

PROHLÁŠENÍ

Diplomová práce s názvem „**Obsah biologicky aktivních aminů v průběhu skladování u vybraných druhů zrajících sýrů**“ (Content of biogenic amines and polyamines during storage in some ripening cheese) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v červnu 2020 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

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



.....
doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.
vedoucí diplomové práce



.....
Bc. Simona Hybšová
autor diplomové práce

V Českých Budějovicích

21. dubna 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Kvalita zemědělských produktů

Katedra: Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Obsah biologicky aktivních aminů v průběhu skladování
u vybraných druhů zrajících sýrů

Content of biogenic amines and polyamines during storage
in some ripening cheeses

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.

Konzultant diplomové práce:

doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.

Autor: Bc. Simona Hybšová

České Budějovice, 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Simona HYBŠOVÁ
Osobní číslo:	Z18156
Studijní program:	N4101 Zemědělské inženýrství
Studijní obor:	Kvalita zemědělských produktů
Téma práce:	Obsah biologicky aktivních aminů v průběhu skladování u vybraných druhů zrajících sýrů
Zadávací katedra:	Katedra potravní biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Zásady pro vypracování

Biologicky aktivní aminy (BA) a polyaminy (PA) vznikají dekarboxylací aminokyselin a mají řadu fyziologických účinků na organismus člověka. Ve fermentovaných potravinách, kam patří i zrající sýry, se vyskytují jako přirozená složka v důsledku proteolytického rozkladu při zrání a jejich výskyt závisí na řadě faktorů, mj. i na délce skladování.

Cílem diplomové práce bude stanovení biogenních aminů a polyaminů v sýrech s mazovou kulturou (např. Olomoucké tvarůžky) a posouzení jejich obsahu v průběhu skladování.

Diplomová práce bude součástí projektu GA JU 028/2019/Z a bude vypracována na základě pokynů (http://www.zf.jcu.cz/studium/dokumenty-studijnihoo-oddeleni/informace-pro-studujici/Jak_vypracovat_DP.pdf/view) 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, příp. návrhy a doporučení vyplývající z dané problematiky
6. Summary – přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
7. Seznam literatury – jednotný, podle platných citačních zásad

Rozsah pracovní zprávy: 35-40 stran textu
Rozsah grafických prací: 10-15 stran (tabulky, grafy)
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- Kalač P. a Glória M.B.A.: Biogenic amines in cheeses, wines, beers and sauerkraut. In Dandriofosse, 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.
- Kalač P. a Krausová P. (2005): A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. Food Chem., 90: 219-230.
- Linares D.M. (2012): Factors influencing biogenic amines accumulation in dairy products Frontiers In Microbiology, 3: 180.
- Zuljan F.A. et al.: (2016): Lactic acid bacteria decarboxylation reactions in cheese. Int. Dairy J., 62: 53-62.
- Databáze WOS, CASLIN, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, PROQUEST, dostupné na www: <http://www.lib.jcu.cz/>
- Dokumenty, publikace a informace na internetových portálech <http://www.vyzivaspol.cz/>, <http://www.foodnet.cz/>, www.agronavigator.cz, www.mze.cz a www.czso.cz; dále odborné publikace v časopisech Výživa a potraviny, Mlékařské listy 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: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.
Katedra potravní biotechnologie a kvality zemědělských produktů

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

Datum zadání diplomové práce: 11. března 2019
Termín odevzdání diplomové práce: 15. dubna 2020

V Českých Budějovicích dne 11. března 2019

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 1888, 370 05 České Budějovice

prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

L.S.

Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
vedoucí katedry

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JČU elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích, 21. dubna 2020

Podpis: Bc. Simona Hybšová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala své vedoucí práce doc. Ing. Evě Samkové, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení a veškerý čas, který mi věnovala při zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat paní doc. Ing. Evě Dadákové, Ph.D a paní Ing. Tamaře Pelikánové za odbornou konzultaci zpracované problematiky. Děkuji také své rodině a partnerovi za morální podporu během studia.

