

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Provozně podnikatelský obor

Katedra: Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Vedoucí katedry: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Výskyt biogenních aminů a polyaminů ve zrajících sýrech
po ukončení doby spotřeby**

Content of biogenic amines and polyamines in expired
ripening cheeses

Vedoucí diplomové práce: Ing. Eva SAMKOVÁ, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Ing. Eva DADÁKOVÁ, Ph.D.

Autor: Klára Vodehnalová

České Budějovice

2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Klára VODEHNALOVÁ
Osobní číslo: Z07371
Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství
Studijní obor: Provozně podnikatelský obor
Název tématu: Výskyt biogenních aminů a polyaminů ve zrajících sýrech po ukončení doby spotřeby
Zadávací katedra: ***Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

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

Biologicky aktivní aminy (BA) a polyaminy (PA) vznikají dekarboxylací aminokyselin a mají řadu fyziologických účinků na organismus člověka.

Cílem diplomové práce bude stanovení biogenních aminů a polyaminů ve vybraných druzích zrajících sýrů a posouzení jejich obsahu od ukončení doby spotřeby dané datem minimální trvanlivosti (DMT) a porovnání získaných hodnot s hygienickými limity.

Diplomová práce je součástí řešení výzkumného záměru MSM 6007665806 a bude vypracována na základě pokynů uvedených na www.zf.jcu.cz/studenti/informace-pro-studujici/ podle následující osnovy:

1. **Úvod** - význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. **Literární přehled** - současný stav poznání problematiky BA a PA, zdravotní význam včetně faktorů ovlivňujících jejich výskyt v sýrech zpracovaný na základě studia vědecké a odborné literatury
3. **Materiál a metodika** - charakteristika, odběr a úprava vzorků, popis použitých analytických metod včetně metod statistických
4. **Výsledky a diskuse** - tabulkové a grafické zpracování získaných dat navazující na cíle práce, jejich statistické vyhodnocení a porovnání se zjištěnými literárními údaji i hygienickými limity
5. **Závěr** - shrnutí výsledků práce, stanovení celkové zátěže BA při konzumaci zrajících sýrů, eventuelně návrhy a doporučení vyplývající z problematiky
6. **Summary** - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
7. **Seznam literatury** - podle zásad ČSN 01 0197, ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2.

Rozsah grafických prací: 10-20 stran (tabulky a grafy)
Rozsah pracovní zprávy: 30-40 stran textu
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

- KALÁČ, P., GLÓRIA M.B.A.: Biogenic amines in cheeses, wines, beers and sauerkraut. In DANDRIFOSSE, G. (ed.): Biological Aspects of Biogenic Amines, Polyamines and Conjugates. Trivandrum, India: Transworld Research Network, 2009, pp. 267-309. ISBN 978-81-7895-249-9
- KALÁČ, P., KRAUSOVÁ, P.: A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. Food Chemistry, 2005, 90 (1-2): 219-230.
- KŘÍŽEK, M., KALÁČ, P.: Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. Czech Journal of Food Science, 1998, 16 (4): 151-159.
- RAK, L.: Biogenic amines in dairy products. Medycyna weterynaryjna, 2005, 61 (4): 391-393.
- SILHÁNKOVÁ, L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN: 80-200-1024-6.

Databáze

CASLIN, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, PROQUEST, dostupné na: <http://www.zf.jcu.cz/public/departments/knihovna/>


Vědecké a odborné články v časopisech Výživa a potraviny, Mlékařské listy, ve sbornících odborných konferencí - Den mléka (Praha: ČZU), Mléko a sýry (Praha: VŠCHT) aj.
Zákony, vyhlášky a nařízení legislativy ČR a EU týkající se zásad a požadavků na jakost a zdravotní nezávadnost živočišných produktů včetně hygienických předpisů a mikrobiologických kritérií pro potraviny živočišného původu

Vedoucí diplomové práce: Ing. Eva Samková, Ph.D.
***Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

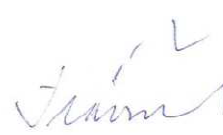
Konzultant diplomové práce: Ing. Eva Dadáková, Ph.D.
Katedra aplikované chemie

Datum zadání diplomové práce: 23. května 2010

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2012


prof. Ing. Milošlav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDELSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 25. března 2010

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně na základě vlastních poznatků a s použitím pramenů, uvedených v přehledu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích, 27. dubna 2012

.....
Klára Vodehnalová

Poděkování za odbornou pomoc a cenné připomínky při zpracování a řešení mé diplomové práce patří obzvláště Ing. Evě Samkové, Ph.D. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Dadákové, Ph.D. za korekci a rady.

OBSAH

1 Úvod.....	9
2 Literární přehled.....	10
2.1 Aminy	10
2.2 Biogenní aminy.....	10
2.2.1 Dělení BA	11
2.2.2 Vznik BA	12
2.2.3 Výskyt BA	12
2.2.4 Biologické účinky BA	15
2.3 Polyaminy	16
2.4 Sýry.....	17
2.4.1 Charakteristika a dělení sýrů.....	17
2.4.2 Tvorba BA v sýrech.....	19
2.4.3 Zrání sýrů.....	20
2.4.4 BA a PA v různých druzích sýrů	21
2.4.5 Záruční doba u sýrů	24
3 Materiál a metodika.....	25
3.1 Cíle práce	25
3.2 Odběr vzorků	25
3.3 Analýza vzorků	26
3.3.1 Použité chemikálie, přístroje a zařízení	26
3.3.2 Analytické postupy	27
3.4 Statistické vyhodnocení dat	30
4 Výsledky a diskuze	32
4.1 Vliv druhu sýra na obsahy BA a PA.....	32
4.1.1 Obsahy jednotlivých BA a PA ve sledovaných sýrech.....	32
4.1.2 Statistické porovnání obsahů jednotlivých BA a PA u zrajících sýrů.....	37
4.1.3 Celkové obsahy BA a PA a vliv druhu sýra	39
4.2 Vliv doby skladování na obsah BA a PA	42

5 Závěr.....	54
6 Summary	56
7 Seznam literatury	57
8 Přílohy	

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AGM	Agmatin
BA	Biogenní aminy
CAD	Kadaverin
DA	Dopamin
DAO	Diaminooxidáza
DMT	Datum minimální trvanlivosti
HIM	Histamin
MAO	Monoaminooxidáza
PA	Polyaminy
PEA	Fenylethylamin
PUT	Putrescin
SI	Serotonin
SPD	Spermidin
SPM	Spermin
TRM	Tryptamin
TYM	Tyramin

1 Úvod

Biogenní aminy představují skupinu nízkomolekulárních organických bází, které jsou přirozenou součástí mnoha druhů potravin. Ve vysokých koncentracích však mohou mít negativní vliv na organismus. Pro zdravé osoby vyšší množství BA běžně neznamena žádný problém. Negativní vliv se může objevit například u osob přijímajících určitá léčiva (psychofarmaka) a v případě porušené funkce jater. Nejdůležitější cestou pro vznik biogenních aminů, z hlediska potravin, je dekarboxylace přirozených aminokyselin za působení enzymů některých bakterií mléčného kvašení a také dalších bakterií, které vznikají při kažení potravin.

Biogenní aminy se nacházejí v různých skupinách potravin, např. v mase, rybách, houbách, ovoci, zelenině a především v sýrech. Právě sýry, běžná součást výživy člověka, patří k potravinám s nejvyšším obsahem biogenních aminů. Sýry představují ideální prostředí pro tvorbu biogenních aminů a polyaminů.

Polyaminy jsou sloučeniny, které se vyskytují v mikrobech, rostlinných a živočišných buňkách. Polyaminy mají specifické biologické funkce, jsou součástí růstu a pomáhají při obnově buněk střevní sliznice. Nejvyšší obsah polyaminů je ve zralých sýrech. Vysoká hladina je také známá v ovoci, kyselém zelí, kečupech a rybích omáčkách.

Cílem diplomové práce bylo sledovat výskyt biogenních aminů a polyaminů ve vybraných druzích zrajících sýrů a posoudit tak jejich obsah v materiálech od ukončení doby spotřeby dané datem minimální trvanlivosti a získané hodnoty porovnat s hygienickými limity.

2 Literární přehled

2.1 Aminy

Aminy jsou významné organické biogenní sloučeniny, které se vyskytují v živých organismech jako metabolické meziprodukty, produkty a neurotransmitery (přenašeče nervových vzruchů) (VYLETĚLOVÁ, 2008).

Aminy lze formálně odvodit od amoniaku postupnou náhradou vodíkových atomů za uhlovodíkové zbytky.

Aminy se rozdělují na:

- Primární
- Sekundární
- Terciární
- Kvartérní amoniové soli (MAREČEK a HONZA, 2000)

Dipólové interakce v aminech jsou větší než v uhlovodících, ale zároveň menší než v alkoholech a z toho důvodu je vodíková vazba u primárních a sekundárních aminů slabší než u alkoholů.

V důsledku vodíkových můstků je ovlivněn i bod varu – nejnižší mají terciární aminy, které již vodíkové můstky tvořit nemohou. Nejvyšší bod varu mají primární aminy, jelikož mají dva atomy vodíku, které mohou tvořit vodíkové můstky. Zároveň aminy, které obsahují méně než 7 atomů uhlíku, jsou rozpustné ve vodě (SVOBODA, 2005).

2.2 Biogenní aminy

Biogenní aminy (BA) mají různé biologické účinky, některé BA mají samy významné biologické vlastnosti. Mohou být např. tkáňovými hormony (histamin), protoalkaloidy (hordenin, gramin) a stavebními látkami, které se účastní biosyntézy dalších hormonů živočichů (fenylethylamin), fytohormonů neboli auxinů, alkaloidů a dalších sekundárních metabolitů rostlin (VELÍŠEK, 1999). Vyznačují se nepříjemným zápachem a při vyšší koncentraci mají karcinogenní a toxické účinky (VYLETĚLOVÁ, 2008).

BA se tvoří v látkách bohatých na proteiny, které jsou rozštěpeny peptidázami na aminokyseliny. BA v buňkách vznikají dekarboxylací aminokyselin, na které se podílí řada různých enzymů, a jsou rozdílné pro různé druhy mikroorganismů (VYLETĚLOVÁ, 2008).

Tab. 1: Enzymy, které se podílejí na vzniku biogenních aminů podle Vyleťelové (2008):

Mikroorganismy	Enzymy
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	aceto-acetát dekarboxyláza
<i>Escherichia coli</i>	biodegradativní arginin-dekarboxyláza
<i>Bacillus subtilis</i>	alpha-aceto-acetát dekarboxyláza
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	alpha-aceto-acetát dekarboxyláza
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	alpha-aceto-acetát dekarboxyláza

BA jsou přirozenou součástí mnoha druhů potravin, v řadě případů však jejich zvýšená tvorba signalizuje nástup rozkladných procesů. V zásadě jsou dva důvody pro sledování těchto látek. Prvním z nich je jejich toxicita, druhým důvodem je možnost využít stanovení obsahu BA k posuzování kvality potravin, případně kvality surovin použitých pro jejich výrobu (KŘÍŽEK, 2010).

2.2.1 Dělení BA

BA se člení zpravidla podle chemické struktury na:

- Aromatické - tyramin (TYM), fenylethylamin (PEA)
- Heterocyklické - serotonin (SI), tryptamin (TRM) , histamin (HIM)
- Alifatické - agmatin (AGM), spermin (SPM), spermidin (SPD), putrescin (PUT), kadaverin (CAD)

(KOHÁJDOVÁ et al., 2008), (SILLA SANTOS, 1996)

Na základě odlišného způsobu tvorby a také podle jejich biologické role byla skupina výživových BA v devadesátých letech 19. století rozdělena do dvou podskupin.

První podskupina se dělí na:

- 1) Monoaminy: HIM, TYM, PEA, TRM
- 2) Diaminy: PUT, CAD
- 3) Triaminy: AGM

Druhou podskupinu tvoří polyaminy (PA), které se nacházejí jako složky všech živých organismů, jak s pozitivním, tak i s negativním účinkem na lidské zdraví za určitých podmínek (SILLA SANTOS, 1996), (SHALABY, 1996).

2.2.2 Vznik BA

Velká část BA v potravinách vzniká dekarboxylací volných aminokyselin působením bakteriálních dekarboxyláz, a tak pro tvorbu významnějšího množství BA jsou nutné tři podmínky:

- Dostupnost volných aminokyselin.
- Výskyt bakterií vybavených dekarboxylázami aminokyselin.
- Podmínky umožňující růst bakterií, biosyntézu dekarboxyláz a jejich aktivitu (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998).

2.2.3 Výskyt BA

BA se v nízkých koncentracích vyskytují téměř v každé potravíně (HALASZ et al., 1994). Při posuzování výskytu BA se obvykle potraviny dělí na fermentované a nefermentované (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998). V potravinách připravených fermentační cestou jsou BA jejich přirozenou součástí, ale u nefermentovaných potravin jsou BA především indikátorem nežádoucí mikrobiální činnosti (STANDAROVÁ et al., 2008). Ve vyšším množství se BA nacházejí ve výrobcích fermentovaných (např. víno, kysané zelí, trvanlivé salámy, sýry aj.), kde vznikají činností mikroorganismů. Působením kontaminující mikroflóry vznikají hlavně v mase a v rybách během skladování. U potravin v pokročilém stupni kažení se vyskytuje vysoká koncentrace BA (VELÍŠEK, 1999).

V živočišných materiálech, jako jsou např.: ryby, maso a sýry bývají hlavními BA HIM, PUT, TYM a CAD. V čerstvém rybím masu je obsah biogenních aminů malý, např. v masu tuňáka bývá 0 – 10 mg/kg HIM a 0 – 2 mg/kg TYM (VELÍŠEK, 1999). Tkáň ryb obsahuje vysoké množství aminokyseliny histidinu, který může být přeměněn na HIM přítomnými mikroorganismy. Bylo zjištěno, že tuňák a další druhy ryb z čeledi makrelovitých a sledřovitých obsahují vysoké množství HIM zapříčiněné nevhodnou manipulací a konzervací (KAROVIČOVÁ a KOHAJDOVÁ, 2003). Při skladování ryb při teplotách kolem 0 °C a nižších teplotách vznikají BA v téměř zanedbatelném množství. Optimální teplota pro tvorbu HIM je značně rozdílná (5 – 38 °C) a také závisí na druhu kontaminující mikroflóry (VELÍŠEK, 2002).

