

VYUŽITÍ FT NIR SPEKTROMETRIE K ANALÝZE STUPNĚ ZRÁNÍ EIDAMSKÝCH SÝRŮ

K. Šustová, J. Růžičková

Došlo: 27. července 2007

Abstract

ŠUSTOVÁ, K., RŮŽIČKOVÁ, J.: *Analysis of degree maturation of edam cheese by FT Near Infrared Spectroscopy*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2008, LVI, No. 1, pp. 221–228

This work deals with use of FT NIR spectroscopy to speedy analysis of maturation of edam cheese. Maturation of cheese was study with the measure of soluble nitrogen, tyrosine and tryptophane. This method can be able to make optimal making raw material to production of processed cheese. Samples of edam cheese (45% fat in dry matter) were analysed with time of ripening 7 to 99 days. Soluble nitrogen, tyrosine and tryptophane were analysed on UV-Vis Spectrometer (270 and 290 nm). Sequentially samples were analysed on FT NIR spectrometer of two methods: 1) slice of cheese was analysed help with optical probe, 2) grated cheese was analysed on the integration sphere. The values of correlation coefficient of calibration on the integration sphere were as follows: soluble nitrogen 0.922, tyrosine 0.911 and tryptophane 0.852. The values of correlation coefficient of calibration with optical probe were as follows: soluble nitrogen 0.996, tyrosine 0.958 and tryptophane 0.922.

near-infrared spectroscopy, maturation, edam cheese, soluble nitrogen, tyrosine, tryptophane

Typickou chutí, vůní, konzistencí a vzhled získá sýr teprve zráním, tj. fermentačními pochody, kterými se mění tři základní složky mléka: mléčný cukr, bílkoviny a tuk. Proteolýza je nejkomplexnějším a u většiny druhů sýrů také nejdůležitějším biochemickým procesem při zrání sýrů. Finálním produktem proteolýzy jsou volné aminokyseliny, jejichž koncentrace závisí na typu sýra a fázi zrání. V eidamských sýrech jsou nejpočetněji zastoupeny glutamin, leucin, arginin, lysin, phenylalanin a serin. Koncentrace aminokyselin v průběhu zrání stoupá, s výjimkou argininu, jehož koncentrace se v konečné fázi zrání snižuje (McSWEENEY, 2004). Volné aminokyseliny mohou samy značně přispívat k chuti sýru nebo jsou součástí chutí (LANE et al., 1997).

Znalost zralosti sýrů je důležitým faktorem nejenom k tomu, jak se bude dál sýr „vyvíjet“, ale také významným předpokladem pro optimalizaci technologie výroby tavených sýrů. Tavené sýry se vyrábějí z přírodních sýrů tavením za vakua s přidávkou tavicích solí a dalších komponent (GREIFOVÁ, 2004). Na získání požadované kvality tavených sýrů má podstatný vliv použitá surovina. Důležitým faktorem, který ovlivňuje tavení a kvalitu tavených sýrů, je dosažená hloubka a rozsah zrání přírodních sýrů. Určení rozsahu a hloubky zrání u taviřské suro-

viny se omezuje pouze na senzorické posouzení (především chuť sýra), případně na posouzení doby zrání (KONTOVÁ, 2004). FORMAN et al. (1996) uvádějí, že z hlediska konzistence finálního výrobku je velmi důležitý typ sýra a stupeň zrání. Vady konzistence tavených sýrů v souvislosti s používáním sýrů rozdílného stupně zrání shrnují FOX et al. (2004). Na kvalitu tavených sýrů má, při použití přírodních sýrů jako suroviny, vliv obsah rozpustného dusíku, spolu s tyrozinem a tryptofanem, které jsou produkty hydrolýzy bílkovin (HERIAN, 2004). Na výrobu tavených sýrů není vhodné používat pouze přírodní sýry ve vyšším stupni zrání, tedy sýry s vyšším obsahem rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu. Při nadbytku prozrálejší suroviny dochází k poklesu tuhosti taveniny a posunu reologických vlastností od elastických k viskózním. Vyrobené tavené sýry jsou pak měkčí a snáze roztíratelné, ale vykazují nárůst lepivosti na obal.

Jedna z možností, jak zjistit stupeň zrání přírodních sýrů, je na základě spektrometricky stanoveného obsahu rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu. Tato metoda je však pro uplatnění v taviřské výrobě poměrně zdoluhavá. V poslední době vystupuje do popředí zájmu využití blízké infračervené spektroskopie (Near Infrared Spectroscopy, NIR).

Jedná se o moderní nedestruktivní metodu patřící do skupiny spektrálních metod, u nichž se využívá interakce mezi dopadajícím zářením a tenkou vrstvou materiálu vzorku. Fyzikálně je založena na absorpci elektromagnetického záření, kde materiál v závislosti na složení pohlcuje specifické vlnové délky. V případě infračerveného spektra se zkoumá složení na úrovni molekul a je tedy jednou z metod molekulové spektroskopie. Principem infračervené spektrometrie je tedy absorpce infračerveného záření molekulami látek. Infračervené záření má větší vlnovou délku a nižší energii než záření ultrafialové a viditelné, pokrývá část elektromagnetického spektra v intervalu mezi 0,78 a 1 000 μm . Blízká infračervená oblast využívá oblast 12 800–4 000 cm^{-1} . Výhodou NIR spektroskopie ve srovnání se současnými metodami je především její rychlost a možnost přímé analýzy bez předchozí úpravy vzorků (Mc CLUNE, 2003).