Diplomová práce byla vypracována s podporou projektu GA JU 028/2019/Z.

Obsah

1	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1	Biogenní aminy a polyaminy	9
1.1.1	Vznik a reakce biogenních aminů a polyaminů	11
1.1.2	Výskyt biogenních aminů a polyaminů.....	13
1.1.3	Biologické účinky biogenních aminů a polyaminů.....	14
1.2	Faktory ovlivňující výskyt biogenních aminů a polyaminů	17
1.2.1	Mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou.....	17
1.2.2	Podmínky skladování	21
1.2.3	Vlastnosti produktů (sýra).....	21
1.3	Olomoucké tvarůžky.....	22
1.3.1	Charakteristika Olomouckých tvarůžků.....	22
1.3.2	Technologie výroby Olomouckých tvarůžků.....	23
1.4	Metody stanovení biogenních aminů a polyaminů.....	25
2	SEZNAM LITERATURY	31

Následující pasáž Úvod o rozsahu 1 strany 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.

1 LITERÁRNÍ PŘEHLED

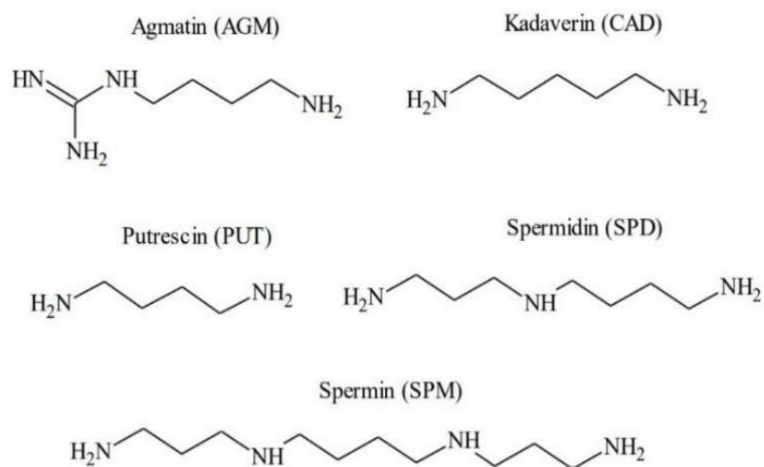
2.1 Biogenní aminy a polyaminy

Biogenní aminy jsou organické sloučeniny dusíku, které vznikají dekarboxylací aminokyselin během metabolických procesů (Erdag et al., 2019). Tyto sloučeniny jsou přítomny v rostlinných buňkách, kde plní biologické funkce alkaloidů, v živočišných buňkách, kde plní funkce tkáňových hormonů, případně i v mikrobiálních buňkách (Velíšek a Hajšlová, 2009). Vyskytují se také téměř v každé potravíně, která obsahuje určité množství volných aminokyselin nebo proteinů a podléhá mikrobiální aktivitě (Křížek, 1998). Obzvláště důležitá je kontrola fermentovaných potravin, u kterých masivní mikrobiální proliferace potřebná pro získání specifických produktů často souvisí s nadměrnou akumulací biogenních aminů a následným dopadem na lidské zdraví (Gardini a Özogul, 2016). Mezi nejdůležitější biogenní aminy patří jak z kvantitativního, tak i kvalitativního hlediska histamin, tyramin, putrescin, kadaverin a 2-fenylethylamin (Spano, 2010). Většina těchto biogenních aminů je páchnoucích, toxických a karcinogenních. Způsobuje tak závratě, mdloby, bolesti hlavy, bušení srdce, pálení sliznice nebo podráždění očí (Özogul a Özogul, 2019).

