

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

---

Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Provozně podnikatelský

Katedra: Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

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

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Výskyt biologicky účinných aminů a polyaminů ve  
vybraných druzích zrajících sýrů**

The occurrence of biologically active amines and polyamines in selected  
types of ripened cheese

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

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

Autor: Pavel Pojer

České Budějovice

2011

---





Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě, fakultou, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích, 30. 4. 2011

Podpis:

Chtěl bych touto cestou poděkovat vedoucí své práce Ing. Evě Samkové za cenné rady a trpělivost, kterou se mnou měla. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Evě Dadákové za korekci a rady.

# OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Literární přehled.....	9
2.1	Charakteristika biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA).....	9
2.1.1	Vybrané BA a PA a jejich charakteristika .....	10
2.2	Vznik BA .....	14
2.3	Biologické účinky BA a PA.....	14
2.3.1	Otrava HIM .....	16
2.3.2	Toxicita TYM.....	16
2.4	Prevence vzniku BA.....	18
2.5	Limity BA a PA v potravinách .....	19
2.6	Výskyt BA v sýrech .....	20
3	Materiál a metodika.....	22
3.1	Cíle práce .....	22
3.2	Odběr vzorků.....	22
3.3	Analýza vzorků .....	23
3.3.1	Použité chemikálie, přístroje a zařízení .....	23
3.3.2	Analytické postupy.....	24
3.4	Statistické vyhodnocení dat.....	27
4	Výsledky a diskuse.....	29
4.1	Obsah BA a PA ve sledovaných vzorcích sýra.....	29
4.2	Vliv druhu sýra na obsah BA a PA .....	36
4.3	Vliv doby skladování na obsah BA a PA.....	41
5	Závěr .....	54
6	Summary .....	56
7	Seznam literatury .....	57

## Seznam použitých zkratek

BA	Biogenní amin
PA	Polyamin
HIM	Histamin
TYR	Tyramin
TRM	Tryptamin
PUT	Putrescin
CAD	Kadaverin
SPD	Spermidin
SPM	Spermin
PEA	$\beta$ -fenylethylamin
AGM	Agmatin
DAO	Diaminooxidáza
MAO	Monoaminooxidáza
HPLC	Vysokoučinné kapalinová chromatografie

# 1 ÚVOD

Biogenní aminy patří do skupiny alifatických, aromatických nebo heterocyklických bází odvozených od aminokyselin, vykazujících různé biologické účinky. Některé biogenní aminy mají samy významné biologické vlastnosti. Biogenní aminy se v živých buňkách vyskytují např. jako tkáňové hormony (histamin), protoalkaloidy (gramin) a stavební látky účastnící se biosyntézy dalších hormonů živočichů (fenylethylamin), fytohormonů neboli auxinů, alkaloidů a dalších sekundárních metabolitů rostlin.

Biogenní aminy jsou pro organismus důležité a jsou přítomny ve všech živých organismech. Ve vysokých koncentracích však mohou mít negativní vliv na organismus. V potravinách a krmivech představují biogenní aminy nežádoucí zplodiny konečné dekompozice bílkovin. Z hlediska potravin a výživy je nejdůležitější cestou vzniku biogenních aminů dekarboxylace přirozených aminokyselin působením enzymů některých bakterií. Touto schopností disponuje také mnoho rodů bakterií mléčného kvašení.

Biogenní aminy jsou obsaženy téměř ve všech potravinách jako běžné produkty metabolismu. Nacházejí se v různých potravinách ať už sýrech, alkoholu (víno či pivo), kyselém zelí, kde vznikají činností mikroorganismů či v masných výrobcích a rybách.

Cílem práce bylo proto zhodnotit obsah biogenních aminů a polyaminů ve vybraných druzích zrajících sýrů, posouzení vybraných vlivů působících na jejich zastoupení a obsah včetně vysvětlení příčin rozdílů a porovnání získaných hodnot s hygienickými limity.



## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Charakteristika biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA)

**Biogenní aminy** (BA) jsou významné organické sloučeniny, které se vyskytují v živých organismech jako metabolické meziprodukty. Vytvářejí se při proteolýze, a tvoří se tak v látkách bohatých na proteiny, které jsou peptidázami rozštěpeny na aminokyseliny. Enzymy dekarboxylázy rozkládají aminokyseliny na amin a CO<sub>2</sub> (VYLETĚLOVÁ, 2008). BA jsou nízkomolekulární dusíkaté látky bazické povahy, které jsou přirozenou součástí mnoha druhů potravin. V řadě případů však jejich zvýšená tvorba signalizuje nástup rozkladných procesů. Důvody pro sledování těchto látek jsou v zásadě dva. 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).

Podle chemické struktury se uvedené BA člení na aromatické (tyramin – TYM a β-fenylethylamin – PEA), heterocyklické (histamin – HIM a tryptamin – TRM), alifatické diaminy (putrescin – PUT a kadaverin – CAD) a polyaminy (spermidin – SPD, spermin – SPM, případně agmatin – AGM).

Někdy se diaminy zjednodušeně řadí mezi polyaminy a heterocyklické aminy se řadí do skupiny aromatických aminů (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998).

**Polyaminy** jsou alifatické molekuly s aminovou skupinou v jejich struktuře. Nejznámější polyaminy jsou PUT, SPE a SPM a vyskytují se ve všech živých buňkách.

KALÁČ a KRAUSOVÁ (2005) dále uvádí, že PUT, SPD a SPM tvoří skupinu polykationických aminů. Tyto PA byly tradičně považovány za BA. Nicméně díky jejich zvláštní roli v eukaryotických buňkách se od skupiny BA oddělují jako zvláštní skupina. Mezi jejich biologické účinky patří hlavně účast na růstu buněk a jejich množení. PA ať už vzniklé přirozeně nebo přijaté z potravy, mohou být spojovány s rozvojem tumorů. I přesto, že jejich výzkum byl velmi dynamický, informace popisující obsah potravinových PA jsou v literatuře vzácné.

Pohled na BA prošel v závislosti na míře poznání značnými změnami. Původně se jim přisuzovala značná toxicita, PUT a CAD byly dokonce označovány jako ptomainy neboli mrtvolné jedy. Nyní se za toxické považují HIM a v menší míře

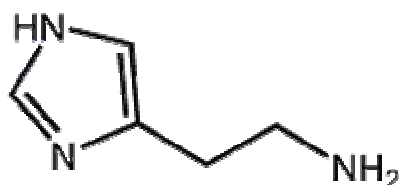
i TYM a PEA. U skupiny polyaminů (SPD, SPM, PUT, příp. CAD) přijímaných potravou byly dokonce za určitých podmínek prokázány příznivé účinky na organismy (BARDÓCZ, 1993).

### **2.1.1 Vybrané BA a PA a jejich charakteristika**

#### **Histamin (HIM)**

Vzniká dekarboxylací aminokyseliny histidinu. Je krystalický a rozpustný ve vodě. Jedná se o tkáňový hormon – mediátor zánětu, v centrálním nervovém systému působí jako neurotransmitter a vyvolává alergické projevy. Vyskytuje se zejména v některých bílých krvinkách, ale i v ostatních orgánech. Jeho nadměrné uvolnění při alergické reakci způsobuje zúžení průdušek (u astmatu). Potlačení jeho působení je součástí léčby alergických stavů (antihistaminika H1) (VYLETĚLOVÁ, 2008).

2-(4-imidazolyl)ethylamin

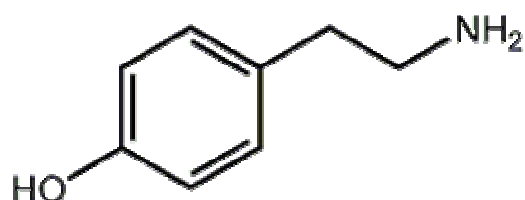


## Tyramin (TYR)

Tyramin je jeden z významných biologicky aktivních BA. Vzniká dekarboxylací aminokyseliny tyrosin. Tvoří se v potravě tyrosin-dekarboxylázou obsaženou v bakteriích přítomných v potravě (SILLA-SANTOS, 1996).

Nachází se v potravinách, jejichž výroba je spojena s fermentací nebo také v čokoládě a banánech. Jeho výskyt byl zjištěn v bobulích jmelí ve vysokých toxických koncentracích (VYLETĚLOVÁ, 2008).

4-(2-aminoethyl)fenol



## Putrescin (PUT)

Putrescin, systematicky 1,4-diaminobutan, je alifatický (acyklický) diamin. Vzniká dekarboxylací aminokyseliny ornithinu. Vyskytuje se v čerstvém masu a jeho množství závisí na délce skladování. Vzniká také při hnilobném rozkladu masa (VYLETĚLOVÁ, 2008).

1,4-diaminobutan



### **Kadaverin (CAD)**

Kadaverin označovaný také jako diaminopentan, je alifatickým diaminem. Vzniká podobně jako putrescin, dekarboxylací aminokyseliny lysinu (VYLETĚLOVÁ, 2008).

Pentan–1, 5-diamin



### **Spermin (SPM)**

Spermin je odvozený z methioninu (mezistupněm jeho vzniku je spermidin). Spermin je odpovědný za charakteristický zápach spermatu, kde se spolu se spermidinem nacházejí (VYLETĚLOVÁ, 2008).

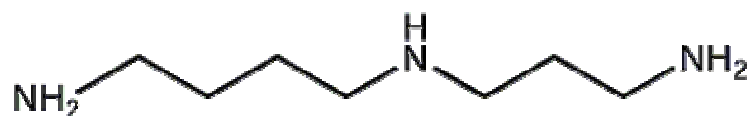
N,N'-bis-(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutan



## Spermidin (SPD)

Spermidin se nachází v celém těle a napomáhá rostoucím buňkám při tvorbě nukleových kyselin a bílkovin. Vzniká dekarboxylací aminokyseliny arginin. Jeho množství se zvyšuje při narůstání poruchy metabolismu a přirozeně stoupá při růstu, těhotenství, při obnově svalových buněk po namáhavých aktivitách, stejně jako při regeneraci červených krvinek po ztrátě krve nebo chudokrevnosti (VYLETĚLOVÁ, 2008).

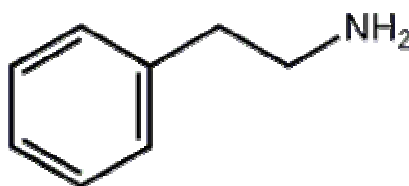
N-(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutan



## $\beta$ -fenylethylamin (PEA)

$\beta$ -fenylethylamin je stopový amin vyskytující se ve tkáních savců, který má účinky na zdraví a chování (WOLF a MOSNAIM, 1983).

2-fenylethylamin



## 2.2 Vznik BA

Jak již bylo zmíněno, naprostá většina BA v potravinách vzniká dekarboxylací volných aminokyselin působením bakteriálních dekarboxyláz, a proto jsou pro tvorbu významnějšího množství BA nutné tři podmínky (KŘÍŽEK a KALAČ, 1998):

- dostupnost volných aminokyselin
- výskyt bakterií vybavených dekarboxylázami
- podmínky umožňující růst bakterií, biosyntézu dekarboxyláz a jejich aktivitu

Decarboxylace je děj, při kterém se odbourává karboxylová skupina – COOH a vytváří se oxid uhličitý, účinný enzym se pak nazývá dekarboxyláza (KALAČ a KŘÍŽEK, 2002). EITENMILLER a DESOUZA (1984) identifikovali dva mechanismy dekarboxylace aminokyselin:

- reakce závislá na pyridoxal fosfátu
- reakce nezávislá na pyridoxal fosfátu

Významným předpokladem tvorby BA je proteolýza, ať již autolytická, či bakteriální. Dekarboxyláza aminokyselin není u bakterií zcela běžná. Vyskytuje se zejména u rodů *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* a *Shigella* a mléčných bakterií rodů *Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Streptococcus* (SHALABY, 1996; SILLASANTOS, 1996).