Studiem zrání eidamských sýrů se u nás zabýval KUBIŠ (2001), SCHNEEWEISSOVÁ (2003) a SKÝPALA (2005). Posouzením zralosti sýrů podle obsahu celkových dusíkatých látek, rozpustného dusíku, rozpustných aminokyselin tyrozinu a tryptofanu a aminokyselin glutaminu, prolinu, leucinu a lysinu měřením v režimech reflektance a optickou sondou se zabývala JANKOVSKÁ (2004) a RŮŽICKOVÁ (2007). Stanovení obsahu tuku, sušiny, celkového dusíku, rozpustného dusíku, aminokyselinového dusíku a amoniakálního dusíku u 107 vzorků tvrdého sýra Danbo zkoumali WITTRUP a NØRGAARD (1998). Stanovením volných aminokyselin a celkovou sumou volných aminokyselin během zrání u norských sýrů Norvegia a Práš se věnoval SKEIE et. al. (2006). Jejich výsledky ukázaly relativně dobrou předpověď schopnost NIR techniky pro stanovování volných aminokyselin během zrání.

Cílem této práce tedy bylo posoudit možnost využití FT NIR spektrometru pro stanovení stupně zrání přírodních sýrů na základě obsahu rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu. Tím by mohla FT NIR spektrometrie přispět k rychlé optimalizaci surovin na výrobu tavených sýrů.

MATERIÁL A METODY

Použitý materiál

K analýze množství rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu byly použity vzorky eidamského bloku s 45 % TVS odebrané v provozovně společnosti Madeta, a.s. v Řípci. Doba zrání sýrů se pohybovala v rozmezí od 7 do 99 dnů. Vzorky byly následně analyzovány na Ústavu technologie potravin Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně.

Použité metody

Spektrometrické stanovení (referenční metoda)

Spektrometrické stanovení obsahu rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu se provádělo dle upravené metody VAKALERISE a PRICE (1959).

Navážka 12,5 g vzorku sýra byla homogenizována v mixeru spolu s 50 ml předem připraveného roztoku citranu sodného (0,5 mol/l) a 80 ml destilované vody po dobu 5 minut. Homogenizovaná směs byla přelita do odměrné baňky na 250 ml a doplněna destilovanou vodou po rysku. Do kádinky na 100 ml bylo odměřeno 70 ml citranového roztoku sýra, přidána HCl pro dosažení výsledného pH v rozmezí 4,35–4,45 a doplněno destilovanou vodou po rysku. Výsledný roztok byl přefiltrován. Současně byl připraven slepý vzorek z 20 ml citranu sodného a 8,75 ml HCl (přesně 0,5 mol/l) a doplněn na 250 ml destilovanou vodou. Stanovení probíhalo na dvou-paprskovém spektrofotometru (UV-Vis Spectrometer Cintra 5, GBC Scientific Equipment, Australia). U všech filtrátů se změřila extinkce při vlnových délkách 270 nm a 290 nm v 1 cm planoparalelní kvetě proti slepému vzorku. Hodnoty získané extinkcí při 270 nm a 290 nm byly doplněny pro výpočet do následujících vzorců:

Rozpustný tyrozin ($\text{mg}/100 \text{ g sýra}$) = $(0,95 \cdot E_{270} - 1,31 \cdot E_{290}) \cdot 0,453$

Rozpustný tryptofan ($\text{mg}/100 \text{ g sýra}$) = $(0,307 \cdot E_{270} - 0,020 \cdot E_{290}) \cdot 0,5105$

Rozpustný dusík (% z celkového dusíku) = $2,427 + 50,725 (0,95 \cdot E_{270} - 1,31 \cdot E_{290})$.

Infračervená spektroskopie

Hodnoty získané na základě UV spektrometrického stanovení byly použity pro vytvoření kalibračních modelů v rámci NIR spektroskopie. K analýze byl použit analyzátor FT NIR Antaris firmy Thermo Nicolet (USA), který pracuje v rozsahu vlnových délek 10 000–4 000 cm^{-1} (1 000 nm–2 500 nm). Jako zdroj záření sloužila halogenová žárovka. Detektorem byl vysoce výkonný InGaAs detektor, bez nutnosti chlazení. Dělič paprsků byl vyroben z fluoridu vápenatého. Přístroj byl vybaven několika snadno vyměnitelnými moduly pro různé techniky měření v transmittančním i reflektančním režimu.

Spektra byla měřena na integrační sféře (nastrouhaný sýr) a pomocí optické sondy (celý plátek) v režimu reflektance (technika měřící absorpci záření po odrazu záření od vrstvy vzorku). Každý vzorek byl snímán třikrát se 100 scany a dobou snímání cca 1 minutu a pro kalibraci bylo použito průměrné spektrum.

