

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Antioxidační účinky sýrů  
Veronika Ostrá

Bakalářská práce  
2019

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Veronika Ostrá**  
Osobní číslo: **C16067**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**  
Název tématu: **Antioxidační účinky sýrů**  
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Definujte termín sýr podle platné legislativy. Na základě rešerše v odborných zahraničních periodikách vytipuje typy sýrů, u kterých uvedete základní složení a technologii výroby.
2. Uveďte, zda vybrané typy sýrů mají antioxidační vlastnosti (měřené s využitím různých analytických metod) a zjistěte, jaké látky jsou za tyto vlastnosti odpovědné.
3. Experimentálně ověřte možnosti měření antioxidačních vlastností vybraných typů sýrů a výsledky vyhodnoťte a kriticky diskutujte.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího práce.**

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

Konzultant bakalářské práce:

**Ing. Michaela Frühbauerová**

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce:

**5. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 4.7.2019.

Veronika Ostrá

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Liborovi Červenkovi, PhD. za vynaložený čas při realizaci experimentu, vstřícnost a cenné rady při zpracování mé bakalářské práce. Poděkování patří také rodině a přátelům, kteří mě podporovali při tvorbě této práce a v průběhu celého studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá antioxidantními účinky sýrů. Teoretická část obsahuje popis sýrů, jejich rozdělení, složení a technologii výroby vybraných typů sýrů. Dále se zabývá antioxidanty, jejich rozdělením, antioxidantními látkami v sýrech a jejich měřením. Experimentální část se zabývá měřením antioxidantní aktivity různých druhů sýrů metodami s DPPH a ABTS.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Sýr, antioxidantní aktivita, radikál, mléčné kultury

## **TITLE**

Antioxidant properties of cheese

## **ANNOTATION**

This bachelor work deals with antioxidant properties of cheese. The theoretical part describes cheeses, types of cheeses, composition and technology of selected types of cheeses. It also examines with antioxidants, types of antioxidants, antioxidants in cheeses and different types of its measurement. In the experimental part antioxidant properties of different types of cheeses are measured by DPPH and ABTS methods.

## **KEYWORDS**

Cheese, antioxidant activity, radical, milk cultures

# OBSAH

<b>Seznam obrázků .....</b>	<b>9</b>
<b>Seznam tabulek .....</b>	<b>10</b>
<b>Seznam zkratk .....</b>	<b>11</b>
<b>Úvod .....</b>	<b>12</b>
<b>1 Teoretická část .....</b>	<b>13</b>
1.1 Sýry .....	13
1.1.1 Označení sýrů .....	13
1.1.2 Rozdělení sýrů .....	14
1.1.3 Složení sýrů.....	17
1.1.4 Nutriční význam sýrů.....	19
1.1.5 Technologie výroby sýrů .....	19
1.2 Antioxidanty .....	23
1.2.1 Rozdělení antioxidantů .....	23
1.2.2 Analytické metody zjištění antioxidační aktivity .....	24
1.2.3 Antioxidanty v sýrech.....	26
1.3 Použité analytické metody .....	27
1.3.1 Viditelná a ultrafialová spektrometrie .....	27
1.3.2 QUENCHER.....	28
1.4 Vzorky použité k experimentální části .....	29
1.4.1 Eidam .....	29
1.4.2 Tvarůžky .....	29
1.4.3 Hermelín .....	30
<b>2 Experimentální část .....</b>	<b>31</b>
2.1 Přístroje a pomůcky .....	31
2.2 Chemikálie .....	31
2.3 Vzorky .....	32
2.3.1 Úprava vzorků.....	33
2.4 Metody chemické analýzy .....	33
2.4.1 Frakcionace bílkovin.....	33

2.4.2	Metoda s využitím DPPH radikálu .....	33
2.4.3	Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS .....	34
<b>3</b>	<b>Výsledky a diskuse .....</b>	<b>36</b>
3.1	Frakcionace bílkovin.....	36
3.2	Metoda s využitím DPPH radikálu .....	36
3.3	Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS .....	38
	<b>Závěr .....</b>	<b>40</b>
	<b>Použitá literatura .....</b>	<b>41</b>

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: DPPH radikál (19) .....	25
Obrázek 2: Optimalizace metody DPPH .....	37
Obrázek 3: Antioxidační aktivita 3 druhů sýrů metodou DPPH v I (%) .....	37
Obrázek 4: Optimalizace metody ABTS .....	38
Obrázek 5: Antioxidační aktivita pro 3 druhy sýru metodou ABTS v I (%) .....	39

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny (3).....	15
Tabulka 2: Klasifikace přírodních sýrů podle obsahu tuku v sušině (3).....	16
Tabulka 3: Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýru (3) .....	16
Tabulka 4: Klasifikace přírodního sýru podle zrání (3).....	16
Tabulka 5: Příklad obsahu nutričně významných složek ve 100 g výrobku (1).....	19
Tabulka 6: Použité sýry a jejich popis .....	32
Tabulka 7: Výživové údaje jednotlivých sýrů na 100 g výrobku .....	32
Tabulka 8: Výtěžek bílkovin (%) po frakcionaci vzhledem k navážce .....	36

## SEZNAM ZKRATEK

VVTPH	Obsah vody v tukuprosté hmotě sýra
DPPH	Radikál $\alpha$ , $\alpha$ -difenyl- $\beta$ -picrylhydrazil
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothizoline-6-sulfonová kyselina)
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity (schopnost absorbovat radikály kyslíku)
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances (reaktivní látky kyseliny thiobarbiturové)
CCD	Charge coupled device (zařízení s vázanými náboji)
TAC	Total antioxidant capacity (celková antioxidační kapacita)
FDA	Food and Drug Administration (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv)
BSA	Bovine serum albumine (hovězí sérový albumin)
QUENCHER	Quick, Easy, New, Cheap, Reproducible (rychlá, lehká, nová, levná, reprodukovatelná)
I	Inhibice

# ÚVOD

První zmínky o výrobě sýrů dosahují až do středověku. Během let dokázali jednotlivé národy přijít s vlastními typy sýrů, které se odlišovaly díky klimatickým podmínkám, druhem mléka nebo na co byli lidé zvyklí (1).

Základním důvodem, proč se sýr začal vyrábět, byla krátkodobá udržitelnost mléka, a tudíž nutnost vyrobit produkt stálý, skladovatelný a trvanlivý. Na prodloužení trvanlivosti má podíl hlavně fermentace laktózy, snížení aktivity vody, pH a přidání soli. Sýry jsou také chráněny kůrou, nátěrem nebo zrcí fólií. Dnes už se sýry konzumují kvůli tomu, že jsou vzhledem ke složení jedny z nevhodnějších složek potravin a obsahují nezbytné složky potravin důležité pro náš organismus (1; 2).

Sýr je fermentovaný mléčný výrobek, který se vyrábí po celém světě a má velké množství druhů. Proto se začaly sýry rozdělovat do různých skupin, ať už podle svých vlastností nebo konzistence. Sýry z hlediska složení obsahují důležité složky potravy, jako jsou tuky, vitamíny a minerály, a v neposlední řadě bílkoviny a peptidy, které jsou hlavním zdrojem antioxidantů.

Antioxidanty jsou látky, které jsou důležité pro obranu organismu. Jsou to látky, které zasahují do vzniku volných radikálů a případně zachycují volné radikály, které mohou způsobit poškození organismu. Antioxidanty mohou být rostlinného, živočišného, tak i mikrobiálního původu a rozdělují se na základě různých hledisek.

Cílem této bakalářské práce je popsat antioxidační vlastnosti sýrů, následně vybrat typy sýrů a ověřit různými analytickými metodami, zda mají antioxidační vlastnosti.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Sýry

Podle vyhlášky č.397/2016 Sb. je sýr mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, oddělením podílu syrovátky a následným prokysáním nebo zráním (3).

### 1.1.1 Označení sýrů

Pokud chceme výrobek označit slovem „sýr“, musí být tento výrobek zhotoven z mléka sýrařskou technologií. Výrobek je označen druhem zvířete, ze kterého mléko pochází, jen pokud je mléko, ze kterého je sýr vyroben, jiné než kravské. Jestliže mléko pochází od více zvířat, tak je na výrobku poznačen název zvířete, od kterého je použita většina mléka. Jestliže mléko nebylo pasterováno, musí to být na výrobku označeno (4).

Podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. sýr musí být označen názvem druhu (tavený sýr, tavený sýrový výrobek a syrovátkový sýr i s názvem skupiny), obsahem tuku nebo tuku v sušině, obsahem sušiny a použitou ochucující složkou. Pokud se jedná o skupinu přírodních sýrů, jde také sýr označit názvem podskupiny. Jestliže tavený sýr má víc než 5 % laktózy, musí být označen jako „tavený sýrový výrobek“ (3).

Druhů sýrů může být několik. Sýry můžeme nazvat jako např. čerstvý sýr, zrající sýr, pařený sýr, tavený sýr a syrovátkový sýr. Čerstvý sýr je sýr, který nezraje. Mezi tyto sýry patří i nezrající termizované sýry. Naopak u zrajícího sýru dochází po prokysání k následujícím biochemickým a fyzikálním procesům. Pařený sýr se označuje sýr, který je dále po prokysání ještě napařen horkou vodou, párou, smetanou nebo mlékem. Sýr, ke kterému se přidávají tavící soli a zároveň je při tom tepelně upravován se nazývá sýr tavený. Syrovátkový sýr se získává vysrážením syrovátky nebo směsi syrovátky s mlékem (3). Další druhy sýrů jsou v Rozdělení sýrů

Obsah tuku v sýru, nebo obsah tuku v sušině (tvs) a obsah sušiny, musí být na každém výrobku označeno v %. Povolená jsou obě označení, ale pro spotřebitele je více srozumitelné označení obsahu tuku v sýru (4). Výpočet hmotnostních procent sušiny, hmotnostních procent tuku v sušině a hmotnostních procent tuku v sýru je znázorněno v Rovnice 1, Rovnice 2 a v Rovnice 3.

Rovnice 1: Výpočet hmotnostních % sušiny

$$\% \text{ hmot. sušiny} = 100 - \left( \frac{\text{hmotnost sýru po sušení}}{\text{hmotnost sýru před sušením}} \times 100 \right)$$

Rovnice 2: Výpočet hmotnostních % tuku v sušině (3)

$$\% \text{ hmot. tuku v sušině} = \frac{\text{hmotnost tuku v g}}{100 - \text{hmotnost vody v g}} \times 100$$

Rovnice 3: Výpočet hmotnostních % tuku v sýru (4)

$$\% \text{ hmot. tuku v sýru} = \frac{\% \text{ tuku v sušině} \times \% \text{ sušiny}}{100}$$

Seznam složek být uveden nemusí, jestliže se při výrobě nepoužily jiné složky než mléčné výrobky, enzymy, mikrobiální kultury a jedlá sůl. Pokud byl sýr ochucen např. pažitkou, musí být označena ochucující složka. Jestliže se jedná o čerstvý nezrající sýr, musí být označen datem použitelnosti, ostatní sýry jsou označeny datem trvanlivosti. U sýrů přírodních mohou být označeny některé parametry jako např. stupeň tvrdosti nebo tučnost (4).