## 2.3 Biologické účinky BA a PA

Biogenní aminy, zejména HIM, TYR, PUT, SPD a SPM, jsou u živočichů potřebné pro řadu fyziologických funkcí. Při nadměrném příjmu v potravě však mohou vyvolávat projevy otravy. Ovlivňují krevní tlak (HIM snižuje, TYR zvyšuje), HIM má psychoaktivní účinky. Projevy intoxikace jsou nervové a kožní, zejména nucení na zvracení, dýchací potíže, bušení srdce, bolení hlavy, zvýšení i pokles

krevního tlaku, zrudnutí v obličeji, pálení v ústech, červená vyrážka na kůži (TEN BRINK et al., 1990). Otravy histaminem jsou nejproblémovější.

Ve střevním traktu savců působí značně účinný detoxikační systém, který dokáže metabolizovat normální příjem BA potravou. Hlavní roli hrají hojně zastoupené enzymy monoaminoxidáza (MAO) a diaminoxidáza (DAO). Ty však mají jen určitou kapacitu, která nezvládne nadměrný příjem BA. Ten se může projevit již u potravin, které dosud nejeví sensoricky postřehnutelné projevy kažení. Enzymy působí ve střevním epitelu, takže do krevního oběhu se dostávají již produkty oxidace BA. Aktivitu těchto enzymů snižuje alkohol, především však některé léky, tzv. inhibitory MAO. Nejvýraznější je to u některých psychofarmak. Nepříznivě působí zejména klasická antidepresiva a nežádoucí účinky byly zjištěny rovněž u izonaizidu používaného při léčbě tuberkulózy a u některých antimalarik. Velmi podstatné je, že detoxikační schopnost organismu je značně individuální a zhoršuje se např. při některých onemocněních (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998).

Proto je obtížné stanovit jednoznačné nejvyšší přijatelné koncentrace jednotlivých aminů. Škodlivé účinky dvou nejvýznamnějších – HIM a TYM – mohou být zesíleny jednak ostatními současně přijímanými BA, zejména PUT a CAD, které vyčerpávají část detoxikační kapacity aminoxidáz. A také dosud neidentifikovanými látkami, které se předpokládají v potravinách, u nichž došlo k bakteriální degradaci bílkovin. Tyto látky by zřejmě měly po vstřebání vyvolat uvolňování HIM vázaného v žírných buňkách a v dalších tělních rezervoárech, čímž by zesilovaly účinky HIM přijatého potravou (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998).

Některé BA jsou posuzovány jako potenciální karcinogeny. Zahříváním PUT může vznikat pyrrolidin, z CAD vzniká piperidin. Tyto produkty mohou být za určitých podmínek nitrovány obdobně jako sekundární aminoskupiny SPD a SPM (SHALABY, 1996).

Obsahy v pokusných krmných dávkách, které nevyvolaly u krys pozorovatelné nežádoucí účinky, byly 2000 mg/kg pro TYM, 1000 mg/kg pro SPD, ale jen 200 mg/kg pro SPM (KŘÍŽEK a KALÁČ, 1998).

Jako nejtoxičtější BA se obecně považují HIM, TRM, PEA a TYR. Tyto BA jsou biologicky aktivní, a mají fyziologické účinky na člověka (většinou psychoaktivní nebo vazoaktivní). Psychoaktivní aminy ovlivňují nervový systém

působením na neurotransmitery, zatímco vazoaktivní aminy působí na cévní systém (LOVENBERG, 1973). Příjem potravy obsahující vysoké množství BA vede k otravám z jídla, včetně otravy HIM (rybí otrava) a toxicity TYM (sýrová reakce). Škodlivé vlivy konzumace potravy bohaté na BA mohou být očekávány pouze pokud se aminy dostanou do krevního oběhu (JOOSTEN, 1988).

### **2.3.1 Otrava HIM**

HIM je velmi silná biologicky aktivní chemická látka, která vyvolává mnoho procesů v lidském těle. Tukové a krevní buňky obsahují velké množství HIM. Účinek HIM se nedostaví, pokud není zvláštní reakcí (např. alergická) uvolněn do krevního oběhu. HIM reaguje tak, že se spojí s receptory na celulární membráně, které jsou v cévním oběhu a v různých sekrečních žlázách (JOOSTEN, 1988). HIM může přímo stimulovat srdce, což je výsledek jeho snahy o uvolnění adrenalinu a noradrenalinu ze suprarenálních žláz, dráždí hladké svalstvo dělohy, dále také zažívací a dýchací systém, stimuluje senzorické a motorické neurony a v neposlední řadě kontroluje sekreci žaludečních kyselin (SOLL a WOLLIN, 1977; TAYLOR et al., 1984; JOOSTEN, 1988).

TAYLOR (1986) shrnuje toxikologické a klinické aspekty toxicity histaminu, který ve vyšší koncentraci významně působí na kardiovaskulární systém, rozšíření periferních krevních cév, kapilár a tepen s výsledným nízkým tlakem, bolestmi hlavy a zčervenáním pokožky, bolestmi břicha, zvracením a průjmem.

### **2.3.2 Toxicita TYM**

TYM patří do skupiny vazoaktivních aminů. Význam TYM v potravě je v jeho toxických důsledcích, protože kromě toho, že je sám o sobě lehce jedovatý, reaguje s MAO inhibitorem. (NOVELLA-RODRÍGUEZ et al., 2002)

Enzym MAO oxidativně deaminuje aminy přijaté v potravě a hraje hlavní roli v jejich degradaci v lidském těle než se dostanou do krevního oběhu. Užívání MAO léků v léčbě depresí tento detoxikační proces zastavuje. To způsobuje zvyšování



koncentrace aminů (např. TYM) v krevním oběhu, což vede k hypertenzní krizi pacienta (BLACKWELL, 1963).

TYM účinkuje hlavně nepřímo uvolňováním noradrenalinu ze sympatického nervového systému, což způsobuje zvýšení krevního tlaku zúžením periferních cév a vyšší výkon srdce. TYM také rozšiřuje zorničky, způsobuje slzení a slinění, zvyšuje frekvenci dýchání a krevní cukr (JOOSTEN, 1988).

Shrnutí účinků jednotlivých BA je uvedeno v tabulce č 1. Tato tabulka popisuje prekurzory BA a toxikologické účinky vybraných BA.

**Tabulka č. 1 Přehled účinků vybraných aminů na organismus (SHALABY, 1996)**

<b>Amin</b>	<b>Prekurzor</b>	<b>Účinek</b>
Histamin	Histidin	Uvolňování adrenalinu a noradrenalinu; Dráždění hladkých svalů dělohy, trávicího a dýchacího systému; Stimulace senzorických a motorických neuronů; Kontrola sekrece žaludečních kyselin
Tyramin	Tyrosin	Periferní vasokonstrikce; Zvyšování tepu a frekvence dechu; Způsobuje migrénu; Uvolňuje noradrenalin; Zvyšuje krevní cukr; Způsobuje slzení;
Putrescin a kadaverin	Ornithin a lysin	Hypotenze; Bradykardie; Křeče žvýkacího svalu; Paréza končetin; Zvyšuje toxicitu jiných aminů;
β-fenylethylamin	Phenylalanin	Uvolňuje noradrenalin; Zvyšuje krevní tlak; Způsobuje migrénu;
Tryptamin	Tryptofan	Zvyšuje krevní tlak;

## 2.4 Prevence vzniku BA

Podle SILLA-SANTOSE (1996) lze vznik a množství BA v potravinách nebo potravinářských surovinách ovlivnit omezením bakteriálního růstu nebo inhibicí aktivity příslušných enzymů působením řady faktorů. K nejvýznamnějším patří teplota, aktivita vody, hodnota pH, doba skladování, obsah solí, redox potenciál, apod. Teplota prostředí významně ovlivňuje enzymatickou aktivitu mikroorganismů, a tím samozřejmě i vznik BA. Obecně platí, že produkce BA je úměrná teplotě a době skladování.

Vznik HIM v sýrech je podle STRATTONA et al. (1991) spojen rovněž s dostupností substrátu a koncentrací soli. Správná skladovací teplota je pravděpodobně nejdůležitější činitel v prevenci vzniku BA.

Teplota při skladování ovlivnila rovněž koncentraci HIM a TYM u sýru Chihuahua (DIAZ-CINCO et al., 1992)

Optimální hladina pH pro syntézu TYM v sýrech je 5.0 (DIAZ-CINCO et al., 1992), neboť tato hladina pH podporuje dekarboxylační aktivitu.

Obsah BA v potravinách lze podle KŘÍŽKA (2010) snížit několika způsoby:

- 1) enzymaticky oxidovat aminy za přítomnosti kyslíku na aldehydy,
- 2) přidavkem sacharidů do tepelně upravovaných potravin umožnit reakce vedoucí k tzv. neenzymovému hnědnutí,
- 3) při přípravě jídel vyluhovat aminy do varné lázně a vývar nekonzumovat.

Uvedené postupy mají omezenou použitelnost v praxi. Hlavní proto zůstává prevence vzniku BA, především cestou vysoké úrovně hygieny výrobních provozů.

Doporučení prevence vzniku BA v mléce a sýrech je podle ČERNÉHO et al. (2005):

- dbát na vysokou mikrobiální jakost nakupovaného mléka,
- zavést do laboratorní praxe mikrobiální metody vhodné pro preventivní sledování výskytu mikroorganismů vykazujících dekarboxylázovou aktivitu,

- souběžně s mikrobiální kontrolou mléka a sýrů je žádoucí sledovat i další suroviny a pomocné látky používané při výrobě sýrů.

## 2.5 Limity BA a PA v potravinách

Tabulka č. 2 popisuje nalezenou literaturu, která se zabývá doporučenými hodnotami BA. Z výsledků můžeme vidět vysoké rozdíly mezi doporučeními jednotlivých autorů.

**Tabulka č. 2 Doporučené hodnoty biogenních aminů (BA) v mg/kg podle různých autorů**

Zdroj	TYM	HIM	HIM+CAD +PUT	PUT	SPM + SPD
SPANIER a VAN ROODE, 1991			do 300		
TEN BRINK et al., 1990	100 – 800	100			
TAYLOR, 1986	do 1000	do 1000	do 1000		
SILLA- SANTOS, 1996	100	100			
KALAČ a KRAUSOVÁ, 2005				2000	600
SIMON- SARKADI a HODOSI, 1995					0-192
KŘÍŽEK a KALAČ, 1998	2000				1000 - SPM 200 - SPD

## 2.6 Výskyt BA v sýrech

Během fermentace je přítomno velké množství mikroorganismů, z nichž mnohé jsou schopny tvořit BA. Mléčné bakterie produkují nejvíce HIM, TYM, PUT a CAD. Po rybách jsou sýry druhým nejčastějším původcem otrav HIM (SILLA-SANTOS, 1996).

Biogenní aminy byly nalezeny v malém množství v široké škále sýrů (STRATTON et al., 1991). Nejdůležitější BA vyskytující se v sýrech jsou: TYR, HIM, PUT, CAD, TRM a PEA (JOOSTEN, 1988; TAWFIK et al., 1992).