Polyaminy byly původně řazeny mezi biogenní aminy, dnes jsou oddělenou zvláštní skupinou vzhledem ke svým specifickým biologickým funkcím v eukaryotických buňkách. Mezi polyaminy řadíme spermin, spermidin a putrescin (Kalač a Krausová, 2005). Vyskytují se ve všech typech potravin v široké škále koncentrací. Zatímco spermin a spermidin je přirozenou součástí potravy, putrescin může být i mikrobiálního původu (Muñoz-Esparza et al., 2019).

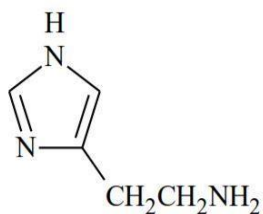
Na základě chemické struktury lze biogenní aminy a polyaminy dělit na alifatické (Obrázek 1), heterocyklické (Obrázek 2) a aromatické (Obrázek 3) (Matouš, 2010).

Obrázek 1: Alifatické biogenní aminy (Matouš, 2010)

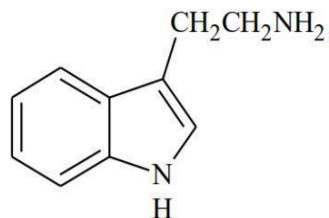


Obrázek 2: Heterocyklické biogenní aminy (Matouš, 2010)

Histamin (HIS)

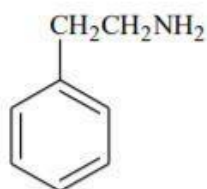


Tryptamin (TRYP)

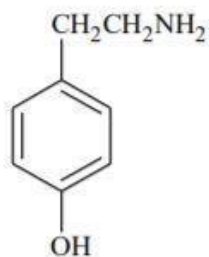


Obrázek 3: Aromatické biogenní aminy (Matouš, 2010)

Fenylethylamin (PEA)



Tyramin (TYR)



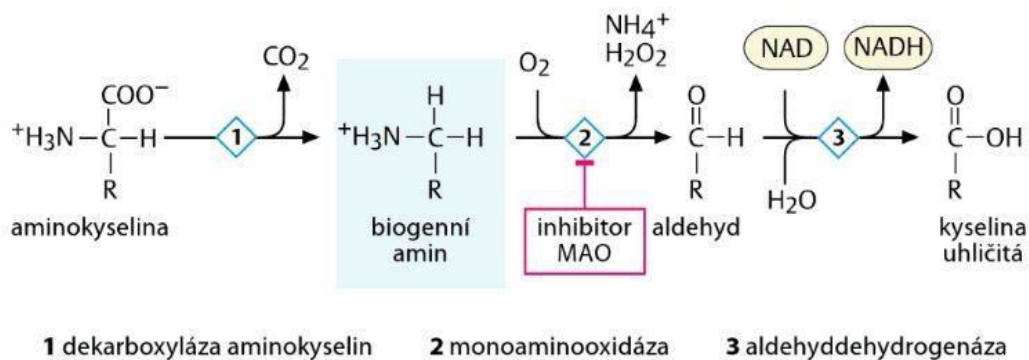
1.1.1 Vznik a reakce biogenních aminů a polyaminů

Základní podmínky pro vznik biogenních aminů jsou:

- dostupnost volných aminokyselin
- přítomnost mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou
- podmínky umožňující bakteriální růst, syntézu a aktivitu dekarboxylázy

Proces výroby sýrů poskytuje ideální podmínky pro tvorbu biogenních aminů, kdy dochází v surovině během výroby a při procesu zrání k degradaci kaseinu. Volná aminokyselina je následně dekarboxylována mikrobiálními dekarboxylázami na biogenní amin, kdy dochází k odbourání α -karboxylové skupiny za vzniku oxidu uhličitého. Amin může případně vznikat aminací nebo transaminací aldehydů a ketonů (Obrázek 4) (Doeun, 2017; Erdag; 2019; Özogul a Özogul, 2019).