### 1.1.2 Rozdělení sýrů

Podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. se mléko a mléčné výrobky člení na druhy, skupiny a podskupiny, které jsou znázorněny v Tabulka 1. Skupiny v této vyhlášce tedy můžeme použít pro první rozdělení, a to na základě sortimentu (1; 3).

Tabulka 1: Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny (3)

Druh	Skupina	Podskupina
Sýr	přírodní	čerstvý
		zrající
		zrající pod mazem
		zrající v celé hmotě
		s plísní na povrchu
		s plísní uvnitř hmoty
		dvouplísňový
		v solném nálevu, bílý
		pařený
		extra tvrdý (ke strouhání)
		tvrdý
		polotvrdý
		poloměkký
		měkký
	tavený	roztíratelný
		s lomem
	tavený sýrový výrobek	
	syrovátkový	

Jedno z dalších rozdělení sýrů je podle typu srážení mléka na kyselé a sladké. Kyselé neboli tvarohové srážení mléka, je srážení u isoelektrického bodu kaseinové části bílkovin mléka a vzniká sraženina. V této skupině se nachází průmyslově vyráběný tvaroh a výrobky z něj. U sladkého srážení srážíme díky enzymům syřidla a vzniká sýřenina. Do této skupiny patří všechny typy tvrdých a polotvrdých sýrů. Srážení může být i smíšené s vlivem kyseliny mléčné a syřidla. To jsou měkké sýry a tvarohy. Další rozdělení může být podle druhu mléka, ze kterého je sýr vyroben. A to na kravské, ovčí, kozí, případně sýry získané ze syrovátky (1; 5).

Přírodní sýry rozdělujeme podle obsahu tuku v sušině (Tabulka 2), podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (=VVTPH) (Tabulka 3) a podle typu zrání (Tabulka 4) (3).

Tabulka 2: Klasifikace přírodních sýrů podle obsahu tuku v sušině (3)

Sýr	Tuk v sušině (v % hmot.)
Vysokotučný	nejméně 60,0
Plnotučný	nejméně 45,0
Polotučný	nejméně 25,0
Nízkotučný	nejméně 10,0
Odtučněný	méně než 10,0

Tabulka 3: Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýru (3)

Sýr	% VVTPH
Extra tvrdý	nejvíce 47,0
Tvrdý	47,0 až 54,9
Polotvrdý	55,0 až 61,9
Poloměkký	62,0 až nejvíce 68,0
Měkký	Více než 68,0

Tabulka 4: Klasifikace přírodního sýru podle zrání (3)

Sýr	Charakteristika
Sýr čerstvý	nezrající
	termizovaný
Sýr zrající	na povrchu
	s mazem na povrchu
	v celé hmotě
Z toho Plísňový sýr	s plísní na povrchu
	s plísní uvnitř hmoty sýra
	dvouplísňový

Sýry můžeme systematizovat také podle proteolytického rozkladu bílkovin. Dělíme sýry s velkým rozsahem a malou hloubkou zrání, sem patří sýry polotvrdé a tvrdé, a sýry s velkou hloubkou zrání. Do této skupiny patří sýry zrající pod mazem a sýry plísňové. Rozsah zrání je poměr rozpustného dusíku a celkového dusíku v sýrech, a hloubka zrání znamená poměr dusíku aminokyselin a amoniaku k celkovému dusíku (1).

### 1.1.3 Složení sýrů

Důležitou složkou sýrů jsou aminokyseliny a proteiny. V sýrech je jich více, než je pro lidský organismus potřeba. V těchto letech se hlavně pojednává o bioaktivních peptidech, což jsou aminokyselinové sekvence v rámci proteinů. Vznikají ve druhé fázi degradace proteinů, kdy se přemění na aminokyseliny za přítomnosti peptidázy a proteinázy, ale jestliže jsou vázány v proteinech, nejsou aktivní.

V sýrech se nacházejí také tuky, které tvoří 20–30 % sušiny. Jedna porce sýru vystačí na dvě třetiny denního příjmu tuků. Sýry obsahují mononasyčené mastné kyseliny i polynasyčené mastné kyseliny. Složení se mění během roku, v létě jsou nasycené mastné kyseliny redukovány na nenasycené mastné kyseliny. Z mastných kyselin jsou to zejména palmová, myristová a stearová kyselina. Z nenasycených mastných kyselin je to olejová kyselina. Mléčný tuk obsahuje také trans-mastné kyseliny.

Sýry obsahují i vitamíny a minerály. Jeden z nejvýznamnějších minerálů je vápník. Vápník se nachází hlavně v tvrdých a polotvrdých sýrech, kde je jedna třetina až polovina denního příjmu vápníku. V sýrech se nachází také fosfor, zinek a hořčík ve významnějších obsazích. Z vitamínů obsažených v sýrech je to hlavně vitamín A, B2, B6 a B12 (2).

Sýr nemůže vzniknout bez přídavku mléčných kultur. Hlavními kulturami jsou startovní mléčné bakterie, které nastartují tvorbu kyseliny mléčné z laktózy. Mezi hlavní bakterie patří *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* atd. Tyto bakterie se většinou přidávají při výrobě sýrů, ovšem když jde o nějaký tradiční recept, nemusí tam vždy být. Další mikroorganismy už se nepřidávají z důvodu tvořit kyselinu, ale mají za úkol vytvořit organoleptické a biochemické změny v průběhu zrání na sýru nebo uvnitř sýru. Může to být tvorba oxidu uhličitého, žilky v modrém sýru nebo také tvorba sameťového povrchu na sýru (6).

#### 1.1.3.1 Sýr s plísní na povrchu

Primárními, nebo-li startovními kulturami tohoto typu sýru jsou *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* nebo *cremoris* (7). *Penicillium camemberti* je jedna ze sekundárních kultur, která se vykytuje v sýru s plísní na povrchu, jehož zástupce je hermelín. Díky ní se v sýru vytváří různé látky. Jedna z látek je oxid uhličitý, kvůli kterému se může zrychlit proces zrání, a také změnit plynné prostředí pro buňky. Když je *Penicillium camemberti* jako jediná kultura v sýru, tak vznikají peptidy s nízkou i vysokou molekulovou hmotností, tak i aminokyseliny. Během zrání se vybudují enzymy jako například aspartát proteináza nebo metaloproteinázy. Také se bude zvyšovat počet volných aminokyselin, díky syntéze extracelulárních exopeptidáz. Další z látek,

produkovaných *P.camemberti*, je kyselinová carboxypeptidáza, což je sérový enzym, který může uvolnit hydrofobní aminokyseliny, a tím snížit hořkost kaseinových hydrolyzátů.

Další kultura působící v sýru je *Geotrichum candidum*. *Geotrichum candidum* produkuje proteinázy extracelulární, ale to se mění na základě různých kmenů. Když se bude během zrání vyskytovat pouze *G. candidum*, tak se aminokyseliny budou tvořit pouze do 5 dnů. Ovšem jestli budou společně obě kultury jak *P. camemberti* tak *G. candidum*, tak se koncentrace aminokyselin měnit nebude a aminokyseliny se budou tvořit pořád.

Růstem mikroflory v sýru vznikají různé chutě. Je to díky kulturám *G. candidum*, *Kluyveromyces lactis*, *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, které katabolizují peptidy a aminokyseliny, čímž vznikají různé chutě (6).

#### 1.1.3.2 Sýr s nízkodohřívanou sýřeninou

Startovní kultury sýru s nízkodohřívanou sýřeninou (např. Eidam) jsou mezofilní bakterie mléčného kvašení. Jsou to bakterie, které rostou při teplotách od 10 do 40 °C, ovšem optimální teplota je 30 °C. Mezi tyto bakterie patří *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *cremoris*, citrát fermentující bakterie *Leuconostoc lactis* a/nebo *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* a další. Během přeměny laktózy na kyselinu mléčnou může *Leuconostoc* produkovat látky jako je acetát, oxid uhličitý a etanol. Při fermentaci citrátu (obvyklá složka mléka), se tvoří látky jako je diacetyl, acetoin, butandiol a acetaldehyd. Zvláště diacetyl dodává sýru chuť.

Některé kultury jako jsou *L. casei*, *L. curvatus* a *L. fermentus*, mohou produkovat některé biogenní aminy. Můžou produkovat samostatně jeden amin, ale i všechny. Mezi tyto aminy patří histamin, tyramin a kadaverin. Vlastnosti dekarboxylační aktivity aminokyselin má i obligátně heterofermentační *Lactobacillus buchneri*. Produkce histaminu závisí na druhu bakterie.

Kultura *Lactococcus* produkuje hlavní proteolytický enzym serin proteinázu, který rozkládá kasein na oligopeptidy. Takový enzym je schopen vzniku až 100 různých oligopeptidů z kaseinu, protože má širokou specifitu. Na základě reakcí enzymů nakonec vznikají různé aminokyseliny, které dodávají tomuto typu sýru chutě jako jsou pikantní, umami, hořká a sladká (6).

#### 1.1.3.3 Sýr zrající pod mazem

Startovací mezofilní bakterie pro sýry dozrávající pod mazem jsou *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. *L. lactis* subsp. *lactis*, citrát pozitivní *L. lactis* subsp. *cremoris* a/nebo *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. Kultury *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum* se mohou přidávat z důvodu probiotické funkce (6).

Vlivem primární kultury tohoto sýru fermentující *L. lactis* subsp. *lactis*, vzniká diacetyl a příležitostně i acetaldehyd. Tyto složky tvoří chuť sýru (8).

Hořkost v tvarůžkách je způsobena enzymy ze startovních bakterií mléčného kvašení, mléčnými enzymy jako plasmin a kyselými proteinázami (9). Vlivem interakce bakterií a vápníku vznikají hořké peptidy, které dávají hořkou chuť sýru (10).

### 1.1.4 Nutriční význam sýrů

Z nutričního hlediska jsou sýry adekvátními produkty, které obsahují aminokyseliny. Zdroj energie, který je pro organismus využitelný, jsou bílkoviny a mléčný tuk. Laktóza je přítomna pouze v malém zástupu a většinou je přeměněna na kyselinu mléčnou. Na technologii jednotlivých výrobků poté závisí obsah vápníku v sýrech. Vyšší podíl vápníku v produktu je tehdy, když vliv sladkého srážení mléka při zpracování mléka je vyšší, a u kyselého srážení menší (1).

Další minerální látky obsaženy v sýrech jsou železo, zinek, jód a selen. Přítomny jsou i vitamíny A, D, E, B6, B12 a kyselina listová (11). V Tabulka 5: Příklad obsahu nutričně významných složek ve 100 g výrobku je znázorněn obsah nutričně významných složek ve 100 g výrobku.