Během zrání je kasein pomalu degradován proteolytickými enzymy, což vede ke zvýšení obsahu volných aminokyselin (JOOSTEN a OLIEMAN, 1986), které mohou být následně vystaveny další rozkladné reakci a katalyzovány specifickými dekarboxylačními bakteriemi za vzniku CO<sub>2</sub> a aminu. Proto se hladina BA postupně zvyšuje se změnou obsahů, hlavně HIM, PUT a CAD, a s rostoucí dobou zrání (DEGHEIDI et al., 1992).

Sýr, který byl při výrobě podroben vysoké teplotě, obsahuje značné množství BA (SPANJER a VAN ROODE, 1991).

Nižší obsahy BA měly sýry holandského typu, vyšší sýry poloměkké, ementálského typu a plísňové (KŘÍŽEK, KALAČ, 1998).

Kvantitativně nejdůležitější BA v sýrech je TYR. Jeho obsah roste v průběhu zrání nebo v závislosti na použité kultuře. Naopak obsah SPM a SPD se během zrání nemění nebo mírně klesá (KOMPRDA et al., 2007).

Dalším kvantitativně důležitým BA vyskytujícím se v sýrech je HIM. Některé bakterie, které jsou používány jako startovací kultury v mléčném průmyslu, jako *Streptococcus lactis* a *Lactobacillus helveticus* byly identifikovány jako původci HIM (STRATTON et al., 1991). Dalšími původci HIM jsou *Streptococcus faecium*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, a bakterie propionové kultury (EDWARDS a SANDINE, 1981). U *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus arabinose* byla také zjištěna histidinová dekarboxylační aktivita (STRATTON, et al., 1991).

Mléko od prvovýrobce dodávajícího zásady správné výrobní praxe neobsahuje BA, resp. HIM vůbec (ČERNÝ et al., 2005).

SUMMER et al. (1985) izoloval ze švýcarského sýra kmen *Lactobacillus buchneri*, který byl schopen vyprodukovat 420 mg/kg HIM. Pět dalších velmi podobných kmenů bylo nalezeno v sýru Gouda (JOOSTEN a NORTHOLT, 1989). *Enterobacteriaceae*, heterofermentativní lactobacily a *Enterococcus faecalis* jsou také spojovány se značnou produkcí až do 600 mg/kg BA včetně PEA (NOUT, 1994).

## **3 MATERIÁL A METODIKA**

### **3.1 Cíle práce**

Cílem této diplomové práce bylo stanovení obsahu biogenních aminů a polyaminů ve vybraných druzích sýrů, posouzení vybraných vlivů působících na jejich zastoupení a obsah včetně vysvětlení příčin rozdílů a porovnání získaných hodnot s hygienickými limity. Tato diplomová práce je součástí řešení výzkumného záměru MSM 6007665806.

### **3.2 Odběr vzorků**

Skupina čerstvých kozích sýrů byla zakoupena u soukromníků a sloužila pro porovnání se zrajícími sýry. Čerstvý kozí sýr byl od paní Marie Novotné, dále jen Čerstvý kozí sýr 1 a Čerstvý kozí sýr od paní Mariany Eichlerové, dále jen Čerstvý kozí sýr 2.

Zakoupené tržní druhy sýrů byly Olomoucké tvarůžky (kotoučky, tyčinky a věnečky), Jarošovský pivní sýr, Romadur, Sedlčanský Pepin, Sedlčanský Romadůžek a Stříbrňák Camembert.

Tyto vzorky sýrů vyrobených z pasterizovaného kravského mléka byly pětikrát zakoupeny v obchodě v letech 2009 – 2010. Pro analýzu obsahu BA bylo použito celkem 6 vzorků Čerstvého kozího sýru, 12 vzorků Olomouckých tvarůžků, 10 vzorků Jarošovského pivního sýru, 10 vzorků Romaduru, 6 vzorků Sedlčanského Romadůžku, 5 vzorků Sedlčanského Pepina a 7 vzorků Stříbrňáku Camembertu. Celkem bylo analyzováno 56 vzorků (Tabulka č. 3). Vzorky byly do provedení analýzy skladovány v lednici při teplotě 5°C.

Pro porovnání rozdílů ve výskytu BA v závislosti na době skladování/zrání byl u těchto vzorků stanovován obsah BA v den minimální trvanlivosti (období 0) a týden po vypršení minimální doby trvanlivosti (období 1).

**Tabulka č. 3: Přehled počtu vzorků odebraných sýrů**

Měsíc	Rok	Počet vzorků
9	2009	16
10	2009	10
11	2009	10
2	2010	8
6	2010	12
Celkem		56

### **3.3 Analýza vzorků**

#### **3.3.1 Použité chemikálie, přístroje a zařízení**

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

#### **Chemikálie**

1,7-diaminoheptan, Sigma Aldrich, Německo,

Acetonitril pro HPLC (gradient grade), Merck, 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 draselný, Lachema, Neratovice, ČR,

Uhličitan sodný, Lachema, Neratovice, ČR.

### **Přístroje a zařízení**

Analytické váhy, B 204, Mettler Toledo, Švýcarsko,

Kapalinový chromatogram (RRLC) Agilent Technologies, USA

Mixér, Moulinex, Francie,

Odstředivka Sigma 2 – 5, Německo

Ponorný mixér, Bosch, Německo,

### **3.3.2 Analytické postupy**

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

### **Analýza BA a PA metodou HPLC**

#### **Extrakce**

Extrakt byly do doby analýzy skladovány v chladničce při teplotě  $6 \pm 1$  °C. Běžná doba skladování byla kratší než jeden měsíc.

Postup extrakce:

- 1) Bylo naváženo  $40 \pm 1$  g vzorku sýra a přelito přibližně 100 ml 0,6 M kyseliny chloristé,
- 2) Směs byla homogenizována cca 3 min. kuchyňským ručním tyčovým mixérem (Bosch, 600 W) a odstředěna (Sigma 2-5, průměr rotoru 272 mm) při 3500 otáčkách/ min. po dobu 10 min.,
- 3) Supernatant byl přefiltrován přes skládaný filtrační papír (pro kvalitativní analýzu, nekrepovaný nehlazený) a byl odečten celkový objem filtrátu.



## Derivatizace

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

### Postup derivatizace

- 1) Bylo odpipetováno 1 ml extraktu vzorku,
- 2) Bylo přidáno 100  $\mu$ l vnitřního standardu, kterým byl roztok 1,7-heptandiaminu v 0,6 M kyseliny chloristé o koncentraci 400  $\text{mg.l}^{-1}$ ,
- 3) Následně byl roztok neutralizován 1,5 ml uhličitanového roztoku AB, který musí být vždy před analýzou čerstvý,

**Tab. 4: Příprava uhličitanového neutralizačního roztoku**

Počet vzorků	1	2	4	5	6	8	10
(g) $\text{K}_2\text{CO}_3$	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:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2,65 g do 50 ml

Roztok B:  $\text{NaHCO}_3$  4,2g do 100ml

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

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

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

### **Analytická koncovka**

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

K analýze byl používán kapalinový chromatograf vybavený binární pumpou, zařízením na odplynění mobilních fází, autosamplerem, termostatem kolon a diode-array detektorem (Agilent Technologies, USA). Separace analytů probíhala v chromatografické koloně (Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18), o rozměrech 50 mm x 4,6 mm ID, s velikostí částic sorbentu 1,8  $\mu$ m. Koloně bylo přiřazeno filtrační zařízení pro ochranu kolony (tzv. in-line filter). Vlastní chromatografická separace byla uskutečněna 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 95-40%, 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  $\mu$ l a jednotlivé analyty byly detekovány při vlnové délce 225 nm.

**Tabulka č. 5 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

Výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu ChemStation pro LC 3D Systém (firmware Agilent Technologies). Kalibrace a základní výpočty byly provedeny s pomocí programu MS Office Excel.

### 3.4 Statistické vyhodnocení dat

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

Pro účely statistického vyhodnocení byly jako **nezávislé proměnné (faktory)** použity:

- druh sýra:
  - Čerstvý kozí sýr,
  - Olomoucké tvarůžky,
  - Jarošovský pivní sýr,
  - Romadur,
  - Sedlčanský Romadůžek,
  - Sedlčanský Pepin,
  - Stříbrňák Camembert
  
- doba skladování:
  - období 0 – v den minimální trvanlivosti
  - období 1 – týden po uplynutí data minimální trvanlivosti

**Závislé proměnné** byly obsahy jednotlivých BA a PA a jejich skupin:

- BA hnilobné  $\sum$  PUT a CAD
- BA 4  $\sum$  PUT, CAD, HIM a TYM

- BA 5  $\Sigma$  TRM, PUT, CAD, HIM a TYM
- BA 6  $\Sigma$  TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM
- PA 2  $\Sigma$  SPD a SPM
- PA 3  $\Sigma$  PUT, SPD a SPM
- BA + PA  $\Sigma$  biogenních aminů a polyaminů

Pro statistickou analýzu byla využita nabídka programu Statistica Cz 9.0 (StatSoft s.r.o.). U souboru byly vyhodnoceny předpoklady pro užití parametrických metod a k analýze vlivu druhu sýra byla použita jednofaktorová analýza rozptylu, pro porovnání doby skladování t-test při obvyklých hladinách významnosti ( $p < 0,05$ ; 0,01; 0,001).

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 4.1 Obsah BA a PA ve sledovaných vzorcích sýra

V následujících tabulkách budou uvedeny výsledky hodnocení obsahů jednotlivých BA a PA u sledovaných druhů sýrů. Pro tento účel byly vybrány nejčastěji se vyskytující aminy v sýrech: TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM. Dále skupina BA 6, která reprezentuje součet nejběžnějších BA vyskytujících se v sýrech a jako poslední skupina BA + PA, tedy součet všech BA i PA.

**Tabulka č. 6 :Obsahy biogenních aminů (BA)a polyaminů (PA)ve skupině čerstvých sýrů (mg/kg)**

<b>Čerstvý kozí 1</b>				
	<b>x</b>	<b>S<sub>x</sub></b>	<b>X<sub>min</sub></b>	<b>X<sub>max</sub></b>
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	8,06	3,27	4,98	11,60
CAD	7,64	5,98	2,24	14,83
HIM	0,00	0,00	0,00	0,00
TYM	5,37	5,36	1,65	13,0
SPD	1,40	0,62	0,60	1,98
SPM	2,86	1,18	1,85	4,01
BA 6	21,1	12,10	9,49	37,9
BA + PA	25,3	13,3	11,9	43,4
<b>Čerstvý kozí 2</b>				
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	5,58	0,71	5,07	6,08
CAD	0,95	0,00	0,95	0,95
HIM	0,00	0,00	0,00	0,00
TYM	1,65	0,00	1,65	1,65
SPD	2,67	0,03	2,64	2,69
SPM	1,85	0,00	1,85	1,85
BA 6	8,18	0,71	7,67	8,68
BA + PA	12,7	0,75	12,2	13,2

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

V tabulce č. 6 jsou uvedeny obsahy BA a PA u čerstvých kozích sýrů. Tyto čerstvé sýry byly zvoleny pouze pro porovnání se zrajícími sýry, což je také důvodem, proč bylo odebráno nižší množství vzorků.

V obou čerstvých kozích sýrech dosáhl nejvyšších hodnot PUT (8,06; resp. 5,58 mg/kg). U Čerstvého kozího sýra 1 byly zjištěny vyšší hodnoty také u CAD (7,64 mg/kg) a TYM (5,37 mg/kg), u Čerstvého kozího sýra 2 byly hodnoty těchto BA nízké (0,95; resp. 1,65 mg/kg).

