a 7 = nepříjemný. Dále bylo provedeno hodnocení pořadovým preferenčním testem, kdy hodnotitelé seřadili vzorky dle osobní preference. Následovalo slovní zhodnocení jednotlivých vzorků.

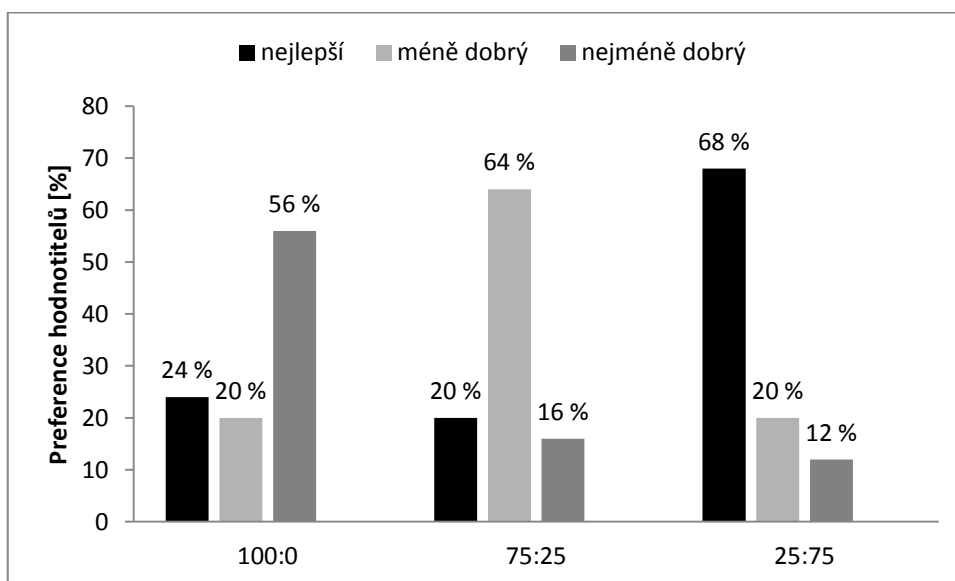
Z hodnocení pomocí hédonických stupnic byl vytvořen graf (Obrázek 9) s procentuálním vyjádřením četností hodnocení jednotlivých znaků. Hodnoty ve sloupcích jsou uvedeny v % z celkového počtu 25 hodnotitelů. Je možné zde vyčíst, jaké hodnocení od 1 do 7 dle přiložené hédonické stupnice přiřadil konkrétní procentuální poměr hodnotitelů jistému sledovanému znaku u jednotlivých vzorků.

Hodnocení pořadovým preferenčním testem je vyjádřeno na Obrázku 10. Nejpreferovanějším vzorkem byl dle hodnocení vzorek sýrů v kombinaci 25:75 s minoritním přídavkem kozího mléka, 68 % hodnotitelů jej označilo jako nejlepší, 20 % jako méně dobrý a 12 % jako nejméně dobrý. Vzorek 75:25 byl označen jako nejlepší 20 % hodnotitelů, jako méně dobrý 64 % hodnotitelů a hodnocení nejméně dobrý mu bylo přiřazeno 16 % hodnotitelů.

Nejméně preferovaným vzorkem byl vzorek 100:0 vyrobený z čistě kozího mléka, který jako nejméně dobrý označila nadpoloviční většina hodnotitelů.



Obr. 9: Procentuální vyjádření četností hodnocení jednotlivých organoleptických znaků po 84 dnech zrání



Obr. 10: Hodnocení vzorků pořadovým preferenčním testem po 84 dnech zrání

Při slovním zhodnocení uváděli hodnotitelé u vzorku 100:0 nejčastěji výraznější kozí aroma, které bylo některými hodnoceno jako příjemné a vzorek preferovali před ostatními, jiní naopak tuto vlastnost hodnotili záporně. Dále také hodnotitelé u tohoto vzorku uváděli jemnou konzistenci s příjemnou lehkou písčitostí. Vzorek 75:25 byl hodnocen jako vyváženější, s jemnějším aroma. U vzorku 25:75 někteří hodnotitelé dokonce uvedli, že kozí aroma je téměř nezatelné. Dále zhodnotili konzistenci tohoto vzorku jako jemnější a krémovější než u předešlých vzorků.

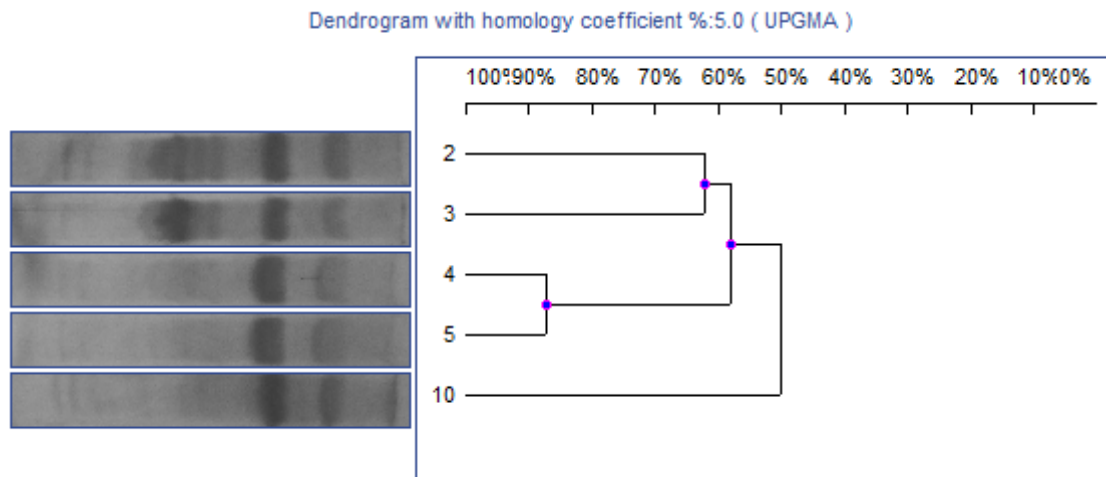
Ze získaných výsledků je možné vyvodit, že sýry vyrobené s vyšším poměrem kozího mléka nemusí být preferovány všemi spotřebiteli. Stále jsou tyto výrobky ještě částí konzumentů vnímány jako netypické a jejich specifické organoleptické vlastnosti nemusí být každým upřednostňovány.

6.4 Proteinový profil

Metodou SDS-PAGE byly získány proteinové profily jednotlivých vzorků v průběhu zrání. Výsledky byly vyhodnoceny metodou hierarchického shlukování, jejímž výstupem jsou dendrogramy, získané zpracováním fotografií gelů v programu Bio1D. Z dendrogramů je možno pomocí klastrů, které tvoří vzorky s určitou podobností, vyčíst procentuální míru shody proteinových profilů těchto vzorků.

6.4.1 Odběr po prokysání

Na Obrázku 11 je znázorněn dendrogram vzorků po prokysání (1. den zrání). Z dendrogramu je patrné, že proteinové profily vzorků se liší. Sýry vyrobené čistě z kozího mléka (vzorek 100:0) vykazovaly podobnost pouze ze 62 % se vzorky s minoritním přídavkem kravského mléka (vzorek 75:25). Největší podobnosti dosáhly vzorky s vyrovnaným poměrem druhových mlék a s minoritním přídavkem mléka kozího (vzorky 50:50, 25:75). Tyto vzorky vytvořily samostatný shluk a měly shodu z 87 % (Tabulka 8). Sýry vyrobené čistě z kravského mléka vytvořily oddělenou skupinu od ostatních vzorků. Na základě výsledků lze usoudit, že i nižší přídavek kravského mléka ke kozímu se výrazně promítne v proteinovém profilu kozího sýra ihned po prokysání. Naopak minoritní přídavek kozího mléka ke kravskému pravděpodobně ve větší míře neovlivní proteinový profil prokysaného sýra.