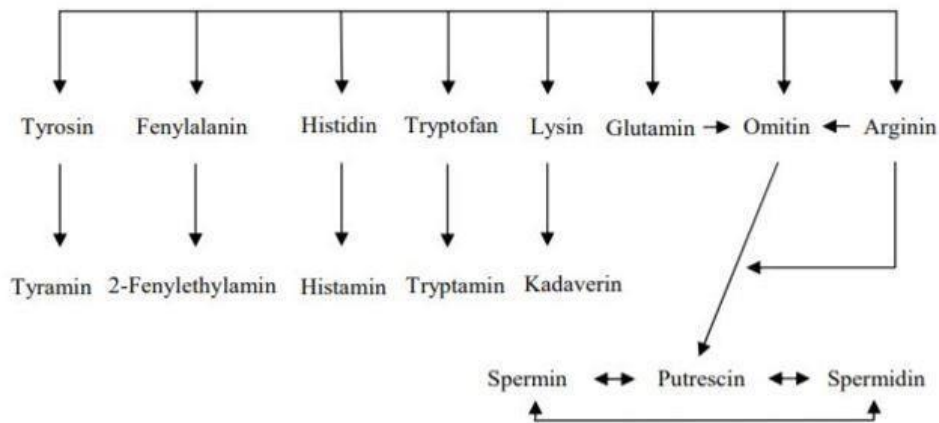
Obrázek 4: Obecný vzorec dekarboxylace aminokyselin (Koolman a Rohm, 2012)



Následná inaktivace biogenních aminů pokračuje po deaminaci následnou oxidací na aldehydy pomocí mitochondriálního enzymu monoaminoxidázy (MAO), katalyzující oxidační rozklad monoaminů, případně enzymu diaminoxidázy (DAO), katalyzující v tenkém střevě oxidační rozklad polyaminů a histaminu na odpovídající karboxylové kyseliny (Koolman a Röhms, 2012; Young Ji, 2013; Finberg a Rabey, 2016).

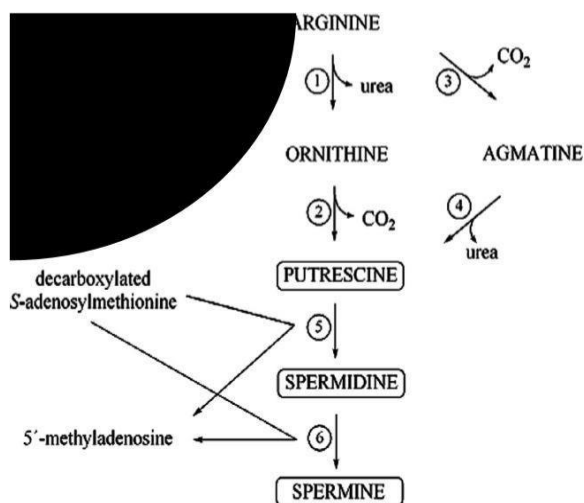
Názvy mnoha biogenních aminů odpovídají jménům původních aminokyselin, tyramin je odvozený od tyrosinu, histamin od histidinu, agmatin od argininu, 2-fenylethylamin od 2-fenylalaninu a tryptamin od tryptofanu (Obrázek 5) (Özogul a Özogul, 2019).

Obrázek 5: Vznik biogenních aminů (Ruiz-Capillas a Jiménez-Colmenero, 2004)



Polyaminy spermin, spermidin a putrescin jsou syntetizovány pomocí prekursoru argininu. Arginin je přeměňován enzymem arginázou na L-ornitin, který je následně dekarboxylován enzymem ornitin dekarboxylázy za vzniku putrescinu. Putrescin může být za přítomnosti dekarboxylovaného S-adenosylmethioninu pomocí spermidin syntázy přeměňován na spermidin. Vzniklý spermidin může být dále metabolizován za přítomnosti S-adenosylmethioninu na spermin (Obrázek 6) (Koukolík, 2010; Kalač, 2014).