Poměrně vyrovnané hodnoty byly zjištěny v obou čerstvých sýrech u celkového množství polyaminů (SPD + SPM) – 4,26 mg/kg, resp. 4,52 mg/kg.

V porovnání s ostatními druhy sýru je zajímavé, že u této skupiny sýrů nebyl zjištěn TRM, PEA a HIM.

**Tabulka č. 7: Obsahy biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v Jarošovském pivním sýru (mg/kg)**

	<b>x</b>	<b>S<sub>x</sub></b>	<b>X<sub>min</sub></b>	<b>X<sub>max</sub></b>
TRM	4,49	6,32	0,00	16,2
PEA	1,61	2,49	0,00	6,63
PUT	7,64	6,54	0,00	18,1
CAD	98,8	88,7	12,2	232
HIM	32,8	10,9	17,0	48,4
TYM	48,4	38,2	12,2	128,6
SPD	7,90	11,8	0,00	31,2
SPM	35,8	33,3	0,00	101,4
BA 6	193,7	79,8	55,6	300,9
BA + PA	237,5	94,1	55,6	360,3

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

U Jarošovského pivního sýra (tabulka 7) byl naměřen nejvyšší průměrný obsah CAD (98,8 mg/kg) s rozpětím od 12,2 do 232 mg/kg. Druhý nejvyšší průměrný obsah byl zjištěn u TYM (48,4 mg/kg), který se pohyboval mezi 12,2 a 128,6 mg/kg. Za povšimnutí stojí průměrný obsah SPM, který je u tohoto sýru nejvyšší ze všech sledovaných vzorků, a to 35,8 mg/kg. Nicméně tato hodnota není podle KALAČE a KRAUSOVÉ (2005) škodlivá.

Průměrný obsah BA 6 (193,74 mg/kg) není podle literatury SPANJERA a VAN ROODA (1991) zdraví nebezpečný. Hodnota HIM ani ve svém maximu nepřekračuje limit 100 mg/kg stanovený SILLA-SANTOSEM (1996).

Při porovnávání Olomouckých tvarůžků (tabulka č. 8) podle tvaru byl nejvyšší obsah BA + PA zjištěn u tyčinek. U tyčinek byl naměřen nejvyšší obsah CAD, který se pohyboval v rozmezí 11,3 až 868,7 mg/kg. U věnečků byl zjištěn nejvyšší obsah TYM s hodnotami od 86,6 do 257 mg/kg. U kotoučků byl zjištěn nejvyšší obsah CAD v hodnotách od 273,4 do 421,7 mg/kg. Druhá nejvyšší hodnota u kotoučků byl naměřena u TYM (269,1 mg/kg), u tyčinek u PUT (251,1 mg/kg) a u věnečků u CAD (149,8 mg/kg).

Průměrný obsah BA 6 u tyčinek (939,7 mg/kg) by podle SPANJERA a VAN ROODA (1991) mohl být zdraví ohrožující. U jednoho vzorku dosáhl dokonce hodnoty 2049,8 mg/kg. Tato hodnota dvojnásobně překračuje limit, stanovený TAYLOREM et al. (1985), a může být považována za zdraví nebezpečnou.

Nutno podotknout, že u Olomouckých tvarůžků – tyčinek byl zjištěn, pravděpodobně v důsledku zvýšeného obsahu CAD, nejvyšší obsah hnilobných BA ze všech zkoumaných vzorků.

Pacienti užívající inhibitory monoaminových oxidáz (MAO) by se měli těmito sýrům vyhýbat.

Výsledky obsahu jednotlivých BA a PA se poměrně shodují s výsledky udávanými STANDAROVOU et al. (2009), která ve své práci popisuje výskyt BA v Olomouckých tvarůžcích.

**Tabulka č. 8: Obsahy biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v Olomouckých tvarůžcích různých tvarů (mg/kg)**

<b>Olomoucké tvarůžky – kotoučky</b>				
	<b>x</b>	<b>s<sub>x</sub></b>	<b>x<sub>min</sub></b>	<b>x<sub>max</sub></b>
TRM	6,46	9,13	0,00	12,92
PEA	5,60	7,91	0,00	11,2
PUT	93,6	22,3	77,8	109,4
CAD	347,6	104,9	273,4	421,7
HIM	109,3	7,77	103,8	114,8
TYM	269,1	33,2	245,6	292,5
SPD	9,21	2,40	7,51	10,9
SPM	9,88	11,4	1,85	17,9
BA 6	831,6	135,6	735,7	927,5
BA + PA	850,7	149,4	745,1	956,3
<b>Olomoucké tvarůžky – tyčinky</b>				
TRM	30,4	23,7	4,8	55,9
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	251,1	259,5	31,1	596,7
CAD	360,5	410,9	11,3	868,7
HIM	101,6	121,5	0,00	242,1
TYM	196,2	71,7	118,2	286,3
SPD	16,9	9,95	3,98	26,7
SPM	17,2	10,2	6,42	28,6
BA 6	939,7	882,2	165,3	2049,8
BA + PA	973,7	867,9	210	2075,6
<b>Olomoucké tvarůžky – věnečky</b>				
TRM	1,45	3,56	0,00	8,72
PEA	2,62	6,41	0,00	15,7
PUT	125,5	92,5	20,4	261,8
CAD	149,8	128,9	34,5	361,6
HIM	81,8	9,48	66,6	94
TYM	187,8	76,7	86,6	256,6
SPD	13,7	6,66	7,97	26,6
SPM	21,7	9,18	8,05	30,9
BA 6	549	295,3	223,1	973,9
BA + PA	584,4	303,7	246	1031,3

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



V tabulce č. 9 jsou znázorněny výsledky sýru Romadur. Nejvyšší průměrný obsah byl naměřen u CAD (271 mg/kg). Druhý nejvyšší obsah byl zjištěn pro TYM v rozmezí od 21 do 404,7 mg/kg. Celkový obsah všech BA a PA (BA + PA) byl 655,3 mg/kg, což je třetí nejvyšší hodnota ze všech zkoumaných vzorků. Romadur dosáhl druhého nejvyššího obsahu hnilobných BA (CAD, PUT) ze všech zkoumaných sýrů.

**Tabulka č. 9: Obsahy biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v sýru**

**Romadur**

	<b>X</b>	<b>S<sub>x</sub></b>	<b>X<sub>min</sub></b>	<b>X<sub>max</sub></b>
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	6,03	5,72	0,00	15,48
PUT	161,6	93,5	48,3	296,2
CAD	271	292,6	0,00	761,5
HIM	34,1	33,1	0,00	88,6
TYM	182,6	153,7	21	404,7
SPD	11,7	9,57	3,16	30,3
SPM	20,3	19,2	0,00	55,4
BA 6	655,3	432,8	137,4	1105,7
BA + PA	687,3	433	154,2	1130,4

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

**Tabulka č. 10: Obsahy biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v sýru**

**Sedlčanský Romadůžek**

	<b>X</b>	<b>S<sub>x</sub></b>	<b>X<sub>min</sub></b>	<b>X<sub>max</sub></b>
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	1,27	0,54	1,05	2,37
CAD	1,37	0,65	0,95	2,32
HIM	0,00	0,00	0,00	0,00
TYM	1,10	0,85	0,00	1,65
SPD	2,66	1,49	0,60	4,21
SPM	1,54	1,38	0,00	3,66
BA 6	3,74	1,63	2,00	6,10
BA + PA	7,93	2,20	5,62	11,3

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

Pro Sedlčanský Romadůžek (Tabulka č. 10) byly naměřeny nejvyšší hodnoty SPD, které se pohybovaly v hodnotách od 0,60 do 4,21 mg/kg. Druhá nejvyšší hodnota byla naměřena pro SPM (průměrně 1,54 mg/kg). V tomto sýru nebyl zjištěn obsah pro TRM, PEA a HIM a je třeba zmínit, že Sedlčanský

U Sedlčanského Pepina (Tabulka č. 11) byla zjištěna nejvyšší hodnota pro SPM, který se pohyboval v rozmezí 8,38 až 25,8 mg/kg. Nutno zdůraznit, že tato hodnota je výrazně vyšší než hodnoty ostatních naměřených BA v tomto sýru. Druhá nejvyšší hodnota byla naměřena pro SPD a pohybovala se v rozmezí od 1,53 do 4,99 mg/kg.

**Tabulka č. 11: Obsahy biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v sýru Sedlčanský Pepin**

	<b>x</b>	<b>S<sub>x</sub></b>	<b>x<sub>min</sub></b>	<b>x<sub>max</sub></b>
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	1,64	0,85	1,05	2,89
CAD	1,44	2,64	0,00	6,29
HIM	0,00	0,00	0,00	0,00
TYM	2,55	1,20	1,65	3,99
SPD	3,03	1,47	1,53	4,99
SPM	15,1	7,49	8,38	25,8
BA 6	5,69	3,87	2,70	12,5
BA + PA	23,3	7,32	13,6	33

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

Stříbrňák Camembert (Tabulka č. 12) patří do skupiny sýrů zrajících a s plísní na povrchu. Nejvyšší hodnota byla naměřena u SPD v rozmezí 5,16 až 12,2 mg/kg (tabulka č. 12). V tomto vzorku nebyly zjištěny TRM, PEA, CAD a HIM. LADERO et. al., (2009) zjistili v sýru Camembert HIM v rozmezí od 32,2 do 40 mg/kg. .

Nutno zdůraznit, že v tomto sýru nebyl naměřen CAD, který byl naměřen ve všech ostatních zkoumaných vzorcích. Sýr Stříbrňák Camembert dosáhl nejnižší průměrné hodnoty BA 6 ze všech zkoumaných vzorků.

**Tabulka č. 12: Obsahy biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) v sýru Stříbrňák Camembert**

	<b>x</b>	<b>S<sub>x</sub></b>	<b>X<sub>min</sub></b>	<b>X<sub>max</sub></b>
TRM	0,00	0,00	0,00	0,00
PEA	0,00	0,00	0,00	0,00
PUT	0,92	0,76	0,00	2,23
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
SPD	7,17	2,53	5,16	12,2
SPM	5,12	3,94	1,85	11,1
BA 6	2,59	0,76	1,65	3,88
BA + PA	14,5	5,70	9,71	25

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

## 4.2 Vliv druhu sýra na obsah BA a PA

V tabulce č. 24 jsou uvedeny hodnoty jednotlivých BA a PA. Nejvyšší průměrnou hodnotu měl CAD (117,3 mg/kg), následovaný TYM (84,3 mg/kg). Nejnižší průměrná hodnota byla naměřena u PEA (1,78 mg/kg).

Z maximálních hodnot stojí za povšimnutí vysoké hodnoty CAD (868,69 mg/kg) a TYM (404,65 mg/kg).

Statistická analýza prokázala vliv druhu sýra na obsah BA a PA u všech sledovaných BA a PA. Stejně tak u všech sledovaných skupin.