Tabulka 5: Příklad obsahu nutričně významných složek ve 100 g výrobku (1)

Sýry	Bílkoviny (g)	Mléčný tuk (g)	Vápník (g)	Energie (kJ)
Tvarůžky	29,9	0,8	0,150	540
Hermelín	20,2	20,2	0,157	1120
Eidam 30 % tvs	29,1	15,6	0,800	1095
Eidam 45 % tvs	26,0	26,1	0,733	1435
Čedar	26,0	31,5	0,800	1640

### 1.1.5 Technologie výroby sýrů

Při výrobě sýrů požadujeme vysokou kvalitu mléka, mlékařských kultur, syřidla a dalších látek jako jsou chlorid vápenatý, dusičnan draselný nebo sýrařská barviva. Pod pojmem kvalita mléka se dá vyjádřit chemické složení mléka, organoleptické vlastnosti, a také množství a druh mikroorganismu, který v mléce je. Pro sýrařskou technologii je důležitým aspektem pro jakost mléka kvasná schopnost a sýřitelnost mléka (5).

Výroba sýru probíhá v několika základních krocích. Nejdříve musí proběhnout ošetření mléka. Mléko se musí zfiltrvat, chladit a následně proběhne pasteurace. Správná teplota pasteurace mléka se liší s různými druhy sýrů. Např. pro sýry ementálského typu se uplatňují teploty 71–72 °C, max. 74 °C po dobu 16 s, pro nízkodohříváné sýry 75–78 °C a pro tvarohy a měkké sýry se využívají teploty 74–78 °C stejně jako pro sýry tvrdé. Dále probíhají úpravy mléka po pasturaci v podobě standardizace mléčného tuku pro náležitý typ sýra a obsah tuku v sušině sýra, homogenizace mléčného tuku, a přidavek chloridu vápenatého, dusičnanu draselného a čistých kultur mikroorganismů.

Protože pasteurace snižuje sýřitelnost mléka tím, že zmenšuje množství vápenatých solí v mléce a působí přeměny v komplexu fosforečnanu draselného, přidává se do mléka chlorid vápenatý, který sýřitelnost zlepšuje. V některých případech se přidává i dusičnan draselný, který má eliminovat předčasné zvětšování sýrů způsobené koliformními organismy.

Dalším úkonem je sýření mléka. Dochází k tomu, že v důsledku syřidla se sráží kaseinové frakce mléka a vzniká ucelená sýřenina. Hlavní část syřidla je enzym chymosin. Ke srážení mléka může dojít dvěma způsoby. Mléko se sráží vlivem kyseliny mléčné (pH 4,2–4,6) nebo vlivem syřidlového enzymu spolu s kulturou, která produkuje kyselinu mléčnou (pH 6,2–6,5). Teplota, při které by mělo docházet ke kyselému srážení kaseinu je 35–40 °C. Při nižším pH se sraženina rozpouští v důsledku přechodu kapa-kaseinu do roztoku. Naopak při vyšších teplotách se kromě mléka sráží i sérové bílkoviny.

Schopnost syřidla spočívá v účinku proteolytických enzymů na kasein. Probíhá ve dvou fázích. V primární destabilizační fázi probíhá hydrolýza kapa-kaseinu na para-kapa-kasein, kaseinové micely přicházejí o svoji kompatibilitnost. V sekundární koagulační fázi se micely sjednocují dohromady z důvodu snížení náboje a dochází ke koagulaci kaseinu. Při srážení musí být přítomny vápenaté ionty a správná teplota.

Dále proběhne zpracování sýřeniny na vhodnou velikost zrna na základě druhu sýrů. Zpracování obsahuje několik kroků jako krájení, drobení, někdy přihřívání. Všechny úkony probíhají za nepřetržitého míchání. Když se směs zpracuje, směs syrovátky a zrna se přemístí do formovacího zařízení, které současně lisuje, kde dochází k zformování tvaru a k získání prvotního obsahu sušiny. Tento proces trvá cca 60 minut. U každého typu sýru je důležité dodržovat čas, kdy a jak dlouho jednotlivé procesy probíhají. Nezbytné je také udržovat správnou teplotu a kyselost (1; 5).

Další proces je solení sýrů. Solení je nepostradatelný proces pro tvarovatelné a zrající sýry, neboť zlepší chuť, povrch sýru a konzistenci těsta, protože vlivem solení se usměrňuje množství vody v sýru. Během solení dochází mezi sýrem a solným roztokem k procesu difúze a osmózy.

Difúze se odehrává v pokožce sýru mezi zrny, osmóza probíhá směrem ke středu sýrového zrna. Dochází k přechodu chloridu sodného dovnitř sýru, a naopak syrovátka přechází ze sýru do lázně. Syrovátka se skládá z kyseliny mléčné, soli a sérových bílkovin. Difúzní spád musí být vhodný pro každé druhy sýru, hlavně vhodné pH lázně by mělo kopírovat pH prokysaného sýru. Jaká bude teplota solení závisí na druhu a stupni prokysání sýru. Většina solení probíhá tak, že se sýry dávají na palety a spouští se do solných lázní. Dnes už se začíná uplatňovat společně se solením do zrna, aby se eliminovala náročná mechanická ruční práce. Celkový proces solení probíhá u každého druhu sýru různou dobu.

Poslední proces při výrobě sýrů je zrání. Zrání probíhá ve zracích sklepech, které jsou klimatizovány, s předepsanou teplotou a relativní vlhkostí. Je to souhrn přeměn v sýru, které způsobily syřidlové enzymy a enzymatické činnosti kultur. Základním cílem je dosáhnout požadovaného průběhu mléčného kvašení, které je kontrolováno průběhem křivky kyselosti. Už při předchozích technologických procesech jako je např. zpracování mléka, docházelo k předběžnému zrání, mikroorganismy už použily svoji kyselinotvornou, proteolytickou, popř. lipolytickou činnost.

Při hlavním zrání dochází k rozkladu bílkovin na nižší složky, jako jsou polypeptidy, peptidy, případně i aminokyseliny. Při nesprávném zrání může docházet ke degradaci aminokyselin a ke vzniku nevhodných až nebezpečných látek jako např. amoniak, močovina, kyselina máselná, vodík apod. Rozkladem mléčného tuku vznikají mastné kyseliny, které jsou dále přeměněny na látky, které přispívají chuti sýru. Během zrání je potřeba se o sýry starat např. odstraněním mazu nebo vytvořené plísni natírat solným roztokem.

Jeden z jakostních parametrů je konzistence. Ta závisí na obsahu kyseliny mléčné. Když je správné množství kyseliny mléčné, tak sýr postupně bobtná a je vláčný. Při zvýšeném množství reakce nevzniknou. Zrání dělíme na dvě kategorie, a to na zrání v celé hmotě sýra-anaerobní, a zrání od povrchu působením povrchové mikroflóry-aerobní. U sýrů tvrdých převažuje anaerobní zrání, ale u mnoha sýrů se používají oba typy zrání. Pro některé sýry se používají zrací sáčky a fólie z polyvinylchloridu nebo polyvinylidenchloridu (1; 5).

#### 1.1.5.1 Sýr s plísní na povrchu

Sýr s plísní na povrchu se vyrábí z pasterovaného mléka, kdy se následně přidá smetanový zákys, se kterým zraje 1 den. Poté se přidá kultura *Penicillium camemberti* a ještě před sýřením se zvýší dávka smetanového zákysu. Následné sýření potrvá 30 minut při 31–33 °C a zpracování zrna také 30 minut (1).

Sýry získají svůj tvar pomocí formovacích baterií. Sýřeniny se ještě před odkapáváním na odkapní dráze musí dát do blokových plastových tvořítek. Když probíhá odkapávání, tak se sýry musí pravidelně obracet. Po odkapání se sýry solí v solné lázni na krátkou dobu. Až sýry uschnou, může začít zrání sýrů, které probíhá při 12 °C a relativní vlhkosti 90 % 10 dní. Po celou dobu zrání se sýry otáčejí. Sýr by měl být bílou plísní stejnoměrně pokryt na celém povrchu a měl by mít jemnou texturu (12).

#### 1.1.5.2 Sýr s nízkodohřívanou sýřeninou

Pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou je typické, že teplota zpracování nepřesáhne 40 °C. Teplota sýření mléka po přidání smetanového zákysu je 30–33 °C, a poté se ještě zvýší teplota na 35–40 °C při dosoušení. Výsledné sýry mají nižší obsah tuku, proto se musí teplota uzpůsobit i pro další děje během výroby, jako je nižší přídavek kultury nebo zkrácení času zpracování. Další důležitý bod výroby, který se podílí na jakosti a charakteru zrání konečného výrobku, je praní syrového zrna, kdy je potřeba snížit obsah laktózy během dosoušení a řídit kyselost sýru po prvním dni výroby. Sýry, které mají vyšší prací podíl, mají sklony k tvoření větších ok, která jsou pravidelná. K negativním vlastnostem ale patří, že těsto může být bez chuti a může být gumové. Sýry s nižším pracím podílem mohou mít sklony k trhlinám a mohou být kyselejší. pH sýrů po prvním dni výroby by mělo být 5,1–5,2. Po odpuštění syrovátky se přidává voda v množství 50–80 % vzhledem k odpuštění syrovátky. Sýry následně zrají v plastových obalech minimálně 5 týdnů, ale jejich typická chuť a konzistence se projeví až po 2 měsících (1).

#### 1.1.5.3 Sýr zrající pod mazem

Hlavní rys tohoto typu sýru je zrání směrem od povrchu do středu sýru, kdy kultura uplatňující se ve výrobě je mazová kultura *Brevibacterium brevis* (1).

Sýřenina sýru typu romadur se zpracovává stejně jako měkké sýry. Poté co proběhne odkapání se sýry ještě solí. Na začátku zrání se teplota udržuje v rozmezí 19–20 °C a relativní vlhkosti 90 % po dobu 2 dní, kdy se na povrch nanese kvasinková kultura, která zvýší pH do neutrální oblasti, což přispívá k růstu mazové kultury. Kultura *Brevibacterium linens* se potom nanáší na sýr ve formě nástřiku nebo se sýr ponoří do solného roztoku. Sýry poté zrají 10 – 14 dnů při teplotě 14–16 °C a relativní vlhkosti 95 %, kdy se musí sýry alespoň 2x obrátit.

Samostatnou skupinou sýrů zrající pod mazem jsou tvarůžky. Tvarůžky se vyrábí z kyselé sráženého tvarohu, který byl získán z odtučněného mléka. Tvaroh se musí uskladnit po dobu 1–2 týdnů při 15 °C a po přidavku 3–4,5 % soli. Poté se tvaroh převede do válcového mlýnu, kde proběhne mletí a přidání zrácích solí, jako je uhličitan sodný nebo vápenatý pro snížení kyselosti (12).