Komunikace při měření mezi spektrometrem a počítačem probíhala prostřednictvím programu OM-NIC, který slouží ke snímání spekter, jejich úpravě a zpracování. Program TQ ANALYST následně na základě referenčních hodnot a pomocí statistických metod vyvinul kalibrační model pro příslušnou stanovenou složku.

Pomocí metody PLS (metoda nejmenších čtverců) byl vytvořen kalibrační model. Ke kontrole kalibračního souboru a schopnosti předpovědi správného výsledku byla použita křížová validace, která poskytuje optimální počet PLS faktorů.

Zhodnocení výsledků bylo provedeno na základě korelace mezi referenčními hodnotami a hodno-

tami vypočtenými z kalibračních rovnic a na základě směrodatných odchylek.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Práce se zabývala možností využití FT NIR spektrometru, jako rychlé metody zjišťování stupně zrání eidamských sýrů na základě stanoveného množství rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu. Výsledkem by mělo být využití této metody k hodnocení zralosti eidamských sýrů a případně také k optimalizaci surovin na výrobu tavených sýrů.

Pro každý stupeň zrání byly spektrometricky proměřeny tři vzorky. Pouze u eidamských bloků zrajících sedm a deset dnů byly analyzovány vzorky dva, u eidamských bloků zrajících 32 a 40 dnů vzorek jeden. Z hodnot naměřených spektrofotometricky extinkcí při vlnové délce 270 nm a 290 nm byl vypočten obsah rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu. Výsledky statistického vyhodnocení změn obsahu rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu v závislosti na době zrání jsou shrnuty do tab. I–III.

I: Statistické vyhodnocení změn obsahu rozpustného dusíku (v % z celkového dusíku) v závislosti na době zrání eidamských sýrů spektrometrickou metodou

Doba zrání eidamských sýrů (dny)	7	10	32	40	55	65	66	71	99
n	2	2	1	1	3	3	3	3	3
$\bar{x}_p$	4,19	6,33	8,22	8,31	9,25	10,76	10,52	11,80	11,54
min	4,14	6,11	-	-	9,08	10,28	9,79	11,54	11,37
max	4,23	6,55	-	-	9,45	11,14	11,01	12,14	11,78
s_x	0,04	0,22	-	-	0,15	0,36	0,53	0,25	0,17
v_x	1,03	3,49	-	-	1,64	3,34	5,01	2,13	1,50

n – počet vzorků; $\bar{x}_p$ – průměr; min – minimální hodnota; max – maximální hodnota; s_x – směrodatná odchylka; v_x – variační koeficient (%)

II: Statistické vyhodnocení změn obsahu rozpustného tyrozinu (v mg/100 g sýra) v závislosti na době zrání eidamských sýrů spektrometrickou metodou

Doba zrání eidamských sýrů (dny)	7	10	32	40	55	65	66	71	99
n	2	2	1	1	3	3	3	3	3
$\bar{x}_p$	0,016	0,035	0,052	0,053	0,061	0,074	0,072	0,084	0,081
min	0,015	0,033	-	-	0,059	0,070	0,066	0,081	0,080
max	0,016	0,037	-	-	0,063	0,078	0,077	0,087	0,084
s_x	0,0004	0,002	-	-	0,0014	0,0032	0,005	0,0023	0,002
v_x	2,46	5,67	-	-	2,23	4,31	6,51	2,68	1,90

n – počet vzorků; $\bar{x}_p$ – průměr; min – minimální hodnota; max – maximální hodnota; s_x – směrodatná odchylka; v_x – variační koeficient (%)

III: Statistické vyhodnocení změn obsahu rozpustného tryptofanu (v mg/100 g sýra) v závislosti na době zrání eidamských sýrů spektrometrickou metodou

Doba zrání (dny)	7	10	32	40	55	65	66	71	99
n	2	2	1	1	3	3	3	3	3
$\bar{x}_p$	0,018	0,019	0,025	0,021	0,025	0,030	0,024	0,031	0,032
min	0,017	0,019	-	-	0,024	0,029	0,021	0,029	0,030
max	0,018	0,019	-	-	0,026	0,031	0,026	0,031	0,033
s_x	0,0007	0,0002	-	-	0,0007	0,0007	0,002	0,0009	0,001
v_x	4,02	1,28	-	-	2,69	2,33	9,93	3,01	3,57

n – počet vzorků; $\bar{x}_p$ – průměr; min – minimální hodnota; max – maximální hodnota; s_x – směrodatná odchylka; v_x – variační koeficient (%)