Při skladování masa dochází vlivem enzymové aktivity přítomné mikroflóry k nárůstu obsahu BA, a obsah některých z nich lze proto využít jako indikátor čerstvosti masa. Vaření má relativně malý vliv na obsah BA, dochází pouze k jejich částečnému rozkladu. Obsah BA vzrůstá při výrobě některých sýrů a fermentovaných salámů. Tento nárůst je nejvíce patrný v počátečních fázích fermentace výrobků a je závislý na určitém druhu přítomných mikroorganismů (VELÍŠEK, 1999).

Mléko a mléčné výrobky jsou vhodným příkladem nežádoucího zvýšení obsahu HIM během nevhodného zpracování. Čerstvé mléko obvykle obsahuje velmi nízké hladiny HIM, pasterované nebo UHT mléko obsahuje mírně vyšší hladinu výskytu HIM. Fermentace mléka způsobuje značný nárůst často se vyskytujícího HIM. Jeho obsah může činit až 7 mg/l v kysané smetaně a o trochu vyšší v jogurtu. Se stářím sýra obsah HIM prudce stoupá až k 2 500 mg/kg (BODMER et al., 1999).

Při zrání sýrů dochází k výrazné tvorbě BA jen v provozech s nedostatečnou hygienickou úrovní, tzn. vlivem kontaminující mikroflóry. Při dodržování správných hygienických zásad a dobré technologie obsahují i dlouhodobě zrající sýry jen poměrně malá množství BA (VELÍŠEK, 1999).

V rostlinných materiálech se BA vyskytují také. Hlavním biogenním aminem v zelenině a ovoci bývá TYM, v menším množství se nachází i řada jiných BA (VELÍŠEK, 1999).

V potravinách je možné snížit obsah BA následujícími způsoby:

- Do tepelně upravovaných potravin přidat sacharidy a tak umožnit reakce,

které vedou k tzv. neenzymovému hnědnutí.

- Vyluhovat aminy ve varné lázni a vývar nekonzumovat.
- Oxidovat aminy za přítomnosti kyslíku na aldehydy (enzymaticky).

Z důvodu omezené použitelnosti těchto způsobů v praxi, proto zůstává nejdůležitější prevence vzniku BA vysokou úrovní hygieny v provozech (KŘÍŽEK, 2010).

Tab. 2: Biogenní aminy (BA), jejich prekurzory, produkty transformace a biologický význam podle Velíška (1999):

BA	Původní AK	Další produkty AK a transformace aminu	Biologický význam
AGM	arginin	putrescin, N-methylputrescin, spermidin, spermin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
CAD	lysin		stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
DA	DOPA	noradrenalin, adrenalin	mediátory sympatických nervů
HIM	histidin		lokální tkáňový hormon, vliv na krevní tlak, sekreci žaludeční šťávy, účast při anafylaktickém šoku a alergických reakcích
PEA	fenylalanin	tyramin, dopamin, adrenalin, noradrenalin	prekurzor tyraminu

PUT	arginin via ornithin nebo citrulin	N-methylputrescin, spermidin, spermin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
TRM	tryptofan	serotonin, melatonin	lokální tkáňové a rostlinné hormony (katecholaminy), vliv na krevní tlak, peristaltiku střev, psychické funkce
TYM	tyroxin	dopamin, adrenalin, noradrenalin, synefrin, hordenin	prekurzor dopaminu, lokální tkáňový hormon, vliv na krevní tlak a kontrakce hladkého svalstva

Pozn.: **AK** – aminokyselina, **AGM** – agmatin, **CAD** – kadaverin, **DA** – dopamin, **HIM** – histamin, **PEA** – fenylethylamin, **PUT** – putrescin, **TRM** – tryptamin, **TYM** – tyramin;

2.2.4 Biologické účinky BA

BA jsou pro organismus nezbytné, ale ve velkém množství se mohou projevat jako látky:

- Psychoaktivní
- Vasoaktivní

Psychoaktivní aminy jsou přenašeči v centrálním nervovém systému. Vasoaktivní aminy působí na vaskulární systém buď přímo nebo nepřímo. Vasoaktivní aminy se podle účinku dělí na:

- Vasokontraktibilní aminy (např. TYM)
- Vasodilatační aminy (např. HIM) (VELÍŠEK, 1999)

BA ve vysokých koncentracích mohou vyvolávat projevy otravy. Ovlivňují krevní tlak (HIM snižuje, TYM zvyšuje), HIM má psychoaktivní účinky. Projevy intoxikace jsou kožní a nervové, zejména nucení k zvracení, dýchací potíže, bolení hlavy, bušení srdce, snížení i zvýšení krevního tlaku, pálení v ústech, zrudnutí v obličeji (BRINK et al., 1990).

Existují enzymy, které BA odbourávají. Je to monoaminoxidáza (MAO) a diaminoxidáza (DAO) (VELÍŠEK, 1999). Ty ale mají jen určitou aktivitu, která

nezvládne nadměrný příjem BA. Ten se může projevit u potravin, které doposud nejeví sensoricky postřehnutelné projevy kažení. Enzymy působí ve střevním epitelu a do krevního oběhu se dostávají již produkty oxidace BA. Aktivitu těchto enzymů snižuje alkohol, ale také tzv. inhibitory MAO.

Škodlivé účinky nejvýznamnějších aminů – HIM a TYM – mohou být zesíleny buď ostatními současně přijímanými BA, zejména PUT a CAD nebo dosud neidentifikovanými látkami, které se předpokládají v potravinách, u nichž došlo k bakteriální degradaci bílkovin. Tyto látky by měly po vstřebání vyvolat uvolňování HIM, který je vázán v žírných buňkách a v dalších tělních rezervoárech, čímž by se zesilovaly účinky HIM, který je přijat potravou (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998).

2.3 Polyaminy

Mezi nejznámější PA, kterým se říká fyziologické PA, patří SPD, SPM a PUT. PA jsou často uváděny pod skupinou BA. Avšak nyní se stávají zvláštní samostatnou skupinou z důvodu jejich specifické úlohy v eukaryotních buňkách. Dále se účastní na růstu buněk a jejich množení (KALÁČ a KRAUSOVÁ, 2005).

PA jsou všudypřítomné složky, které se vyskytují v rostlinných i živočišných buňkách a v mikrobech (KALÁČ a KRAUSOVÁ, 2005). V normálních zdravých buňkách je hladina PA složitě kontrolována biosyntetickými a katabolickými enzymy (MITCHELL, 2003).

PUT a SPD plní řadu specifických úkolů a jsou důležitou složkou při růstu a množení buněk (KALÁČ a KRAUSOVÁ, 2005). Nedostatečný přísun PA by mohl hrát roli i při zjištění citlivosti na výživové alergeny. Pravděpodobnost výskytu alergie může být až 80%, kdy je zvýšená propustnost střevní sliznice pro makromolekuly a nedostatečně vyvinutý imunitní systém střeva (pozorováno u kojených krys i u dětí) (DANDRIFOSSE et al., 2000).

V potravinách rostlinného původu je obsah PUT nejvyšší mezi PA. Obsah SPD je běžně vyšší než obsah SPM. Naopak nízká hladina PUT je typická u dobře ošetřených potravin živočišného původu. Výjimku tvoří jen rybí omáčky, tresčí jikry a konzervované krabí maso. Vysoký obsah SPM je častý pro maso a masné výrobky z teplokrevných zvířat.

Nižší obsah SPM je zaznamenán u ryb. Obsah SPD je i u živočišných produktů vyšší než obsah SPM (KALAČ a KRAUSOVÁ, 2005). SILVA a GLÓRIA (2002) vysvětlují vyšší obsah SPD než SPM u výrobků na bázi kuřecího masa tím, že je do výrobků zpracován vysoký podíl rostlinných komponentů.

2.4 Sýry

2.4.1 Charakteristika a dělení sýrů

Sýry řadíme mezi tradiční produkty, které člověk poznal již před 8 000 lety. Jsou to čerstvé nebo zrající výrobky, které jsou získané oddělením tekutiny (syrovátky) po koagulaci mléčné bílkoviny z mléka s různou tučností. Sýry v sobě tedy koncentrují základní složky sušiny mléka, především mléčný tuk a kasein. Do syrovátky přechází větší část vody, laktózy, bílkoviny syrovátky a část solí (KADLEC et al., 2009). Odborníci doporučují konzumovat tři až čtyři mléčné výrobky denně. K těm patří nejenom mléko, jogurty, zakysané výrobky, ale právě i sýry. Obsahují veškeré esenciální aminokyseliny nezbytné pro lidskou výživu, zejména lysin, který chybí v rostlinných bílkovinách (ŠUSTOVÁ, 2008). Výroba sýrů představuje velmi složitý fyzikální, chemický a biologický proces. Pro výrobu kvalitních sýrů je zapotřebí i mléka vysoké kvality. Na výrobu 1 kg sýra je zapotřebí kolem 10 litrů mléka (PAVELKA, 1996).

Jedním z hlavních důvodů, proč se mléko začalo zpracovávat na sýry, je jejich delší trvanlivost. Prodloužení trvanlivosti spočívá ve fermentaci laktózy především na kyselinu mléčnou, snížení vodní aktivity a pH. K vyšší trvanlivosti přispívá i nízký redox potenciál a přídavek soli. Povrch sýra je navíc často chráněn kůrou, nátěrem, nebo zrací fólií. Další důležitou výhodou zpracování mléka na sýry je to, že jsou v nich koncentrovány nutričně nejcennější složky mléka.

V České republice je základní surovinou pro výrobu sýrů kravské mléko. Četné druhy sýrů se vyrábějí také z ovčího nebo kozího mléka, ale i z mléka buvolího a dalších zvířat chovaných pro mléko (KADLEC et al., 2009).

Schéma 1: Základní dělení sýrů podle Pavelky (1996)

Přírodní	kyselé			
		měkké	čerstvé terminované	
			zrající	pod mazem v chladu
	sladké	polotvrdé	lisované s vytuženou sýřeninou	
		tvrdé	s nízko dohřívanou sýřeninou s vysoko dohřívanou sýřeninou s mletou sýřeninou speciální	
		plísňové	s plísní na povrchu s plísní uvnitř kombinované	
bílé		nelisované lisované		
Tavené	podle způsobu výroby	běžné (pasterované)		
		sterilované	UHT v obalu	
	podle složení	přírodní	druhové směsné	
		ochucené s jinými doplňky a přísadami		
	podle obsahu tuku	vysokotučné plnotučné polotučné nízkotučné		
	podle konzistence	roztíratelné tuhé		
podle způsobu balení	v hliníkové fólii nezatavené v hliníkové fólii zatavené v tuhých plastových obalech v plechových obalech			
	v jiných obalech tuby plastová střívka salámy plátky			
Speciální	pařené uzené sušené			

2.4.2 Tvorba BA v sýrech

Hlavní podmínky tvorby BA v sýrech jsou podobné jako u jiných fermentovaných potravin (viz. kapitola 2.2.2).

Mezi další podmínky patří:

- Podmínky prostředí (pH, teplota, aktivita vody, koncentrace NaCl, obsah glukózy).
- Druh a stáří sýra.
- Teplota zrání a skladování, doba skladování.
- Hygiena suroviny a hygiena při zpracování sýra.
- Startovací kultury.
- Tvar sýra (v kulatých sýrech je vyšší obsah BA v porovnání s pravoúhlými sýry).
- Obal (při zrání pod fólií je vyšší obsah BA než při zrání pod kůrou) (KOMPRDA, 2004).

Tab. 3: Rozdělení sýrů podle koncentrace biogenních aminů (BA) (JANOUSHKOVÁ, 2010)

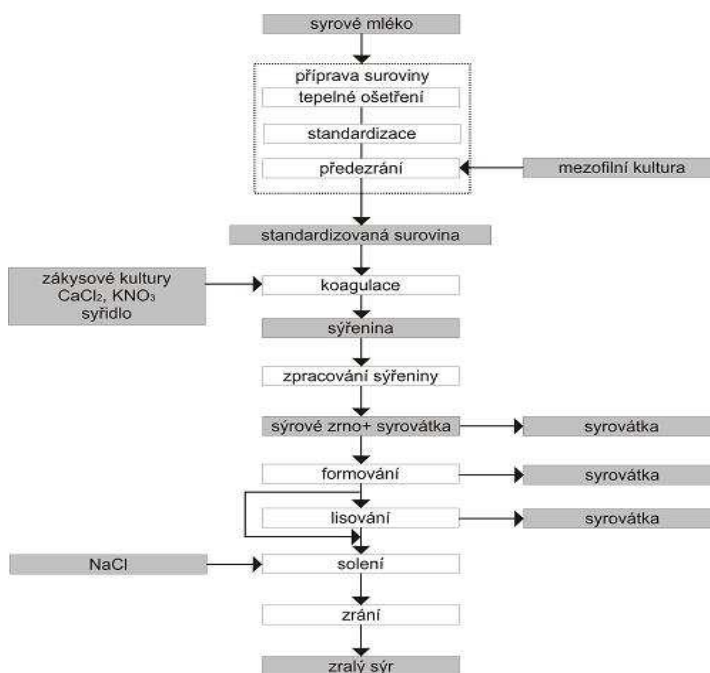
Sýr podle koncentrace BA	Typ sýrů	Příklad sýrů
Sýry s nízkou koncentrací BA	smetanové	
	čerstvé	Cottage, Ricotta
	termizované měkké	Lučina
Sýry se zvýšenou (střední) koncentrací BA	s nízkodohřívanou	Eidam
	sýřeninou	
	plísňové	Hermelín, Niva
	kozí	
Sýry s vysokou koncentrací BA	měkké zrající	Romadur, Tvarůžky, Brynza
	s vysokodohřívanou sýřeninou	Emmental

2.4.3 Zrání sýrů

Při zpracování mléka na sýry dochází k rozkladu původního kaseinu, který je při zrání sýrů štěpen na aminokyseliny, čímž se sýry stávají stravitelnější. Rozklad kaseinu až na volné aminokyseliny nijak nesnižuje výživovou hodnotu sýra a jeho bílkovin. Naopak z kaseinu se v průběhu zrání uvolňují biologicky aktivní peptidy, které se uvádějí v souvislosti s funkčními potravinami. Snížení výživové hodnoty nastává až po rozkladu aminokyselin dekarboxylací nebo deaminací. Problematické mohou být v této souvislosti vznikající BA, jejichž vyšší množství může vznikat u sýrů hodně prozrálých, především sýrů plísňových, s modrou plísní, s mazem (tvarůžky) nebo u sýrů dlouhozrajících (ŠUSTOVÁ, 2008).