Obr. 11: Shluková analýza sýrů po prokysání (1. den od výroby). Číselné označení (vzorek): 2 (100:0), 3 (75:25), 4 (50:50), 5 (25:75), 10 (0:100)

Tab. 8: Podobnost vzorků (%) po prokysání (1. den od výroby)

	100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
100:0	100				
75:25	62	100			
50:50	66	25	100		
25:75	50	42	87	100	
0:100	50	57	25	28	100

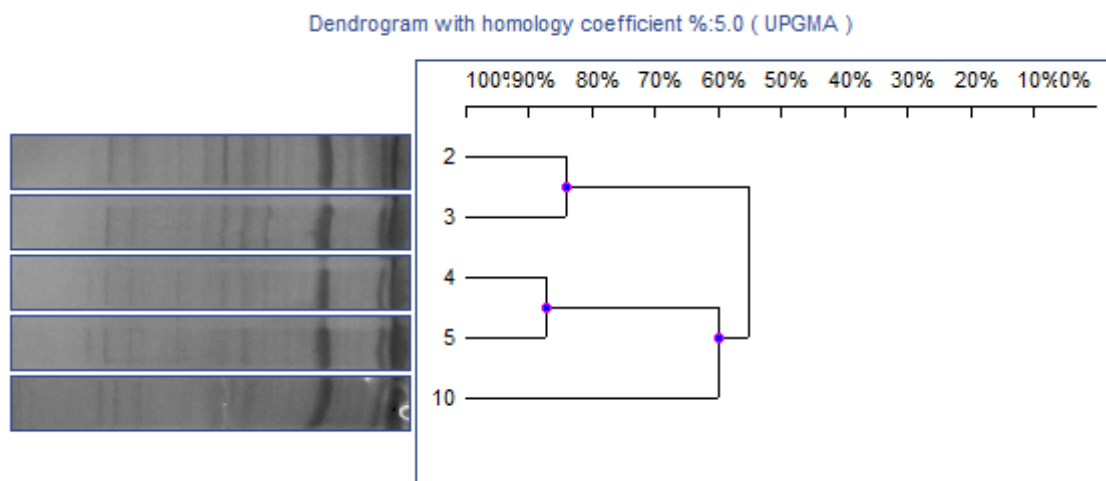
6.4.2 Odběr po 14 dnech zrání

Tabulka 9 znázorňuje proteinové profily vzorků po 14 dnech zrání. Z výsledků je patrné, že byly zaznamenány proteiny o molekulových hmotnostech v rozmezí od 7,04 do 89,40 kDa v počtu 11 – 17 bandů. U vzorků s převahou kozího mléka (vzorky 100:0, 75:25) byly detekovány proteiny o velikosti 7,83 – 69,94 kDa v počtu 11 – 15 bandů. U vzorků s majoritním obsahem kravského mléka a vzorku s vyrovnaným poměrem druhových mlék (vzorky 0:100, 25:75 a 50:50) pak byly stanoveny proteiny o velikosti 7,04 – 89,40 kDa v počtu 12 – 17 bandů.

Tab. 9: Proteinové profily v průběhu zrání (14. den od výroby), molekulová hmotnost v kDa

100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
67,86	69,94	89,40	89,40	78,11
54,66	55,56	70,55	72,43	63,50
41,95	39,33	56,48	56,48	52,20
39,33	38,02	39,63	50,84	32,23
37,66	34,53	31,16	39,55	29,61
34,00	31,10	27,93	30,64	27,09
30,76	28,06	25,34	27,66	20,26
27,97	25,26	23,13	25,42	19,64
25,18	20,31	21,84	24,07	18,54
23,16	11,72	20,38	22,99	17,01
20,21	7,83	19,68	21,84	12,82
18,61		18,75	20,38	7,04
15,35		17,13	19,73	
11,72		12,50	19,10	
7,83		8,36	17,45	
			12,92	
			7,83	

Jak je patrné z dendrogramu (Obrázek 12) i z Tabulky 10, ve 14. dni zrání vzorky s převahou kozího mléka (100:0, 75:25) opět vytvořily samostatný shluk, tentokrát již s vyšší podobností a to 84 %. Vzorky s vyrovnaným obsahem druhových mlék (50:50) a s minoritním obsahem kozího mléka (25:75) měly dokonce podobnost 87 %. Vzorek 0:100 vyrobený čistě z kravského mléka byl potom podobný z 60 – 62 % vzorkům s vyrovnaným obsahem druhových mlék (50:50) a s minoritním obsahem kozího mléka (25:75). Vzorky 100:0 a 0:100 vyrobené z čistě druhového mléka měly podobnost výrazně nižší a to jen z 53 %, což lze vyčíst také z Obrázku 12, kde je opět vzorek 0:100 znázorněn v oddělené skupině od ostatních vzorků.



Obr. 12: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (14. den od výroby). Číselné označení (vzorek): 2 (100:0), 3 (75:25), 4 (50:50), 5 (25:75), 10 (0:100).

Tab. 10: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (14. den od výroby)

	100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
100:0	100				
75:25	84	100			
50:50	60	53	100		
25:75	56	57	87	100	
0:100	53	38	60	62	100

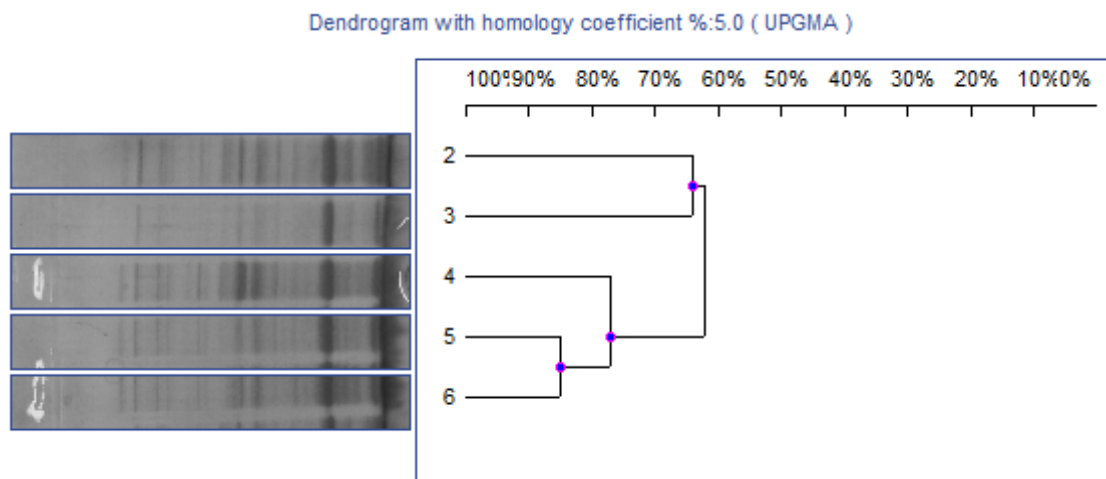
6.4.3 Odběr po 28 dnech zrání

Tabulka 11 znázorňuje proteinové profily vzorků po 28 dnech zrání. Byly detekovány proteiny o molekulových hmotnostech v rozmezí od 7,71 do 92,31 kDa v počtu 11 – 20 bandů. U vzorků s majoritním obsahem kozího mléka (vzorky 100:0, 75:25) byly stanoveny proteiny o velikosti 7,71 – 85,03 kDa v počtu 11 – 20 bandů, u vzorků s majoritním obsahem kravského mléka a vzorku s vyrovnaným poměrem druhových mlék (vzorky 0:100, 25:75 a 50:50) proteiny o velikosti 10,39 – 92,31 kDa v počtu 16 – 19 bandů.

Tab. 11: Proteinové profily v průběhu zrání (28. den od výroby), molekulová hmotnost v kDa

100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
85,03	70,93	90,47	92,31	92,31
68,74	56,26	73,22	74,41	74,01
55,22	38,50	57,11	57,96	57,96
49,86	35,16	51,78	52,57	52,57
42,74	31,67	43,65	51,78	41,22
39,98	28,55	40,78	40,96	39,37
38,50	25,61	39,20	39,28	32,47
34,84	20,49	35,57	32,17	31,39
33,74	19,11	31,46	31,53	25,88
31,25	12,50	28,78	28,66	23,27
28,33	9,24	25,77	26,03	22,23
25,25		24,70	24,75	20,58
23,18		23,53	23,40	19,55
20,54		22,27	20,53	18,14
20,35		20,49	20,06	14,17
19,00		19,39	19,66	10,55
16,04		10,39	18,74	
14,29			14,05	
12,07			10,39	
7,71				

Z Obrázku 13, který prezentuje shlukovou analýzu sýrů po 28 dnech zrání je patrné, že vzorek vyrobený čistě z kozího mléka (100:0) tvořil se vzorkem 75:25 shluk o podobnosti pouze 64 %. Dle Tabulky 12 je podobnost intenzity proteolýzy nejvyšší (85 %) u vzorku z čistě kravského mléka a vzorku s minoritním přídavkem kozího mléka (0:100 a 25:75). S těmito dvěma vzorky vytvořil oddělený shluk také vzorek s vyrovnanou kombinací druhových mlék (50:50) s podobností 77 – 78 %. Podobnost vzorků vyrobených z čistého druhového mléka (100:0 a 0:100) je obdobně jako v předchozích odběrech pouze 55 %.