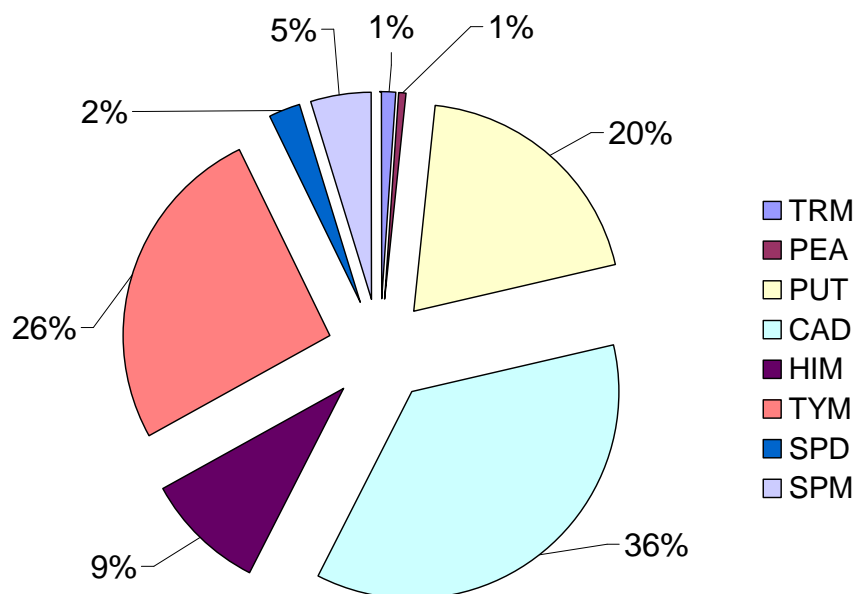
TYM je v sýrech považován STRATTONEM et al. (1991) za hlavní BA a byl v sýrech naměřen ve vysokých koncentracích KOMPRDOU et al. (2007). Zjištěný obsah TYM byl 84,3 mg/kg a je tedy druhým nejvíce zastoupeným BA.

**Tabulka č. 24: Vliv druhu sýra na obsah jednotlivých biogenních aminů (BA), polyaminů (PA) a jejich skupin**

	<b>n</b>	<b>x</b>	<b>x<sub>min</sub></b>	<b>x<sub>max</sub></b>	<b>s<sub>x</sub></b>	<b>p</b>
TRM	56	3,25	0,0	55,9	9,89	0,0381
PEA	56	1,78	0,0	15,7	4,03	0,0100
PUT	56	64,9	0,0	596,7	111,5	0,0001
CAD	56	117,3	0,0	868,7	204	0,0022
HIM	56	30,8	0,0	242,1	47,5	0,0001
TYM	56	84,3	0,0	404,7	113,2	0,0001
SPD	56	7,98	0,0	31,2	8,26	0,0085
SPM	56	15,8	0,0	101,4	19,9	0,0020
Hnilobné BA	56	182,2	0,0	1465,4	297,7	0,0001
sBA 4	56	297,2	1,65	1993,9	424,3	0,0001
sBA 5	56	300,5	1,65	2049,8	430	0,0001
sBA 6	56	302,3	1,65	2049,8	432,1	0,0001
sPA 2	56	23,7	0,0	129,9	24,9	0,0029
sPA 3	56	88,7	0,0	622,5	119,3	0,0001
BA + PA	56	326	5,62	2075,6	438,2	0,0001

**Pozn.:** TRM – tryptamin, PEA – β-fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, Hnilobné BA – ∑ PUT, CAD, BA 4 – ∑ PUT, CAD, HIM a TYM, BA 5 – ∑ TRM, PUT, CAD, HIM a TYM; BA 6 – ∑ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM; PA 2 – ∑ SPD a SPM; PA 3 – ∑ PUT, SPD a SPM; BA + PA – ∑ TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM

**Graf č. 1: Zastoupení jednotlivých biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) ve sledovaných vzorcích sýrů (%)**



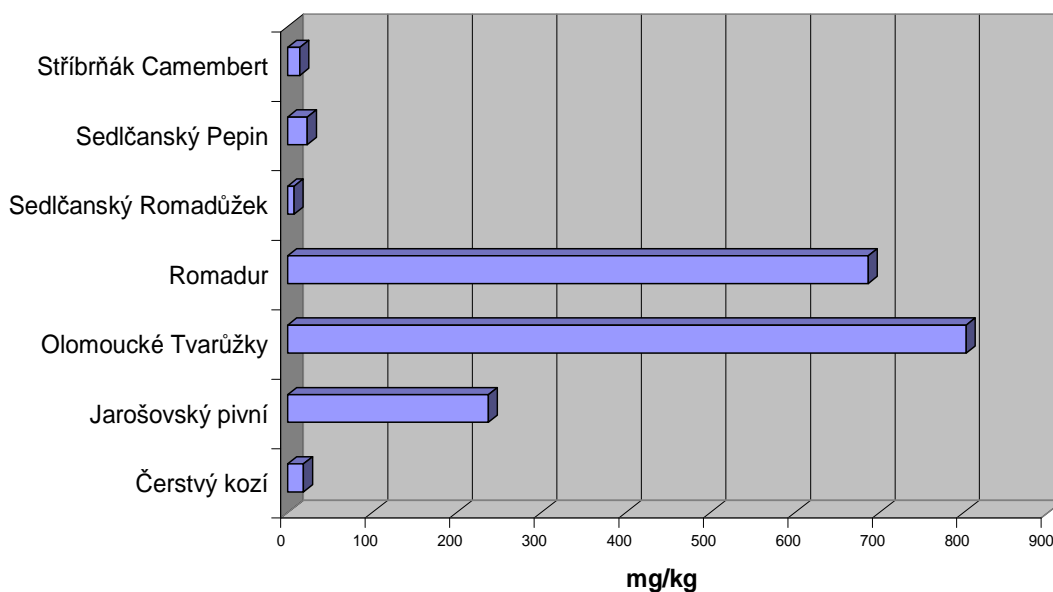
**Pozn.:** TRM – tryptamin, PEA –  $\beta$ -fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin

Výskyt jednotlivých BA v sýrech shrnuje graf č. 1. Z celkového obsahu jednotlivých BA a PA měl nejvyšší podíl CAD (36%), dále pak TYM (26%) a třetí nejvyšší hodnota byla zjištěna u PUT (20%). Tyto tři BA tvořily více 80% celkového obsahu všech zjištěných BA. Nejmenší obsahy byly zjišťovány pro PEA a TRM (shodně 1 %).

Přehledné srovnání vybraných skupin BA podle druhu sýra je uvedeno v grafech č. 2, 3, 4.

Graf č. 2 popisuje naměřené výsledky BA 6, nejvyšších hodnot dosáhly Olomoucké tvarůžky a Romadur. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u Stříbrňáku Camembertu, Sedlčanského Pepina a Sedlčanského Romadůžku.

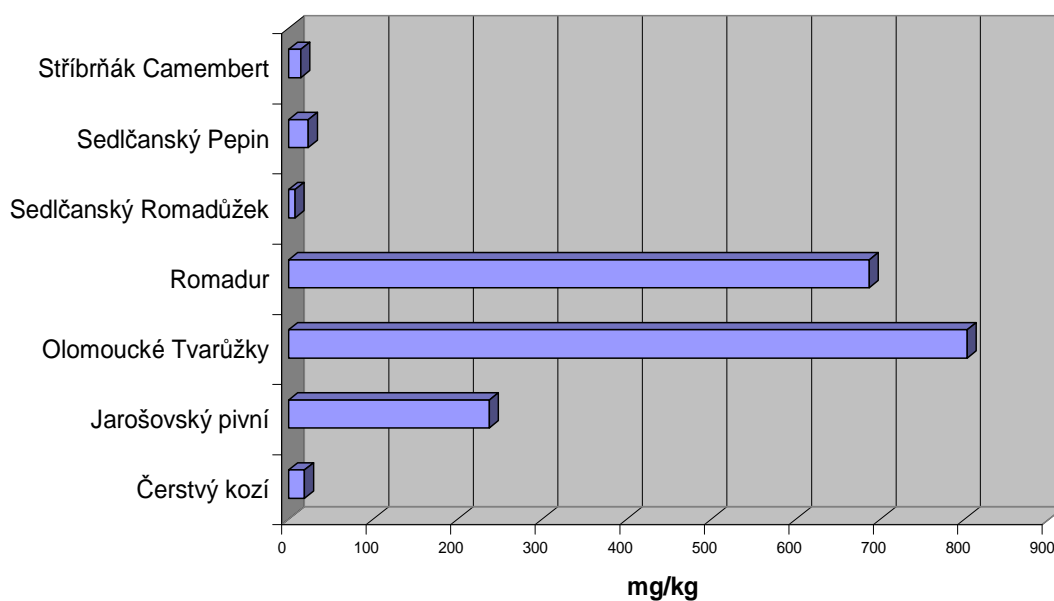
**Graf č. 2: Porovnání celkového obsahu BA (BA 6) u jednotlivých druhů sýrů**



**Pozn.:** BA 6 –  $\sum$  TRM, PEA, PUT, CAD, HIM a TYM;

Pokud se týká součtu všech BA a PA (BA + PA) nejvyšších hodnot dosáhly opět Olomoucké tvarůžky a Romadur (graf č. 3). Nízké hodnoty byly naměřeny u Sedlčanského Romadůžku, Stříbrňáku Camembertu a Sedlčanského Pepina.

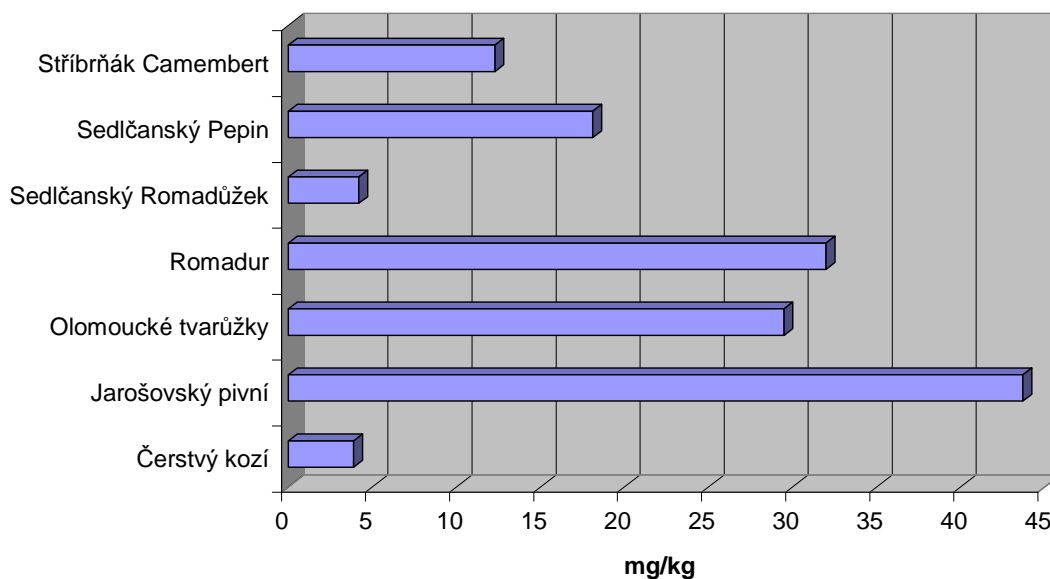
**Graf č. 3: Porovnání celkového obsahu BA a PA (BA + PA) u jednotlivých druhů sýrů**



**Pozn.:** BA + PA –  $\sum$  TRM, PEA, PUT, CAD, HIM, TYM, SPD a SPM

Jarošovský pivní sýr měl ze všech druhů sýrů nejvyšší obsahy PA (graf č. 4) Poměrně vyrovnané hodnoty byly zjištěny u Romaduru, Olomouckých tvarůžků a Sedlčanského Pepina. Nejnižší u Čerstvého kozího sýru a Sedlčanského Romadůžku.