KALACĀ a GLÓRIA (2009) uvádějí, že na rozdíl od mnoha jiných potravin jsou sýry biologicky a biochemicky dynamické systémy, a proto jsou nestabilní. Obsahují bakteriální ekosystémy a výrazně se změny během zrání kvůli četným biochemickým přeměnám. Změny vytvoří ideální prostředí pro tvorbu BA. Tedy je pravděpodobně nemožné produkovat zrající sýr bez přítomnosti BA. Ale je nezbytné a možné zamezit tvorbě vyšších obsahů BA, které mohou představovat riziko pro zdraví konzumenta. Technologická opatření jsou omezena různými podmínkami potřebnými pro minimalizaci utváření jednotlivých aminů přímo z různých bakterií a metabolických procesů.

Schéma 2: Základní schéma výroby sýrů (KADLEC et al., 2009)



2.4.4 BA a PA v různých druzích sýrů

Nejdůležitější BA a PA v sýrech jsou: TYM, HIM, PUT, CAD A PEA (KALÁČ a GLÓRIA, 2009).

ROIG-SAGUÉS et al. (2002) uvádějí, že častou příčinou výskytu BA v sýrech je sekundární kontaminace mikroorganismů z přidávané startovací kultury. HALÁSZ et al. (1994) zmiňují, že sýry se srovnatelným mikrobiologickým profilem se mohou významně lišit v obsahu BA. Dokonce i různé kmeny jednoho druhu se mohou lišit v produkci BA až o několik řádů.

Tab. 4: Významné mikroorganismy produkující biogenní aminy podle Velíška (1999)

Potravina	Mikroorganismy	Produkováné aminy
Sýry	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. arabinose</i> , <i>Streptococcus faecium</i> , <i>S. mitos</i> , <i>Bacillus macerans</i> , <i>Propionibacterium sp.</i>	CAD, HIM, PUT, TYM, TRM

Pozn.: CAD – kadaverin, HIM – histamin, PUT – putrescin, TYM – tyramin, TRM – tryptamin;

Tab. 5: Obsah hlavních biogenních aminů v sýrech podle Velíška (1999)

Potravina	Obsah v mg/kg (nebo v mg/dm ³)						
	HIM	CAD	PUT	AGM	PEA	TYM	TRM
Cheddar	0 - 1 300	4 - 408	1 - 996		0 - 330	0 - 1 500	0 - 300
Emmental	s - 2 000	0 - 460	1 - 130		0 - 490	1 - 1 000	0 - 210
Gouda	0 - 850	1 - 140	1 - 200		0 - 46	0 - 670	10 - 200
Eidam	0 - 88	s	s	23 - 117		s - 320	
Roquefort	0 - 4 100	42 - 905	44 - 830		10 - 25	s - 1 350	10 - 1 100

Pozn.: s – stopy, HIM – histamin, CAD – kadaverin, PUT – putrescin, AGM – agmatin, PEA – fenylethylamin, TYM – tyramin, TRM – tryptamin;

Význam BA pramení z jejich toxicity a jejich potenciálu jako příčiny alimentární otravy. Po rybách je sýr nejčastěji odpovědný za případy otravy potravinami způsobené požitím BA. (ORDONEZ et al., 1997). Obdobný názor na BA v sýrech má i KALAČ a GLÓRIA (2009), kteří tvrdí, že sýr se řadí společně s rybami a vínem mezi potraviny spojené s otravami způsobenými BA. Právě s těmito otravami souvisí tzv. sýrová reakce, což je hypertenzní krize běžně doprovázena těžkou bolestí hlavy po předchozím požití sýru nebo jiné potraviny bohaté na TYM (záleží, jak je k tomu jednatel citlivý).

NOVELLA-RODRIQUEZ et al. (2003) měřili BA a PA v nevyzrálých sýrech a ve čtyřech typech vyzrálých sýrů. Studie zahrnují sýry vyráběné z pasterizovaného a syrového mléka. Výsledkem bylo, že obsah veškerých aminů byl nižší v nevyzrálých než ve vyzrálých sýrech. Hlavní aminy ve vyzrálých sýrech byly TYM, CAD a PUT. Nejvyšší koncentrace TYM byla nalezena ve zrajících tvrdých sýrech, zatímco sýry s modrou plísní měly nejvyšší stupeň CAD. FERNANDEZ et al. (2007) se zabýval podobnou problematikou, kde studoval sýry, které byly vyrobeny ze syrového a pasterizovaného mléka různého původu a byly vystaveny různým druhům zrání. Výskyt BA byl nižší u sýrů s kratší dobou zrání než u sýrů s delší dobou zrání. Vyšší výskyt BA byl u sýrů vyráběných ze syrového mléka než u těch vyráběných z pasterizovaného mléka. Nejvyšší výskyt BA byl zaznamenán v sýrech s modrou plísní (typu Niva) vyráběných ze syrového mléka. A i zde byl TYM nejčastěji zaznamenán BA. Jiná studie provedená STANDAROVOU et al. (2008) potvrdila nejvyšší výskyt TYM v tvrdých i tavených sýrech. Cílem jejich práce bylo zjistit koncentrace BA v sýrech dostupných a konzumovaných v ČR. Koncentrace sledovaných BA se pohybovala v rozmezí jednotek až stovek mg/kg, nejvíce zastoupeny byly a nejvyšších koncentrací dosahovaly TYM, PUT a CAD, následovány HIM. Nejvyšší celkové koncentrace BA byly stanoveny u měkkých zrajících sýrů a sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou. Smetanové a termizované sýry neobsahovaly žádné BA, nebo byly obsaženy v minimálním množství.

KALAČ a GLÓRIA (2009) se shodují s ostatními studiemi, také tvrdí, že TYM byl hlavní amin ve všech typech studovaných sýrů. Velmi vysoký obsah aminů byl uveden pro sýry s vysokými sensorickými vadami. Změna v obsahu aminů je také ovlivněna jejich nerovnou distribucí v hmotě sýru.

KOMPRDA et al. (2005) stanovili BA ve vzorcích taveného sýra, kde byl zjišťován možný vliv tepelné úpravy, teploty a doby skladování vzorků na obsah sledovaných aminů. Kvantitativně i tady byl nejvýznamnějším aminem ve všech případech TYM, nejvyšší koncentrace byla zjištěna u pasterovaného taveného sýru skladovaného 22 týdnů při teplotě 8 °C. Skladovací doba a ani teplota výrazně neovlivnily množství stanovovaných aminů. Ze studie je tedy zřejmé, že tavený sýr i v případě dlouhodobého skladování nepředstavuje z hlediska BA zdravotní riziko.

DIČÁKOVÁ et al. (2004) zkoumali dvacet dva vzorků tří různých odrůd sýrů vyrobených z ovčího a kravského mléka a stanovili BA. HIM nebyl nalezen ve čtyřech vzorcích zkoumaného sýra, TYM ve dvou vzorcích a PUT ani CAD nebyly objeveny pouze v jednom vzorku. TYM a PUT byly odhaleny ve všech ostatních odrůdách sýrů. CAD byl přítomen ve 12 vzorcích, zatímco HIM byl nalezen také ve 12 vzorcích, avšak v nízké koncentraci.

Tab. 6: Obsah putrescinu (PUT), spermidinu (SPD) a sperminu (SPM) podle Bardócz et al. (1993)

Potravina	Aminy (mg/kg)		
	PUT	SPD	SPM
Sýr Cheddar „mladý“	10 - 20	77 – 104	23 – 37
Sýr Cheddar vyzrálý	650	190	22 – 38

Pozn.: PUT – putrescin, SPD – spermidin, SPM – spermin;

Sýr vyráběný ze syrového kozího mléka vykazoval při době skladování 48 hodin a při teplotě 4 °C nejvyšší obsah BA. TYM byl hlavní BA, následovaný CAD (NOVELLA-RODRIQUEZ et al., 2004). GALGANO et al. (2001) tvrdí, že sledované BA v jeho vzorcích vzrostly během zrání. Nejvíce bylo obsaženo PUT v každé době zrání. Dále následoval TRM a TYM. HIM nebyl zjištěn v 15 dnech, ale na konci zrání (60 dnů) dosáhl hodnoty 104 mg/kg sýra. STANDAROVÁ et al. (2009) také uvádí, že doba uskladnění mění obsahy BA. Obsah BA byl znatelně vyšší v kozích sýrech po 7 týdnech uskladnění ve srovnání s BA v čerstvých kozích sýrech. Žádný vzorek nedosáhl takového množství BA, které by bylo toxické pro běžného spotřebitele.

Koncentrace BA v českých sýrech jsou srovnatelné s obsahy BA v sýrech téhož typu zahraniční výroby. Ve většině případů mají české tvrdé i tavené sýry vyšší obsah TYM než HIM, u velké části sýrů zahraniční produkce sýr s vysokým obsahem HIM má vysoký obsah TYR (STANDAROVÁ et al., 2008).

2.4.5 Záruční doba u sýrů

Mléčné výrobky se po výrobě a v době distribuce velmi těžko uchovávají, protože lehce podléhají mikrobiologickým a chemickým změnám. Kladou se tedy vysoké požadavky na jejich obaly a obalový materiál. Legislativní předpisy zavedly tyto termíny na vyjádření záruční doby.

- **Datum minimální trvanlivosti**, do kterého si výrobek zachová při dodržení stanovených podmínek skladování požadované vlastnosti. I po tomto datu však může mít vyhovující jakost. Výrobky mohou být prodávány i po uplynutí tohoto data, ale musí být nabízeny odděleně a tato skutečnost musí být zřetelně označena. Na spotřebitelském obalu se uvádí takto:
 - minimální trvanlivost do (nekódované datum) nebo
 - minimální trvanlivostdní (měsíců) od data výroby (datum nekódované)V mlékárenském průmyslu se takto označují např. tavené sýry, porcované sýry a měkké zrající sýry.
- **Datum použitelnosti**, do kterého si má výrobek při dodržení podmínek skladování zachovat požadované vlastnosti. Po tomto datu není výrobek prodejný. Označuje se takto:
 - spotřebujte do (datum nekódované) nebo
 - spotřebujte do dní (měsíců) od data výroby (datum nekódované)Takto se označují např. termizované a netermizované smetanové sýry, měkké čerstvé sýry, tvarohové sýry (ČEPIČKA, 1995).

3 Materiál a metodika

3.1 Cíle práce

Cílem diplomové práce bylo stanovení biogenních aminů a polyaminů ve vybraných druzích zrajících sýrů, posouzení jejich obsahu od ukončení doby spotřeby dané datem minimální trvanlivosti a porovnání získaných hodnot s hygienickými limity. Diplomová práce byla součástí řešení výzkumného záměru MSM 6007665806.

3.2 Odběr vzorků

Tržní druhy sýrů, které byly zakoupeny ke stanovení BA a PA jsou zobrazeny v tabulce č. 7:

Tab. 7: Druhy sýrů a jejich charakteristika

Název sýra	Hmotnost (g)	Tvar	Záruční doba
Jarošovský pивní sýr	90	kvádrovitý	datum použitelnosti
Romadur	100	kvádrovitý	datum použitelnosti
Sedlčanský Romadůžek	90	věnečkovitý	datum minimální trvanlivosti
Olomoucké tvarůžky	31	věnečkovitý	datum minimální trvanlivosti
Stříbrňák Camembert	80	kotoučový	datum minimální trvanlivosti

Tyto vzorky sýrů vyrobených z pasterizovaného kravského mléka byly zakoupeny v obchodě v letech 2009 – 2010. Celkem bylo analyzováno 71 vzorků (tabulka č. 8). Z toho bylo použito 15 vzorků Jarošovského pивního sýru, 19 vzorků Romaduru, 12 vzorků Sedlčanského Romadůžku, 12 vzorků Olomouckých tvarůžků a 13 vzorků Stříbrňáku Camembertu. Vzorky byly do provedení analýzy skladovány v lednici při teplotě 5 °C.

Pro zjišťování rozdílů ve výskytu BA a PA v závislosti na době skladování/zrání byl u těchto vzorků sledován obsah v den, kdy končí minimální trvanlivost (období 0) a jeden, dva, resp. čtyři po skončení DMT (období 1, 2, resp. 4).

Tab. 8: Přehled počtu vzorků odebraných sýrů

Měsíc	Rok	Počet vzorků
9	2009	12
10	2009	16
11	2009	12
2	2010	16
6	2010	15
Celkem		71

3.3 Analýza vzorků

3.3.1 Použité chemikálie, přístroje a zařízení

Pro analýzu PA byly kromě běžných laboratorních pomůcek, laboratorního skla a chemikálií používány následující chemikálie, přístroje a zařízení. Všechny používané chemikálie byly analytické čistoty (p.a.).

Chemikálie:

- Acetonitril pro HPLC (gradient grade), Merck, Německo,
- 1,7-diaminoheptan, Sigma Aldrich, Německo,
- Dansylchlorid, Sigma Aldrich, Německo,
- Heptan, Fluka, Buchs, Švýcarsko,
- Histamin dihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
- Hydrogenuhličitan sodný, Lachema, Neratovice, ČR,
- Kadaverin dihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
- Kyselina chloristá, Acros Organic, New Jersey, USA,
- Prolin, Fluka, Buchs, Švýcarsko,
- Putrescin dihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
- Spermidin trihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,

- Spermin tetrahydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
- Tryptamin hydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
- Uhličitan sodný, Lachema, Neratovice,
- Uhličitan draselný, Lachema, Neratovice, ČR.

Přístroje a zařízení:

- Analytické váhy, B 204, Mettler Toledo, Švýcarsko,
- Kapalinový chromatogram (RRLC) Agilent Technologies, USA,
- Mixér, Moulinex, Francie,
- Ponorný mixér, Bosch, Německo,
- Odstředivka Sigma 2 – 5, Německo.

3.3.2 Analytické postupy

Biogenní aminy a polyaminy byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Analýza BA a PA metodou HPLC:

- **Extrakce**

Extrakt byly před analýzou skladovány v chladničce při teplotě 6 ± 1 °C. Běžná doba skladování byla kratší než jeden měsíc.