Obrázek 6: Zjednodušené schéma biosyntézy polyaminů (Kalač, 2014)



1.1.2 Výskyt biogenních aminů a polyaminů

Biogenní aminy se vyskytují v široké škále potravin, které obsahují bílkoviny nebo volné aminokyseliny. V nízkých koncentracích se tak mohou vyskytovat přirozeně v ovoci, zelenině, mase, mléce nebo rybách (Özogul a Üren, 2013; Gardini, 2016). Nicméně koncentrace biogenních aminů se v těchto nefermentovaných potravinách může ještě navýšit, zejména v důsledku řady technologických kroků při zpracování nebo skladování potravin. Nesprávnou manipulací tak může dojít k vnější kontaminaci mikroorganismy, které produkují vysoké koncentrace biogenních aminů, zejména z důvodu špatně zvolených teplot nebo nevyhovujících podmínek při skladování (Ordóñez a Callejón, 2019).

Sloučeniny biogenních aminů a polyaminů jsou ve vysokých koncentracích přítomny především u fermentovaných potravin. Příčinou jsou mikroorganismy, které se v potravinářských produktech vyskytují přirozeně, vlivem kontaminace nebo se do potravin přidávají formou startovacích kultur za účelem zlepšení technologických a senzorických vlastností. Mnoho studií se zaměřilo zejména na bakterie mléčného kysání (BMK), které jsou nezbytnou součástí startovacích kultur, podílí se na proteolýze a v případě akumulace mohou působit toxicky v závislosti na citlivosti jedince (Černý et al., 2009; Gardini, 2016; Barbieri, 2019). Pokud jde o fermentované mléčné produkty, fermentovaná mléka a jogurty jsou akumulaci biogenních aminů vystaveny méně kvůli jejich krátké době zpracování a skladování, a v mléce se vyskytují spíše polyaminy. Naopak sýry obsahují potenciálně škodlivé hladiny biogenních aminů, kdy se koncentrace těchto aminů v různých typech, dokonce i mezi stejnými typy sýrů, může lišit (Tabulka 1) (Linares et al., 2011; Linares et al., 2012; Benkerroum, 2016).

Tabulka 1: Obsahy biogenních aminů ve vzorcích sýrů v mg/kg (EFSA, 2011)

	Histamin	Tyramin	Putrescin	Kadaverin	Celkem
Čerstvý sýr	3,2 – 38	12,8 – 48	5,5 – 41	10,7 – 45	32,1 – 172
Tvrký sýr	25 – 65	67,1 – 103	26,6 – 65	47,8 – 83	167 – 318
Zrající sýr	8,5 – 54	31,6 – 76	32,3 – 72	147 – 186	220 – 388
Sýr s modrou plísní	21,3 – 63	63,2 – 10	20,9 – 62	83,1 – 12	188 – 351
Kyselý tvaroh	51,3 – 55	335	449	628	1460
Jogurt	0,5	1,9	0,7	3,2	6,3

1.1.3 Biologické účinky biogenních aminů a polyaminů

Biogenní aminy plní v organismu člověka řadu důležitých biologických funkcí, představují první krok syntézy bílkovin, hormonů a nukleových kyselin.

Polyaminy spermin, spermidin a putrescin udržují normální střevní funkci a podílí se na správné metabolické aktivitě (Erdag et al., 2019). Dále se podílí na růstu buněk, tkání a orgánů, mají protizánětlivé a antioxidační účinky a hrají tak významnou roli v prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Ačkoli neexistuje žádné doporučení pro jejich denní příjem, ve stádiích rychlého růstu buněk (tj. novorozeneckém období) jsou požadavky na polyaminy vysoké. Potraviny jsou proto velmi důležitým zdrojem, neboť endogenní syntéza s věkem klesá (Muñoz - Esparza, 2019).