Obr. 13: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (28. den od výroby). Číselné označení (vzorek): 2 (100:0), 3 (75:25), 4 (50:50), 5 (25:75), 6 (0:100)

Tab. 12: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (28. den od výroby)

	100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
100:0	100				
75:25	64	100			
50:50	64	64	100		
25:75	66	53	77	100	
0:100	55	51	78	85	100

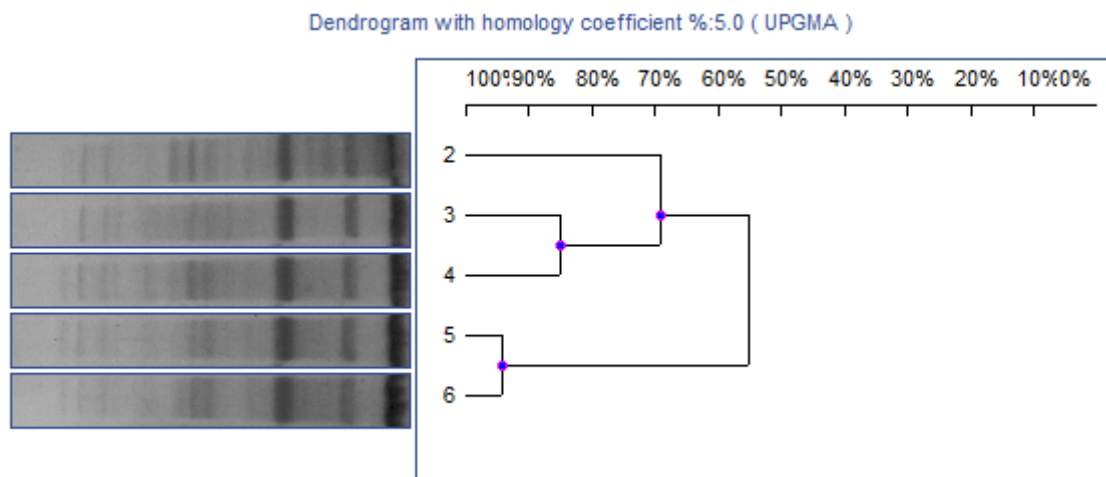
6.4.4 Odběr po 56 dnech zrání

Proteinové profily vzorků po 56 dnech zrání jsou znázorněny v Tabulce 13. Byly stanoveny proteiny o molekulových hmotnostech v rozmezí od 5,74 do 95,06 kDa v počtu 9 – 14 bandů. U vzorků s převahou kozího mléka (vzorky 100:0, 75:25) byly identifikovány proteiny o velikosti 5,74 – 72,63 kDa v počtu 10 – 14 bandů. U vzorků s majoritním obsahem kravského mléka a vzorku s vyrovnaným poměrem druhových mlék (vzorky 0:100, 25:75 a 50:50) pak proteiny o velikosti 5,74 – 95,06 kDa v počtu 9 – 11 bandů.

Tab. 13: Proteinové profily v průběhu zrání (56. den od výroby), molekulová hmotnost v kDa

100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
69,73	72,63	93,90	93,90	95,06
55,32	56,54	73,29	75,67	75,67
49,36	51,21	57,16	57,57	58,41
40,21	40,87	50,28	41,04	31,05
34,77	31,11	40,87	30,92	28,42
31,11	28,13	35,44	28,49	24,14
28,64	26,26	31,50	24,45	20,96
26,55	20,45	28,60	20,49	12,55
24,53	11,89	20,45	12,60	6,08
20,27	5,74	12,07	5,93	
17,33		5,74		
14,91				
12,12				
6,26				

Jak je patrné z dendrogramu (Obrázek 14) i z Tabulky 14, podobnost vzorků v 56. dni zrání má opět velmi obdobnou tendenci jako v předešlých dnech zrání. Největší podobnosti v proteinovém profilu dosahují vzorky vyrobené s převahou kravského mléka (0:100, 25:75) a to dokonce z 94 %, přičemž vytvořily samostatný shluk od ostatních vzorků sýrů. Dále byla zaznamenána 85% podobnost mezi vzorky 50:50 a 25:75 a stejná podobnost, tedy opět 85 % mezi vzorky 75:25 a 50:50. Jak je patrné z Tabulky 14, podobnost proteinového profilu vzorku 100:0 ze 100% kozího mléka se se zvyšujícím se přidavkem mléka kravského snižovala ze 75 % až na 58 % (ve srovnání se vzorky 75:25, 50:50 a 25:75). Také po 56 dnech byla podobnost proteinových profilů sýrů vyrobených z čistě druhových mlék (100:0 a 0:100) obdobná jako v předchozích odběrech (52 %).



Obr. 14: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (56. den od výroby). Číselné označení (vzorek): 2 (100:0), 3 (75:25), 4 (50:50), 5 (25:75), 6 (0:100)

Tab. 14: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (56. den od výroby)

	100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
100:0	100				
75:25	75	100			
50:50	64	85	100		
25:75	58	70	85	100	
0:100	52	52	70	94	100

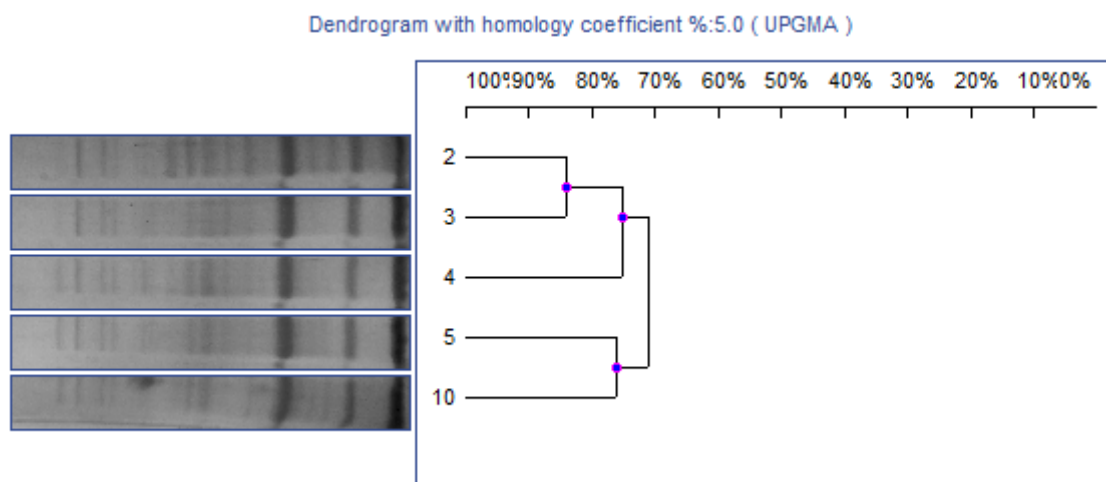
6.4.5 Odběr po 84 dnech zrání

Z tabulky proteinových profilů po 84 dnech zrání (Tabulka 15) lze vyčíst, že byly stanoveny proteiny o molekulových hmotnostech v rozmezí od 6,60 do 88,83 kDa v počtu 11 – 15 bandů. U vzorků s převahou kozího mléka (100:0, 75:25) byly stanoveny proteiny o velikosti 6,60 – 70,28 kDa v počtu 11 – 15 bandů, u vzorků s majoritním obsahem kravského mléka a vzorku s vyrovnaným poměrem druhových mlék (0:100, 25:75 a 50:50) pak proteiny o velikosti 7,18 – 88,83 kDa v počtu 13 – 14 bandů.