Postup extrakce:

1. bylo naváženo 40 ± 1 g vzorku sýra a přelito přibližně 100 ml 0,6 M kyseliny chloristé,
2. směs byla cca 3 min. homogenizována kuchyňským ručním tyčovým mixérem (Bosch, 600 W) a odstředěna (Sigma 2 - 5, průměr rotoru 272 mm) při 3 500 otáčkách/min. po dobu 10 min.,
3. supernatant byl přes skládaný filtrační papír přefiltrován (pro kvalitativní analýzu, nekrepaný nehlazený) a byl odečten celkový objem filtrátu.

- **Derivatizace**

Extrakty byly derivatizovány podle publikovaného postupu (DADÁKOVÁ et al., 2009).

Postup derivatizace:

1. byl odpipetován 1 ml extraktu vzorku,
2. bylo přidáno 100 µl vnitřního standardu, kterým byl roztok 1,7-heptandiaminu v 0,6 M kyseliny chloristé o koncentraci 400 mg/l,
3. dále byl roztok neutralizován 1,5 ml uhličitanového roztoku AB, který musí být před analýzou vždy čerstvý,

Tab. 9: Příprava uhličitanového neutralizačního roztoku

Počet vzorků	1	2	4	5	6	8	10
(g) K ₂ CO ₃	0,666	1,332	1,998	2,664	3,33	4,664	5,328
(ml) roztoku AB	2	4	6	8	10	14	16

Příprava roztoku AB, který nemusí být pokaždé čerstvě připravován:

Roztok A: Na₂CO₃ 2,65 g do 50 ml

Roztok B: NaHCO₃ 4,2 g do 100 ml

4. bylo přidáno 2 ml derivatizačního činidla (roztok o koncentraci 5 mg dansylchloridu na 1 ml acetonu); tento roztok musí být před každou derivatizací také čerstvě připraven,
5. následně se vzorek nechal třepat 20 hodin ve tmě při laboratorní teplotě,
6. dále bylo dávkováno 200 µl roztoku L-prolinu (0,1 g v 1 ml vody) a po zreagování nadbytečného činidla se ještě třepal 1 hodinu ve tmě,
7. poté bylo přidáno 3 ml heptanu, do kterého byly vzniklé deriváty polyaminů a biogenních aminů extrahovány, to trvalo 2,5 minuty,
8. po odebrání 1 ml supernatantu se vzorek odpařil do sucha pod dusíkem za laboratorní teploty.

Odparek se rozpustil v 1,5 ml roztoku acetonitrilu a byl přefiltrován přes skleněný filtr (velikost pórů 1,7 µm) do odměrné vialky.

Pokud obsah analyzovaných BA a PA byl vyšší než kalibrační rozsah, tak extrakt byl před derivatizací zředěn. Na ředění se používal 0,6 M roztok kyseliny chloristé. Ředilo se podle potřeby, nejčastěji pětkrát.

- **Analytická koncovka**

Analýza derivatizovaného vzorku byla provedena metodou kapalinové chromatografie s využitím techniky UPLC, přičemž derivatizovaný vzorek obsahoval dansylderiváty přítomných aminů. Provedení odpovídalo publikované metodě (DADÁKOVÁ et al., 2009).

K analýze byl použit kapalinový chromatograf vybaven binární pumpou, autosamplerem, zařízením na odplynění mobilních fází, termostatem kolon a diodearray detektorem (Agilent Technologies, USA). Separace analytů probíhala v chromatografické koloně (Agilent Zorbax Elipse XDB-C18), o rozměrech 50 mm x 4,6 mm ID, s velikostí částic sorbentu 1,8 µm. Koloně bylo pro její ochranu přiřazeno filtrační zařízení (tzv. in-line filter). Vlastní chromatografická separace byla provedena s použitím mobilních fází A (100% acetonitril) a B (50% acetonitril) a gradientové eluce podle následujícího programu:

0 – 2 min	A 40%, B 60%
2 – 3 min	A 40 – 80%, B 60 – 20%
3 – 4 min	A 80 – 90%, B 20 – 10%
4 – 6 min	A 90 – 95%, B 10 – 5%
6 – 7 min	A 95 – 45%, B 5 – 60%
7 – 12 min	A 40%, B 60%

Rychlost průtoku mobilní fáze byla během celé analýzy konstantní a činila 1 ml/min. Kolona byla termostatována na 25 °C, objem nástřiku činil 5 µl a jednotlivé analyty byly detekovány při vlnové délce 225 nm.

Tab. 10: Meze stanovitelnosti pro jednotlivé aminy (mg/kg čerstvé hmoty):

TRM	PEA	PUT	CAD	HIM	TYM	SPD	SPM
2,9	2,5	2,1	1,9	1,9	3,3	1,2	3,7

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin;

Výsledky byly vyhodnoceny v programu ChemStation pro LC 3D Systém (firmware Agilent Technologies). Základní výpočty a kalibrace byly provedeny pomocí programu MS Office Excel.

3.4 Statistické vyhodnocení dat

S využitím programu Microsoft Excel byly pro statistické vyhodnocení vypočteny z obsahů jednotlivých BA celkové obsahy BA a PA.

Pro účely statistického vyhodnocení byly použity nezávislé a závislé proměnné (faktory).

Nezávislé proměnné:

- druh sýra
 - Jarošovský pivní sýr
 - Romadur
 - Sedlčanský Romadůžek
 - Olomoucké tvarůžky
 - Stříbrňák Camembert
- doba skladování
 - období 0 - DMT, datum použitelnosti
 - období 1 - týden po uplynutí DMT, data použitelnosti
 - období 2 - dva týdny po uplynutí DMT, data použitelnosti
 - období 4 - čtyři týdny po uplynutí DMT, data použitelnosti

Závislé proměnné:

- obsahy jednotlivých BA a PA a jejich skupin
 - BA hnilobné Σ PUT a CAD
 - BA 6 Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM

- PA 2 Σ SPD a SPM
- BA + PA Σ biogenních aminů a polyaminů

Pro statistickou analýzu byl použit program Statistica Cz 9.0 (StatSoft s.r.o.). V souboru byly vyhodnoceny předpoklady pro užití parametrických metod a k analýze vlivů druhu sýra a skladování byla použita jednofaktorová analýza rozptylu, k porovnání významnosti skupin Fischerův LSD test při obvyklých hladinách významnosti ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$).

4 Výsledky a diskuze

4.1 Vliv druhu sýra na obsahy BA a PA

4.1.1 Obsahy jednotlivých BA a PA ve sledovaných sýrech

V následujících tabulkách (tabulka 11 – 15) jsou znázorněny průměrné obsahy jednotlivých BA a PA (\bar{x}) a jejich rozpětí (x_{\min} – x_{\max}) u sledovaných druhů sýrů. Jedná se o aminy, které se nejčastěji v sýrech vyskytují. V tabulkách jsou rovněž uvedeny celkové průměrné obsahy všech sledovaných BA (skupina BA 6 zachycuje součet nejběžnějších BA v sýrech jako je tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin a tyramin) a celkový průměrný obsah sledovaných PA (skupina PA 2, která je součtem obsahů spermidinu a spermidinu). Poslední skupinu (BA + PA) pak reprezentuje průměrný obsah všech BA a PA, tj. součet skupiny BA 6 a PA 2.

V tabulce č. 11 jsou uvedeny obsahy BA a PA u Jarošovského pivního sýra, kde byl naměřen nejvyšší průměrný obsah u CAD (104,96 mg/kg) s rozpětím od 12,15 do 231,5 mg/kg. Naopak nejnižší průměrný obsah byl u PEA, kde bylo rozpětí od hranice detekovatelnosti až po 6,63 mg/kg.

Tab. 11: Obsah jednotlivých biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v Jarošovském pivním sýru (mg/kg)

	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}
TRM	2,99	5,52	0,00	16,24
PEA	1,07	2,14	0,00	6,63
PUT	7,03	6,13	0,00	18,05
CAD	104,96	85,20	12,15	231,50
HIM	32,13	10,39	16,07	48,36
TYM	43,66	33,53	12,23	128,59
BA 6	191,84	73,43	55,64	300,86
SPD	9,11	10,96	0,00	31,23
SPM	43,96	31,92	0,00	101,40
PA 2	53,07	41,03	0,00	129,90
BA + PA	244,91	79,35	55,64	360,31

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, BA 6 - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM; PA 2 - Σ SPD a SPM; BA + PA - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM;

Tabulka č. 12 uvádí výsledky dalšího zkoumaného sýra, a tím je Romadur. I tady byl naměřen nejvyšší průměrný obsah u CAD (282,04 mg/kg) s maximální hodnotou 967,46 mg/kg. Nejnižší průměrný obsah byl v TRM, kde byl obsah nedetekován.

Polyaminy, SPD (11,89 mg/kg) a SPM (23,18 mg/kg), byly ve sledovaném sýru zjištěny v nízkých koncentracích.

V Romaduru byl zjištěn nejvyšší obsah hnilobných BA (451,5 mg/kg) a nejvyšší obsah celkových BA + PA (737,59 mg/kg) ze všech zkoumaných vzorků sýrů.

Pro zdravé osoby by tento vysoký obsah hnilobných BA a celkových BA + PA neměl znamenat žádný problém, ale negativní vliv by se mohl objevit u osob přijímajících léčiva jako psychofarmaka, nebo v případě porušené funkce jater. Osoby s uvedenými zdravotními problémy by se raději měly tomuto sýru vyhýbat.

Tab. 12: Obsah jednotlivých biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v Romaduru (mg/kg)

	\bar{x}	s_x	x_{min}	x_{max}
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	5,96	5,88	0,00	17,08
PUT	169,46	89,88	48,32	313,09
CAD	282,04	301,97	0,00	967,46
HIM	30,13	33,90	0,00	106,69
TYM	214,94	172,52	18,74	579,27
BA 6	702,53	471,82	89,01	1419,40
SPD	11,89	8,61	3,15	30,34
SPM	23,18	18,16	0,00	55,35
PA 2	35,06	19,58	3,16	59,73
BA + PA	737,59	469,43	144,32	1434,04

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, BA 6 - \sum TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM; PA 2 - \sum SPD a SPM; BA + PA - \sum TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM;

Sedlčanský Romadůžek (tabulka č. 13) vykazoval nízké hodnoty BA i PA oproti ostatním sýrům. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u SPD (3,6 mg/kg) s rozpětím 0,6 – 6,13 mg/kg a u SPM (2,41 mg/kg) s rozpětím od hranice detekovatelnosti až do 8,9 mg/kg. U Sedlčanského Romadůžku nebyl zjištěn výskyt TRM, PEA a HIM.

Tab. 13: Obsah jednotlivých biogenních (BA) a polyaminů (PA) v Sedlčanském Romadůžku (mg/kg)

	\bar{x}	s_x	x_{min}	x_{max}
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	1,07	0,51	0,00	2,37
CAD	1,54	0,74	0,95	2,75
HIM	0,00	0,00	0,00	0,00
TYM	1,10	0,81	0,00	1,65
BA 6	3,71	1,34	2,00	6,10
SPD	3,60	1,59	0,60	6,13
SPM	2,41	2,54	0,00	8,90
PA 2	6,01	3,27	0,60	12,21
BA + PA	9,72	3,36	5,62	17,66

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, **BA 6** - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM; **PA 2** - Σ SPD a SPM; **BA + PA** - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM;

Pro Olomoucké tvarůžky – věnečky (tabulka č. 14) byly naměřeny nejvyšší průměrné hodnoty u TYM (209,26 mg/kg) s rozpětím 80,6 – 345,02 mg/kg. Nejnižší průměrný obsah byl u TRM (0,73 mg/kg), jehož maximální hodnota byla 8,72 mg/kg.

U vzorku sýra je celkový obsah BA 6 v rozmezí od 186,16 mg/kg do 1291,18 mg/kg. STANDAROVÁ et al. (2010) uvádějí výsledky v rozmezí od 445 mg/kg do 2 447 mg/kg. Rozdíl těchto dvou studií mohl být pravděpodobně způsoben tvarem Olomouckých tvarůžků, neboť sledovali tvarůžky kotoučového tvaru a námi sledovaný vzorek byl věnečkového tvaru.

Zatímco v obsazích BA byly zjištěny mezi touto prací a studií STANDAROVÉ et al. (2008) velké rozdíly, tak obsahy PA byly prakticky shodné.

Tab. 14: Obsah jednotlivých biogenních (BA) a polyaminů (PA) v Olomouckých tvarůžcích (mg/kg)

	\bar{x}	s_x	x_{min}	x_{max}
TRM	0,73	2,52	0,00	8,72
PEA	1,31	4,53	0,00	15,70
PUT	143,35	113,65	20,40	365,07
CAD	167,99	156,87	19,33	484,52
HIM	85,29	12,68	61,26	106,82
TYM	209,26	94,77	80,60	345,02
BA 6	607,92	362,89	186,16	1291,18
SPD	15,29	6,94	7,97	28,04
SPM	25,26	9,61	8,05	40,64
PA 2	40,54	15,66	19,60	68,68
BA + PA	648,46	375,45	212,09	1353,05

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, BA 6 - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM; PA 2 - Σ SPD a SPM; BA + PA - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM;

V tabulce č. 15 jsou uvedeny obsahy BA a PA u Stříbrňáku Camembertu. Po Sedlčanském Romadůžku vykazuje tento sýr nejnižší hodnoty BA + PA.

Nejvyšší hodnoty měly SPD (5,7 mg/kg) s rozpětím 1,46 – 12,22 mg/kg a SPM (5,36 mg/kg) s rozpětím 1,85 – 11,11 mg/kg. Nulové hodnoty měly TRM, PEA, CAD a HIM.

Z těchto důvodů byl i celkový obsah všech BA (BA 6) velmi nízký (3,36 mg/kg). STANDAROVÁ et al. (2008) ve své práci tvrdí, že sýry s bílou plísní na povrchu měly velmi odlišný obsah BA, který mohl být způsoben různými výrobci sýrů. To může být také důvod vyšších hodnot jednotlivých BA u STANDAROVÉ et al. (2008). Ve své studii sledovali tento typ sýra od více výrobců oproti této práci, kde byl sledován sýr pouze jednoho výrobce.

Polyaminy, SPD a SPM, vykazují relativně nízké průměrné obsahy aminů. I STANDAROVÁ et al. (2008) udává, že PA (SPD a SPM) byly ve sledovaných sýrech s bílou plísní na povrchu nalezeny v koncentracích odpovídajících jednotkám, výjimečně desítkám mg/kg.