## 1.2 Antioxidanty

Antioxidanty jsou důležitými složkami potravy, které hrají významnou roli v obraně organismu. Předcházejí vzniku volných radikálů, hledají a zachycují volné radikály a aktivní kyslík. Tyto látky způsobují oxidační stres. Mezi volné radikály patří např. superoxidový radikál, hydroxylový radikál nebo peroxidový radikál. Hydroxylový radikál je jeden z nejnebezpečnějších radikálů, který se může vytvořit uvnitř buněk. Tyto radikály oxidují nukleové kyseliny, proteiny nebo také DNA, a způsobují degenerativní onemocnění. Můžou také zapříčinit vznik arteriosklerózy, rakoviny, srdečních nemocí nebo i jaterních onemocnění. Proto vzrůstá zájem o nalezení antioxidantů v potravě, právě kvůli ochraně organismu před radikály, a také kvůli případnému zpomalení dlouhodobých nemocí. Nápoje, potraviny a zvláště zelenina je ve velkém zájmu z důvodu obsahu bioaktivních sloučenin jako jsou flavonoidy, karotenoidy apod., které mají velmi značné účinky na lidské zdraví (13; 14).

Mezi zdroje antioxidantů patří rostliny, živočišné výrobky a mikroorganismy, které zabraňují vzniku oxidačního stresu. Antioxidanty mohou být izolovány z přírodních zdrojů pro účely medicíny, doplňky stravy nebo také konzervaci potravin. Naopak směs antioxidačních látek extrahované z rostlin a živočichů, využívají pro zastavení in vivo a in vitro oxidaci (15).

### 1.2.1 Rozdělení antioxidantů

Antioxidanty se rozdělují na primární a sekundární. Primární antioxidanty fungují na principu přerušení řetězové reakce oxidace tím, že vycytávají volné radikály. Naopak sekundární antioxidanty zabraňují nebo zpomalují oxidaci potlačením katalyzátorů a regenerují antioxidanty primární.

Primární antioxidanty jako fenolické látky poskytují vodíkový atom, aby neutralizovaly volné radikály. Vzniklé antioxidační radikály jsou stabilizovány tak, že delokalizují nepárový elektron a vytvoří rezonanční hybrid. Výsledné radikály jsou stabilní, mají nízkou reaktivitu a zabraňují dalším řetězovým reakcím tím, že nedávají příležitost vzniku dalším radikálům. Vzniklé antioxidační radikály mohou dále zabránit vzniku dalším radikálům tím, že se účastní konečné fáze oxidace, která je terminace. Další mechanismus primárních antioxidantů je založen na zachycení dvou lipidových radikálů. Jednomu radikálu odevzdají svůj vodíkový atom a zároveň přijmou radikál od lipidového radikálu. Nejznámějšími zástupci primárních antioxidantů jsou fenoly a diarylaminy, které jsou především známy jako radikály zachycující antioxidanty (15; 16).

Sekundární antioxidant reagují na základě různých mechanismů reakce. Zabraňují oxidaci potlačením oxidačních promotorů, včetně kovových iontů, singletového kyslíku, oxidačních enzymů a jiných oxidantů. Redukční činidla redukují peroxidy a příbuzné oxidanty během oxidačně-redoxních reakcí, takže jsou považovány také za antioxidanty. Některé sekundární antioxidanty mohou regenerovat primární antioxidanty odevzdáním vodíkového atomu, aby předešly vyčerpání primárních antioxidantů. Mezi ně patří například kyselina askorbová, která regeneruje tokoferoly a působí s nimi při inhibici oxidace. Jiné sekundární antioxidanty katalyzují reakci rozkladu hydroxyperoxidů nebo absorbují UV-zářením, aby předešly UV-indukované fotooxidaci lipidů (15).

Dále můžeme antioxidanty rozdělit na přírodní a syntetické. Přírodní antioxidanty pochází z přírodních zdrojů. Můžeme je najít v zelenině, ovoci, koření, bylinách, cereáliích, olejích, semenech atd. Mezi přírodní antioxidanty řadíme kyselinu askorbovou, polyfenoly, tokoferoly, tokotrienoly, enzymy, antioxidační peptidy a karotenoidy. Syntetické antioxidanty byly světu představeny ve 40. letech objevením butylhydroxyanisolu a jeho zpomalení oxidace. Od té doby se začaly používat tyto antioxidanty v potravinářském průmyslu. Látky jako butylhydroxyanisol, butylhydroxytoluen atd. Ovšem jejich použití je limitováno vzhledem k potenciálním karcinogenním účinkům, proto je použití v každé zemi rozdílné (15; 17).

### 1.2.2 Analytické metody zjištění antioxidační aktivity

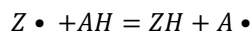
Metod zjištění antioxidační aktivity je mnoho a tyto metody můžeme rozdělovat z různých hledisek. Jedno rozdělení může být na testy zaměřující se na analýzu látek odvozených z lipidových peroxidací (thiobarbiturová kyselina, malonaldehyd...) a testy zaměřující se na odstranění volných radikálů (ABTS, DPPH...). Další rozdělení je založeno na tom, jestli dojde k přenosu vodíkového atomu (ORAC), nebo k přenosu elektronu (Folin-Ciocalteu, DPPH). Všechny tyto metody jsou využívány hojně, avšak ne všechny se mohou vždy použít. Některé jsou připraveny v nevodném reakčním médiu (DPPH), jiné mají nefyziologické pH (Folin-Ciocalteu) (14).

#### 1.2.3.1 Metoda s využitím DPPH radikálu

Metoda s využitím DPPH radikálu (Obrázek 1: DPPH radikál) byla vypracována za účelem určení antioxidační aktivity za použití stabilního radikálu  $\alpha$ ,  $\alpha$ -difenyl- $\beta$ -picrylhydrazilu (DPPH). Stabilní DPPH radikál reaguje s volným vodíkovým atomem a dochází k odbarvení roztoku. Sleduje se tedy úbytek absorpce při absorpčním maximu DPPH radikálu při vlnové délce 517 nm, kdy dochází ke změně barvy z fialové na žlutou. Absorbance DPPH radikálu se

snižuje se světlem, proto musí reakce probíhat ve tmě (18). Reakci DPPH radikálu s donorovou molekulou je znázorněn v Rovnice 4:.

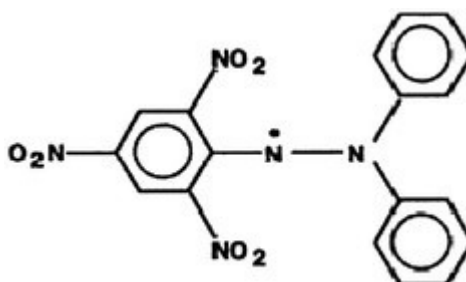
Rovnice 4: Reakce DPPH radikálu (18)



DPPH metoda může být použita ve vodných a nepolárních organických rozpouštědlech, je využívána pro vyšetření jak hydrofilních, tak lipofilních antioxidantů. Tato metoda je výhodná tím, že poskytuje dostatečný čas na reakci i velmi slabým antioxidantům a je jedinečná v uskutečnění reakce vzorku s DPPH radikálem v metanolu/vodě, což usnadňuje extrakci antioxidantních látek.

Tato metoda je rychlá, jednoduchá a drahá. Hodně se využívá pro měření schopnosti sloučenin darovat volný atom vodíku a při posouzení antioxidantní aktivity potravin. Může být použita pro zjištění antioxidantní aktivity např. v ovoci, v zeleninových nápojích apod. (18).

Obrázek 1: DPPH radikál (18)



#### 1.2.2.1 Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS

2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonová kyselina) vzniká oxidací ABTS peroxidisíranem sodným. Aby radikál vznikl, musí se sloučenina namíchat 16 hodin před použitím a nechat ve tmě při laboratorní teplotě. Vzniklý radikál je redukován v přítomnosti antioxidantů a je pozorován úbytek absorbance, který je následně vyjádřen jako procenta inhibice. Radikál má modrozelenou barvu a jeho absorpční maxima jsou při vlnových délkách 645 nm, 734 nm a 815 nm, stejně jako běžně využívané při 415 nm. Rozsah a čas reakce závisí na antioxidantní aktivitě, koncentraci antioxidantů a průběhu reakce.

Touto metodou můžeme měřit celkovou antioxidantní aktivitu čistých, vodných i jiných roztoků. Bývá využita jak pro ve vodě rozpustné antioxidanty, tak pro antioxidanty rozpustné v tučích (19).

#### 1.2.2.2 Stanovení celkového obsahu fenolických látek – Folin-Ciocalteuova metoda

Stanovení celkového obsahu fenolických látek je jedna z dalších možností, jak zjistit antioxidační aktivitu. Používá se pro extrakty bylin, ovoce, cereálií a mnoha dalších. Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek se používá Folin-Ciocalteuova metoda, která byla navržena pro analýzu proteinů. Tato metoda je založena na redukci Folin-Ciocalteuova činidla fenolickými látkami v alkalickém prostředí. Folin-Ciocalteuovo činidlo obsahuje kyselý roztok fosforečnanu molybdenového a wolframového. Toto činidlo má modrou barvu a maximální absorpční vlnovou délku 765 nm. Redukční stránka činidla náleží molybdenovému iontu, kdy přijme elektron od fenolického antioxidantu. Jako standardní látka při měření se používá kyselina gallová a výsledky jsou zaznamenány jako ekvivalenty kyseliny gallové. Jedna z nevýhod je, že je citlivá na pH a má delší dobu reakce. Ovšem mezi její výhody patří jednoduchost a reprodukovatelnost (20).

### 1.2.3 Antioxidanty v sýrech

Proteiny, proteinové hydrolyzáty, peptidy a aminokyseliny jsou hlavními antioxidanty vyskytující se v sýrech. Peptidy a proteinové hydrolyzáty vykazují vyšší antioxidační činnost než proteiny a aminokyseliny, takže to naznačuje, že právě peptidy mají hlavní roli v antioxidační aktivitě proteinů. Dnes už jsou peptidy, zodpovědné za antioxidační aktivitu proteinů a jejich hydrolyzátů, odděleny a identifikovány. Za antioxidační aktivitu peptidů mohou pravděpodobně aromatické, imidazolové a sulfurové amino a imino kyseliny. Mechanismus působení peptidů je zřejmě způsoben poskytnutím vodíkového atomu fenolickými a indolovými skupinami, stejně jako vyšší stabilitou fenolových a indolových radikálů více než peroxylových radikálů.

Peptidy, které jsou zodpovědné za antioxidační aktivitu v sýrech jsou zejména feritin, transeferin a laktoferrin. (15)

Antioxidační aktivita v sýrech může být způsobena různými mléčnými kulturami a velikost antioxidační aktivity závisí na druhu kultury. Podle článku Yerlikaya (21) měřili antioxidační aktivitu různých kmenů *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* pomocí DPPH radikálu a naměřili hodnoty od 10,35 do 33,74 % inhibice. V článku Ozdogana (22) také poukazují na schopnost zachycovat volné radikály kulturami *Lactobacillus* a *Bifidobacter*. Kultura *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* LL27 vykazovala výraznou antioxidační aktivitu při měření metodou s využitím DPPH radikálu. (21; 22).

