

Prohlášení

Diplomová práce s názvem „**Výskyt biogenních aminů a polyaminů ve zrajících sýrech po ukončení doby spotřeby**“ (Content of biogenic amines and polyamines in expired ripening cheeses) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2012 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.

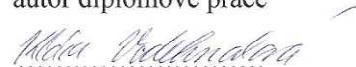
Ing. Eva Samková, Ph.D.

vedoucí diplomové práce



Klára Vodehnalová

autor diplomové práce



V Českých Budějovicích

27. dubna 2012

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.
- ŠILHÁNKOVÁ, 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 disciplin a kvality produktů

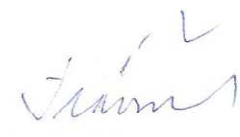
Konzultant diplomové práce: Ing. Eva Dadáková, Ph.D.
Katedra aplikované chemie

Datum zadání diplomové práce: 23. května 2010

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2012


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDEJOVICÍCH
ZEMĚLSKÁ 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 Literární přehled	9
1.1 Aminy	9
1.2 Biogenní aminy	9
1.2.1 Dělení BA	10
1.2.2 Vznik BA	11
1.2.3 Výskyt BA	11
1.2.4 Biologické účinky BA	14
1.3 Polyaminy	15
1.4 Sýry	16
1.4.1 Charakteristika a dělení sýrů.....	16
1.4.2 Tvorba BA v sýrech.....	18
1.4.3 Zrání sýrů.....	19
1.4.4 BA a PA v různých druzích sýrů	20
1.4.5 Záruční doba u sýrů	23
Seznam literatury	28

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

Následující pasáž Úvod o rozsahu 1 stránky je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU a v Akademické knihovně JU.

1 Literární přehled

1.1 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).

1.2 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).

1.2.1 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).

1.2.2 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).

1.2.3 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). Tkáně ryb obsahují 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 diference buněk, rostlinný hormon
CAD	lysin		stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diference 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;

1.2.4 Biologické účinky BA

BA jsou pro organismus nezbytné, ale ve velkém množství se mohou projevovat 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).

1.3 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.

1.4 Sýry

1.4.1 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		
	sladké	měkké	čerstvé terminované
			zrající
		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		

1.4.2 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)

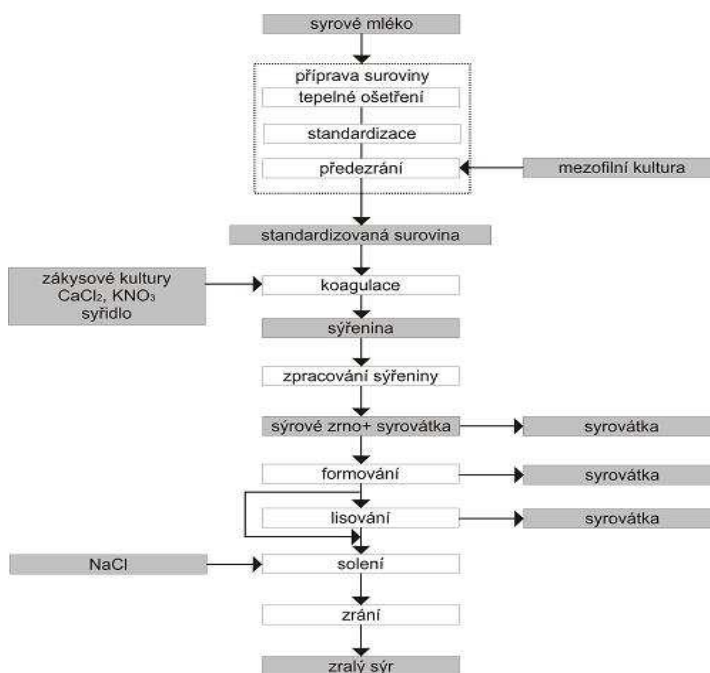
Sýr podle koncentrace BA	Typ sýrů	Příklad sýrů
Sýry s nízkou koncentrací BA	smetanové	
	čerstvé	Cottage, Ricotta
	termizované měkké	Lučina
Sýry se zvýšenou (střední) koncentrací BA	s nízkodohřívanou	Eidam
	sýřeninou	
	plísňové	Hermelín, Niva
	kozí	
Sýry s vysokou koncentrací BA	měkké zrající	Romadur,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

1.4.3 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).

KALACĚ 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)



1.4.4 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	Produkované 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 zaznamenaný 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).

1.4.5 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).

Následující pasáž Materiál a metody o rozsahu 7 stránek je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU a v Akademické knihovně JU.

Následující pasáž Výsledky a diskuze o rozsahu 22 stránek je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU a v Akademické knihovně JU.

Následující pasáž Závěr o rozsahu 2 stránek je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU a v Akademické knihovně JU.

Následující pasáž Summary o rozsahu 1 stránky je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU a v Akademické knihovně JU.

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. KRŽÍŽEK, M. *Sborník XXXVI. semináře o jakosti potravin a potravinových surovin - "Ingrový dny" : Biogenní aminy v potravinách*. Vyd. 1. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2010. 84 s.
20. KRŽÍŽEK, M.; KALÁČ, 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.; YODIN, 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.