Bylo zjištěno, že s postupným zráním eidamských bloků docházelo k nárůstu obsahu rozpustného dusíku. Ke stejným výsledkům dospěli KUBIŠ (2001), SCHNEEWEISSOVÁ (2003) i SKÝPALA (2005). Po sedmi dnech zrání byla zjištěna průměrná hodnota rozpustného dusíku 4,19 %, což je hodnota nižší než u SCHNEEWEISSOVÉ (2003), která uvádí 5,46 % a u KUBIŠE (2001), který dospěl k hodnotě 5,62 %. S postupným zráním se obsah rozpustného dusíku zvyšoval, a to až do 65. dne zrání, kde hodnoty vybočují. U sýra zrajícího 66 dnů byla stanovena hodnota 10,52 %, která je nižší než v 65. dnu zrání, kdy byl obsah rozpustného dusíku 10,76 %. Ke stejné výchylice došlo i u vzorku starého 71 dnů, kdy byla zjištěna hodnota rozpustného dusíku 11,80 %, přičemž u 99 dnů starého 11,54 %. Tyto výkyvy mohou být způsobeny malými změnami u starších vzorků eidamských bloků, kdy již nedochází k rychlým změnám zrání. Rozdíly v hodnocených eidamských sýrech mohou být ale také způsobeny např. rozdílnými zákysovémi kulturami, podmínkami výroby i podmínkami zrání. Také jiní autoři uvádějí, že u sýrů s delší dobou zrání se hodnoty rozpustného dusíku liší. SCHNEEWEISSOVÁ (2003) uvádí hodnotu v 10 týdnech 7,439 %, KUBIŠ (2001) dospěl v 11 týdnech k hodnotě 10,04 % a SKÝPALA (2005) dokonce k hodnotě 18,35 % u sýrů zrajících tři měsíce.

S prodlužující se dobou zrání eidamského bloku docházelo rovněž ke zvyšování obsahu rozpustného tyrozinu. U vzorku s nejkratší dobou zrání byla zjištěna průměrná hodnota rozpustného tyrozinu 0,016 mg/100 g sýru. KUBIŠ (2001) uvádí hodnotu ve stáří jednoho týdne 0,028 mg/100 g a SCHNEEWEISSOVÁ (2003) dokonce hodnotu 0,054 mg/100 g. Obsah rozpustného tyrozinu postupně narůstal až do 55. dne zrání. U vzorku zrajícího 65 dnů byl naměřen obsah rozpustného tyrozinu 0,074 mg/100 g, což je hodnota vyšší než u vzorku zrajícího 66 dnů, kde byla zjištěna hodnota 0,072 mg/100 g. Tato výchylica mohla být způsobena malým rozdílem ve stáří jednotlivých vzorků. Hodnota rozpustného tyrozinu 0,084 mg/100 g je vyšší u mladšího vzorku (71 dnů) než u vzorku zrajícího 99 dnů. Po 99 dnech zrání byla naměřena hodnota rozpustného tyrozinu 0,081 mg/100 g. K podobné

hodnotě 0,088 mg/100 g po 15 týdnech zrání dospěla i SCHNEEWEISSOVÁ (2003).

V průběhu zrání docházelo také ke zvyšování obsahu rozpustného tryptofanu. Po sedmi dnech zrání byl stanoven průměrný obsah rozpustného tryptofanu 0,018 mg/100 g. Po jednom týdnu zrání dospěl KUBIŠ (2001) k hodnotě 0,016 mg/100 g a SCHNEEWEISSOVÁ (2003) k hodnotě 0,011 mg/100 g. U vzorků stáří 40 dnů byla průměrná hodnota rozpustného tryptofanu 0,021 mg/100 g, která je nižší než u vzorku stáří 32 dnů, kde byla hodnota rozpustného tryptofanu 0,025 mg/100 g. Hodnoty jsou srovnatelné s KUBIŠEM (2001), který stanovil obsah rozpustného tryptofanu po pěti týdnech zrání 0,020 mg/100 g. V 65. dnu zrání byla hodnota 0,030 mg/100 g opět vyšší, než 0,024 mg/100 g v 66. dnu zrání. Důvodem byl pravděpodobně malý rozdíl ve stáří vzorků. U vzorků stáří 10 dnů dospěla SCHNEEWEISSOVÁ (2003) k hodnotě 0,022 mg/100 g a SKÝPALA (2005) k hodnotě 0,033 mg/100 g u vzorků zrajících tři měsíce. Hodnota rozpustného tryptofanu stoupla u nejdéle zrajících sýrů (99 dnů) až na průměrnou hodnotu 0,032 mg/100 g, což je hodnota vyšší než 0,022 mg/100 g v 15 týdnech, kterou uvádí SCHNEEWEISSOVÁ (2003). SKÝPALA (2005) zjistil po čtyřech měsících hodnotu rozpustného tryptofanu 0,045 mg/100 g.

Naměřené hodnoty byly použity pro kalibraci FT NIR spektrometru. Vzorky eidamských bloků byly proměřeny technikou reflektance dvojím způsobem. Jednak pomocí optické sondy (S), kde byly použity plátky sýra a jednak na integrační sféře (IS) v kvetě, kde byl sýr rozstrouhán. Pomocí PLS algoritmu byly vytvořeny kalibrační modely pro jednotlivé složky a jejich spolehlivost byla ověřena křížovou validací. Údaje o jednotlivých sledovaných parametrech jsou shrnuty v tab. IV. Výsledky kalibrace a validace rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu jsou uvedeny v tab. V a VI a v grafech 1 až 3. Zhodnocení výsledků bylo provedeno na základě korelace mezi referenčními hodnotami a hodnotami vypočtenými z kalibračních rovnic a na základě směrodatných odchylek kalibrace a validace (SEC, SEP).