Tab. 15: Obsah jednotlivých biogenních (BA) a polyaminů (PA) v Stříbrňáku Camembertu (mg/kg)

	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	1,71	1,90	0,00	6,58
CAD	0,00	0,00	0,00	0,00
HIM	0,00	0,00	0,00	0,00
TYM	1,65	0,00	1,65	1,65
BA 6	3,36	1,90	1,65	8,23
SPD	5,70	2,76	1,46	12,22
SPM	5,36	3,56	1,85	11,11
PA 2	11,06	4,80	6,44	23,33
BA + PA	14,42	5,10	9,14	24,98

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, BA 6 - \sum TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM; PA 2 - \sum SPD a SPM; BA + PA - \sum TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM;

Pro PEA byla toxická dávka v potravinách stanovena na 30 mg/kg (BRINK et al., 1990; HALÁSZ et al., 1994). Žádný ze sledovaných vzorků tuto hranici nepřesáhl. SANDLER et al., (1974) tvrdí, že 3 mg/kg PEA způsobují migrénu u vnímavých jedinců. Z toho důvodu by tyto osoby neměly konzumovat Romadur.

BRINK et al. (1990) a HALÁSZ et al. (1994) uvádějí, že hodnoty 100 – 800 mg/kg pro TYM byly hlášeny v dávkách potravin jako toxické, tzn. že není příliš vhodná konzumace Romaduru a Olomouckých tvarůžků, zvláště pro osoby užívající inhibitory monoaminoxidázy (MAO).

Podle SILLA SANTOSE (1996) je přípustná horní hranice pro HIM do 100 mg/kg. Z našich výsledků je tedy zřejmé, že žádný sýr tuto hranici nepřekročil.

4.1.2 Statistické porovnání obsahů jednotlivých BA a PA u zrajících sýrů

Tabulka č. 16 popisuje statistické porovnání jednotlivých sýrů pro jednotlivé BA a PA pomocí průměrných obsahů s odlišnými horními indexy, lišící se na příslušné hladině významnosti ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$).

Obsah TRM v Jarošovském pivním sýru byl statisticky významně ($p < 0,05$) vyšší (2,99 mg/kg) v porovnání s ostatními sledovanými druhy sýra.

U PEA se statisticky velmi významně ($p < 0,001$) lišil Romadur od všech ostatních sýrů svým nejvyšším obsahem (5,96 mg/kg).

Podle obsahů hnilobného BA, kterým je PUT lze říci, že statisticky ($p < 0,001$) významně vyšší hodnoty měly Romadur (169,46 mg/kg) a Olomoucké tvarůžky (143,35 mg/kg) v porovnání s ostatními sledovanými sýry (Jarošovský pivní, Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert), které měly hodnoty PUT od 1 do 7 mg/kg.

Obsah dalšího hnilobného BA, a to CAD, se statisticky velmi významně ($p < 0,001$) lišil mezi Jarošovským pivním sýrem (104,96 mg/kg) a Romadurem (282,04 mg/kg), dále mezi Stříbrňákem Camembertem, Sedlčanským Romadůžkem a Romadurem. Obsah CAD mezi Jarošovským pivním sýrem a Olomouckými tvarůžky se nelišil, stejně tak obsah mezi Olomouckými tvarůžky a Romadurem.

U HIM se statisticky velmi významně ($p < 0,001$) lišily Jarošovský pivní sýr (32,13 mg/kg) a Romadur (30,13 mg/kg) od všech ostatních sýrů. Olomoucké tvarůžky se lišily od všech ostatních sýrů svým nejvyšším obsahem HIM (85,29 mg/kg).

V případě TYM byl statisticky velmi významně ($p < 0,001$) vyšší obsah v Romaduru (214,94 mg/kg) a v Olomouckých tvarůžkách (209,26 mg/kg) v porovnání s ostatními sýry.

Z obsahů pro SPD je zřejmé, že se statisticky významně ($p < 0,01$) lišily Jarošovský pivní sýr (9,11 mg/kg) a Olomoucké tvarůžky (15,29 mg/kg), dále Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert od Olomouckých tvarůžků. Obsahy SPD v Romaduru a Olomouckých tvarůžkách se nelišily.

U SPM se statisticky velmi významně ($p < 0,001$) lišily Romadur a Olomoucké tvarůžky od všech ostatních sýrů, ale nelišily se mezi sebou. Svým nejvyšším obsahem se od ostatních sýrů lišil Jarošovský pivní sýr (43,96 mg/kg). Nejnižším obsahem se od ostatních sýrů odlišovaly Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert.

Tab: 16: Statistická významnost jednotlivých biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) mezi sledovanými sýry

BA+PA	Druh sýra (mg/kg)					p
	Jarošovský pivní sýr	Romadur	Sedlčanský Romadůžek	Olomoucké tvarůžky	Stříbrňák Camembert	
	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	
TRM	2,99 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,73 ^a	0,00 ^a	0,0149
PEA	1,07 ^a	5,96 ^b	0,00 ^a	1,31 ^a	0,00 ^a	0,0000
PUT	7,03 ^a	169,46 ^b	1,07 ^a	143,35 ^b	1,71 ^a	0,0000
CAD	104,96 ^{ab}	282,04 ^c	1,54 ^a	167,99 ^{bc}	0,00 ^a	0,0001
HIM	32,13 ^b	30,13 ^b	0,00 ^a	85,29 ^c	0,00 ^a	0,0000
TYM	43,66 ^a	214,94 ^b	1,10 ^a	209,26 ^b	1,65 ^a	0,0000
SPD	9,11 ^{ab}	11,89 ^{bc}	3,60 ^a	15,29 ^c	5,71 ^a	0,0014
SPM	43,96 ^c	23,18 ^b	2,41 ^a	25,26 ^b	5,36 ^a	0,0000

Pozn.: TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, ^{a,b,c} – odlišné indexy na příslušné hladině významnosti;

Ve shodě s některými autory (STANDAROVÁ et al., 2008), byl na základě statistické analýzy prokázán vliv druhu sýra na obsah všech sledovaných BA a PA. S výjimkou TRM ($p < 0,05$) a SPD ($p < 0,01$) byl vliv druhu sýra statisticky vysoce významný ($p < 0,001$).

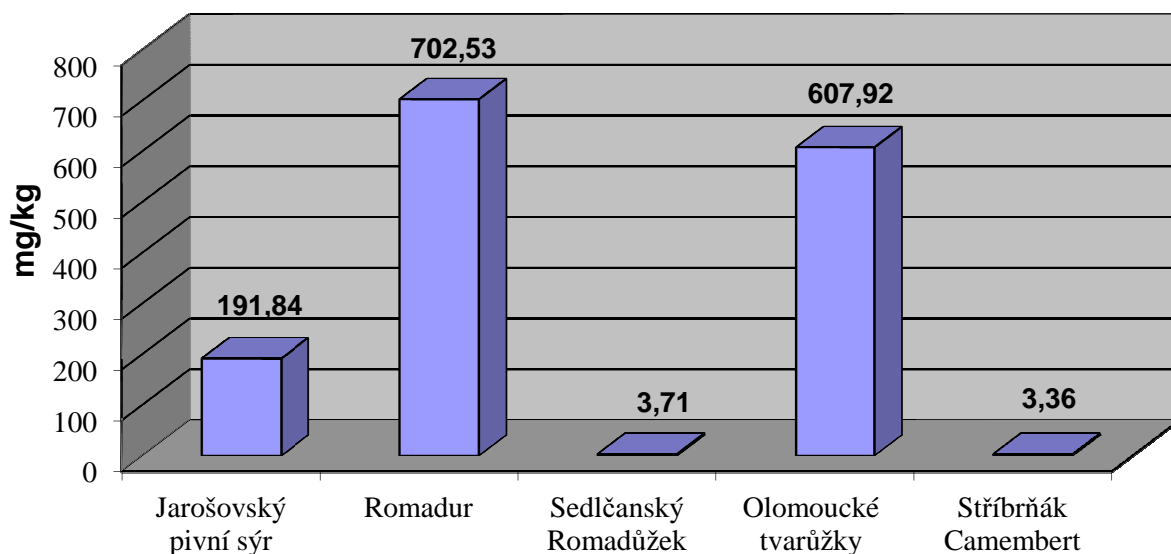
4.1.3 Celkové obsahy BA a PA a vliv druhu sýra

V následujících grafech je zobrazeno přehledné porovnání vybraných skupin BA a PA podle druhu sýra.

V grafu č. 1 jsou zachyceny obsahy skupiny BA 6. Z grafu je zřejmé, že nejvyšší hodnoty dosáhl sýr Romadur (702,53 mg/kg), následovaný Olomouckými tvarůžky – věnečky (607,92 mg/kg). Nižší obsah měl Jarošovský pivní sýr (191,84 mg/kg). Nejnižších hodnot dosáhl Sedlčanský Romadůžek (3,71 mg/kg) a Stříbrňák Camembert (3,36 mg/kg).

Podle SPANJERA a VAN ROODA (1991) je nejvyšší přípustné množství BA ve výši 900 mg/kg. Jak je vidět z grafu, tak žádný ze zkoumaných sýrů tuto hranici nepřesahuje.

Graf 1: Porovnání celkového obsahu biogenních aminů (skupina BA 6) u jednotlivých druhů sýrů (mg/kg)

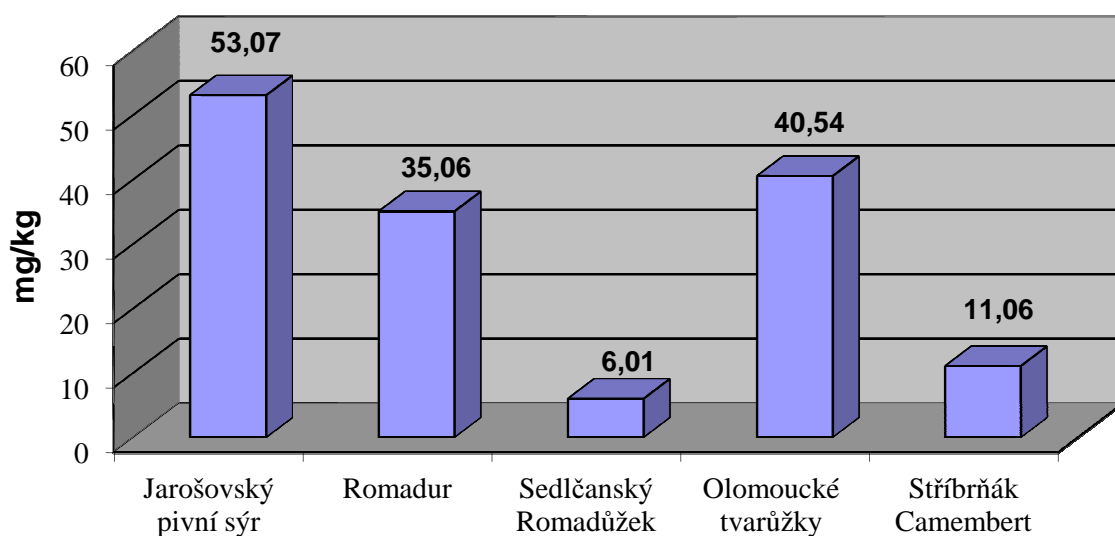


Pozn.: BA 6 - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM;

Nejvyšší obsah SPD a SPM (graf č. 2) měl Jarošovský pivní sýr (53,07 mg/kg). Podobné výsledky byly naměřeny u Olomouckých tvarůžků – věnečků (40,54 mg/kg) a Romaduru (35,06 mg/kg). Nižších hodnot dosáhl Stříbrňák Camembert (11,06 mg/kg) a Sedlčanský Romadůžek (6,01 mg/kg).

Doporučená hodnota PA (SPD a SPM) je podle KALAČE a KRAUSOVÉ (2005) do 600 mg/kg, tzn. že žádný zkoumaný sýr nepřesáhl tuto hranici a z tohoto pohledu jsou zdravotně nezávadné.

Graf 2: Porovnání celkového obsahu polyaminů (skupina PA 2) u jednotlivých druhů sýrů (mg/kg)



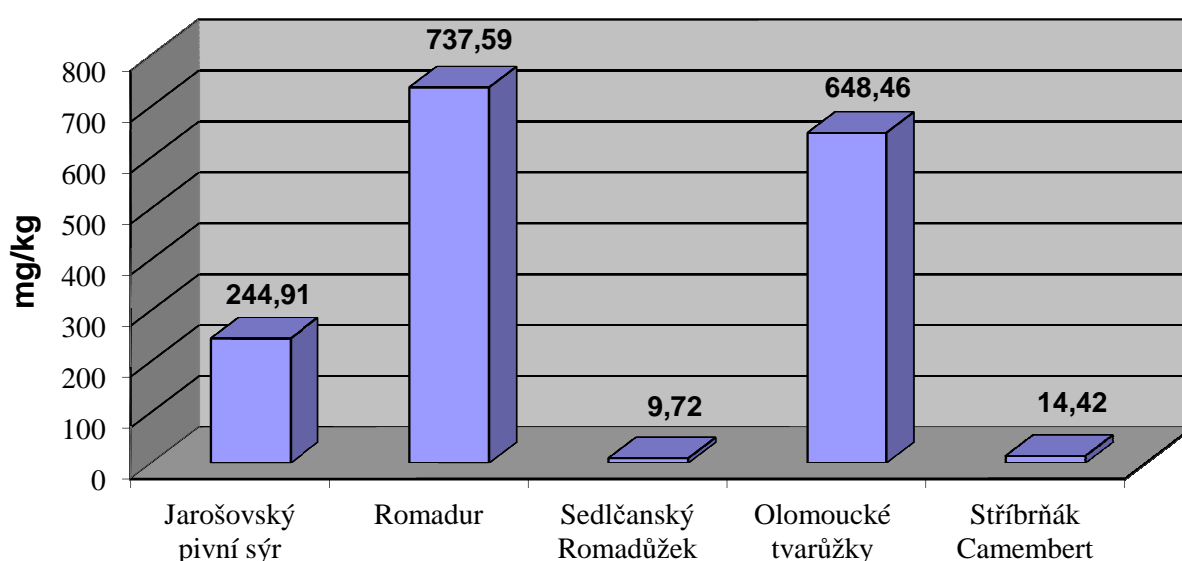
Pozn.: PA 2 - Σ SPD a SPM;

Vysoké rozdíly obsahů BA a PA u jednotlivých vzorků sýrů se pravděpodobně mohou vysvětlit následujícími vlivy:

- typ zrání sýra,
- vystavení vyšším teplotám při průchodu distribučním řetězcem,
- odlišné podmínky prostředí při tvorbě BA v sýrech (pH, teplota, aktivita vody),
- skladba mikroorganismů a jejich následný rozvoj.