**Graf č. 4: Srovnání jednotlivých sýrů podle obsahu PA 2**



**Pozn.: PA 2 –  $\Sigma$  SPD a SPM**

Výkyvy, které byly zaznamenány v naměřených hodnotách u jednotlivých vzorků sýrů, je možné pravděpodobně vysvětlit následujícími možnostmi:

- 1) technologické nebo výrobní chybě a následnému rozvoji mikroorganismů zodpovědných za vznik BA,
- 2) možným porušením hygienických norem,
- 3) vystavení vyšším teplotám při průchodu distribučním řetězcem.



### 4.3 Vliv doby skladování na obsah BA a PA

V následujících tabulkách je znázorněna změna obsahu BA v průběhu času. Měření obsahu BA bylo prováděno v den doporučené minimální trvanlivosti (Období 0) a týden po uplynutí této doby (Období 1).

Nejvyšší množství TRM (Tabulka č. 13) bylo naměřeno u Olomouckých tvarůžků, jak v období 0, tj. v den minimální trvanlivosti, tak i týden poté. Zajímavé jsou hodnoty Jarošovského pivního sýru, u kterého průměrné množství TRM v období 1 kleslo oproti období 0.

Za zmínku rovněž stojí, že u Čerstvého kozího sýra, Romaduru, Sedlčanského Romadůžku, Sedlčanského Pepina a Stříbrňáku Camembertu nebyl TRM vůbec naměřen.

**Tabulka č. 13: Vliv doby skladování na obsah tryptaminu (TRM) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
Jarošovský pivní	5	4,44	0,00	16,2	5	3,79	0,00	4,55
Olomoucké tvarůžky	6	11,8	0,00	44,3	6	12,1	0,00	55,9
Romadur	5	0,00	0,00	0,00	5	0,00	0,00	0,00
Sedlčanský Romadůžek	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
Sedlčanský Pepin	3	0,00	0,00	0,00	2	0,00	0,00	0,00
Stříbrňák Camembert	4	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
p	0,4534							

Nejvyšší průměrná hodnota PEA (Tabulka č. 14) byla zjištěna u Romaduru (7,03 mg/kg). V období 1 průměrný obsah PEA klesl na hodnotu 5,02 mg/kg. Nutno zdůraznit, že PEA byl zjištěn pouze u Jarošovského pivního sýru, Olomouckých tvarůžků a Romaduru.

**Tabulka č. 14: Vliv doby skladování na obsah  $\beta$ -fenylethylaminu (PEA) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	$x_{min}$	$x_{max}$	n	x	$x_{min}$	$x_{max}$
Čerstvý kozí	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
Jarošovský pivní	5	2,72	0,00	6,63	5	0,50	0,00	1,25
Olomoucké tvarůžky	6	4,48	0,00	15,7	6	0,00	0,00	0,00
Romadur	5	7,03	0,00	15,5	5	5,02	0,00	11,1
Sedlčanský Romadůžek	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
Sedlčanský Pepin	3	0,00	0,00	0,00	2	0,00	0,00	0,00
Stříbrňák Camembert	4	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
p	0,0743							

Následující tabulka č. 15 znázorňuje výsledky obsahů PUT. Nejvyšší průměrné hodnoty v obou obdobích byly zjištěny u Olomouckých tvarůžků (125,7; resp. 198,4 mg/kg) a Romaduru (169,9; resp. 153,2 mg/kg). V porovnání s těmito dvěma sýry dosáhly ostatní sýry velmi nízkých hodnot.

**Tabulka č. 15: Vliv doby skladování na obsah putrescinu (PUT) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	5,22	5,00	5,60	3	9,25	6,08	11,6
Jarošovský pивní	5	7,34	0,00	18,1	5	7,93	2,79	14,1
Olomoucké tvarůžky	6	126	20,4	303	6	198	28,4	597
Romadur	5	170	60,8	296	5	153	48,3	290
Sedlčanský Romadůžek	3	1,05	1,05	1,05	3	1,48	1,05	2,36
Sedlčanský Pepin	3	1,42	1,05	2,17	2	1,97	1,05	2,89
Stříbrňák Camembert	4	0,78	0,00	1,05	3	1,09	0,00	2,22
p	0,2690							

Podobně jako u PUT (Tabulka č. 15), nejvyšší obsahy CAD (Tabulka č. 16) byly zjištěny u Olomouckých tvarůžků (201,1; resp. 304,9 mg/kg) a Romaduru (245,6; resp. 296,4 mg/kg).

Nízké hodnoty CAD byly zjištěny u čerstvých kozích sýrů (4,49; resp. 6,33 mg/kg), stejně tak u Sedlčanského Romadůžku (1,41; resp. 1,33 mg/kg) a Sedlčanského Pepina (2,41; resp. 0,48 mg/kg). U sýra Stříbrňák Camembert nebyl obsah CAD zjištěn.

**Tabulka č. 16: Vliv doby skladování na obsah kadaverinu (CAD) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	4,50	0,95	10,3	3	6,33	0,95	14,8
Jarošovský pивní	5	95,2	12,2	231,5	5	102,4	22,2	217,7
Olomoucké tvarůžky	6	201,1	11,2	519,4	6	304,9	34,5	869,7
Romadur	5	245,6	0,00	730,9	5	296,4	0,00	761,5
Sedlčanský Romadůžek	3	1,41	0,95	2,32	3	1,33	0,95	2,08
Sedlčanský Pepin	3	2,41	0,00	6,29	2	0,48	0,00	0,95
Stříbrňák Camembert	4	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
p	0,2324							

Nejvyšší hladiny HIM (Tabulka č. 17) byly naměřeny u Olomouckých tvarůžků (87,4; resp. 98,5 mg/kg). Tyto průměrné obsahy HIM se blíží hranici 100 mg/kg, která je podle TEN BRINKA et al. (1990) a SILLA-SANTOSE (1996) zdraví škodlivá.

Obdobné průměrné obsahy byly u tohoto BA zjištěny pro Jarošovský pivní sýr (35,4; resp. 30,3 mg/kg) a Romadur (37,2; resp. 31 mg/kg).

V ostatních druzích sýra nebyl obsah HIM zjištěn.

**Tabulka č. 17: Vliv doby skladování na obsah histaminu (HIM) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
Jarošovský pivní	5	35,4	24,1	48,36	5	30,3	17	42,5
Olomoucké tvarůžky	6	87,4	0,00	164	6	98,5	0,00	242,1
Romadur	5	37,2	0,00	88,6	5	31	0,00	82,8
Sedlčanský Romadůžek	3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
Sedlčanský Pepin	3	0,00	0,00	0,00	2	0,00	0,00	0,00
Stříbrňák Camembert	4	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
p	0,4217							

Nejvyšší hodnoty TYM (Tabulka č. 18) byly zjištěny u Olomouckých tvarůžků v hodnotách od 86,6 do 245,6 mg/kg (období 0) a od 93,6 do 292,5 mg/kg (období 1). Druhá nejvyšší hodnota byla zjištěna u Romaduru, a to od 25 do 404,7 mg/kg v období 0 a od 20,96 do 398,08 mg/kg v období 1.

TYM byl zjištěn ve všech vzorcích, kromě jednoho vzorku Sedlčanského Romadůžku.

**Tabulka č. 18: Vliv doby skladování na obsah tyraminu (TYM) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	n	x	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	2,82	1,65	5,18	3	5,44	1,65	13,0
Jarošovský pívň	5	59,8	12,2	128,6	5	37	19,3	56,7
Olomoucké tvarůžky	6	186,8	86,6	245,6	6	221,4	93,6	292,5
Romadur	5	184,5	25,0	404,7	5	180,7	21	398,1
Sedlčanský Romadůžek	3	1,10	0,00	1,65	3	1,10	0,00	1,65
Sedlčanský Pepin	3	2,43	1,65	3,99	2	2,67	1,65	3,68
Stříbrňák Camembert	4	1,65	1,65	1,65	3	1,65	1,65	1,65
p	0,3760							

Obsah SPD (Tabulka č. 19) byl zjištěn u všech druhů sýrů. Jeho průměrné obsahy činily v období 0 od 1,49 mg/kg (Čerstvý kozí sýr) do 12,4 mg/kg (Romadur) a v období 1 od 2,15 mg/kg (rovněž Čerstvý kozí sýr) do 16,8 mg/kg (Olomoucké tvarůžky).

Nejvyšší jednotlivě naměřená hodnota SPD byla naměřena u vzorku Jarošovského pivního sýra, a to 31,2 mg/kg.

**Tabulka č. 19: Vliv doby skladování na obsah spermidinu (SPD) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	1,49	0,60	2,64	3	2,15	1,77	2,69
Jarošovský pivní	5	8,14	0,00	31,2	5	7,66	0,00	28,5
Olomoucké tvarůžky	6	11,3	3,97	22,2	6	16,8	7,97	26,7
Romadur	5	12,4	3,16	30,3	5	10,9	3,30	20,6
Sedlčanský Romadůžek	3	2,25	0,6	4,02	3	3,06	1,42	4,21
Sedlčanský Pepin	3	2,81	1,53	4,99	2	3,25	2,47	4,03
Stříbrňák Camembert	4	6,51	5,37	8,37	3	7,83	5,16	12,22
p	0,2547							

Z tabulky č 20 vyplývá, že nejvyšší hodnota SPM byla zjištěna u Jarošovského pivního sýra, a to v rozmezí 0,00 až 54,5 mg/kg v období 0 a v období 1 v rozmezí 1,85 až 101,4 mg/kg. Za povšimnutí stojí hodnoty čerstvých kozích sýrů, které dosáhly v porovnání s ostatními sýry velmi nízkých hodnot.

**Tabulka č. 20: Vliv doby skladování na obsah sperminu (SPM) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	2,57	1,85	4,01	3	2,48	1,85	3,74
Jarošovský pivní	5	30,6	0,00	54,5	5	41,1	1,85	101,4
Olomoucké tvarůžky	6	14,2	1,85	27,3	6	22,2	11,1	30,8
Romadur	5	19	0,00	55,4	5	21,6	1,85	51,5
Sedlčanský Romadůžek	3	1,84	0,00	3,66	3	1,23	0,00	1,85
Sedlčanský Pepin	3	12,2	8,38	18,6	2	18,1	10,4	25,8
Stříbrňák Camembert	4	2,98	1,85	6,35	3	7,26	1,85	11,11
p	0,1585							



Nejvyšší obsahy BA 6 (Tabulka č. 21) byly zjištěny u Olomouckých tvarůžků, a to v rozmezí 165,3 až 1244,4 mg/kg a 223,1 až 2049,8 mg/kg v období 1. Druhá nejvyšší hodnota byla naměřena u Romaduru, kde se jednotlivě naměřené vzorky pohybovaly v rozmezí 137,4 až 1090,3 mg/kg v období 0 a 147,9 až 1073,7 mg/kg v období 1. Naopak nejnižší hodnoty byly zjištěny u Stříbrňáku Camembertu, a to v průměru 2,44 mg/kg v období 0 a 2,74 mg/kg v období 1.