IV: Základní statistické údaje referenčních vzorků použitých pro kalibraci na obsah rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu stanovené FT NIR spektrometrií

Integrační sféra	n	$\bar{x}_p$	s_x	min	max	PLS
N (% z celk. N)	48	13,72	4,25	6,11	22,3	8
TYR (mg/100 g)	50	0,098	0,041	0,015	0,180	6
TRP (mg/100 g)	49	0,031	0,007	0,017	0,048	4
Sonda						
N (% z celk. N)	48	13,13	4,54	4,14	22,3	4
TYR (mg/100 g)	50	0,098	0,041	0,015	0,180	8
TRP (mg/100 g)	50	0,031	0,007	0,017	0,048	9

n – počet vzorků; $\bar{x}_p$ – průměr; s_x – směrodatná odchylka, min – minimální hodnota, max – maximální hodnota; PLS – počet faktorů

V: Kalibrační výsledky pro rozpustný dusík, tyrozin a tryptofan stanovené FT NIR spektrometrií

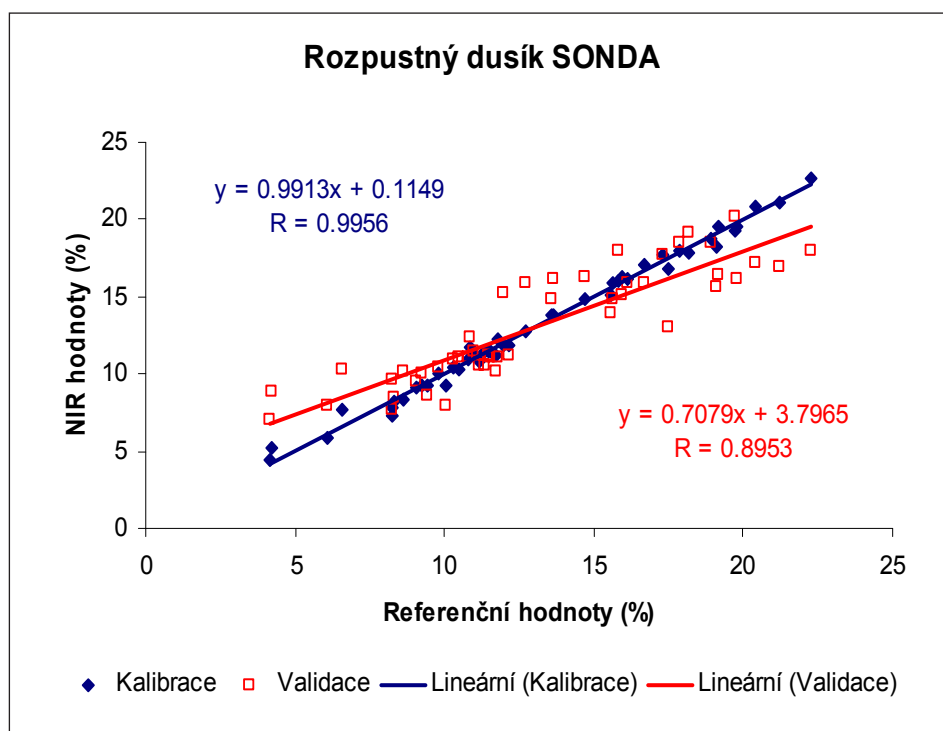
Integrační sféra	$a \pm bx$	R	SEC	CCV (%)
N (% z celk. N)	$2,0607 + 0,8497x$	0,922	1,650	12,03
TYR (mg/100 g)	$0,0166 + 0,8303x$	0,911	0,017	17,28
TRP (mg/100 g)	$0,0083 + 0,7306x$	0,852	0,004	12,26
Sonda				
N (% z celk. N)	$0,1149 + 0,9913x$	0,996	0,424	3,23
TYR (mg/100 g)	$0,008 + 0,9173x$	0,958	0,012	12,06
TRP (mg/100 g)	$0,0044 + 0,8554x$	0,922	0,003	9,20

$a \pm bx$ – regresní rovnice; R – korelační koeficient; SEC – směrodatná odchylka kalibrace; CCV – kalibrační variační koeficient