Tab.15: Proteinové profily v průběhu zrání (84. den od výroby), molekulová hmotnost v kDa

100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
69,97	70,28	88,83	88,47	87,36
55,52	55,52	70,59	71,21	69,67
49,63	50,00	56,35	56,35	57,61
40,38	40,46	49,63	49,44	50,19
38,45	38,69	40,71	40,30	31,20
34,71	31,01	35,00	39,17	28,27
31,46	28,64	31,33	30,70	23,62
28,60	26,06	28,44	28,31	20,46
26,02	20,04	26,34	20,15	18,77
23,98	12,76	23,82	17,00	17,43
19,81	6,60	22,36	15,97	15,77
17,39		20,15	12,94	12,94
15,13		12,76	7,33	8,73
12,37		7,18		
6,65				

Podobnost proteinového profilu jednotlivých vzorků v 84. dni zrání je možno vyčíst z dendrogramu na Obrázku 15 a z Tabulky 16. Je patrné, že také po 84. dnech zrání je vzorek 100:0 nejvíce podobný vzorku 75:25, a to z 84 %. Podobnost vzorku 100:0 má klesající tendenci se vzorky s přibývajícím obsahem kravského mléka (50:50, 25:75 a 0:100). I v posledním odběrovém dni se tedy potvrdilo, že podobnost proteinového profilu je závislá na druhu mléka použitého ve výrobcích.



Obr. 15: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (84. den od výroby). Číselné označení (vzorek): 2 (100:0), 3 (75:25), 4 (50:50), 5 (25:75), 10 (0:100)

Tab. 16: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (84. den od výroby)

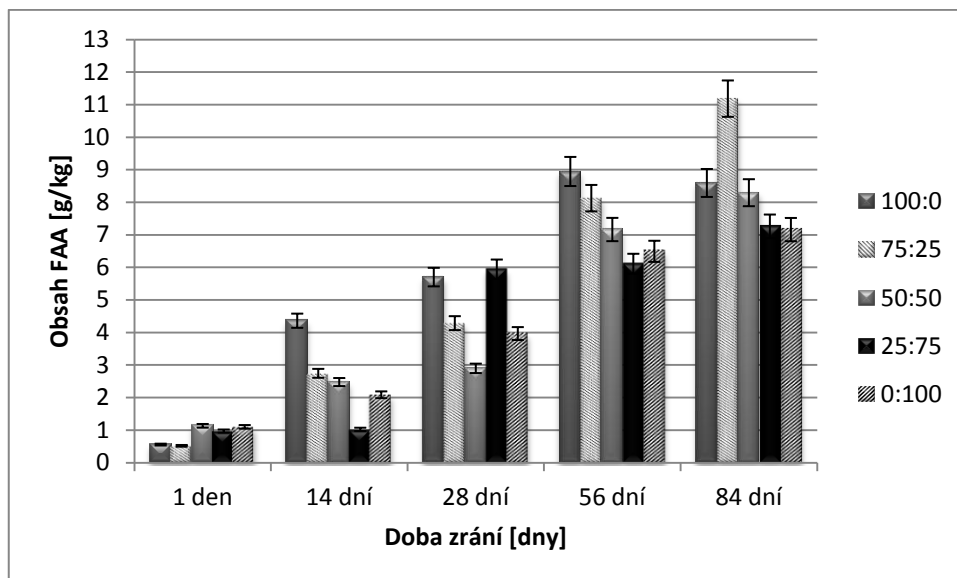
	100:0	75:25	50:50	25:75	0:100
100:0	100				
75:25	84	100			
50:50	75	72	100		
25:75	71	75	74	100	
0:100	71	58	66	76	100

6.5 Analýza volných aminokyselin

Volné aminokyseliny (FAA) jsou konečným produktem proteolýzy a současně markrem zrání. V průběhu zrání se typicky jejich obsah zvyšuje. Jejich vyšší obsah poukazuje na intenzivnější proteolýzu kaseinové matrice. V průběhu zrání jsou FAA dále odbourávány na jednodušší látky, z nichž je řada sensoricky aktivních a hraje tedy významnou roli ve vývoji chuti a vůně sýrů. Hlavními prekurzory sensoricky aktivních látek jsou fenylalanin, tyrosin, tryptofan, leucin, isoleucin a valin. I samotné FAA mohou ovlivnit chuť. Fenylalanin, methionin a valin způsobují příchut' nahořklou, kyselina asparagová a glutamová kyselou, leucin a glycin potom nasládlou příchut'. [13, 51, 55]

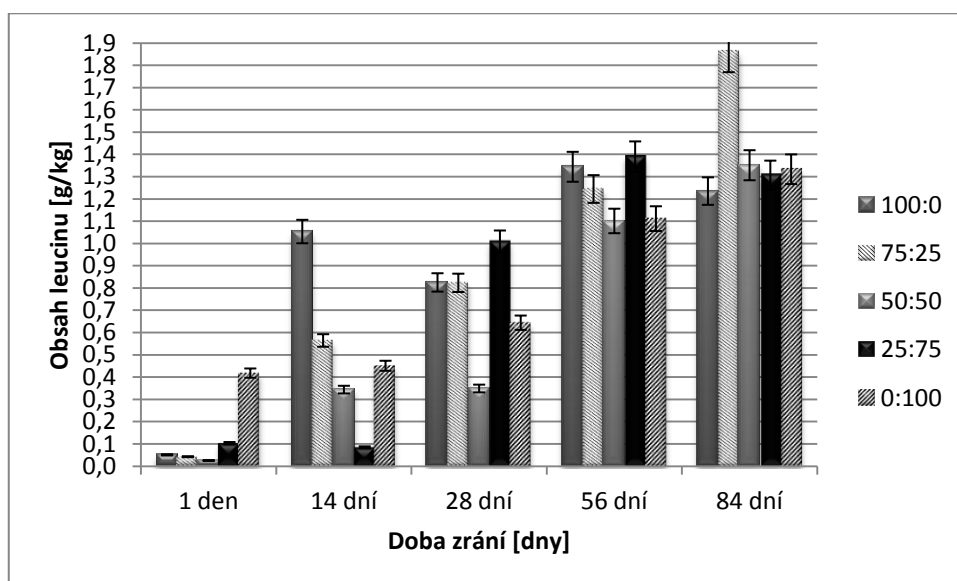
Výsledky jsou vyjádřeny jako celkový součet jednotlivých FAA a jejich derivátů, tento vývoj je vyjádřen na Obrázku 16. Dále byly jako reprezentativní FAA vybrány leucin a methionin, vývoj jejich obsahu v průběhu zrání je zaznamenán v Obrázcích 17 a 18.

Jak je patrné z grafu (Obrázek 16) celkový obsah FAA v průběhu zrání u všech vzorků narůstal. V prvním odběrovém dni byl obsah FAA u všech vzorků v rozmezí přibližně 0,5 – 1,1 g/kg čerstvé hmoty sýra. V posledním odběrovém dni byl potom obsah v rozmezí 7,2 – 11,2 g/kg. Nejvyšší obsah byl po třech měsících zrání zaznamenán u vzorku 75:25 a to již zmíněných 11,2 g/kg. Druhý nejvyšší obsah byl po třech měsících zrání zaznamenán u vzorku 100:0 z čistě kozího mléka, kdy jako u jediného vzorku byl v posledním odběrovém dni obsah mírně nižší než po 56 dnech zrání.



Obr. 16: Vývoj celkového obsahu FAA v průběhu zrání

Nejvýznamnější FAA z hlediska obsahu byl leucin, který lze považovat podle Pinho *et al.* [57] za indikátorovou a reprezentativní FAA. Vývoj obsahu je uveden na Obrázku 17. V průběhu zrání obsah několikanásobně vzrostl. V prvním dni zrání byly u vzorků s obsahem kozího mléka jeho hodnoty v rozmezí 0,02 – 0,10 g/kg čerstvé hmoty sýra. U vzorku z čistě kravského mléka byla hodnota v prvním dni zrání přibližně 0,40 g/kg. Ke konci experimentu se obsah leucinu zvýšil u všech vzorků na 1,23 – 1,86 g/kg. Nejvyšší obsah leucinu v posledním dni zrání vykazoval vzorek 75:25 (1,86 g/kg).



Obr. 17: Obsah leucinu v průběhu zrání (vybraná reprezentativní FAA)

7 SOUHRNNÁ DISKUSE

Vzorky sýrů holandského typu vyrobené z různých poměrů kozího a kravského mléka byly v průběhu zrání skladovány za stejných podmínek. V různých stupních zralosti byly odebírány a podrobeny základní chemické analýze, texturní profilové analýze, analýze proteinového profilu pomocí SDS-PAGE a analýze FAA. Smyslem práce bylo srovnat vliv různé kombinace druhových mlék na tyto vlastnosti v průběhu tří měsíčního skladovacího experimentu.

Základní chemickou analýzou, kdy byla provedena analýza obsahu sušiny, pH a obsahu soli, nebyl pozorován výrazný rozdíl mezi vzorky vyrobenými z odlišného druhu mléka.