Součet všech BA a PA vidíme v grafu č. 3. Nejvyšší obsah aminů měl Romadur (737,59 mg/kg), dále Olomoucké tvarůžky – věnečky (648,46 mg/kg). V obsahu Jarošovského pivního sýra (244,91 mg/kg) bylo nižší zastoupení BA a PA oproti výše uvedeným sýrům. Nízké hodnoty měl Stříbrňák Camembert (14,42 mg/kg) a Sedlčanský Romadůžek (9,72 mg/kg).

Graf 3: Porovnání celkového obsahu biogenních aminů a polyaminů (skupina BA + PA) u jednotlivých druhů sýrů (mg/kg)



Pozn.: BA + PA - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM;

Množství 1 000 mg/kg pro celkový obsah BA a PA v potravinách je považováno za nebezpečné pro zdraví (TAYLOR, 1985).

Sledované sýry v této práci nepřesahují výše uvedený limit. Nejvyšší obsah byl zjištěn v Romaduru (737,59 mg/kg) následován Olomouckými tvarůžkami (648,46 mg/kg).

Ovšem jedinci s určitými zdravotními problémy (např.: porušená funkce jater, osoby přijímající psychofarmaka) by se měli těmto sýrům s vyššími obsahy BA a PA vyhybat. Domnívám se, že by stálo za úvahu, aby byla určité upozornění pro tyto osoby vytištěna na obalech jednotlivých sýrů.

4.2 Vliv doby skladování na obsah BA a PA

Následující tabulky znázorňují změnu obsahů jednotlivých BA a PA v sýrech během skladování. Měření obsahů bylo prováděno v den minimální trvanlivosti (období 0), týden po uplynutí DMT (období 1), dva týdny po uplynutí DMT (období 2) a čtyři týdny po uplynutí DMT (období 4).

Obsah TRM (tabulka č. 17) byl nejvyšší u Jarošovského pivního sýra, ale pouze v období 0 (4,44 mg/kg) a v období 1 (4,55 mg/kg). TRM byl ještě naměřen v období 0 (2,18 mg/kg) u Olomouckých tvarůžků.

U ostatních sýrů (Romadur, Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert) nebyl TRM naměřen v žádném sledovaném týdnu po vypršení DMT.

Tab. 17: Obsah tryptaminu (TRM) v sýrech v závislosti na době ukončení spotřeby (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	4,44	7,08	0,00	16,24	0,4281
	1	5	4,55	6,29	0,00	12,61	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Romadur	0	5	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	5	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	5	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Olomoucké tvarůžky	0	4	2,18	4,36	0,00	8,72	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Stříbrňák Camembert	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	3	0,00	0,00	0,00	0,00	

Pozn.: období 0 – DMT, **období 1** – týden po uplynutí DMT, **období 2** – dva týdny po uplynutí DMT, **období 4** - čtyři týdny po uplynutí DMT;

Nejvyšší obsah PEA (tabulka č. 18) byl naměřen v období 0 u Romaduru (7,03 mg/kg). Za zmínku stojí, že v období 1 došlo k mírnému snížení (5,02 mg/kg), v období 2 ke zvýšení (6,77 mg/kg) a v období 4 opět k snížení (4,78 mg/kg). Oproti Romaduru dosáhly Jarošovský pivní sýr a Olomoucké tvarůžky nízkého množství PEA.

Zajímavé je, že obsah PEA nebyl naměřen u Sedlčanského Romadůžku a Stříbrňáku Camembertu, stejně jako nebyl v těchto sýrech naměřen TRM v žádném ze sledovaných období.

Tab. 18: Obsah fenylethylaminu (PEA) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	2,72	3,22	0,00	6,63	0,5101
	1	5	0,50	0,68	0,00	1,25	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Romadur	0	5	7,03	6,85	0,00	15,48	
	1	5	5,02	4,92	0,00	11,12	
	2	5	6,77	7,25	0,00	17,08	
	4	4	4,78	6,00	0,00	13,31	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Olomoucké tvarůžky	0	4	3,93	7,85	0,00	15,70	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Stříbrňák Camembert	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	3	0,00	0,00	0,00	0,00	

Pozn.: období 0 – DMT, **období 1** – týden po uplynutí DMT, **období 2** – dva týdny po uplynutí DMT, **období 4** - čtyři týdny po uplynutí DMT;

Obsah PUT (tabulka č. 19) byl naměřen u všech zkoumaných sýrů. Nejvyšší průměrné hodnoty byly zjištěny u Romaduru a Olomouckých tvarůžků. U Romaduru není příliš velký rozdíl mezi hodnotami jednotlivých období oproti Olomouckým tvarůžkům, kde je vidět zvyšující se obsah v průběhu skladování po uplynutí DMT.

V porovnání s těmito dvěma sýry, dosáhly ostatní sýry (Jarošovský pivní sýr, Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert) velmi nízkých hodnot ve všech sledovaných týdnech.

Tab. 19: Obsah putrescinu (PUT) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	7,34	8,34	0,00	18,05	0,6792
	1	5	7,93	5,13	2,79	14,06	
	2	3	7,63	6,61	0,00	11,59	
	4	2	3,07	4,35	0,00	6,15	
Romadur	0	5	169,87	98,84	60,82	296,21	
	1	5	153,23	98,67	48,32	290,04	
	2	5	181,64	101,14	75,65	313,09	
	4	4	174,01	90,06	53,40	246,87	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	1,05	0,00	1,05	1,05	
	1	3	1,49	0,76	1,05	2,37	
	2	3	0,70	0,61	0,00	1,05	
	4	2	1,05	0,00	1,05	1,05	
Olomoucké tvarůžky	0	4	93,33	80,88	20,40	185,48	
	1	3	136,86	117,53	28,44	261,76	
	2	3	150,70	131,89	24,97	288,00	
	4	2	242,11	173,90	119,14	365,07	
Stříbrňák Camembert	0	4	0,79	0,53	0,00	1,05	
	1	3	1,09	1,11	0,00	2,23	
	2	3	2,74	1,58	1,05	4,17	
	4	3	2,54	3,53	0,00	6,58	

Pozn.: období 0 – DMT, **období 1** – týden po uplynutí DMT, **období 2** – dva týdny po uplynutí DMT, **období 4** - čtyři týdny po uplynutí DMT;

CAD (tabulka č. 20) bylo nejvíce naměřeno v Romaduru. Od období 0 do období 2 měl vzrůstající tendenci (245,6; 296,44; 338,69 mg/kg) a čtyři týdny po uplynutí DMT (období 4) se jeho obsah snížil (238,8 mg/kg). Další vyšší hodnoty CAD byly zjištěny u Jarošovského pivního sýra, kde až do druhého týdne jeho obsah rostl a v čtvrtém týdnu klesl. Dále u Olomouckých tvarůžků, kde měl obsah CAD vzrůstající trend.

Naopak nízký průměrný obsah byl naměřen v Sedlčanském Romadůžku, kde s delší dobou skladování, rostl i obsah CAD. Jediným sýrem, u kterého nebyl detekován obsah CAD, byl Stříbrňák Camembert.

Tab. 20: Obsah kadaverinu (CAD) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	95,22	97,89	12,15	231,50	0,9386
	1	5	102,35	89,84	22,17	217,67	
	2	3	136,08	103,55	18,71	214,54	
	4	2	89,14	75,23	35,95	142,34	
Romadur	0	5	245,60	298,36	0,00	730,91	
	1	5	296,44	319,30	0,00	761,51	
	2	5	338,69	394,61	0,00	967,46	
	4	4	238,80	272,87	0,00	517,50	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	1,29	0,68	0,95	2,32	
	1	3	1,33	0,65	0,95	2,08	
	2	3	1,46	0,88	0,95	2,47	
	4	2	2,47	0,40	2,19	2,75	
Olomoucké tvarůžky	0	4	113,16	94,96	41,15	246,98	
	1	3	165,53	172,93	34,53	361,55	
	2	3	167,53	178,55	19,33	365,76	
	4	2	282,01	286,38	79,51	484,52	
Stříbrňák Camembert	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	3	0,00	0,00	0,00	0,00	

Pozn.: období 0 – DMT, **období 1** – týden po uplynutí DMT, **období 2** – dva týdny po uplynutí DMT, **období 4** - čtyři týdny po uplynutí DMT;

Z tabulky č. 21 vyplývá, že nejvyšší hodnota HIM byla zjištěna u Olomouckých tvarůžků, kde v období 0 byl obsah 82,85 mg/kg a v období 4 bylo zjištěno 98,67 mg/kg. Obsah HIM byl naměřen ve všech obdobích i u Jarošovského pivního sýra a Romaduru, u kterého stojí za povšimnutí snížení obsahu HIM v období 4 (7,61 mg/kg) oproti období 2 (40,19 mg/kg).

HIM nebyl zjištěn v žádném z období jak u Sedlčanského Romadůžku, tak ani u Stříbrňáku Camembertu.

Tab. 21: Obsah histaminu (HIM) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	35,36	11,38	24,06	48,36	0,9787
	1	5	30,28	10,99	17,00	42,49	
	2	3	26,64	9,23	16,07	33,09	
	4	2	36,90	11,60	28,70	45,11	
Romadur	0	5	37,17	38,21	0,00	88,60	
	1	5	31,04	31,31	0,00	82,80	
	2	5	40,19	44,45	0,00	106,69	
	4	4	7,61	8,79	0,00	15,61	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	2	0,00	0,00	0,00	0,00	
Olomoucké tvarůžky	0	4	82,85	4,92	75,53	85,89	
	1	3	81,76	13,94	66,59	94,01	
	2	3	83,16	19,27	61,26	97,48	
	4	2	98,67	11,52	90,52	106,82	
Stříbrňák Camembert	0	4	0,00	0,00	0,00	0,00	
	1	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	2	3	0,00	0,00	0,00	0,00	
	4	3	0,00	0,00	0,00	0,00	

Pozn.: období 0 – DMT, **období 1** – týden po uplynutí DMT, **období 2** – dva týdny po uplynutí DMT, **období 4** - čtyři týdny po uplynutí DMT;

TYM (tabulka č. 22) byl zjištěn ve všech zkoumaných sýrech po celou dobu jejich skladování. Nejvyšších průměrných hodnot dosáhl Romadur a Olomoucké tvarůžky, jejichž hodnoty si byly podobné. Nižší obsah byl naměřen u Jarošovského pivního sýra.

Stříbrňák Camembert a Sedlčanský Romadůžek měly nejnižší obsah HIM. Zajímavé je, že u Stříbrňáka Camemberta se průměrná hodnota HIM v jednotlivých obdobích nezměnila.

Tab. 22: Obsah tyraminu (TYM) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	59,76	52,13	12,23	128,59	0,6758
	1	5	37,03	15,52	19,33	56,74	
	2	3	28,63	15,48	17,46	46,30	
	4	2	42,52	35,07	17,72	67,32	
Romadur	0	5	184,52	159,21	25,04	404,65	
	1	5	180,72	166,74	20,96	398,08	
	2	5	223,96	177,51	25,30	469,14	
	4	4	284,44	235,85	18,74	579,27	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	1,24	0,83	0,00	1,65	
	1	3	1,10	0,95	0,00	1,65	
	2	3	1,10	0,95	0,00	1,65	
	4	2	0,83	1,17	0,00	1,65	
Olomoucké tvarůžky	0	4	162,26	77,24	86,62	239,50	
	1	3	194,47	88,15	93,58	256,57	
	2	3	225,42	134,00	80,60	345,02	
	4	2	301,19	47,50	267,60	334,77	
Stříbrňák Camembert	0	4	1,65	0,00	1,65	1,65	
	1	3	1,65	0,00	1,65	1,65	
	2	3	1,65	0,00	1,65	1,65	
	4	3	1,65	0,00	1,65	1,65	

Pozn.: období 0 – DMT, období 1 – týden po uplynutí DMT, období 2 – dva týdny po uplynutí DMT, období 4 - čtyři týdny po uplynutí DMT;

Stejně jako u TYM, i SPD (tabulka č. 23) je obsažen ve všech zkoumaných sýrech po celou dobu skladování.

V Romaduru obsah SPD klesal až do druhého týdne po uplynutí DMT, ale ve čtvrtém týdnu po uplynutí DMT narostl. V Olomouckých tvarůžcích a v Jarošovském pivním sýru se obsah CAD zvyšoval v důsledku rostoucí doby skladování. V menším množství je SPD obsažen v Sedlčanském Romadůžku a v Stříbrňáku Camembertu.

Tab. 23: Obsah spermidinu (SPD) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	8,14	13,13	0,00	31,23	0,8629
	1	5	7,66	11,90	0,00	28,50	
	2	3	10,26	10,23	3,38	22,02	
	4	2	13,38	12,71	4,40	22,36	
Romadur	0	5	12,40	11,30	3,16	30,34	
	1	5	10,94	8,79	3,30	20,64	
	2	5	9,98	7,67	3,37	19,70	
	4	4	14,81	8,58	3,15	22,91	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	2,69	1,65	0,60	4,02	
	1	3	3,06	1,46	1,42	4,21	
	2	3	5,12	1,26	3,71	6,13	
	4	2	3,96	0,92	3,31	4,61	
Olomoucké tvarůžky	0	4	11,84	1,86	9,32	13,34	
	1	3	16,14	9,49	7,97	26,55	
	2	3	16,42	10,07	10,45	28,04	
	4	2	19,21	7,21	14,12	24,31	
Stříbrňák Camembert	0	4	6,51	1,40	5,37	8,37	
	1	3	7,83	3,83	5,16	12,22	
	2	3	5,43	2,08	3,30	7,45	
	4	3	2,77	1,62	1,46	4,59	

Pozn.: období 0 – DMT, **období 1** – týden po uplynutí DMT, **období 2** – dva týdny po uplynutí DMT, **období 4** - čtyři týdny po uplynutí DMT;

Podobné výsledky jako u SPD jsou vidět i na průměrných hodnotách SPM v tabulce č. 24. Nejvyšší obsahy SPM jsou u Jarošovského pivního sýra, u Olomouckých tvarůžků a u Romaduru. Obsah SPM se u těchto sýru postupně zvyšuje v závislosti na obdobích.

Nízký obsah byl zjištěn u Stříbrňáku Camembertu a také v Sedlčanském Romadůžku, kde z hodnoty 1,23 mg/kg v období 2 vzrostl obsah SPM na 5,38 mg/kg v období 4.