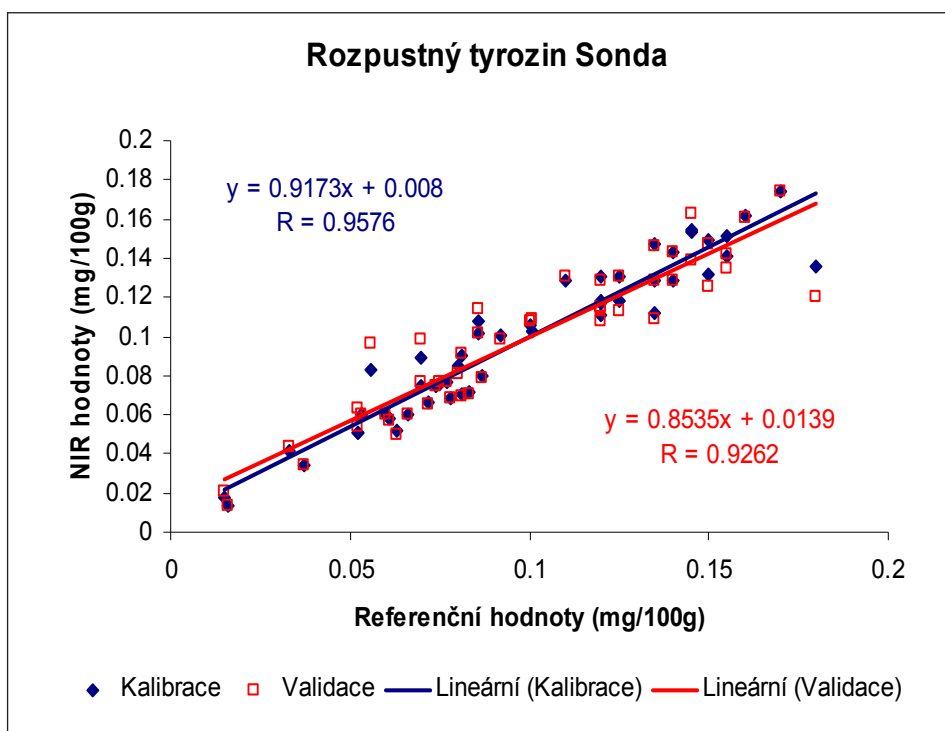
VI: Validační výsledky pro rozpustný dusík, tyrozin a tryptofan

Integrační sféra	$a \pm bx$	R	SEP	PCV (%)
N (% z celk. N)	$2,8187 + 0,7935x$	0,877	2,050	14,95
TYR (mg/100 g)	$0,0214 + 0,7851x$	0,864	0,020	20,35
TRP (mg/100 g)	$0,0093 + 0,6954x$	0,810	0,004	14,00
Sonda				
N (% z celk. N)	$3,7965 + 0,7079x$	0,895	2,080	15,84
TYR (mg/100 g)	$0,8535x + 0,0139$	0,926	0,015	15,74
TRP (mg/100 g)	$0,0083 + 0,7315x$	0,767	0,005	15,65

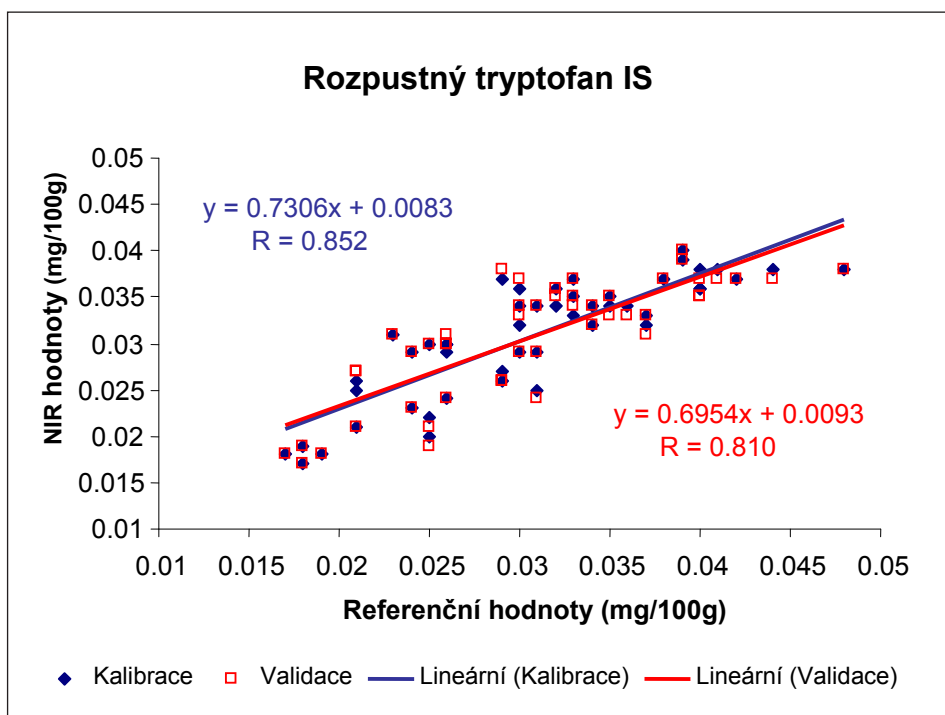
$a \pm bx$ – regresní rovnice; R – korelační koeficient; SEP – směrodatná odchylka predikce; PCV – predikční variační koeficient



1: Kalibrační a validační výsledky stanovení rozpustného dusíku měřeno sondou



2: Kalibrační a validační výsledky stanovení rozpustného tyrozinu měřeno optickou sondou