Hodnoty obsahu sušiny v průběhu tří měsíců zrání u všech vzorků mírně vzrostly. Nejvyšší obsah sušiny byl v posledním dni experimentu zaznamenán u vzorku 0:100, dále potom u vzorku 50:50 a 25:75, zde byly naměřeny hodnoty v rozmezí 51,94 – 52,64 %. U vzorků s převahou kozího mléka 100:0 a 75:25 byl obsah sušiny v posledním odběrovém dni zaznamenán mírně nižší, v rozmezí 50,42 – 51,01 %.

Hodnoty pH u všech vzorků v průběhu 28 dní zaznamenaly pokles, kdy nejnižší pokles byl zaznamenán u vzorku 100:0. K 56. dni zrání došlo u všech vzorků opět k nárůstu pH, který mohl být způsoben účinkem nezákysových BMK, které mohou oxidovat laktát na acetát a CO₂. [56] Při proteolýze dochází k uvolňování látek zásadité povahy, což může přispívat ke zvyšování pH. [54] K poslednímu odběrovému dni se pH u všech vzorků opět snížilo. Téměř srovnatelných hodnot dosáhly v posledním dni experimentu vzorky 100:0, 25:75 a 0:100 (pH 4,66, 4,67, 4,65). Mírně vyšší oproti tomu bylo v posledním dni naměřeno pH u vzorku 50:50 (pH 4,76) a naopak nižší u vzorku 75:25 (pH 4,57).

Hodnoty obsahu soli byly v experimentu analyzovány až od 14. dne zrání, jelikož v prvním odběrovém dnu se analyzovaly vzorky před nasolením. Zjištěné hodnoty byly téměř srovnatelné, mírně nižší obsah soli byl zaznamenán u vzorků 25:75 a 50:50.

Texturní profilovou analýzou byl zjištěn netypický trend vzrůstu pevnosti u všech vzorků do 56. dne zrání, u vzorků 50:50 a 25:75 poté pevnost k poslednímu dni zrání mírně poklesla, u ostatních vzorků byl trend vývoje pevnosti i nadále vzrůstající. Růst pevnosti mohl být patrně způsoben bobtnáním proteinové matrice o čemž hovoří i Fox et al. [54] Například Pachlová [58] ve své práci popisuje růst pevnosti zhruba do 16. dne zrání a poté klesající trend. Pokles pevnosti pozoroval také Topcu et al. [40]

Zvyšování pevnosti sýrů v průběhu skladování je možné hledat ve zvýšené propustnosti zvoleného obalového materiálu pro vodní páru [59], což se mohlo projevit v mírném zvýšení obsahu sušiny. V konečném důsledku by pak došlo k navýšení pevnosti sýrů. Nicméně obsah sušiny byl v průběhu skladovacího experimentu vyrovnaný a nelze předpokládat intenzivní vliv tohoto faktoru na texturní vlastnosti sýrů. Pevnost je také ovlivněna teplotou vzorku. Se snižující se teplotou dochází u potravin obecně k nárůstu pevnosti, což uvádí i Al-Otabi et al. [60]. Sýry určené k podrobení texturní profilové analýze však byly před vlastním měřením temperovány pro eliminaci tohoto faktoru.

Vývoj soudržnosti vzorků měl u vzorku 100:0 klesající tendenci v celém průběhu experimentu. U vzorků 50:50, 25:75 a 0:100 byla klesající tendence soudržnosti zaznamenána až do 56. dne zrání a poté u těchto vzorků k 84. dni zrání vzrostla. U vzorku 75:25 soudržnost klesala do 28. dne zrání a dále byl zaznamenán u tohoto vzorku vzrůstající trend.

Posledním zkoumaným parametrem měřeným na základě texturní profilové analýzy byla lepivost. Lepivost klesala u všech vzorků přibližně do poloviny experimentu a dále byl trend tohoto parametru opět vzrůstající. U vzorku 100:0 byl jako u jediného vzorku sledován mírný pokles v posledním odběrovém dni.

Při sensorické analýze byly testovány vzorky 100:0, 75:25 a 25:75. Hodnocenými parametry byly vzhled a barva, konzistence, chuť a vůně a dále výskyt pachuti. Nejlépe si při tomto hodnocení stál vzorek 25:75 s minoritním přídatkem kozího mléka. Při slovním hodnocení vzorků uváděli hodnotitelé nejčastěji výraznější kozí aroma u vzorku 100:0, které bylo v některých případech ovšem hodnoceno i jako pozitivní faktor. Dalším častým komentářem bylo, že vzorek 25:75 měl jemnější a krémovitější konzistenci, někteří z hodnotitelů dokonce popsali, že kozí aroma zde nebylo téměř patrné. U vzorku 75:25 bylo slovním zhodnocením vyzvednuto jemnější kozí aroma a lepší celková vyváženost vzorku. I přes narůstající oblíbenost výrobků z kozího mléka toto při sensorické analýze nebylo nepotvrzeno. Důvodem je patrně to, že část konzumentů stále tyto výrobky vnímá jako méně typické a jejich specifické organoleptické vlastnosti na rozdíl od jiných nepřednostňují.

Analýzou proteinového profilu ihned po prokysání bylo zjištěno, že vzorek 0:100 vyrobený čistě z kravského mléka vytvořil při shlukové analýze naprosto samostatnou skupinu ve srovnání s jinými vzorky. Z výsledků bylo patrné také to, že i při nejnižším přídatku kravského mléka ke kozímu se na začátku zrání tento přídatek výrazně promítá v proteinovém

profilu. Vzorky 100:0 a 75:25 vykazovaly v prvním odběrovém dni podobnost 62 %. Ve 14. dni zrání se již vzorky 100:0 a 75:25 podobali více a to z 84 %, vzorky 50:50 a 25:75 si byly podobné ještě více a to z 87 %. Naopak vzorek 0:100 se od ostatních vzorků lišil a po vyhodnocení shlukovou analýzou tvořil samostatnou skupinu. Podobnost vzorků 100:0 a 0:100 z čistě druhových mlék byla pouze 53 %. Po měsíci zrání se podobností proteinového profilu k sobě začaly více blížit vzorky s převahou kravského mléka. Naopak podobnost vzorku 100:0 se s ostatními vzorky začala snižovat. Podobnost vzorků z čistě druhových mlék byla po měsíci zrání podobná jako v předešlém odběrovém dni a činila 55 %. Po 56 dnech zrání byla podobnost vzorků 0:100 a 25:75 ještě výraznější, než v předešlém odběrovém dni. Podobnost vzorků 100:0 a 75:25 se opět zvýšila na 75 % a v podobnosti vzorků z čistě druhových mlék byl trend téměř neměnný, kdy si tyto vzorky byly podobné pouze z 52 %. V posledním odběrovém dni, tedy po 84 dnech zrání byla nejvyšší podobnost zaznamenána u vzorků 100:0 a 75:25 (84 %) a dále u vzorků 0:100 a 25:75 (76 %). Podobnost vzorků z čistě druhového mléka v tomto odběrovém dni byla zaznamenána již vyšší oproti předešlým odběrovým dnům a dosahovala hodnoty 71 %. Celkově se podobnost vzorků v posledním odběrovém dni více vyrovnala.

V první fázi proteolýzy je kaseinová matrice štěpena pomocí chymosinu a plazminu, dále dochází k hydrolyze vzniklých středně dlouhých polypeptidů za vzniku kratších peptidů. Tyto jsou následně intracelulárně hydrolyzovány pomocí endopeptidáz či exopeptidáz pocházejících z BMK a nezákysových BMK. Endopeptidázy hydrolyzují vazby uvnitř řetězce za vzniku peptidů různé velikosti. Exopeptidázy z polypeptidického řetězce odštěpují pouze koncové aminokyseliny, které jsou poté v sýrech analyzovány jako volné aminokyseliny. [46, 58]

Získané výsledky analýzy celkového obsahu FAA potvrzují typický jev, kdy se obsah FAA v průběhu zrání zvyšuje. [13, 51, 55] Nejvyšší nárůst byl zaznamenán u vzorků 75:25 a 100:0. Lze tedy usuzovat, že intenzita proteolýzy je nejvyšší u sýrů s převahou kozího mléka, což potvrzuje i trend, který byl pozorován u vzorku 0:100, u kterého došlo v průběhu tří měsíčního experimentu k nejnižšímu nárůstu FAA. Vyšší obsah FAA poukazuje na intenzivnější proteolýzu kaseinové matrice, čemuž Lawrence at al. [56] přisuzují i vliv na měkčí texturu sýrů. Měknutí textury sýrů se ovšem v našem experimentu při texturní profilové analýze nepotvrdilo.