Tab. 24: Obsah sperminu (SPM) v sýrech v závislosti na délce uplynutí lhůty po DMT (mg/kg)

Sýr	Období	n	\bar{x}	s_x	x_{\min}	x_{\max}	P
Jarošovský pivní sýr	0	5	30,56	26,30	0,00	54,46	0,2629
	1	5	41,09	41,59	1,85	101,40	
	2	3	59,75	25,52	38,73	88,15	
	4	2	60,98	31,73	38,54	83,41	
Romadur	0	5	19,04	21,36	0,00	55,35	
	1	5	21,62	19,20	1,85	51,52	
	2	5	20,65	18,85	0,00	49,21	
	4	4	33,45	14,83	16,15	52,17	
Sedlčanský Romadůžek	0	4	2,69	2,27	0,00	5,26	
	1	3	1,23	1,07	0,00	1,85	
	2	3	1,23	1,07	0,00	1,85	
	4	2	5,38	4,99	1,85	8,90	
Olomoucké tvarůžky	0	4	19,15	8,16	8,05	27,30	
	1	3	25,21	8,91	14,94	30,85	
	2	3	27,82	12,59	15,48	40,64	
	4	2	33,68	5,50	29,79	37,57	
Stříbrňák Camembert	0	4	2,98	2,25	1,85	6,35	
	1	3	7,26	4,82	1,85	11,11	
	2	3	6,34	3,96	1,85	9,31	
	4	3	5,64	3,32	1,85	8,06	

Pozn.: období 0 – DMT, období 1 – týden po uplynutí DMT, období 2 – dva týdny po uplynutí DMT, období 4 - čtyři týdny po uplynutí DMT;

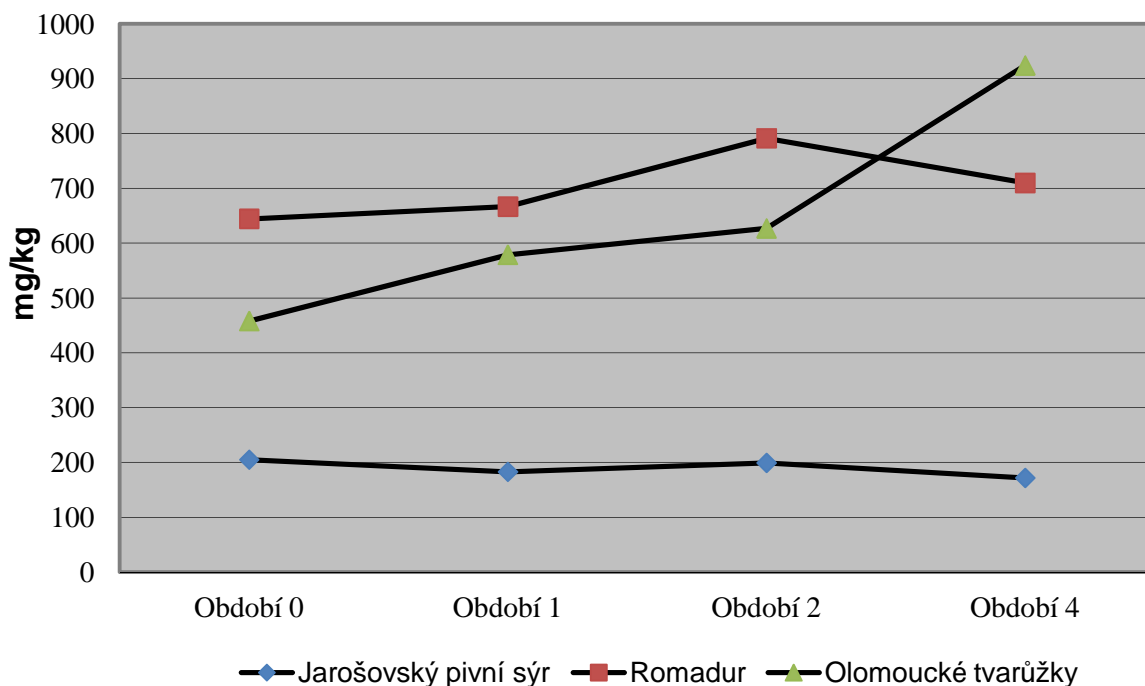
Na základě zjištěných výsledků se nepodařilo prokázat statisticky významný vliv doby skladování sýrů na nárůst obsahů jednotlivých BA a PA ($p < 0,05$).

Přehledné srovnání vybraných skupin BA a PA podle vlivu skladování je uvedeno v grafech č. 7 – 10.

V grafu č. 7 jsou znázorněny obsahy BA (skupina BA 6) v Jarošovském pivním sýru, v Romaduru a v Olomouckých tvarůžkách podle vlivu doby skladování.

Nejvyšší obsah biogenních aminů (BA 6) byl naměřen u Olomouckých tvarůžků čtyři týdny po uplynutí DMT (923,98 mg/kg). U Romaduru bylo nejvyšší množství BA naměřeno dva týdny po datu spotřeby (791,25 mg/kg). Jarošovský pivní sýr měl vyrovnané obsahy po celé sledované období čtyř týdnů po uplynutí data spotřeby a nejvyšší obsah BA měl v období 0 (204,85 mg/kg).

Graf 7: Vliv doby skladování na obsah biogenních aminů (BA 6) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)

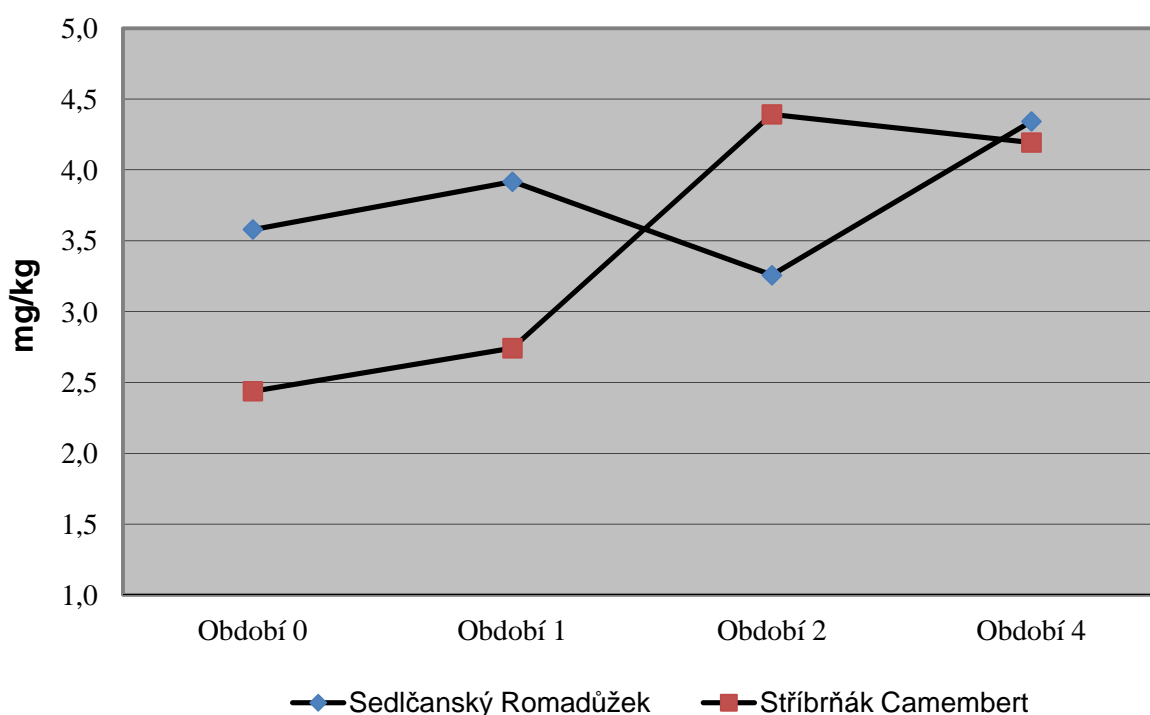


Pozn.: BA 6 - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM;

Graf č. 8 zobrazuje obsahy BA (skupina BA 6), které se v sýrech (Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert) vyskytují v menších množstvích.

Z grafu je zřejmé, že tyto sýry mezi sebou mají minimální rozdíly v množství BA. Zajímavé je, že zatímco obsah BA u Sedlčanského Romadůžku v období 4 oproti období 2 roste, tak u Stříbrňáku Camembertu je tomu naopak.

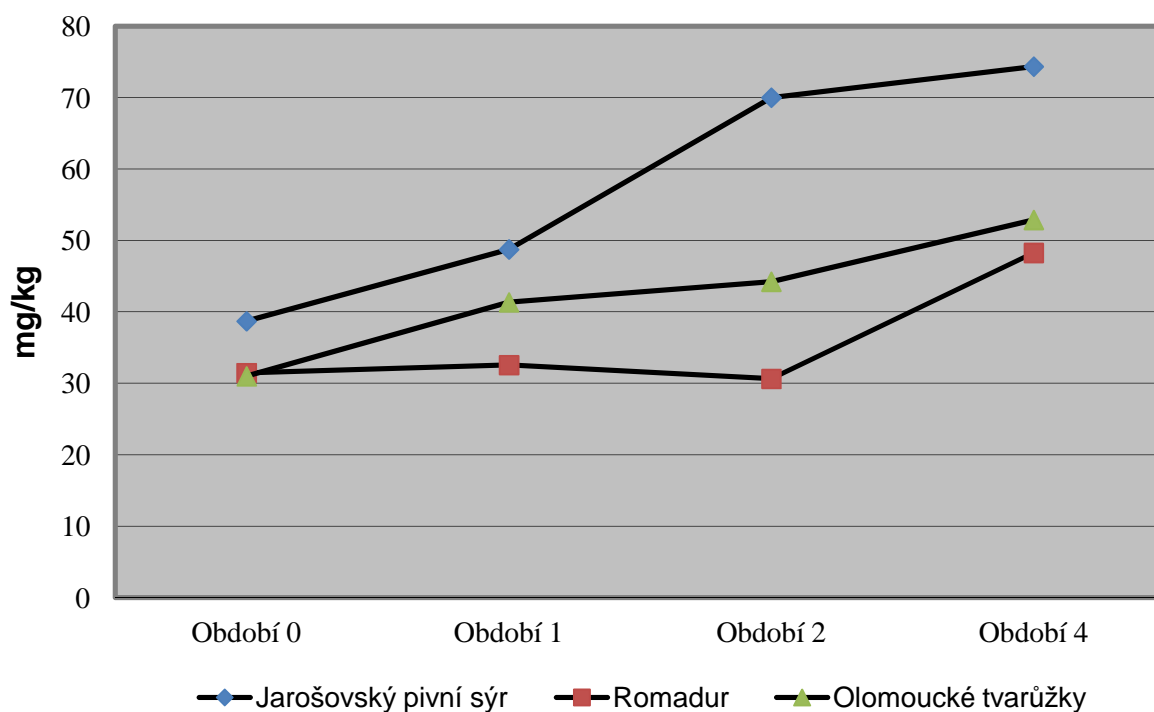
Graf 8: Vliv doby skladování na obsah biogenních aminů (BA 6) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)



Pozn.: BA 6 - Σ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM;

Nejvyšší obsah polyaminů (skupina PA 2) byl naměřen v Jarošovském pivním sýru. Množství PA postupně rostlo a po čtyřech týdnech po uplynutí doby spotřeby měl Jarošovský pivní sýr 74,36 mg/kg (graf č. 9). Stejně tak postupně rostl obsah PA u Olomouckých tvarůžků, kde v období 4 byl obsah PA 52,89 mg/kg. Romadur měl vyrovnané hodnoty, pouze v období 4 oproti období 2 rychle vzrostl obsah PA na 48,26 mg/kg.

Graf 9: Vliv doby skladování na obsah polyaminů (PA 2) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)

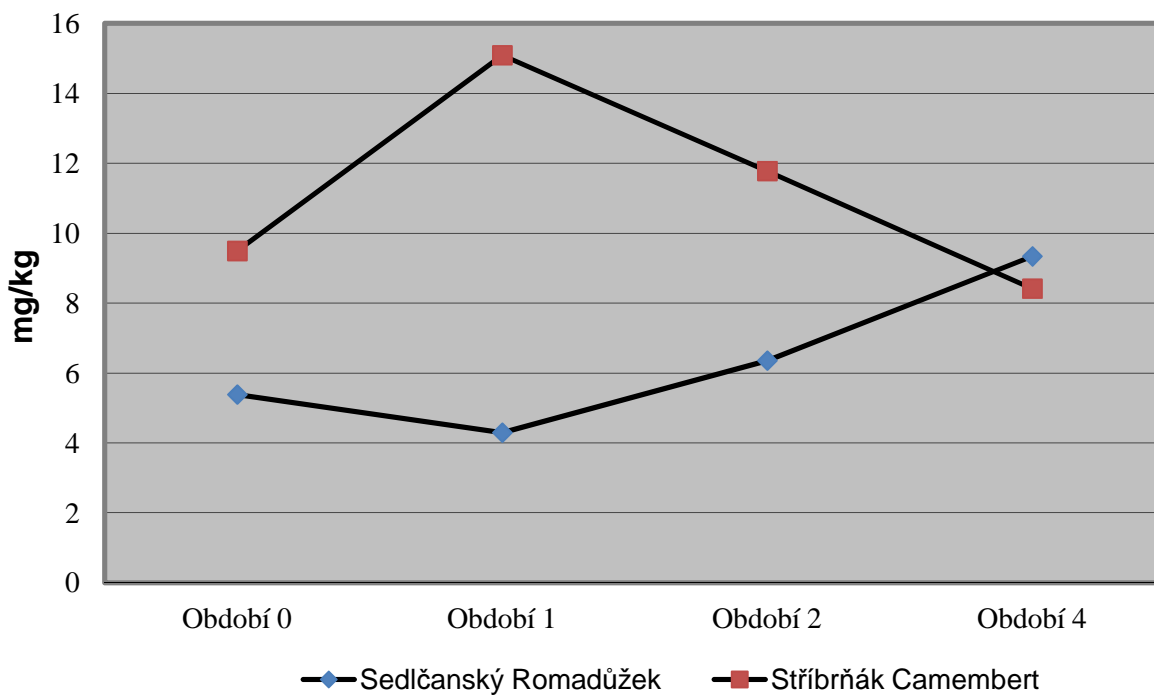


Pozn.: PA 2 - Σ SPD a SPM;

Graf č. 10 znázorňuje obsahy PA (skupina PA 2), které se v sýrech (Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert) vyskytují v menších množstvích než výše uvedené sýry.