V průběhu let byla antioxidační aktivita měřena na různých druzích sýrů. V článku Meira et al. (23) měří antioxidační aktivitu ovčích sýrů pocházejících z Uruguaye a Brazílie. Jsou to sýry typu Feta, Roquefort a Pecorino, které zrály různý počet dní a vyráběly se v různých městech. Antioxidační aktivita byla měřena různými metodami jako je ABTS, DPPH, TBARS a následně převedena na % inhibice. Metodou ABTS byla nejmenší antioxidační aktivita naměřena pro sýr typu Feta, vyrobený v Brazílii, u kterého neproběhlo stádium zrání, a to na  $32,71 \pm 1,8$  % inhibice. Naopak nejvyšší hodnoty byly naměřeny pro sýr typu Roquefort, a to  $87,46 \pm 0,2$  % inhibice. Tento sýr byl vyroben také v Brazílii, ovšem zrál 90 dní.

Pro měření metodou DPPH radikálu byly výsledky naměřeny pouze pro sýr typu Roquefort, kde ostatní vzorky nevykazovaly změny absorbance. Sýry byly měřeny i metodou TBARS, kdy podobně jako u měření s využitím kationtu radikálu ABTS byly naměřeny nejnižší hodnoty antioxidační aktivity pro sýr typu Feta ( $25,95 \pm 1,2$  % inhibice), ovšem tento zrál 60 dní, a nejvyšší hodnoty měly sýry typu Roquefort (Brazílie, 90 dní zrání) a Pecorino-Sardo (Uruguay, 80 dní zrání) a to  $50,78 \pm 3,5$  a  $51,84 \pm 1,2$  % inhibice (23).

V článku Batoola et al. (24) měřili antioxidační aktivitu sýru Čedar, vyrobeného z buvolího a kravského mléka. Sýry zrály po dobu 120 dní při 4 a 12 °C a antioxidační aktivita se měřila za různé doby zrání metodami s využitím DPPH radikálu a měření celkového obsahu fenolických látek. Čedar vyrobený z buvolího mléka měl počáteční hodnoty antioxidační aktivity, kdy sýr ještě nezrál, vyšší než sýr z kravského mléka. Hodnoty antioxidační aktivity obou sýrů se postupem zrání zvyšovaly. Hodnoty antioxidační aktivity Čedaru z kravského mléka po 120 dnech zrání byly  $77,46 \pm 1,47$  % inhibice pro metodu TAC a  $59,67 \pm 1,92$  % inhibice pro metodu s využitím DPPH radikálu. Hodnoty antioxidační aktivity Čedaru z buvolího mléka po 120 dnech zrání byly  $88,30 \pm 1,47$  % inhibice pro metodu TAC a  $72,44 \pm 3,53$  % inhibice pro metodu DPPH radikálu (24).

### **1.3 Použité analytické metody**

#### **1.3.1 Viditelná a ultrafialová spektrometrie**

Principem této metody je, že zředěné roztoky molekul jsou schopny absorbovat ultrafialové a viditelné záření. Rozmezí vlnových délek těchto záření je 200 až 800 nm. Když látka absorbuje záření, dochází k excitaci valenčních elektronů. Základem přístrojů pro tuto metodu je měření prošlého zářivého toku neboli fotometrie. K měření tohoto toku se využívají jednodušší

fotometry nebo spektrofotometry, které mají monochromátor. Přístroje můžou být jednopaprskové nebo dvoupaprskové.

Pro viditelnou oblast světla se jako zdroj záření využívají wolframové a halogenové žárovky, pro UV oblast se využívají deuteriové lampy. Wolframové žárovky jsou hodně citlivé ke změnám napětí, tudíž musí být napětí stabilizováno. Používají se pro vlnové délky od 350 nm do 3000 nm. Halogenové žárovky jsou velmi účinné žárovky, jejichž spektrum zasahuje až do ultrafialové oblasti. Je to wolframová žárovka, v níž se nachází malé množství jodu v křemenné baňce. Je využitelná dvakrát delší dobu než žárovka wolframová. Deuteriová lampa se využívá pro ultrafialovou oblast. Při nízkém tlaku vytváří elektricky excitovaný vodík nebo deuterium kontinuální ultrafialové spektrum. Tyto lampy emitují záření vlnové délky od 160 nm do 375 nm. Jako monochromátor se využívá konstrukce Czech-Turner. V tomto případě provádíme změnu vlnové délky nakláněním mřížky. Vzorek se nachází ve skleněné kyvetě, pokud se jedná o viditelnou oblast, nebo v kyvetě křemenné, když mluvíme o ultrafialové oblasti. Jako detektor záření se využívají fotonásobiče, polovodičové fotoelektrické články, diodová pole a detektory CCD. Fotonásobiče se využívají běžně pro viditelnou a UV oblast. Diodová pole se používají pro vzorky, jenž prostupují průtočnou kyvetou, které se využívají např. ve vysokotlaké kapalinové chromatografii (25).

### 1.3.2 QUENCHER

QUENCHER (Quick, Easy, New, CHEap, Reproducible) je metoda, která je založena na reakci pevné látky z potravin s kapalnými radikály, kdy kapalina pronikne do reakční pevné látky. Základní bod této metody je správné reakční médium pro rozpuštění radikálu. Právě tato metoda, kdy rozpouštíme reakční látku, má velký efekt na měření antioxidační aktivity. Jako reakční médium se nejlíp jeví směs etanolu a vody (1:1) z důvodu modifikace potravinových matric a zjednodušení reakce mezi radikály a antioxidačními sloučeninami. Podle jiných studií je toto reakční médium vhodné k přímému měření vzhledem k tomu, že rozpustné antioxidanty s vysokou polaritou jsou lépe rozpustné, zatímco nerozpustné antioxidanty reagují s radikály. Jiné reakční médium (tetrahydrofuran) bylo vyzkoušeno se směsí etanolu a vody, ale nebyl pozorován žádný efekt.

Pro co nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity je důležité, aby pevná látka měla co největší plochu pro reakci. Zvětšení reakční plochy napomáhá reakci a vede k vyšší rychlosti reakce díky vyšší účinnosti reakce mezi reaktanty. Antioxidační aktivita je také zvýšena díky zmenšení

pevných částic, a tedy zvýšení jejich povrchů. Ačkoli některé studie říkají, že nezávisí na velikosti jednotlivých částic (26).

Tato metoda byla představena z důvodu předejití možných důsledků extrakce, kdy reagují pevné vzorky přímo s volnými radikály a měří se jejich absorbance. Na základě porovnání měření metodou QUENCHER a extrakčními metodami bylo zjištěno, že hodnoty pro QUENCHER metodu byly vyšší. Je to způsobeno díky nevýhodám extrakčních metod jako je např. ztráta některých antioxidantních sloučenin během hydrolýzy. Toto dokazuje, že metoda QUENCHER přináší příležitost, jak správně a přesně změřit antioxidantní aktivitu a předejít nedostatkům klasických extrakčních metod (26).

## **1.4 Vzorky použité k experimentální části**

### **1.4.1 Eidam**

Eidam patří do skupiny polotvrdých sýrů a je jeden ze dvou hlavních sýrů vyráběných v Nizozemsku. Je to sýr, který je hladký na povrchu, má intenzivní chuť, vydrží alespoň 3 měsíce a dobře se převáží. Tento sýr se velmi těžko kazí, ale může ztvrdnout. Všechny tyto vlastnosti řadí tento sýr mezi nejpopulárnější sýry. Vyrábí se ze směsi večerního odstředěného a ranního mléka, následně se nechá zrát 6 měsíců. FDA identifikační standard ale uvádí, že Eidam se dá připravit kterýmkoli postupem, ale výsledná hmotnost sušiny sýru musí mít minimálně 40 % mléčného tuku a maximální obsah vlhkosti 45 % celkové hmotnosti. Protože je po tomto sýru vysoká poptávka, výroba se hojně rozšiřuje do dalších zemí (27; 28).

### **1.4.2 Tvarůžky**

Tvarůžky Handkäse (nebo také Harzer) je sýr vyrobený z kyselého mléka pocházející z Německa. Je typicky žluto-hnědý s elastickou tuhou konzistencí. Tyto vlastnosti dostává během zrání, balení a převozu. Ovšem zbývající bílé části zmizí směrem od povrchu dovnitř během 2 – 3 týdnů. Při výrobě se používají pro zahušťování mléka kyseliny, tvořené bakteriemi mléčného kvašení. K tomu se v minulosti používali mezofilní kultury, ovšem dnes se již používají termofilní kultury (jogurtové) (29; 30).

### 1.4.3 Hermelín

Hermelín patří mezi měkké zrající sýry s plísní na povrchu. Výroba tohoto typu sýru začala ve Francii. Tento druh sýru je vyznačován bílou až šedou plísní na povrchu, která je tvořena zejména rodem *Penicillium camemberi* spolu s mezofilními kulturami. Sýr je neobyčejný hlavně kvůli svým biochemickým reakcím, ke kterým dochází při době zrání, která trvá 3 – 5 týdnů. Tyto reakce způsobují, že z rozpadavého sýra se stane měkký tekoucí sýr. Doporučená doba konzumace je 3–7 týdnů po jeho výrobě. Tento sýr se dá konzumovat i po uplynutí této doby, avšak může mít amoniakální, sulfidovou nebo hořkou chuť, pastovitou řídkou konzistencí a zhoršený nahnědlý povrch (31).

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Přístroje a pomůcky

Laboratorní váhy KERN 440-35N	(KERN & Sohn GmbH, Německo)
Analytické váhy KERN ABT 220-4M	(KERN & Sohn GmbH, Německo)
Magnetické míchadlo s ohřevem	(Fisher Scientific s.r.o., ČR)
Odstředivka Mini Star silverline	(VWR International, Korea)
Centrifuga NF 400	(NÜVE, Turecko)
pH metr Hanna Checker	(HANNA instruments, Rumunsko)
Stříkačkové filtry LPE2545-100	(LABICOM s.r.o., ČR)
UV/Vis Spektrofotometr Beckman DU 530	(Beckman Coulter Inc., USA)
Termostat BSK ET618	(Liebherr, Rakousko)
Rotační třepačka Multimix 230V	(VWR International, Mexiko)
Automatické pipety + běžné laboratorní vybavení	

### 2.2 Chemikálie

Hydroxid sodný p.a.	(PENTA s.r.o., ČR)
Kyselina chlorovodíková 35 %	(PENTA s.r.o., ČR)
Hexan	(Merck s.r.o., Německo)
Síran amonný p.a.	(PENTA s.r.o., ČR)
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	(Sigma-Aldrich, Německo)
Metanol $\geq 99.9\%$	(Honeywell, Německo)
AzBTS $> 98.0\%$	(TCI, Japonsko)
(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonová kyselina))	
Peroxodisíran draselný	(Sigma-Aldrich, Německo)
BSA (Hovězí sérový albumin)	(Univerzita Pardubice, ČR)
Destilovaná voda	(Univerzita Pardubice, ČR)

## 2.3 Vzorky

K analýze byly použity tři druhy sýrů, které jsou vypsány v Tabulka 6: Použité sýry a jejich popis.