**Tabulka č. 21: Vliv doby skladování na celkový obsah tryptaminu,  $\beta$ -fenylethylaminu, putrescinu, kadaverinu, histaminu a tyraminu (BA 6) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	12,5	7,67	20,4	3	21,0	8,68	37,9
Jarošovský pивní	5	202,1	54,4	300,9	5	182,1	94,5	268,1
Olomoucké tvarůžky	6	617,3	165,3	1244,4	6	835,4	223,1	2049,8
Romadur	5	637,2	137,4	1090,3	5	661,4	147,9	1073,7
Sedlčanský Romadůžek	3	3,56	2,00	5,02	3	3,92	2,00	6,10
Sedlčanský Pepin	3	6,27	2,70	12,5	2	5,11	4,73	5,49
Stříbrňák Camembert	4	2,44	1,65	2,70	3	2,74	1,65	3,88
p	0,2750							

V tabulce č. 22 jsou výsledky celkového obsahu BA a PA (BA + PA). Nejvyšší obsahy byly zjištěny u sýrů Romadur (642,7; resp. 675,6 mg/kg) a Olomoucké tvarůžky (642,7; resp. 874,4 mg/kg). Naopak nejnižší hodnota byla naměřena u Sedlčanského Romadůžku (7,65; resp. 8,21 mg/kg). DIČÁKOVÁ a DUDRIKOVÁ (2007) našli v komerčních vzorcích obsah BA + PA v rozsahu od 445 mg/kg do 2 447mg/kg, což se přibližuje našemu měření.

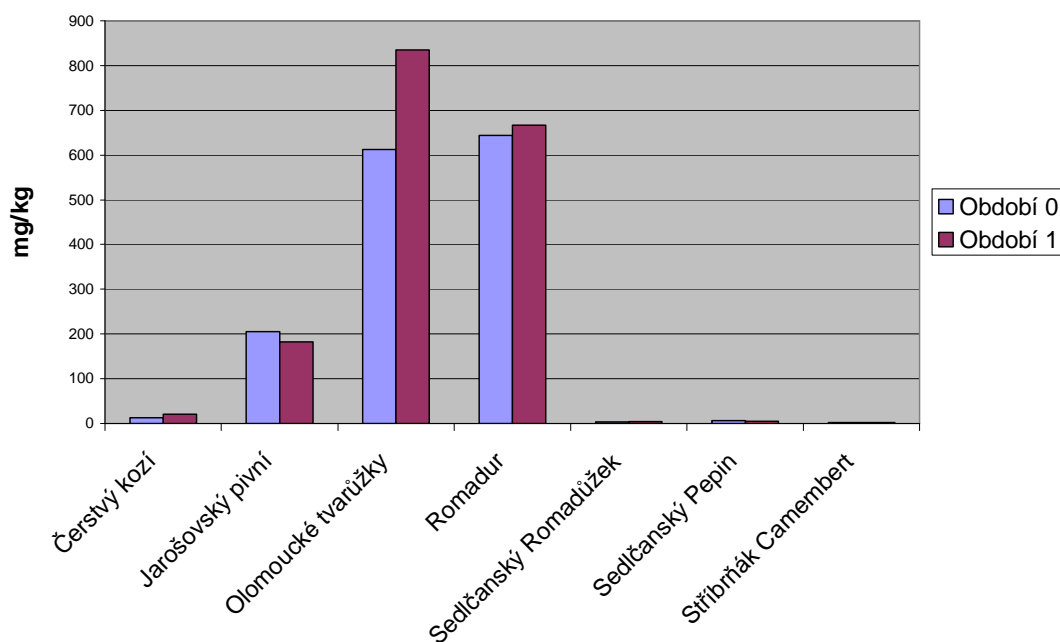
**Tabulka č. 22: Vliv doby skladování na obsah tryptaminu,  $\beta$ -fenylethylaminu, putrescinu, kadaverinu, histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu (BA + PA) u sledovaných druhů sýrů (mg/kg)**

Druh sýra	Období 0				Období 1			
	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>	n	x	x <sub>min</sub>	x <sub>max</sub>
Čerstvý kozí	3	16,6	11,9	25,7	3	25,6	13,2	43,4
Jarošovský pивní	5	243,6	55,6	360,3	5	231,4	94,5	268,1
Olomoucké. tvarůžky	6	642,7	210	1255	6	874,4	246	2076
Romadur	5	644,2	197,1	1121	5	675,6	197,1	1121
Sedlčanské Romadůžek	3	7,65	5,62	11,33	3	8,21	7,40	9,71
Sedlčanský Pepin	3	9,71	13,6	27	2	26,4	19,9	33
Stříbrňák Camembert	4	11,9	9,92	14,8	3	17,8	9,71	25
p	0,2588							

Přehledné srovnání vybraných skupin BA podle vlivu doby skladování na obsah BA a PA je uvedeno v grafech č. 5,6, 7.

Nejvyšší obsah biogenních aminů (BA 6) v Grafu č. 5) byl naměřen u Olomouckých tvarůžků a Romaduru. U Olomouckých tvarůžků můžeme vidět značný nárůst obsahu biogenních aminů v období 1 oproti období 0. U Stříbrňáků Camembertu a Sedlčanského Romadůžku byly naměřeny oproti ostatním sýrům velmi nízké hodnoty.

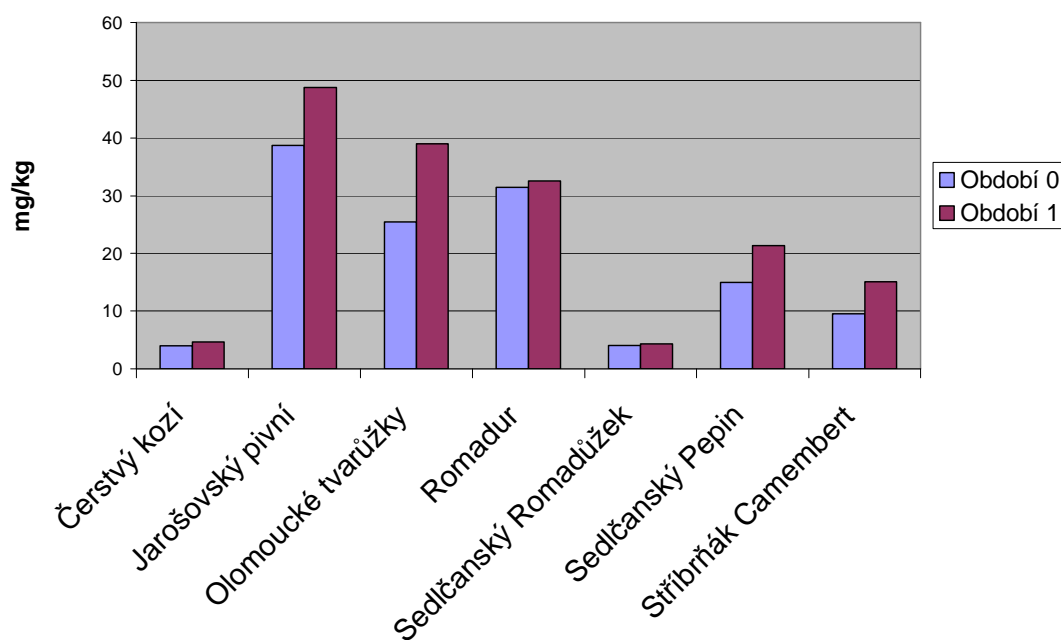
**Graf č. 5. Vliv doby skladování na obsah biogenních aminů (BA 6) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)**



**Pozn.:** BA – biogenní aminy, BA 6 –  $\Sigma$  tryptaminu,  $\beta$ -fenylethylaminu, putrescinu, kadaverinu, histaminu a tyraminu

Nejvyšší hodnoty polyaminů (Graf č. 6) byly zjištěny u Jarošovského pivního sýra v období 0 i v období 1. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u Čerstvého kozího sýru a u Sedlčanského Romadůžku. U těchto dvou sýrů byl nárůst obsahu polyaminů v období 1 oproti období 0 minimální.

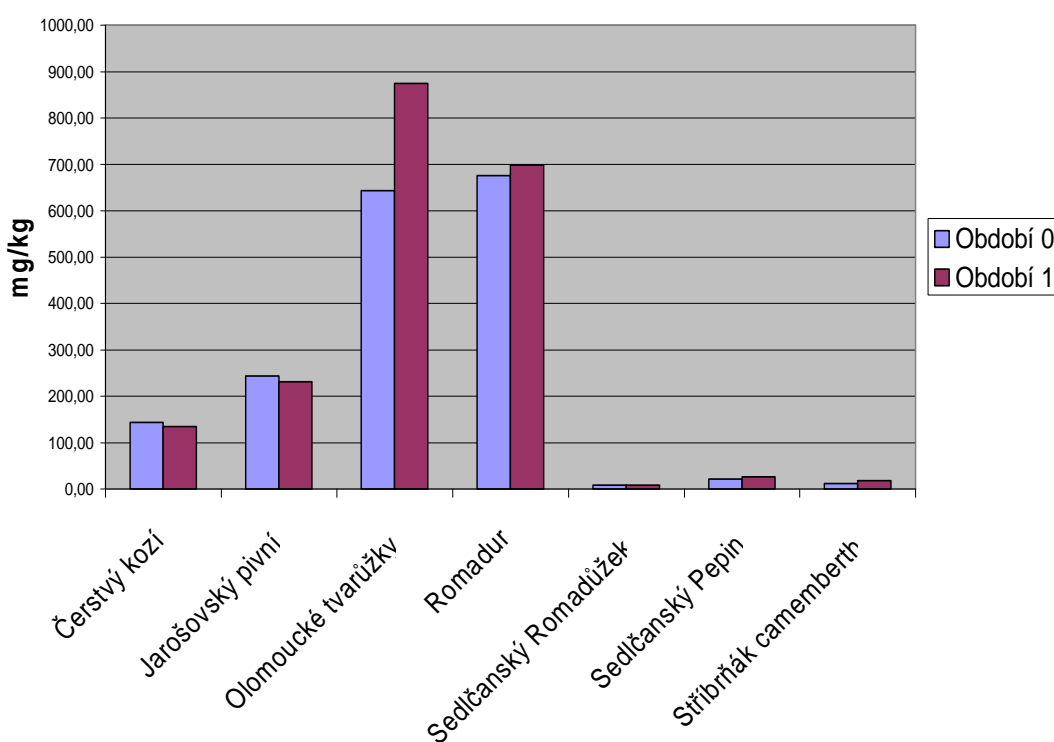
**Graf č. 6: Vliv doby skladování na obsah biogenních polyaminů (PA 2) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)**



**Pozn.:** PA – polyaminy, PA 2 –  $\Sigma$  spermidinu a sperminu

Změny v obsazích BA + PA, které byly naměřeny, můžeme vidět v grafu č. 7. Nejvyšší nárůst obsahu BA + PA byl zaznamenán u Olomouckých tvarůžků. U ostatních sýrů byl růst obsahu BA + PA minimální. U Jarošovského pivního sýra a Sedlčanského Pepina se průměrný obsah BA v období 1 snížil oproti období 0. U čerstvých kozích sýrů a Olomouckých tvarůžků byl použit průměrný obsah ze všech vzorků dané skupiny.

**Graf č. 7: Vliv doby skladování na obsah biogenních aminů a polyaminů (BA +PA) ve sledovaných druzích sýrů (mg/kg)**



**Pozn.:** BA + PA -  $\Sigma$  tryptaminu,  $\beta$ -fenylethylaminu, putrescinu, kadaverinu, histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu

## 5 ZÁVĚR

Biogenní aminy jsou fyziologicky aktivní látky, které se přirozeně vyskytují v potravě. Vysoký obsah těchto látek ovšem může vést ke zdravotním potížím, vzniku alergií, příp. k otravám.