8 ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na vliv různé kombinace druhových mlék, konkrétně mléka kozího a kravského, na vlastnosti sýrů holandského typu v průběhu zrání. V teoretické části práce byla proto pozornost věnována specifickým vlastnostem kozího mléka a byly popsány procesy probíhající u sýrů v průběhu jejich zrání.

Praktická část práce byla zaměřena na založení 3 měsíčního zráního experimentu, pro který byly vyrobeny modelové vzorky holandských sýrů s různými poměry druhových mlék. V průběhu zrání byly odebírány vzorky a prováděny analýzy.

Provedeny byly tyto analýzy:

- Základní chemická analýza (stanovení obsahu soli, sušiny, pH)
- Texturní profilová analýza (pevnost, soudržnost, lepivost)
- Proteinový profil vzorků pomocí SDS PAGE
- Analýza volných aminokyselin (FAA)

Dále byly v praktické části práce vyrobeny vzorky pro sensorickou analýzu, které byly po třech měsících zrání předloženy 25 hodnotitelům k psouzení. Byla hodnocena preference vzorků pořadovým preferenčním testem a dále bylo provedeno hodnocení stupnicovou metodou, kdy byly hodnoceny parametry:

- Vzhled a barva
- Konzistence
- Chuť a vůně
- Pachůť

Z výsledků je patrné, že sýry vyrobené z různých druhů mlék mají odlišné vlastnosti. Použitý druh mléka má v průběhu zrání vliv především na intenzitu proteolýzy, což se následně projevuje i na organoleptických vlastnostech.

Z experimentu vplynuly tyto výsledky:

- Vývoj pH odpovídal běžným biochemickým procesům probíhajícím v průběhu zrání u sýrů holandského typu
- Obsah sušiny u vzorků byl vyrovnaný a výrazně nekolísá, pouze u vzorku 75:25 byl nižší, což bylo patrně způsobeno nedolisoáním vzorků

- V průběhu texturní profilové analýzy byl pozorován nezvyklý vývoj pevnosti vzorků, který rostl u všech vzorků téměř až do konce experimentu
- Intenzita proteolýzy byla nejmarkantnější u vzorků s převahou kozího mléka – nejvyšší intenzita byla zaznamenána u vzorku 75:25 a dále sestupně u vzorků 100:0 a 50:50.
- Intenzivnější proteolýzou dochází ke vzniku vyššího počtu FAA, které jsou prekurzory sensoricky aktivních látek. Vzorek vyrobený z čistě kozího mléka byl panelem hodnotitelů označen za nejméně vyhovující ze třech předložených vzorků (100:0, 75:25, 25:75). Někteří z hodnotitelů, kteří mají s výrobky z kozího mléka osobní zkušenost, jej ovšem hodnotili pozitivně. Někteří z hodnotitelů uvedli, že přídavek kozího mléka ke kravskému v množství 25 % nebyl ve výsledném výrobku tolik intenzivní, někteří dokonce uvedli, že byl téměř neznatelný.

Návrhy na zpracování dalších prací zabývajících se vlivem kombinace druhových mlék:

- Posuzování rozpoznatelnosti přídavku určitého druhového mléka ve výrobcích a otázka falšování výrobků z jednodruhových mlék přídavkem levnějšího mléka jiného živočišného druhu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] FANTOVÁ, M. *Chov koz*. 3. vyd. Praha: Ve spolupráci se Svazem chovatelů ovcí a koz v ČR vydalo nakl. Brázda, 2012, 231 s., ISBN 978-80-209-0393-8.

[2] Domestikace a domácí zvířata [online]. [Cit. 11. ledna 2016].

Dostupné z: www.zoologie.frasma.cz/domestikace/domaci%20zvirata.html

[3] RÁDLOVÁ, L. *Chov ovcí a koz v ČR - historie, současnost a environmentální aspekty chovu*. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Fakulta sociálních studií. Vedoucí práce: Zbyněk Ulčák

[4] Koza domácí [online]. [Cit. 11. ledna 2016].

Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Koza_dom%C3%A1c%C3%AD

[5] BUŇKA, F., PACHLOVÁ, V., BUŇKOVÁ, L., ČERNÍKOVÁ, M. *Mlékárenská technologie I*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 258 s. ISBN 978-80-7454-254-1.

[6] DOSTÁLOVÁ, J. Kozí mléko. *Výživa*. 1994, č. 2, s. 43-44.

[7] PARK, Y.W., JUÁREZ, M., RAMOS, M., HAENLEIN, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*. 2007, svazek 68, s. 88-113

[8] GREPPI, G., RANCADA, P., FORTIN, R. 2008. Protein components of goat's milk. *Dairy goats feeding and nutrition*, 2, p. 71-94.

[9] PACHLOVÁ, V. *Studium proteinového profilu vybraných mléčných produktů*. Zlín, 2008. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Leona Buňková.

[10] MÁTLOVÁ, V., SZTANKÓOVÁ, Z. *Využití polymorfismu genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvalitativních a technologických vlastností mléka koz*.

[11] ŠNIRC, J., GOLIAN, J., HERIAN, K., BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L., ČANIGOVÁ, M. *Mlieko a mliečné výrobky: I. diel Štruktúra, bioaktívne zložky a spracovanie mlieka*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2015, 221 s. ISBN 978-80-552-1311-8.

[12] PAVELKA, A. *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Vyd. 1. Brno: Littera, 1996, 105 s. ISBN 80-85763-09-5.

- [13] ZIMÁK, E. *Technologie pro 4. ročník SPŠ studijního oboru zpracování mléka*. Praha: SNTL, 1988, 364 s. ISBN: 04-804-88
- [14] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin I*. Vyd. 3. Havlíčkův Brod: OSSIS, 2009, 602s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [15] ŠUSTOVÁ, K. Kozí mléko a jeho zpracování na sýry. Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Sloup v Moravském krasu: MAS Moravský kras, 2013, s. 21-25.
- [16] PARK, HAENLEIN, WENDORFF, 2006. Cit. podle PARK, Y.W., JUÁREZ, M., RAMOS, M., HAENLEIN, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*. Volume 68, Issues 1–2, March 2007, Pages 88–113.
- [17] SLINTÁKOVÁ, K. *Výroba polotvrdých zrajících sýrů z kozího mléka*. Zlín 2015. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Vedoucí bakalářské práce: František Buňka
- [18] DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J. *Základy potravinářských technologií*. Bratislava: Malé centrum, 1996, 512s. ISBN 80-967064-1-1.
- [19] JAUBERT, A. Les vitamines et les nucléotides du lait de chèvre. In: *Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre*, Ed INRA, Paris, Colloques 7 nov 1996, pp. 81–92.
- [20] PACCARD, P., LAGRIFFOUL, G., 2006a. Synthèse bibliographique sur la composition du lait de brebis en composés d'intérêt nutritionnel. *Personal communication*, 28 pp.
- [21] PACCARD, P., LAGRIFFOUL, G., 2006b. Synthèse bibliographique sur la composition des fromages de brebis en composés d'intérêt nutritionnel. *Personal communication*, 24 pp.
- [22] GOPAL, P.K., GILL, H.S. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrums. *Br. J. Nutr.* 2000. 84 (1), s69–s74.
- [23] PUENTE, R., GARCIA-PARDO, L.A., RUEDA, R., GIL, A., HUESO, P. Seasonal variations in the concentration of gangliosides and sialic acids in milk from different mammalian species. *Int. Dairy J.* 6, 1996. s315–s322.
- [29] ZORNÍKOVÁ, G. Biogenní aminy v potravinách [online]. [Cit. 5. března 2016] dostupné z: <http://www.chempoint.cz/biogenni-aminy-v-potravinach>