3: Kalibrační a validační výsledky stanovení rozpustného tryptofanu na integrační sféře

Korelační koeficient (R) kalibrace byl na integrační sféře (kyveta) pro rozpustný dusík 0,922, pro tyrozin 0,911 a pro tryptofan 0,852. Pomocí optické sondy bylo dosaženo hodnot korelačního koeficientu (R) kalibrace u rozpustného dusíku 0,996, tyrozinu 0,958 a tryptofanu 0,922. Korelační koefi-

ent (R) validace byl na integrační sféře pro rozpustný dusík 0,877, pro tyrozin 0,864 a pro tryptofan 0,810 a pomocí optické sondy bylo dosaženo korelačního koeficientu (R) validace pro rozpustný dusík 0,895, pro tyrozin 0,926 a pro tryptofan 0,767. Koeficient korelace (R) se má blížit k 1, což vykazuje velkou

míru těsnosti hodnot referenčních a hodnot predikovaných pomocí kalibračních rovnic. Tyto hodnoty tedy odpovídají stanovenému limitu.

Hodnota CCV (kalibrační variační koeficient) byla pro rozpustný dusík na integrační sféře stanovena na 12,03 %, pro tyrozin na 17,28 % a pro tryptofan na 12,26 %. Na základě optické sondy byly zjištěny hodnoty CCV u rozpustného dusíku 3,23 %, tyrozinu 12,06 % a tryptofanu 9,20 %. Kalibrační variační koeficient u obou typů měření značně přesahuje (vyjma rozpustného dusíku měřeného optickou sondou) stanovenou ideální hodnotu, která by neměla přesáhnout 5 %. Tato hraniční hodnota slouží pro ověření spolehlivosti modelu. Hodnoty PCV (predikční variační koeficient) by se měly pohybovat do 10 %, avšak tato hranice byla překročena u všech měření.

To znamená, že modely jsou méně robustní. K velmi podobným výsledkům měření dospěla i JANKOVSKÁ (2004) a RŮŽIČKOVÁ (2007).

Na základě výsledků t-testu nebyla nalezena odlišnost mezi referenční (UV) a FT NIR metodou. Nebyl stanoven statisticky průkazný rozdíl mezi oběma měřeními (tab. VII).

Z uvedených výsledků vyplývá, že k rychlému zjišťování stupně zrání eidamských sýrů pomocí obsahu rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu lze využít FT NIR spektrometr. Tuto metodu by bylo možno uplatnit k rychlé optimalizaci suroviny určené na výrobu tavených sýrů standardní jakosti. Metoda také může sloužit ke zjišťování zralosti sýrů.

VII: Statistické vyhodnocení výsledků měření referenční a FT NIR metodou t-testem

Integrační sféra	n	xREF	xNIR	SD	T
N (% z celk. N)	48	13,72	13,71	0,613	
TYR (mg/100 g)	50	0,098	0,098	0,006	
TRP (mg/100 g)	49	0,031	0,031	0,001	
Sonda					
N (% z celk. N)	48	13,13	13,14	0,655	
TYR (mg/100 g)	50	0,098	0,098	0,006	
TRP (mg/100 g)	50	0,031	0,031	0,001	

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

n – počet vzorků; xREF – hodnoty referenční; xNIR – hodnoty predikované;

SD – směrodatná odchylka difference; t-test

SOUHRN

Práce poukazuje na možnost využití FT NIR spektrometru pro zjišťování zralosti eidamských sýrů a pro rychlou optimalizaci suroviny na výrobu tavených sýrů na základě zjišťování obsahu rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu v eidamských sýrech. K analýze množství rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu byly použity vzorky eidamských bloků o 45 % TVS. Stanovení jednotlivých ukazatelů se provádělo spektrofotometricky extinkcí při vlnové délce 270 nm a 290 nm. Z naměřených hodnot byly na základě empirických vzorců vypočteny obsahy rozpustného dusíku, tyrozinu a tryptofanu. Následně byly vzorky měřeny dvěma způsoby na FT NIR spektrometru. Pomocí sondy (S), kde byl použit plátek sýra a na integrační sféře (IS) v kyvetě, kde byl použit rozstrouhaný sýr. Korelační koeficienty (R) kalibrace stanovené na integrační sféře byly pro rozpustný dusík 0,922, pro tyrozin 0,911 a pro tryptofan 0,852. Pomocí optické sondy byly stanoveny korelační koeficienty (R) kalibrace pro rozpustný dusík 0,996, pro tyrozin 0,958 a pro tryptofan 0,922. Na základě výsledků t-testu nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi referenční a instrumentální (NIR) metodou.