Cílem mé diplomové práce proto bylo zjišťování výskytu biogenních aminů (BA) a polyaminů (PA) ve vybraných druzích zrajících sýrů a sledování obsahu biogenních aminů a polyaminů v den minimální trvanlivosti a týden po uplynutí této doby.

Z BA a PA byly ve sledovaných sýrech zaznamenány nejvyšší obsahy u Olomouckých tvarůžků (802,9 mg/kg). Tuto hodnotu tvořily CAD (286 mg/kg), TYM (217,7 mg/kg), PUT (156,7 mg/kg), HIM (97,6 mg/kg), TRM (12,8 mg/kg) SPD (13,3 mg/kg) a SPM (16,3 mg/kg). Hodnoty naměřených BA a PA se lišily také v závislosti na tvaru zkoumaných vzorků Olomouckých tvarůžků, nejvyšší obsahy byly zjištěny u tyčinek, nejmenší u věnečků. Vysoké obsahy byly zjišťovány také u Romaduru (687,3 mg/kg) a Jarošovského pivního sýra (237,5 mg/kg).

Na druhé straně, nízké hodnoty byly zjištěny u Sedlčanského Romadůžku, kde byla naměřena nejnižší celkový obsah BA (7,93 mg/kg). Biogenní aminy TRM, PEA a HIM nebyly zjištěny vůbec. Ostatní BA byly zjištěny pouze ve stopových množstvích. Za povšimnutí u tohoto sýra a Sedlčanského Pepina stojí nízký obsah CAD, PUT, TYM a HIM oproti ostatním zkoumaným zrajícím sýrům. Nízké hodnoty BA byly naměřeny také u Stříbrňáku Camembertu (14,5 mg/kg), Čerstvého kozího sýru (19 mg/kg) a u Sedlčanského Pepina (23,3 mg/kg).

Vliv druhu sýra na obsah všech BA i jejich skupin byl statisticky významný. Nízké hodnoty naměřené u Sedlčanského Romadůžku a Sedlčanského Pepina mohou být způsobeny odlišnou technologií výroby, neboť v tomto procesu jsou tyto sýry několikrát sprchovány, a díky tomu může docházet k vymývání aminů.

Na základě zjištěných výsledků a dat se nepodařilo statisticky prokázat vliv doby skladování sýrů na nárůst obsahu jednotlivých BA. Z těchto důvodů není konzumace většiny těchto sýrů z hlediska obsahu BA zdravotně závadná ani po uplynutí data minimální trvanlivosti.

Zvýšený obsah BA a PA může být způsoben porušením chladicího řetězce. Správná teplota je velmi důležitá při skladování a přepravě a měla by být cca 5 °C. Důležité je také dodržovat všechny hygienické předpisy při výrobě, balení a distribuci sýrů, ať už na prodejnách či u spotřebitele.

Názory na zdraví škodlivé množství jednotlivých BA i jejich celkového obsahu v potravinách se různí. To může být také důvod absence hygienických norem a zákonů upravujících maximální přípustné množství BA v sýrech. Česká Republika není výjimkou, pro obsah BA v sýrech zde neexistují žádné hygienické limity.

Závěrem lze říci, že pro zdravé konzumenty by překročené limity BA a PA u sledovaných druhů sýrů neměly být zdravotně nebezpečné. Konzumentům s citlivostí na některý BA nebo alergikům může však konzumace těchto sýrů způsobit zdravotní potíže.

## 6 SUMMARY

The aim of this thesis was to determine the content of biogenic amines and polyamines in selected types of cheese and the influence of storage time on the content of biogenic amines. Next goal was to compare our results with the available literature

For the determination of biogenic amines has been used method of high-performance liquid chromatography

Examined cheeses were following: Fresh goat cheese, Olomouc curd cheese, Jarošov beer cheese, Romadur, Sedlčanský Romadůžek, Sedlčanský Pepin a Stříbrňák Camembert.

As exploration of biogenic amines were selected tyramine,  $\beta$ -phenylethylamine, histamine, putrescine, cadaverine, tryptamine, spermidine and spermine.

The results are following. The highest content of biogenic amines was found in Olomoucké curd cheese. The largest share of this value had cadaverine (360,5 mg/kg), putrescine (251 mg/kg), tyramine (196,15 mg/kg) and histamine (101,6 mg/kg). The content of total biogenic amines reached 973.7 mg/kg in sum

High levels were also measured at Romadur (687.3 mg / kg) and Jarošov beer cheese (237.5 mg / kg). Statistical influence of cheese type on biogenic amines content was proved.

The lowest value of biogenic amines were found in Sedlčanský Romadůžek and it was only 7,9 mg/kg in sum. Tryptamine,  $\beta$ -phenylethylamine and histamine were not presented at all.

The highest difference in the growth of the content of the biogenic amines, depending on storage time was found in Olomouc curd cheese.

Influence of the storage time was not statistically proved in my thesis.

**Keywords:** Cheese, Biogenic amines, HPLC, tryptamine,  $\beta$ -phenylethylamine, tyramine, histamine, putrescine, cadaverine, spermine, spermidine.



## 7 SEZNAM LITERATURY

1. Bardócz, S. (1993): The role of dietary polyamines. *European J. of Clinical Nutrition*, 47, s. 683-690.
2. Blackwell, B. (1963): Hypertensive crises due to monoamine oxidase inhibitors. *Lancet*, 2, s. 849-851.
3. Černý, V., Křížek, M., Kvasničková, E., Havlíková, Š. (2005): Výskyt biogenních amínů v sýrech. *Celostátní přehledky sýrů 2005*. 1. vydání. Praha: Česká společnost chemická, 2005. s. 53-55.
4. Dadáková, E., Křížek, M. and Pelikánová, T. (2009): Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*, 116, s. 365-370.
5. Degheidi, M. A., Errat, B. A. and Shalaby, A. R. (1992): Development of some biogenic amines during Ras cheese ripening with special reference to different starters. *Proc. 5th Egyptian Conf. Dairy Science and Technology*, s. 205-217
6. Diaz-Cinco, M. E., Fraijo, C., Grajeda, P., Lozano-Taylor, J. and Gonzalez de Mejia, E. (1992): Microbial and chemical analysis of Chihuahua cheese and relationship to histamine. *J. of Food Science*, 57, s. 355-356.
7. Dičáková, Z., Dudriková, E. (2007) Is it correlation between putrefaction factors and putrescine presence in cheese. *Hygiene Alimentorum*, 28, p. 138 – 148.
8. Eitenmiller, R. R., De Souza, S. (1984): Enzymatic mechanisms for amine formation in fish, In *Seafood Toxins*. American Chemical Society, Washington, DC.
9. Edwards, S. T., Sandine, W. E. (1981): Public health significance of amines in cheese. *J. of Dairy Science*, 64, ISSN 19812431-2438.
10. Joosten, H. M. L. G. (1988): Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 3. Factors influencing the amount formed. *Netherlands Milk Dairy J.*, 42, s. 329-357.

11. Joosten, H. M. L. G., Olieman, C. (1986): Determination of biogenic amines in cheese and some other food products by high-performance liquid chromatography in combination with thermosensitized reaction detection. *J. of Chromatography A*, 356, s. 311-319.
12. Joosten, H. M. L. G., Northolt, M. D. (1989): Detection, growth, and amine-producing capacity of lactobacilli in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, s. 2356 - 2359.
13. Kalač, P., Krausová, P. (2005): A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90, s. 219-230.
14. Kalač, P., Křížek, M. (2002): Biogenní aminy a polyaminy v potravinách. *Výživa a potraviny*, 1, s. 12-13.
15. Křížek, M., Kalač, P. (1998): Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. *Czech J. of Food Science*, 16, s. 151-159.
16. Křížek, M. (2010): Biogenní aminy v potravinách. *Sborník Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin - "Ingrový dny"*, 36, s. 11-17.
17. Komprda, T., Smělá, D., Novická, K., Kalhotka, L., Šustová, K., Pechová, P. (2007): Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food Chemistry*, 102, s. 129-137.
18. Lovenberg, W. (1973): Some vaso- and psychroactive substances in food: amines stimulates depressants and hallucinogens. In *Toxicants Occurring Naturally in Foods. National Academy of Science*, Washington, DC.
19. Ladero, V., Fernández, M., Alvarez, M. A. (2009): Effect of post-ripening processing on the histamine and histamine-producing bacteria contents of different cheeses. *Int. Dairy J.*, 19, s. 759 – 762.
20. Novella-Rodríguez, S., Veciana-Nogués, M. T., Roig-Sagués, Trujillo-Mesa, A. J., Vidal-Carou, M. C. (2002): Influence of Starter and Nonstarter on the Formation of Biogenic Amine in goat Cheese During Ripening. *J. of Dairy Science*. Vol. 85 (10):s. 2471-2478.
21. Nout, M. J. R. (1994): Fermented foods and food safety. *Food Research Int.*, 27, s. 291.

22. Silla-Santos, M. H. (1996): Biogenic amines: their importance in foods. *International J. of Food Microbiology*, 29: s. 213-231.
23. Shalaby, Ali R. (1996): Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research Int.*, 29, s. 675-690.
24. Spanjer, M. C. and Van Roode, B. A. S. W. (1991): Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese, and sauerkraut. *De Ware(n)-Chemicus* 21, s. 139-167.
25. Soll, A. H. and Wollin, A. (1977): The effects of histamine prostaglandin Es, and secretin on cyclic AMP in separated canine fimidic mucosal cells. *Gastroenterology*, 72, s. 1166.
26. Stratton, J. E., Hutkins, R. W., Taylor, S. (1991): Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review. *J. of Food Protection* , 54, s. 460-470.
27. Standarová, E., Vorlová, L., Kordiovská, P., Janštová, B., Dračková, M., Borkovcová, I.(2010): Biogenic Amine Production in Olomouc Curd Cheese (Olomoucké tvarůžky) at Various Storage Conditions. *Acta Veterinaria Brno.* 79, s. 147–156.
28. Sarkadi, S., Hodosi E. (1995): Determination of biogenic amine in food using amino acid analyzer. *Proc. European Food Chemistry VIII*, 2, s. 486-489.
29. Tawfik, N. F., Shalaby, A. R. and Effat, B. A. (1992): Biogenic amine contents of ras cheese and incidence of their bacterial producers. *Egypt. J. of Dairy Science*, 20, s. 219-225.
30. Taylor, S. L. (1986): Histamine food poisoning: Toxicology and clinical aspects. *Critical Reviews on Toxicology*, 17, s. 91-128.
31. Taylor, S. L., Hui, J. Y. and Lyous, D. E. (1984): Toxicology of scombroid poisoning. in *Seafood Toxins. ACS Symp.*, 262. s. 417.
32. Taylor, S. L, Sumner, S. S., Speckhard, M. W., Somers, E. B. (1985): Isolation of histamine-producing *Lactobacillus buchneri* from Swiss cheese implicated in a food poisoning outbreak. *Appl. Environ. Microbiology.*, 50, s. 1094 -1096.

33. Ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H. M. L. J., and Huisin't Veld, J. H. J. (1990): Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. of Food Microbiology*, 11, s. 73–84
34. Wolf, M. E. and Mosnaim, A.D. (1983): Phenylethylamine in neuropsychiatric disorders. *General Pharmacology*, 14, s. 385–390
35. Vyletělová, M. (2008): Bakterie v mléce a biogenní aminy, *Výrobní zemědělská praxe a potravinářské biotechnologické úpravy pro zvýraznění pozitivních zdravotních vlivů mléka a mléčných výrobků*. 1. vyd. s. 17 - 22.