- [30] SANTOS, C.W., SOUZA M.R., CERQUEIRA M.M.O.P., GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines formation in milk by *Lactococcus* in the presence or not of rennet and NaCl at 20 and 32°C. *Food chemistry*, 2003, vol. 84, no. 4, p. 595-606.
- [31] KOHAJDOVÁ, Z. KAROVIČOVÁ, J. GREIF, G. 2008. Biogénne amíny v potravinách. *Potravinárstvo* [online]. únor 2008, roč. 2, č. 1. s. 30 - 49. ISSN 1337-0960. [Cit. 5. března 2016]. Dostupné z: http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo_no1_2008.pdf
- [32] SHALABY, R.A. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 1996, vol. 29, no. 7, p. 675–690.
- [33] SANTOS SILLA, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 29, p. 213–231.
- [34] KOMPRDA, T., BURDYCHOVÁ, R., DOHNAL, O., CWIKOVÁ, O., SLÁDKOVÁ, P. DVOŘÁČKOVÁ, H., Tyramine production in Dutch-type semi-hard cheese from two different producers. *Food Microbiology*, 2008, vol. 25, no. 2, p. 219–227.
- [35] ZÁLEŠÁKOVÁ, L. *Monitoring obsahu biogenních aminů ve vybraných fermentovaných potravinách živočišného původu*. Zlín 2011. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Vedoucí diplomové práce: František Buňka
- [36] SOLAIMAN, S. G. *Goat science*. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2010, xviii, 425 p. ISBN 978-0-8138-0936-6.
- [37] CANNAS, A., G. PULINA a A. H. D. FRANCESCONI. *Dairy goats feeding and nutrition*. Cambridge, MA: CABI, c2008. ISBN 18-459-3348-6.
- [38] ŠUSTOVÁ, K.: *Kozí mléko a jeho zpracování na sýry, Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství (Studijní materiály)*, 2009, str. 21 – 26.
- [39] GAJDŮŠEK, S. *Laktologie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, 78 s. ISBN 80-715-7657-3.
- [40] TOPÇU, A., SALDAMLI, I. 2006. Cit. podle: PACHLOVÁ, V. *Distribuce vybraných složek v přírodním sýru v průběhu jeho zrání*. Zlín, 2011. Dizertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí dizertační práce: František Buňka.

- [41] ŠTĚTINA, J., 2012. Cit. podle: ŠPUNAROVÁ, M. Vliv typu zracího obalu na změny vybraných ukazatelů přírodního sýra holandského typu. Zlín 2014. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí diplomové práce: František Buňka.
- [42] Anonym. *SDS-PAGE* [online]. [cit. 5. března 2016]. Dostupný z: http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/EF/SDSPAGE%20kolecko.pdf.
- [43] BUŇKOVÁ, L. Elektroforéza proteinů (SDS-PAGE). *Laboratorní cvičení z molekulární biologie. Výukový materiál*. 2009/2010.
- [44] KONEČNÁ, H. *Vliv složení a kvality koziho mléka na technologii výroby sýrů*. Brno, 2015. Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Obor: Technologie potravin. Vedoucí práce: Květoslava Šustová.
- [45] ROGINSKI, H.; FUQUAY, J.W.; FOX, P.F. *Encyclopedia of dairy sciences*. London: Academic press, 2002. ISBN 0-12-227235-8.
- [46] FOX, P.F. *Cheese - chemistry, physics and microbiology*. 2004. (3rd Edition). Elsevier. ISBN 978-0-8342-1339-5. Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCCPME001/cheese-chemistry-physics>.
- [47] FOX, P.F.; McSWEENEY, P.; COGAN, T.M.; GUINEE, T.P. *Cheese: Major cheese groups*, volume 2. 3rd ed. Academic press, 2004. ISBN 978-0-1226-3653-0.
- [48] MASUI, K., JAMADA, T. *Francouzské sýry*. Vyd. 1. Slovart, 2007. 288s. ISBN: 978-80-7209-994-8.
- [49] CALLEC, CH. *Encyklopedie sýrů*. 1. vyd. Dobřejovice: Rebo Productions, 2002. 256s. ISBN 80-7234- 225-8.
- [50] ŠTĚTINA, J., NĚMCOVÁ, L., PISKA, I. 2001. Konzistence a reologické vlastnosti polotvrdých sýrů hodnocených na celostátních přehlídkách sýrů 2000. Celostátní přehlídka sýrů. Praha: Česká společnost chemická, Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii, 2001, s. 54-59.
- [51] SMIT, G., SMIT, B.A., ENGELS, W.J.M. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2005, 29(3), 591-610 [cit. 2016-04-13]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <http://femsre.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1016/j.fmre.2005.04.00>

- [52] Anonym, 2005. ČSN EN ISO 5534. 2005. Sýry a tavené sýry – stanovení obsahu celkové sušiny (referenční metoda).
- [53] INDRA, Z., MIZERA, J. 1992. *Chemické kontrolní metody pro obor zpracování mléka*. Učebnice pro střední průmyslové školy potravinářské. 1992, s. 273.
- [54] FOX, P. F., GUINEE, T. P., COGAN, T. M., McSWEENEY, P.L.H. 2000. *Fundamentals of science*. Gaithersburg: 2000. 638 p. ISBN 0-83-42-1260-9.
- [54] PACHLOVÁ, V., BUŇKA, F., CHROMEČKOVÁ, M., BUŇKOVÁ, L., BARTÁK, P., POSPÍŠIL, P. The development of free amino acids and volatile compounds in cheese 'Oloumoucke tvarůžky' (PGI) during ripening. *International Journal of Food Science and Technology*. 2013, 48, p.1868–1876.
- [55] LAWRENCE, R.C., CREAMER, L.K., GILLES, J. Symposium: Cheese ripening technology. *Journal of Dairy Science*. 1987, 70, 1748-1760.
- [56] McSWEENEY, P.L.H., SOUSA, M.J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: A review. *Lait*. 2000, 80, p.293-324.
- [57] PINHO, O., FERREIRA, I.M.P.L.V.O., MENDES, E., OLIVEIRA, B.M., FERREIRA, M. Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amine contents during storage of Azeitão cheese. *Food Chemistry*. 2001, 75, p. 287-291.
- [58] PACHLOVÁ, V. *Distribuce vybraných složek v přírodním sýru v průběhu jeho zrání*. Zlín, 2011. Dizertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí dizertační práce: František Buňka.
- [59] FLASAROVÁ, R. *Distribuce obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů v přírodním sýru eidamského typu*. Zlín, 2011. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí dizertační práce: František Buňka.
- [60] AL-OTAIBI, M.M., WILBEY, R.A. Effect of temperature and salt on the maturation of white-salted cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 2004, 57(1), p. 57-63.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BMK	bakterie mléčného kvašení
MK	mastné kyseliny
FFA	volné mastné kyseliny
FAA	volné aminokyseliny
BA	biogenní aminy
SDS-PAGE	sodium dodecylsulfát - polyakrylamidová gelová elektroforéza
SDS	dodecylsulfát sodný

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Sýrové bloky po prokysání

Obr. 2: Křivka texturní profilové analýzy

Obr. 3: Obsah sušiny v průběhu zrání

Obr. 4: Hodnoty pH v průběhu zrání

Obr. 5: Obsah soli v průběhu zrání

Obr. 6: Vývoj pevnosti v průběhu zrání

Obr. 7: Vývoj soudržnosti v průběhu zrání

Obr. 8: Vývoj lepivosti v průběhu zrání

Obr. 9: Procentuální vyjádření četností hodnocení jednotlivých organoleptických znaků po 84 dnech zrání

Obr. 10: Hodnocení vzorků pořadovým preferenčním testem po 84 dnech zrání

Obr. 11: Shluková analýza sýrů po prokysání (1. den od výroby)

Obr. 12: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (14. den od výroby)

Obr. 13: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (28. den od výroby)

Obr. 14: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (56. den od výroby)

Obr. 15: Shluková analýza sýrů v průběhu zrání (84. den od výroby)

Obr. 16: Vývoj celkového obsahu FAA v průběhu zrání

Obr. 17: Obsah leucinu v průběhu zrání (vybraná reprezentativní FAA)

SEZNAM TABULEK

Tab.1: Srovnání základních složek v kozím, kravském a mateřském mléce

Tab. 2: Obsah proteinů v kravském a kozím mléce

Tab. 3: Obsah tuku a vybraných mastných kyselin v kozím, kravském a mateřském mléce

Tab. 4: Obvyklé zastoupení minerálních látek v syrovém mléce

Tab. 5 Obsah vitaminů v kozím, kravském a mateřském mléce

Tab. 6 Kategorie AOC a podmínky výroby

Tab. 7: Charakteristické produkty mající vliv na aroma sýrů. Vznik z aminokyselin, sacharidů a tuků při zrání různých typů sýrů.