Jak **Chyba! Chybný odkaz na záložku.** znázorňuje, sýry Eidam a Hermelín mají výrazně vyšší obsah tuku na 100 g výrobku (26 a 28 g) než Tvarůžky (0,5 g). Zatímco množství soli je vyšší naopak u Tvarůžků, kde jsou 4 g na 100 g výrobku a u Eidamu a Hermelínu je to méně než polovina. Rozdíl mezi obsahem sacharidů u jednotlivých sýrů není nijak výrazně odlišný. Všechny tři sýry mají do 2 g sacharidů na 100 g výrobku. Bílkoviny mají u Tvarůžků nejvyšší hodnotu na 100 g výrobku (30 g), zatímco Hermelín má nejnižší obsah bílkovin (18 g). Všechny tyto živiny (bílkoviny, tuky, sacharidy) tvoří energetickou hodnotu potravin. Energetické hodnoty pro Eidam a Hermelín na 100 g výrobku jsou 1428 kJ a 1376 kJ, zatímco u Tvarůžků je hodnota o víc jak polovinu menší.

Tabulka 7 znázorňuje výživové hodnoty na 100 g výrobku, které byly převzaty z obalů výrobků.

Tabulka 6: Použité sýry a jejich popis

Sýr	Označení	Země původu
Eidam	Zrající plnotučný sýr	Polsko
Tvarůžky (Handkäse)	Zrající sýr	Německo
Hermelín	Sýr s plísní na povrchu	Česká republika

Jak **Chyba! Chybný odkaz na záložku.** znázorňuje, sýry Eidam a Hermelín mají výrazně vyšší obsah tuku na 100 g výrobku (26 a 28 g) než Tvarůžky (0,5 g). Zatímco množství soli je vyšší naopak u Tvarůžků, kde jsou 4 g na 100 g výrobku a u Eidamu a Hermelínu je to méně než polovina. Rozdíl mezi obsahem sacharidů u jednotlivých sýrů není nijak výrazně odlišný. Všechny tři sýry mají do 2 g sacharidů na 100 g výrobku. Bílkoviny mají u Tvarůžků nejvyšší hodnotu na 100 g výrobku (30 g), zatímco Hermelín má nejnižší obsah bílkovin (18 g). Všechny tyto živiny (bílkoviny, tuky, sacharidy) tvoří energetickou hodnotu potravin. Energetické hodnoty pro Eidam a Hermelín na 100 g výrobku jsou 1428 kJ a 1376 kJ, zatímco u Tvarůžků je hodnota o víc jak polovinu menší.

Tabulka 7: Výživové údaje jednotlivých sýrů na 100 g výrobku

	<b>Eidam</b>	<b>Tvarůžky (Handkäse)</b>	<b>Hermelín</b>
Energetická hodnota	1428 kJ/ 344 kcal	529 kJ/ 125 kcal	1376 kJ/ 332 kcal
Tuky	26 g	0,5 g	28 g
Z toho nasycené mastné kyseliny	18 g	0,2 g	20 g
Sacharidy	1,4 g	<0,1 g	2 g
Z toho cukry	0,2 g	<0,1 g	<0,5 g
Bílkoviny	26 g	30 g	18 g
Sůl	1,5 g	4,0 g	1,6 g

### 2.3.1 Úprava vzorků

Vzorek sýru byl nakrájen na drobné kousky o velikosti cca 5 mm a následně zmrazen při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Poté bylo naváženo 20 g zmrazeného vzorku sýru. Vzorek byl vložen do Erlenmayerovy baňky, bylo přidáno 100 ml hexanu a následně byl vzorek ručně míchán 10 minut za účelem extrakce tuku. Po odlití hexanu s extrahovaným tukem následovala extrakce druhá. Na závěr byly vzorky vysušeny filtračním papírem a přesunuty do plastových uzavíratelných zkumavek.

## 2.4 Metody chemické analýzy

### 2.4.1 Frakcionace bílkovin

Byl navážen 1 g upraveného sýra do skleněných uzavíratelných zkumavek (každý sýr byl navážen ve třech navážkách) a bylo přidáno 10 ml vody. Po rozmíchání byla upravena hodnota pH na 6,7 roztokem NaOH (1,0 M) a extrahovalo se za míchání po dobu 30 minut. Poté bylo pH upraveno na 4,6 roztokem HCl (1,0 M), aby se vysrážela část balastních neaktivních bílkovin. Následně byly vzorky dány do centrifugy na 4100 ot/min po dobu 30 minut. Poté byl odebrán supernatant a následně byla provedena filtrace přes stříkačkové filtry (0,45  $\mu\text{m}$ , polyester). Všechny tři vzorky byly následně slity do jedné kádinky a u čirého filtrátu proběhla frakcionace síranem amonným třístupňovým srážením. V první frakci proběhlo srážení v rozmezí 0–35 % nasycení, kde bylo použito 20,9 g na 100 ml extraktu. Po úplném rozpuštění síranu amonného

byla suspenze ponechána v klidu 1 hodinu. Poté byla suspenze odstředěna na odstředivce. Čirá tekutina byla převedena na další srážení a vysrážené bílkoviny byly vloženy do exsikátoru. Poté byl supernatant nasycen do druhého stupně do 55 % nasycení (12,9 g na 100 ml extraktu) a do třetího stupně 55–80 % nasycení (17,9 g síranu amonného na 100 ml extraktu). Postup je stejný jako u první frakce. Všechny bílkoviny ze všech tří frakcí byly zváženy (32).

#### 2.4.2 Metoda s využitím DPPH radikálu

Metoda s využitím DPPH radikálu byla provedena na základě metody QUNCHER, kdy reaguje molekula radikálu přímo s částicemi vzorku. Metoda je popsána v 1.3.2.

K přípravě roztoku DPPH bylo naváženo 12,5 mg DPPH radikálu a převedeno do kádinky s malým množstvím metanolu. Po rozpuštění DPPH radikálu byla navážka převedena do odměrné baňky a doplněna na 250 ml metanolu. Poté bylo přidáno 250 ml destilované vody a řádně promícháno.

Pro optimalizaci času reakce DPPH radikálu bylo naváženo 5x 10 mg BSA do plastových uzavíratelných zkumavek (BSA byl použit jako referenční protein z důvodu měření antioxidační aktivity bílkovin). Poté bylo přidáno 5,0 ml DPPH radikálu do každé zkumavky. Zkumavky byly uzavřeny, vloženy do rotační třepačky v temnu a byly extrahovány po dobu 15, 30, 60, 120 a 180 minut. Po extrakci byly extrakty odpipetovány do Eppendorf zkumavek a vloženy na 2 minuty do odstředivky při 6000 ot/min a následně byla změřena absorbance při 517 nm. Výsledek byl uveden jako % inhibice vypočteným podle Rovnice 5: Výpočet inhibice (%). Graf optimalizace času reakce je znázorněn v Metoda s využitím DPPH.

Rovnice 5: Výpočet inhibice (%)

$$I (\%) = \frac{A_{vz} - A_{sp}}{A_{sp}}$$

$A_{vz}$ .....absorbance vzorku  
 $A_{sp}$ .....absorbance slepého pokusu  
 $I (\%)$ .....inhibice

Pro vlastní měření vzorků bylo naváženo 10 mg každé frakce bílkovin dvakrát a převedeno do plastových uzavíratelných zkumavek. Poté bylo do každé zkumavky přidáno 5 ml DPPH radikálu, zkumavky byly uzavřeny a vloženy do rotační třepačky. Zkumavky spolu s třepačkou byly vloženy na temné místo. Všechny vzorky byly extrahovány 220 minut. Po extrakci byly

extrakty odpipetovány do Eppendorf zkumavek a následně vloženy na 5 minut do odstředivky při 6000 ot/min a následně byla změřena absorbance při 517 nm.

### **2.4.3 Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS**

Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS byla provedena na základě metody QUNCHEER, kdy reaguje molekula radikálu přímo s částicemi vzorku. Metoda je popsána v 1.3.2.

Roztok ABTS byl připraven navážením 10 mg ABTS, navážka byla rozpuštěna v 10 ml destilované vody. Poté byl přidán 0,1 ml 0,064 M peroxodisíranu draselného a roztok se nechal 16 hodin stát při laboratorní teplotě v temnu. Po uplynutí doby bylo 5,0 ml roztoku převedeno do 200 ml odměrné baňky, doplněno po rysku a řádně promícháno.

Nejprve se provedla optimalizace času reakce ABTS radikálu s částicemi vzorků. Do 5 plastových uzavíratelných zkumavek bylo naváženo 10 mg BSA (BSA byl použit jako referenční protein z důvodu měření antioxidační aktivity bílkovin), přidáno 5,0 ml roztoku ABTS a vloženo do rotační třepačky. Zkumavky i s třepačkou byly vloženy do termostatu nastaveného na 25 °C. Zkumavky byly postupně vyjmuty po 15, 30, 60, 120 a 180 minutách, 5 minut byly odstředěny na odstředivce při 6000 ot/min a následně byla změřena absorbance při 734 nm. Výsledek byl uveden jako % inhibice vypočteným podle Rovnice 5: Výpočet inhibice (%). Graf optimalizace času reakce je znázorněn v Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS

K měření vzorků bylo naváženo 10 mg každého vzorku dvakrát, přidáno 5,0 ml ABTS a vloženo do termostatu za současného vložení do rotační třepačky. Po 120 minutách byly extrakty vyjmuty, převedeny do Eppendorf zkumavek a vloženy do odstředivky při 6000 ot/min na 5 minut. Poté byla změřena absorbance při 734 nm.

## 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 3.1 Frakcionace bílkovin

Úkolem frakcionace bílkovin bylo získat bílkoviny precipitující v různém rozmezí nasycení srážením síranem amonným. Z každého vzorku sýru byly tři vzorky o nasycení 0–35 %, do 55 % a 55–80 %. V Tabulka 8 jsou znázorněny výtěžky bílkovin po frakcionaci. Výsledky se pohybovaly v rozmezí od 1,22 % do 6,21 %.