Z grafu je vidět, že v těchto sýrech má obsah BA a PA opačný průběh v obdobích po uplynutí DMT. Zatímco ve Stříbrňáku Camembertu po týdnu ukončení DMT obsah PA roste a následně po dvou a čtyřech týdnech po skončení DMT klesá, tak obsah PA u Sedlčanského Romadůžku v období 1 klesá a v období 2 a 4 roste.

Graf 10: Vliv doby skladování na obsah polyaminů (PA 2) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)



Pozn.: PA 2 - Σ SPD a SPM;

I když z literatury je známo, že při zrání (FERNANDEZ et al., 2007) a skladování (SHALABY, 1996) se obsah BA a PA zvyšuje, z výše uvedených výsledků je patrné, že od ukončení doby spotřeby se obsahy BA a PA u sledovaných druhů sýra dramaticky nezvyšovaly.

5 Závěr

Cílem diplomové práce bylo stanovení biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) ve vybraných druzích zrajících sýrů a posouzení jejich obsahů od ukončení doby spotřeby.

Nejvyšší obsah BA a PA ve sledovaných sýrech byl zjištěn v Romaduru (737,59 mg/kg). Tato hodnota je tvořena: PEA (5,96 mg/kg), PUT (169,46 mg/kg), CAD (282,04 mg/kg), HIM (30,13 mg/kg), TYM (214,94 mg/kg), SPD (11,89 mg/kg) a SPM (23,18 mg/kg). TRM nebyl v Romaduru detekován.

Vysoký obsah byl dále zjištěn v Olomouckých tvarůzcích věnečkového tvaru (648,46 mg/kg), v kterém byly naměřeny všechny sledované BA a PA. Nejvíce byl zastoupen TYM (209,26 mg/kg), CAD (167,99 mg/kg) a PUT (143,35 mg/kg).

V Jarošovském pivním sýru (244,91 mg/kg) byly naměřeny všechny sledované BA a PA, stejně jako v Olomouckých tvarůzcích. Nejvyšší obsah byl zjištěn u CAD (104,96 mg/kg), SPM (43,96 mg/kg) a TYM (43,66 mg/kg).

Nízký obsah (14,42 mg/kg) BA a PA byl zjištěn v Stříbrňáku Camembertu. PA, tj. SPD (5,70 mg/kg) a SPM (5,36 mg/kg) tvořily většinu celkového obsahu BA a PA v sýru. TRM, PEA, CAD a HIM nebyly zjištěny vůbec.

Sedlčanský Romadůžek měl ze všech sledovaných sýrů nejnižší obsah BA a PA, tj. 9,72 mg/kg. TRM a PEA nebyly detekovány. Ostatní BA a PA byly zjištěny pouze ve stopových množstvích.

Na základě statistické analýzy byl prokázán vliv druhu sýra na obsah BA a PA. S výjimkou TRM ($p < 0,05$) a SPD ($p < 0,01$) byl vliv druhu sýra statisticky velmi významný ($p < 0,001$).

Vliv doby skladování sýrů na nárůst obsahů jednotlivých BA a PA se na základě zjištěných výsledků nepodařilo statisticky prokázat. Každý sýr reaguje v důsledku rostoucí doby skladování odlišně. Konzumace sýrů s uplynulým DMT neohrozí konzumenta, protože obsah BA a PA není příliš vysoký.

Závěrem lze říci, že pro zdravé konzumenty by zvýšené obsahy, ani překročené limity BA a PA u sledovaných druhů sýrů neměly znamenat zdravotní problémy. Ovšem konzumenti, kteří jsou citliví na některé BA a PA, osoby užívající psychofarmaka nebo osoby s oslabenou funkcí jater by neměli tyto sýry (zejména Romadur a Olomoucké tvarůžky) konzumovat. Jejich konzumace by mohla způsobit vážnější zdravotní problémy, spojené s příjmem vyššího množství BA a PA a omezenou možností jejich metabolismu.

6 Summary

The aim of this thesis was to observe the occurrence of biogenic amines and polyamines in selected types of ripening cheeses and to assess the content of the materials since the expiration date. Content of biogenic amines and polyamines in chosen samples was monitored last day of the expiration date, a week after the expiration date, two weeks after the expiration date, and after four weeks from the end of the expiration date.

Method of high-performance liquid chromatography was used to determine the content of biogenic amines and polyamines.

Cheeses studied were: Jarošovský pivní, Romadur, Sedlčanský Romadůžek, Olomouc curd cheese and Stříbrňák Camembert.

The selected biogenic amines and polyamines, which were observed in cheeses were following: tryptamine, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermine and spermidine.

According to the results we can say that the highest content of all biogenic amines was measured in Romadur (702.53 mg/kg), while the lowest in Stříbrňák Camembert (3.36 mg/kg).

The highest content of polyamines was found out in Jarošov beer cheese (53.07 mg/kg), the lowest content was in Sedlčanský Romadůžek (3.71 mg/kg).

Influence of the type of cheese on the content of BA and PA and their groups was statistically significant but influence of the storage time was not statistically proved in my thesis.

Keywords: cheese, biogenic amines, polyamines, ripening, storage, expiration date, HPCL

7 Seznam literatury

1. BARDÓCZ, S. The role of dietary polyamines. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1993, 47, s. 683-690.
2. BODMER, S.; IMARK, C.; KNEUBÜHL, M. Biogenic amines in foods: histamine and food processing. *Inflammation Research*. 1999, 48 (6), s. 296-300.
3. TEN BRINK, B.; DAMINK, C.; JOOSTEN, H.M.; HUIS IN'T VELD, J.H. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1990, 11 (1), s. 73-84.
4. ČEPIČKA, J. *Obecná potravinářská technologie*. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. 246 s. ISBN 80-708-0239-1.
5. DADÁKOVÁ, E.; KŘÍŽEK, M.; PELIKÁNOVÁ, T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 2009, 116, s. 365-370.
6. DANDRIFOSSE, G.; PEULEN, O.; EL KHEFIF, N.; DELOYER, P.; DANDRIFOSSE, A.C.; GRANDFILS, CH. Are milk polyamines preventive agents against food allergy? *Proceedings of the Nutrition Society*. 2000, 59, s. 81-86.
7. DIČÁKOVÁ, Z.; DUDRÍKOVÁ, E.; CABADAJ, R. Biogenic amines in ewe's milk lump cheese and brynza. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2004, 1, s. 53-57.
8. FERNANDEZ, M.; LINARES, D.M.; DEL RIO, B; LADERO, V.; ALVAREZ, M.A. HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms. *Journal of Dairy Research*. 2007, 3, s. 276-282.

9. GALGANO, F.; SUZZI, G.; FAVATI, F.; CARUSO, M.; MARTUSCELLI, M.; GARDINI, F.; SALZANO, G. Biogenic amines during ripening in "Semicotto Caprino" cheese: role of enterococci. *International Journal of Food Science & Technology*. 2001, 2, s. 153-160.
10. HALÁSZ, A.; BARÁTH, A.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms. *Trends in Food Science Technology*. 1994, 5, s. 42-49.
11. JANOUŠKOVÁ, M. *Biogenní aminy*. Brno, 2010. 72 s. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta.
12. KADLEC, P., MELZUCH, K.; VOLDŘICH, M. *Technologie potravin : Co byste měli vědět o výrobě potravin?*. Ostrava : KEY Publishing s.r.o., 2009. 534 s. ISBN 978-80-7418-060-6.
13. KALAČ, P., GLÓRIA M.B.A. Biogenic amines in cheeses, wines, beers and sauerkraut. In DANDRIFOSSE, G. (ed.): *Biological Aspects of Biogenic Amines, Polyamines and Conjugates*. Trivandrum, India: *Transworld Research Network*. 2009, s. 267-309.
14. KALAČ, P.; KRAUSOVÁ, P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*. 2005, 90, s. 219-230.
15. KAROVIČOVÁ, J.; KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic amines in food. *Chemical Papers*. 2003, 1 (59), s. 70-79.
16. KOHAJDOVÁ, Z.; KAROVIČOVÁ, J.; GREIF, G. Biogénne amíny v potravinách. *Potravinářstvo*. 2008, 2, s. 30-49.
17. KOMPRDA, T.; NOVICKÁ, K.; KALHOTKA, L.; SMĚLÁ, D. Biogenic amine content in sterilised and pasteurised long-term stored processed cheese. *Czech Journal of Food Sciences*. 2005, 5, s. 209-216.

18. KOMPRDA, T. *Obecná hygiena potravin*. Brno : MZLU, 2004. 145 s. ISBN 80-7157-757-X.
19. KŘÍŽEK, M. *Sborník XXXVI. semináře o jakosti potravin a potravinových surovin - "Ingrový dny" : Biogenní aminy v potravinách*. Vyd. 1. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2010. 36 s.
20. KŘÍŽEK, M.; KALACĚ, P. Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. *Czech Journal of Food Sciences*. 1998, 4, s. 151-159.
21. MAREČEK, A.; HONZA, J. *Chemie pro čtyřletá gymnázia 3. díl*. Vyd. 1. Olomouc : Olomouc, 2000. 250 s. ISBN 80-7182-057-1.
22. MITCHELL, J.L.A. Regulation of polyamine metabolism. In H. M. Wallace & A. Hughes (Eds.). *Health Implications of Dietary Amines*. 2003, Vol. 1, s. 89-100.
23. NOVELLA-RODRIGUEZ, S.; VECIANA-NOGUES M.T.; ROIG-SAGUES A.X.; TRUJILLO-MESA A.J.; VIDAL-CAROU M.C. Comparison of biogenic amine profile in cheeses manufactured from fresh and stored (4 degrees C, 48 hours) raw goat's milk. *Journal of Food Protection*. 2004, 1, s. 110-116.
24. NOVELLA-RODRIGUEZ, S.; VECIANA-NOGUES, M.T.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VIDAL-CAROU, M.C. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *Journal of Food Science*. 2003, 3, s. 750-755.
25. ORDONEZ, A.L.; IBANEZ, F.C.; TORRE, P.; BARCINA, Y. Formation of biogenic amines in Idiazabal ewe's-milk cheese: Effect of ripening, pasteurization, and starter. *Journal of Food Protection*. 1997, 11, s. 1371-1375.
26. PAVELKA, A. *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Vyd. 1. Brno : Littera, 1996. 105 s. ISBN 80-85763-09-5.
27. ROIG-SAGUÉS, A.X.; MOLINA, A.P.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. Histamine and tyramine forming microorganisms in Spanish traditional cheese. *European Food Research and Technology*. 2002, 25, s. 95-100.

28. SANDLER, M.; YAUDIN, M.B.H.; HANINGTON, E. A phenylethylamine oxidizing defect in migraine. *Nature*. 1974, 250, s. 335-336.
29. SHALABY, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*. 1996, 29, s. 675-690.
30. SILLA SANTOS, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1996, 29, s. 213-231.
31. SILVA, C. M. G.; GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines in chicken breast and thigh after slaughter and during storage at $4\pm 1^\circ\text{C}$ and in chicken-based meat products. *Food Chemistry*. 2002, 78, s. 241-248.
32. SPANJER, M. C.; VAN ROODE, B. A. S. W. Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese and sauerkraut. *De Ware(n)-Chemicus*. 1991, 21, s. 139-167.
33. STANDAROVÁ, E.; BORKOVCOVÁ, I.; VORLOVÁ, L. Obsah biogenních aminů v sýrech z české obchodní sítě. *Veterinářství*. 2008, 58, s. 735-739.
34. STANDAROVÁ, E.; PŘIDALOVÁ, H.; BORKOVCOVÁ, I.; DRAČKOVÁ, M.; JANŠTOVÁ, B.; VORLOVÁ, L. XXXV. *Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin - "Ingrový dny"* : Vliv vybraných faktorů na obsah biogenních aminů a polyaminů v čerstvých kozích sýrech. Vyd. 1. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2009. 53 s.
35. STANDAROVÁ, E.; VORLOVÁ, L.; KORDIOVSKÁ, P., JANŠTOVÁ, B.; DRAČKOVÁ, M.; BORKOVCOVÁ, I. Biogenic Amine Production in Olomouc Curd Cheese (Olomoucké tvarůžky) at Various Storage Conditions. *Acta Veterinaria Brno*. 2010, 79, s. 147-156.
36. SVOBODA, J. *Organická chemie I*. Vyd. 1. Praha : VŠCHT, 2005. 291 s. ISBN 80-708-0561-7.

37. ŠUSTOVÁ, K. Sýry ve výživě člověka. In *Výrobní zemědělská praxe a potravinářské biotechnologické úpravy pro zvýraznění pozitivních zdravotních vlivů mléka a mléčných výrobků*. Vyd. 1. Rapotín : Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., 2008. s. 23-25.
38. TAYLOR, S. L. Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. *World Health Organization*. 1985, 85, s. 1-47.
39. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3. díl*. Vyd. 1. Tábor : OSSIS, 1999. 331 s. ISBN 80-902391-5-3.
40. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3. díl*. Vyd. 2. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-02-X.
41. VYLETĚLOVÁ, M. Bakterie v mléce a biogenní aminy : Biogenní aminy a jejich vznik. In *Výrobní zemědělská praxe a potravinářské biotechnologické úpravy pro zvýraznění pozitivních zdravotních vlivů mléka a mléčných výrobků*. Vyd. 1. Rapotín : Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., 2008. s. 91.
42. VYLETĚLOVÁ, M. Bakterie v mléce a biogenní aminy : Výskyt biogenních aminů v mléčných výrobcích. In *Výrobní zemědělská praxe a potravinářské biotechnologické úpravy pro zvýraznění pozitivních zdravotních vlivů mléka a mléčných výrobků*. Vyd. 1. Rapotín : Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., 2008. s. 91.

8 Přílohy



Příloha 1: Jarosovský pivní sýr s obalem



Příloha 2: Jarosovský pivní sýr bez obalu



Příloha 3: Romadur s obalem



Příloha 4: Romadur bez obalu



Příloha 5: Sedlčanský Romadůžek s obalem



Příloha 6: Sedlčanský Romadůžek bez obalu



Příloha 7: Olomoucké tvarůžky – věnečky s obalem



Příloha 8: Olomoucké tvarůžky – věnečky bez obalu



Příloha 9: Stříbrňák Camembert s obalem



Příloha 10: Stříbrňák Camembert bez obalu