Tab. 8: Podobnost vzorků (%) po prokysání (1. den od výroby)

Tab. 9: Proteinové profily v průběhu zrání (14. den od výroby)

Tab. 10: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (14. den od výroby)

Tab. 11: Proteinové profily v průběhu zrání (28. den od výroby)

Tab. 12: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (28. den od výroby)

Tab. 13: Proteinové profily v průběhu zrání (56. den od výroby)

Tab. 14: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (56. den od výroby)

Tab.15: Proteinové profily v průběhu zrání (84. den od výroby)

Tab. 16: Podobnost vzorků (%) v průběhu zrání (84. den od výroby)

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI: Eluční program FAA

Příloha PII: Sensorický dotazník – hodnocení sýrů holandského typu.

Příloha P I: ELUČNÍ PROGRAM FAA

Time [min]	Column T[°C]	Buffer Nr.	AA Command	Note	State	Duration [min]
0.00	40	1	Inject	2,85	Running	3.00
3.00	40	2	Zero		Waiting	3.00
6.00	40	2	None	2,95	Waiting	25.00
31.00	40	2	None		Waiting	16.00
47.00	65	3	None	3,50	Waiting	18.00
65.00	65	3	None		Waiting	19.00
84.00	74	4	None	4,05	Waiting	18.00
102.00	74	5	None	4,65	Waiting	2.00
104.00	74	5	Zero		Waiting	23.00
127.00	74	5	None		Waiting	33.00
160.00	74	5	StartEquil		Waiting	19.00
179.00	74	6	None	0,3M L	Waiting	6.00
185.00	74	6	H2O		Waiting	12.00
197.00	60	1	None		Waiting	0.20
197.20	60	1	H2O		Waiting	14.80
212.00	45	1	NHD		Waiting	2.00
214.00	60	1	None		Waiting	11.00
225.00	40	1	Load		Waiting	6.00
231.00	40	1	AcqStop		Waiting	0.00

PŘÍLOHA P II:

SENZORICKÝ DOTAZNÍK – HODNOCENÍ SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU

1.) HODNOCENÍ STUPNICOVOU METODOU

Do tabulky přiřadte Vámi zvolenou hodnotu znaku dle přiložených hédonických stupnic (1 – vynikající, 7 – nepřijatelný)

Vzorek	Hodnocení vzhledu a barvy	Hodnocení konzistence	Hodnocení chuti a vůně	Hodnocení pachuti
A				
B				
C				

2.) HODNOCENÍ POŘADOVÝM PREFERENČNÍM TESTEM

Přiřadte k předloženým vzorkům hodnocení dle Vašich preferencí (1 – nejlepší, 3 – nejhorší).

Vzorek	A	B	C
Hodnocení			

3.) PROSTOR PRO OSOBNÍ POZNÁMKY K JEDNOTLIVÝM VZORKŮM:

Vlastní slovní zhodnocení jednotlivých vzorků.

Vzorek A

Vzorek B

Vzorek C

ad 1.) HÉDONICKÉ STUPNICE PRO HODNOCENÍ STUPNICOVOU METODOU

HODNOCENÍ VZHLEDU A BARVY

- 1 – VYNIKAJÍCÍ** Vzhled pravidelný bez nerovností, homogenní na celém řezu, rovnoměrně prozrálý, barva typická po použité surovině (kozí křídově bílá, kravské spíše krémová až tmavší krémová)
- 2 – VÝBORNÝ** Nepatrné nerovnosti v řezu, homogenní na celém řezu, rovnoměrně prozrálý, barva typická po použité surovině, bez cizích odstínů
- 3 – VELMI DOBRÝ** Nepatrné nerovnosti v řezu, homogenní na celém řezu s ojedinělým výskytem dutinek, rovnoměrně prozrálý, barva typická po použité surovině, bez cizích odstínů
- 4 – DOBRÝ** Mírné nerovnosti v řezu, menší výskyt dutinek či nehomogenních struktur, stále ovšem rovnoměrná prozrálost hmoty, typická po použité surovině, velmi mírně netypická
- 5 – MÉNĚ DOBRÝ** Mírné nerovnosti v řezu, výskyt dutinek či nehomogenních struktur, patrné nerovnoměrné prozrávání hmoty, povrch oslizlý, barva netypická, našedlá či jinak změněná
- 6 – NEDOBRÝ** Na řezu patrné větší nerovnosti, výskyt nehomogenních struktur a dutinek, nerovnoměrné prozrávání hmoty, povrch oslizlý či jinak změněný, barva netypická (např. mramorovitá)
- 7 – NEPŘIJATELNÝ** Rozpadavá struktura s výskytem nehomogenních struktur a dutinek, velmi patrné nerovnoměrné prozrávání hmoty, oslizlý či jinak změněný povrch, výskyt plísní, netypická cizí barva

HODNOCENÍ KONZISTENCE

- 1 – VYNIKAJÍCÍ** Krémová, stejnorodá, rovnoměrně prozralá, soudržná, nelepivá, neoschlá, bez hrudek, na skusu mohou být patrné jemné krystalky
- 2 – VÝBORNÝ** Krémová, stejnorodá, rovnoměrně prozralá, bez hrudek, soudržná, nelepivá, na skusu mohou být patrné jemné krystalky
- 3 – VELMI DOBRÝ** Krémová, stejnorodá, bez hrudek, rovnoměrně prozralá, ojedinělý výskyt velmi jemných hrudek (nezaměňovat s krystalky)

- 4 – DOBRÝ** Krémová avšak místy mírně nehomogenní, výskyt jemných hrudek (nezaměňovat s krystalky) či dutinek vyplněných tekutinou
- 5 – MÉNĚ DOBRÝ** Spíše hrudkovitá či mazlavá, místy nehomogenní, výskyt dutinek vyplněných tekutinou, oschlá, rozpadavá konzistence
- 6 – NEDOBŘÝ** Oschlá a rozpadavá či rozbředlá a mazlavá konzistence, výskyt hrudek či dutinek vyplněných tekutinou, celkově nepříjemná
- 7 – NEPŘIJATELNÝ** Oschlá a rozpadavá či rozbředlá a mazlavá konzistence, výskyt hrudek či dutinek vyplněných tekutinou, celkově velmi nepříjemná

HODNOCENÍ CHUTI A VŮNĚ

- 1 – VYNIKAJÍCÍ** Chuť i vůně typická pro použité druhy mléka, čistá, bez jakýchkoli nepříjemných tónů, harmonická, lahodná, celkově příjemná a přiměřeně aromatická
- 2 – VÝBORNÝ** Chuť i vůně typická pro použité druhy mléka, čistá, bez jakýchkoli nepříjemných tónů, harmonická, celkově příjemná a přiměřeně aromatická
- 3 – VELMI DOBRÝ** Chuť i vůně stále vyrovnaná a harmonická, čistá, bez jakýchkoli nepříjemných tónů, celkově příjemná a přiměřeně aromatická
- 4 – DOBRÝ** Chuť i vůně s mírnými odchylkami, ne příliš výraznými, stále příjemná a poměrně harmonická, mírně aromatictější
- 5 – MÉNĚ DOBRÝ** Chuť i vůně s většími odchylkami, méně harmonická, slabě nečistá
- 6 – NEDOBŘÝ** Chuť i vůně s nepříjemnými odchylkami, neharmonická, nečistá, nahořklá či jinak změněná, příliš aromatická, nepříjemná
- 7 – NEPŘIJATELNÝ** Chuť a vůně nepříjemná, nepříjemná a netypická pro použité suroviny, štiplavá, nahořklá, celkově nepříjemná a nepříjemná

HODNOCENÍ OFF FLAVOUR (PACHUTI)

- 1 – VYNIKAJÍCÍ** Bez jakýchkoli cizích pachutí, velmi harmonická, příjemná a odpovídající použité surovině
- 2 – VÝBORNÝ** Bez jakýchkoli cizích pachutí, velmi příjemná, harmonická, po použité surovině
- 3 – VELMI DOBRÝ** Stále velmi příjemná, harmonická, bez cizích pachutí
- 4 – DOBRÝ** Stále příjemná, po použité surovině, žádná výrazná pachut' pouze drobná disharmonie
- 5 – MÉNĚ DOBRÝ** Patrná drobnější pachut' neodpovídající použité surovině či ne už tolik harmonická, rušící celkový dojem
- 6 – NEDOBRÝ** Pachut' již činí vzorek nepříjemným pro konzumaci
- 7 – NEPŘIJATELNÝ** Velmi výrazná pachut', která je nepříjemná a nepřijatelná