Tabulka 8: Výtěžek bílkovin (%) po frakcionaci vzhledem k navážce

Sýr	Výtěžek 1 (%)	Výtěžek 2 (%)	Výtěžek 3 (%)
Eidam	1,22	1,42	4,11
Tvarůžky	1,65	3,72	6,21
Hermelín	3,42	4,64	3,32

Výtěžek 1..... výtěžek pro vzorek o nasycení 0–35 %

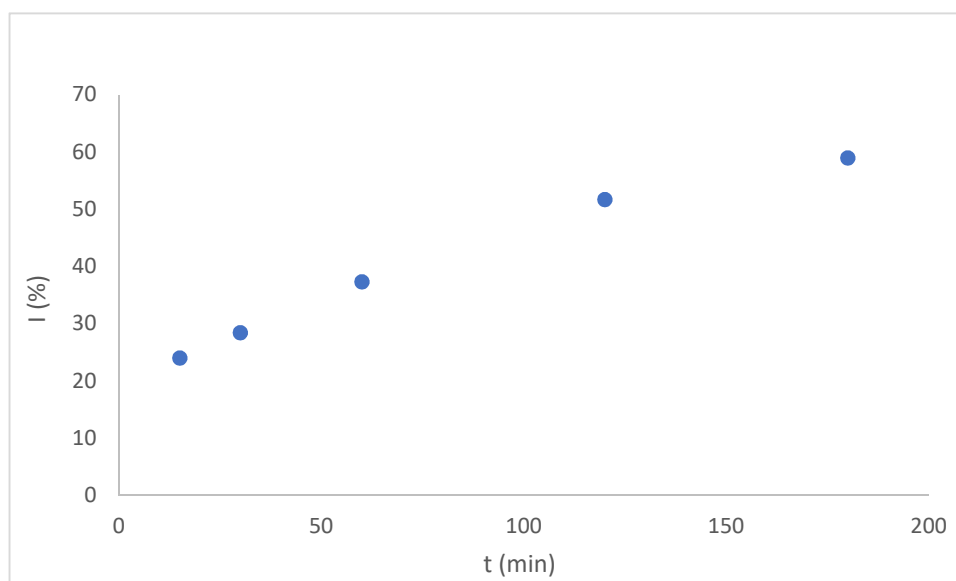
Výtěžek 2..... výtěžek pro vzorek o nasycení do 55 %

Výtěžek 3..... výtěžek pro vzorek o nasycení 55–80 %

### 3.2 Metoda s využitím DPPH radikálu

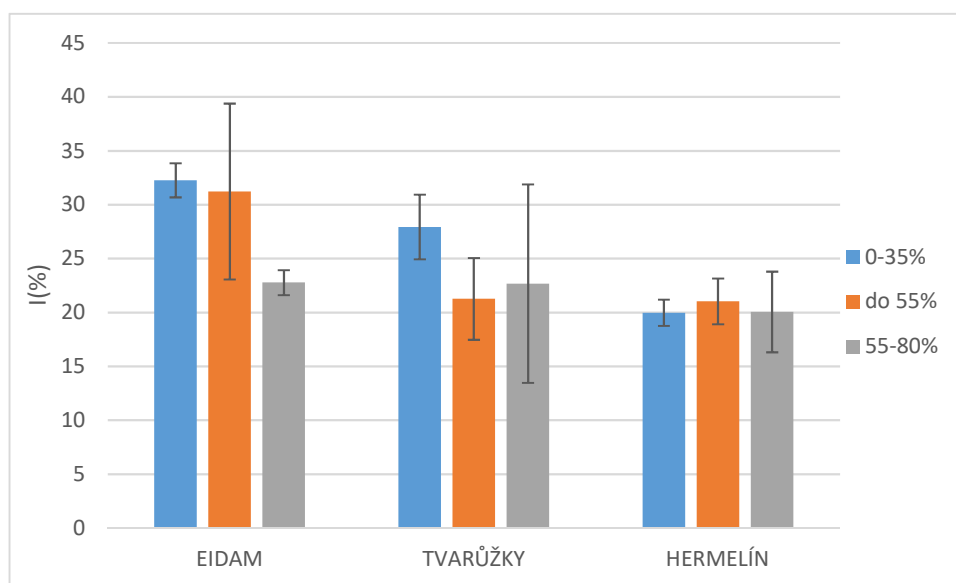
Nejprve se provedla optimalizace času reakce. Jak je vidět z Obrázek 2: Optimalizace metody DPPH, antioxidační aktivita BSA měřená s využitím DPPH radikálu rostla od 24,0 % do 59,0 % v čase od 15 do 180 minut. Antioxidační aktivita v čase 120 a 180 minut vzrostla pouze o 7,3 %. Vzhledem k tomu byl jako optimální čas reakce zvolen čas 220 min, kdy následně byla stanovena antioxidační aktivita 3 druhů sýrů.

Obrázek 2: Optimalizace metody DPPH



Každý sýr měl 3 stupně nasycení, postup získání tří stupňů nasycení každého sýru je popsán v Kapitole 2.4.1. Pro každý vzorek byly zhotoveny 2 extrakty a každé měření se provedlo dvakrát. Celý postup je znázorněn v Kapitole 2.4.2. Naměřená data byla přepočtena na % inhibice. V následujícím Obrázek 3: Antioxidační aktivita 3 druhů sýrů metodou DPPH je znázorněn graf pro 3 druhy sýru při různém stupni nasycení, kdy jsou v něm zaznamenány aritmetické průměry výsledků a směrodatné odchylky.

Obrázek 3: Antioxidační aktivita 3 druhů sýrů metodou DPPH v I (%)



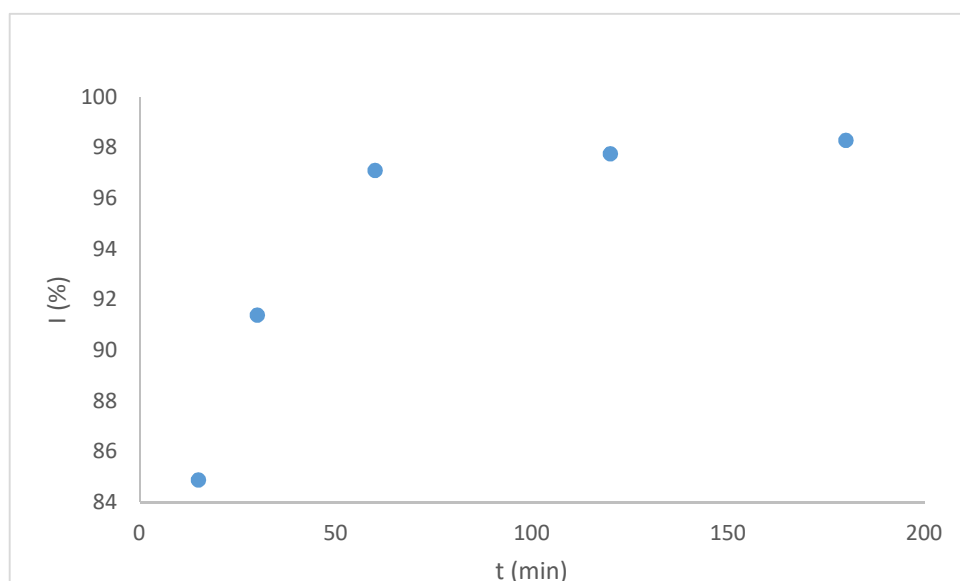
Hodnoty měření se pohybovaly mezi 20–35 % inhibice. Z Obrázek 3: Antioxidační aktivita 3 druhů sýrů metodou DPPH v I (%) můžeme posoudit, že Eidam měl nejvyšší hodnoty procenta

inhibice. V článku Cömerta a Gökmena (26) je napsáno, že pro metodu QUNCHER je lepší použít DPPH radikál s vodou i metanolem, protože poskytli vyšší výsledky ve srovnání s metanolickým roztokem DPPH vzhledem k potravinovým matricím a zjednodušení reakci mezi radikálem a vzorkem. Ovšem v článku od Kedare a Singh (18), který pojednává o samotné metodě DPPH radikálu, je řečeno, že DPPH radikál by měl být rozpouštěn pouze v organických rozpouštědlech, což se potvrdilo i v průběhu experimentální části, kdy roztok DPPH radikálu s vodou i metanolem nebyl stabilní, zejména v lednici docházelo k zpětnému vysrážení DPPH radikálu.

### 3.3 Metoda s využitím kationtu radikálu ABTS

Byla provedena optimalizace času reakce ABTS radikálu se vzorkem BSA. Na Obrázek 4: Optimalizace metody ABTS lze pozorovat vzrůstající hodnoty antioxidační aktivity v čase od 15 do 60 minut z 84,9 % na 97,1 %. Vzhledem k tomu, že antioxidační aktivita v čase od 120 do 180 minut vzrostla pouze o 0,5 %, byl optimální čas reakce zvolen na 120 minut.

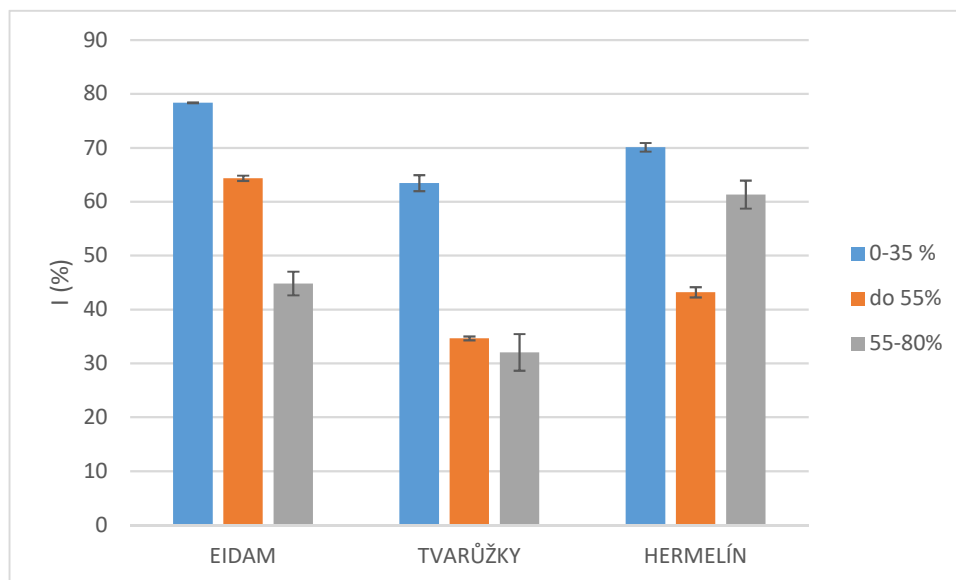
Obrázek 4: Optimalizace metody ABTS



Následně byly změřeny absorbance pro 3 druhy sýru, každý sýr byl ve třech stupních nasycení, postup získání tří stupňů nasycení každého sýra je popsán v 2.4.1. Pro každý vzorek byly zhotoveny 2 extrakty a každé měření se provedlo dvakrát. Celý postup je znázorněn v 2.4.3. Naměřená data byla přepočtena na % inhibice. V následujícím Obrázek 5: Antioxidační aktivita

pro 3 druhy sýru metodou ABTS v I (%) Obrázek 4: Optimalizace metody ABTS jsou znázorněny aritmetické průměry pro 3 druhy sýru pro tři stupně nasycení a jejich směrodatné odchylky.