Z výsledků vyplývá, že FT NIR spektroskopie může sloužit pro orientační stanovení zralosti eidamských sýrů. Tato metoda je tedy vhodná pro rutinní technologickou kontrolu, kdy je rychlost často důležitější než vysoká přesnost a umožňuje optimální přípravu suroviny pro výrobu tavených sýrů s požadovanými reologickými vlastnostmi.

blízká infračervená spektroskopie, zrání, eidamský sýr, rozpustný dusík, tyrozin, tryptofan

SUMMARY

This work deals with use of FT NIR spectroscopy to speedy analysis of maturation of edam cheese. Maturation of cheese was study with the measure of soluble nitrogen, tyrosine and tryptophane. This method can be able to make optimal making raw material to production of processed cheese. Sam-

ples of edam cheese (45% fat in dry matter) were analysed with time of ripening 7 to 99 days. Soluble nitrogen, tyrosine and tryptophane were analysed on UV – VisSpectrometer (270 and 290 nm). A wavelength scanning instrument FT NIR Antaris (ThermoNicolet, USA) was used with a scanning range from 4 000 to 10 000 cm^{-1} in reflectance mode. The calibration model was created by partial least squares (PLS) algorithm. The same samples were employed for full cross validation by software FT NIR Reference Analysis. The statistical parameters (correlation coefficient – R and SEP) were used to determinate the final calibration equation. Sequentially samples were analysed on FT NIR spectrometer of two methods: 1) slice of cheese was analysed help with optical probe, 2) grated cheese was analysed on the integration sphere. The values of correlation coefficient of calibration on the integration sphere were as follows: soluble nitrogen 0.922, tyrosine 0.911 and tryptophane 0.852. The values of correlation coefficient of calibration with optical probe were as follows: soluble nitrogen 0.996, tyrosine 0.958 and tryptophane 0.922. The testing of the difference between the reference and predicted values confirmed that there was no statistical difference between the methods of determination in any of the components tested. The results have demonstrated the possibility of determining the soluble nitrogen, tyrosine and tryptophane content in the near-infrared spectral region in cheese during the ripening.

LITERATURA

- FORMAN, L., HUŠEK, V., PLOCKOVÁ, M., SNÁŠELOVÁ, J., ŠTÍPKOVÁ, J., 1996: *Mlékárenské technologie II*. VŠCHT Praha, 217 s. ISBN 80-7080-250-2
- FOX, P. F., McSWEENEY, P. L. H., COGAN, T. M., GUINEE, T. P., 2004: *Cheese – Chemistry, Physics and Microbiology*. Volume 2, Elsevier Academic Press, London, 434 p. ISBN 0-1226-3653-8
- GREIFOVÁ, M., 2004: Poznámky k mikrobiologické kvalitě masla a tavených syrov. *Mlékarstvo*, 25, 4: 33–35. ISSN 1210-3144
- HERIAN, K., 2004: Niektoré praktické skúsenosti pri výrobe tavených a termizovaných mliečnych výrobkov. *Mlékarstvo*, 35, 4: 28–31. ISSN 1210-3144
- JANKOVSKÁ, R., 2004: *Využití blízké infračervené spektroskopie (NIR) při hodnocení vybraných mléčných produktů*. Doktorská disertační práce, MZLU v Brně, 176 s.
- KONTOVÁ, M., 2004: Technologické principy výroby tavených syrov. *Mlékarstvo*, 35, 4: 26–28. ISSN 1210-344
- KUBIŠ, I., 2001: *Faktory ovlivňující zpracování mléka na sýry*. Doktorská disertační práce. MZLU v Brně, 97s.
- LANE, C. N., FOX, P. F., JOHNSTON, D. E., McSWEENEY, P. L. H., 1997: Contribution of coagulant to proteolysis and textural changes in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 7, p. 453–464.
- Mc CLUNE, F., W., 2003: 204 years of near infrared technology. *J. Near Infrared Spectroscopy*, 11, 6, p. 487–518.
- McSWEENEY, P. L. H., 2004: Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview, *International Journal of Dairy Technology*, 57, 2–3, p. 347–357.
- RŮŽICKOVÁ, J., 2007: *Aplikace NIR spektroskopie v kontrole kvality zemědělských materiálů a produktů*. Doktorská disertační práce, MZLU v Brně, 136 s.
- SCHNEEWEISSOVÁ, J., 2003: *Senzorické a technologické hodnocení sýrů*. Diplomová práce, MZLU v Brně, 78 s.
- SKEIE, S., FETEN, G., ALMØY, T., ØSTLIE, H., ISAKSSON, T., 2006: The use of near infrared spectroscopy to predict selected free amino acids during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 16, 236–242.
- SKÝPALA, M., 2005: *Hodnocení zrání eidamských sýrů*. Diplomová práce, MZLU v Brně, 53 s.
- VAKALERIS, D. G., PRICE, W. V., 1959: A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 42, p. 264–276.
- WITTRUP, CH., NØRGAARD, L., 1998: Rapid Near Infrared Spectroscopic Screening of Chemical Parameters in Semi-hard Cheese Using Chemometrics. *Journal of Dairy Science*, 81, 7, p. 1803–1809.

Adresa

Ing. Květoslava Šustová, Ph.D., Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Ing. Jana Růžicková, Ph.D., Ústav potravinářského inženýrství, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Česká republika, e-mail: sustova@mendelu.cz, ruzickova@ft.utb.cz