Obrázek 5: Antioxidační aktivita pro 3 druhy sýru metodou ABTS v I (%)



Hodnoty měření se pohybovaly v rozmezí 30–80 % inhibice. Nejvyšší hodnota % inhibice byla pro Eidam v rozmezí 0–35 % nasycení. Hodnoty byly obecně vyšší a odchylky nižší než u měření s DPPH radikálem. To může být způsobeno použitím pouze vody u přípravy roztoku ABTS, oproti přípravě roztoku DPPH, kdy se použila voda a metanol, jak je uvedeno v článku Cömerta a Gökmena (26). Podle Plazi (33) není jednoduché srovnávat výsledky z 2 různých způsobů měření antioxidační aktivity, kde píše také o rozdílných výsledcích při měření dvěma metodami. Proto je doporučováno, aby se používalo více způsobů měření antioxidační aktivity.

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo ověřit antioxidační účinky různých typů sýrů. Experimentálně byly provedeny dvě různá měření antioxidační aktivity na třech druzích sýrů.

V teoretické části byl z hlediska legislativy přiblížen pojem „sýr“ a jeho rozdělení podle různých kritérií hodnocení. Dále byl na základě studia odborné literatury přiblížen nejen technologický postup výroby sýrů, ale také rozdíly ve výrobě vybraných typů sýrů. Následně byly popsány druhy sýrů z hlediska jejich chemického složení a vlivu mléčných mikrobiálních kultur na antioxidační vlastnosti a jejich nutriční složení.

Další kapitola teoretické části se věnovala antioxidantům. Byly popsány způsoby rozdělení antioxidantů, metody měření a v neposlední části také samotné antioxidanty, které se nacházejí v sýrech.

V experimentální části bylo hlavním cílem zjistit a ověřit antioxidační vlastnosti různých druhů sýrů, a to sýrů Eidam, Hermelín a Tvarůžky (Handkäse). Antioxidační vlastnosti byly měřeny bílkovinám, získaným srážením síranem amonným a jejich postupným nasycením do stupňů 0–35 %, do 55 % a 55–80 %. Antioxidační aktivita byla následně měřena metodou QUENCHER, kdy se použil pevný vzorek bílkovin s kapalným radikálem. Spektrofotometricky byla poté změřena antioxidační aktivita metodami s využitím DPPH a ABTS radikálů.

Ve výsledcích jsou znázorněny sloupcové grafy s aritmetickými průměry měření jednotlivých sýrů a jejich nasycením, kde je potvrzeno, že všechny sýry mají antioxidační vlastnosti. Výrazné odchylky měření s DPPH radikálem oproti metodě s využitím kationtu radikálu ABTS je pravděpodobně způsobeno vlivem použití vody a metanolu při výrobě roztoku DPPH radikálu.

## POUŽITÁ LITERATURA

- (1) Sýrařství. FORMAN, Ladislav. *Mlékárenská technologie II*. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1996, s. 42-151. ISBN 80-7080-250-2.
- (2) WALTHER, B.,. Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology* [online]. 2008, 88(4-5) [cit. 2019-02-28]. DOI: 10.1051/dst:2008012. ISSN 19585586.
- (3) ČESKO: Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2016, částka 162, s. 6262-6279. Dostupné také z: <https://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/start.aspx>
- (4) Označování sýrů. In: *Bezpečnost potravin A-Z* [online]. b.r. [cit. 2019-02-25]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92078.aspx>
- (5) ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-7080-239-1.
- (6) MCSWEENEY, Paul. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 4th ed. Boston, MA: Elsevier, 2017. ISBN 978-0-12-417012-4.
- (7) ROBINSON, R. K., Carl A. BATT a P. D. PATEL. *Encyclopedia of food microbiology*. San Diego: Academic Press, 2000. ISBN 978-0-12-227070-3.
- (8) WEIMER, Bart C. *Improving the Flavour of Cheese*. USA: Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-1-84569-007-6.
- (9) FOX, P. F. *Cheese: chemistry, physics, and microbiology*. 3rd ed. London: Elsevier, 2004. ISBN 978-0-12-263651-6.
- (10) SCHÄFER, Johannes, Karin SEBALD, Andreas DUNKEL, Thomas HOFMANN, Ines ROSENTHAL, Regina SCHUSTER, Zeynep ATAMER a Jörg HINRICHS. A feasibility study on the pilot scale manufacture of fresh cheese from skim milk retentates without acid whey production: Effect of calcium content on bitterness and texture. *International Dairy Journal* [online]. 2019, 93, 72-80 [cit. 2019-04-18]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2019.01.012. ISSN 09586946.
- (11) HLAVATÁ, Karolína. Sýry jsou důležitou součástí jídelníčku. Co skrývají dobrého?. In: *Vím, co jím* [online]. b.r. [cit. 2019-02-25]. Dostupné z: [https://www.vimcojim.cz/magazin/clanky/o-vyzive/Syry-jsou-dulezitou-soucasti-jidelnicku.-Co-skryvaji-dobreho\\_\\_s10010x19103.html](https://www.vimcojim.cz/magazin/clanky/o-vyzive/Syry-jsou-dulezitou-soucasti-jidelnicku.-Co-skryvaji-dobreho__s10010x19103.html)

- (12) ČURDA, Ladislav. Tvarohy a sýry. KADLEC, Pavel. *Technologie potravin II*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, s. 62-84. ISBN 80-7080-510-2.
- (13) ŞANLIDERE ALOĞLU, H. a Z. ÖNER. Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *Journal of Dairy Science* [online]. 2011, 94(11), 5305-5314 [cit. 2019-03-19]. DOI: 10.3168/jds.2011-4285. ISSN 00220302.
- (14) PÉREZ-BURILLO, S., J.A. RUFÍAN-HENARES a S. PASTORIZA. Towards an improved Global Antioxidant Response method (GAR+): Physiological-resembling in vitro antioxidant capacity methods. *Food Chemistry* [online]. 2018, 239, 1263-1272 [cit. 2019-03-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.07.063. ISSN 03088146.
- (15) SHAHIDI, Fereidoon a Ying ZHONG. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews* [online]. 2010, 39(11) [cit. 2019-04-04]. DOI: 10.1039/b922183m. ISSN 0306-0012.
- (16) CHAUVIN, Jean-Philippe R., Evan A. HAIDASZ, Markus GRIESSER a Derek A. PRATT. Polysulfide-1-oxides react with peroxy radicals as quickly as hindered phenolic antioxidants and do so by a surprising concerted homolytic substitution. *Chemical Science* [online]. 2016, 7(10), 6347-6356 [cit. 2019-04-04]. DOI: 10.1039/C6SC01434H. ISSN 2041-6520.
- (17) VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-2-9.
- (18) KEDARE, Sagar B. a R. P. SINGH. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2011, 48(4), 412-422 [cit. 2019-03-20]. DOI: 10.1007/s13197-011-0251-1. ISSN 0022-1155.
- (19) RE, Roberta, Nicoletta PELLEGRINI, Anna PROTEGGENTE, Ananth PANNALA, Min YANG a Catherine RICE-EVANS. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 1999, 26(9-10), 1231-1237 [cit. 2019-03-21]. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3. ISSN 08915849.
- (20) SHAHIDI, Fereidoon. *Handbook of antioxidants for food preservation*. Waltham, MA, USA: Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier, 2015. Woodhead

Publishing in food science, technology, and nutrition, no. 276. ISBN 978-1-78242-089-7.

- (21) YERLIKAYA, Oktay. Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of Dairy Science* [online]. 2019, 102(1), 124-134 [cit. 2019-04-25]. DOI: 10.3168/jds.2018-14983. ISSN 00220302.
- (22) OZDOGAN, Dilek Kaya, Nefise AKCELIK, Belma ASLIM, Zekiye SULUDERE a Mustafa AKCELIK. Probiotic and antioxidative properties of *L. lactis* LL27 isolated from milk. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* [online]. 2014, 26(1), 2750-2758 [cit. 2019-04-25]. DOI: 10.5504/BBEQ.2011.0091. ISSN 1310-2818.
- (23) MEIRA, Stela Maris Meister, Daniel Joner DAROIT, Virginia Etges HELFER, Ana Paula Folmer CORRÊA, Jéferson SEGALIN, Silvana CARRO a Adriano BRANDELLI. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Research International* [online]. 2012, 48(1), 322-329 [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.05.009. ISSN 09639969.
- (24) BATOOL, Maryam, Muhammad NADEEM, Muhammad IMRAN, Imran Taj KHAN, Jalees Ahmad BHATTI a Muhammad AYAZ. Lipolysis and antioxidant properties of cow and buffalo cheddar cheese in accelerated ripening. *Lipids in Health and Disease* [online]. 2018, 17(1) [cit. 2019-05-06]. DOI: 10.1186/s12944-018-0871-9. ISSN 1476-511X.
- (25) KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd.* Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- (26) CÖMERT, Ezgi Doğan a Vural GÖKMEN. Antioxidants bound to an insoluble food matrix: Their analysis, regeneration behavior, and physiological importance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2017, 16(3), 382-399 [cit. 2019-04-09]. DOI: 10.1111/1541-4337.12263. ISSN 15414337.
- (27) AYANA, Ibrahim A.A. Abou a Amany M. EL-DEEB. Quality enhancement of edam-like cheese made from goat's milk. *American Journal of Food Technology* [online]. 2016, 11(1), 44-53 [cit. 2019-04-10]. DOI: 10.3923/ajft.2016.44.53. ISSN 15574571.

- (28) JIINKNEZ-FLORES, R. a J. YEE. Low temperature hard cheeses and semi-hard washed cheeses . *Improving the Flavour of Cheese* [online]. USA: Woodhead Publishing Limited, 2007, s. 444-473 [cit. 2019-04-10]. ISBN 978-1-84569-305-3.
- (29) SPANNEBERG, Robert, Grit SALZWEDEL a Marcus A. GLOMB. Formation of early and advanced Maillard reaction products correlates to the ripening of cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2012, 60(2), 600-607 [cit. 2019-04-11]. DOI: 10.1021/jf204079f. ISSN 0021-8561.
- (30) BOCKELMANN et all. Reifung von Harzer Käse. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* [article in press]. 2002, roč. 54, str. 317-335 [cit.2019-04-11]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/281376972\\_Ripening\\_of\\_Harzer\\_cheese\\_in\\_German](https://www.researchgate.net/publication/281376972_Ripening_of_Harzer_cheese_in_German)
- (31) BATTY, Danton, Lisbeth MEUNIER-GODDIK a Joy WAITE-CUSIC. Influence of cheese-making recipes on the composition and characteristics of Camembert-type cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 2019, 102(1), 164-176 [cit. 2019-03-07]. DOI: 10.3168/jds.2018-14964.
- (32) Frakcionace bílkovin semen hrachu, stanovení hemaglutinační aktivity. KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, s. 86-87. ISBN 80-7080-586-2.
- (33) PLAZA, et all. Polyphenols analysis and related challenges. GALANAKIS, Charis M. *Polyphenols: properties, recovery, and applications*. Duxford, United Kingdom: Woodhead Publishing, an imprint of Elsevier, 2018, s. 177-232. ISBN 978-0-1281-3573-0.