Na druhé straně může mít vyšší množství biogenních aminů negativní účinky. V průběhu proteolýzy působením proteáz kvašených kultur, syřidlových enzymů a kontaminující mikroflóry může při procesu zrání sýrů vznikat toxické množství biogenních aminů (Černý et al., 2009). Histamin a tyramin jsou nejznámějšími biogenními aminy s psychoaktivními účinky, které působí jako neurotransmitery a / nebo vazoaktivními účinky, kdy působí přímo nebo nepřímo na oběhový systém jako vazokonstriktory (tyramin) nebo vazodilatátory (histamin). Výsledný efekt na krevní oběh závisí na jejich kombinaci a dávce. Pokud jde o putrescin a kadaverin, mají samy o sobě nízké toxické účinky, mohou ale zesilovat účinky histaminu a tyraminu (Tabulka 2) (Kalač et al., 1999; Kalač, 2002; Gloria, 2003; Gardini et al., 2016).

Tabulka 2: Toxické účinky aminů (Chaidoutis et al., 2019)

Amin	Účinek	Toxická dávka (mg)
Tyramin	bolest hlavy, horečka, hypertenze, zvracení, pocení	10 – 80
Histamin	kapilární dilatace, hypotenze, nevolnost, zvracení, zarudnutí obličeje, otok rtů, intenzivní bolest hlavy, žíznivost, anafylaxe	70 – 1000
Putrescin a kadaverin	zvýšená srdeční činnost, tachykardie, hypotenze, karcinogenní účinky	29,5 – 35,6
Tryptamin	bolest hlavy, horečka, hypertenze, zvracení, pocení	-

Podobné toxické dávky, které jsou uvedeny v tabulce 2, udává i studie Komprdy (2005), kdy se liší pouze toxickou dávkou pro histamin (do 100 mg/kg). Obě studie se shodují na celkovém obsahu tyraminu, histaminu, putrescinu a kadaverinu, který by neměl překročit hranici 900 mg/kg. V současné době ale není právní předpis limitující množství biogenních aminů v sýrech s výjimkou histaminu v rybách, kde je stanoven limit zákonem o potravinách podle vyhlášky 305/2004 Sb. v množství 100 mg/kg (ASPI, 2004; Komprda, 2005; Černý et al., 2009; Chaidoutis et al., 2019).

Rizika intoxikace jsou nejčastěji spojována s toxickými dávkami histaminu a tyraminu, neboť tyto aminy jsou pokládány za nejjedovatější (Křížek, 1995). Kalač a Křížek (2005) dále uvádějí hodnotu pro tyramin nad 100 mg/kg, kdy by množství mohlo vyvolávat migrény. V případě histaminu uvádějí množství 8 – 40 mg/kg, která by mohla přivodit lehkou otravu, případně střední otravu v množství 40 – 100 mg/kg a hodnota nad 100 mg/kg histaminu, která by mohla přivodit těžké intoxikace. V trávicím ústrojí je tyramin odbouráván enzymy MAO, histamin enzymy DAO (Young Ji, 2013). Při perorálním podání aminů je míra ohrožení dána okamžitou kondicí organismu, zejména však geneticky podmíněnou koncentrací enzymů v trávicím ústrojí (Křížek, 1995).

➤ **Tyraminová reakce**

V případě nadbytku tyraminu v organismu dochází k tzv. sýrové reakci. Tyramin je výchozím substrátem enzymu MAO. Tento enzym se podílí na oxidační deaminaci tyraminu. Problém nastává zejména při užívání inhibitorů monoaminoxidáz (MAOI), které inhibují účinek enzymu, a s následným vyšším příjmem tyraminu obsaženým ve zrajících sýrech, dochází k hypertenzním krizím. Příznakem je tak v případě užívání antidepresiv neustupující bolest hlavy, vysoký krevní tlak, bušení srdce, nauzea, průjem nebo krvácení do mozku (Wöhrl et al., 2003; Rao a Yeragani, 2009; Finberg a Rabey, 2016).

➤ **Histaminová intolerance**

Nadbytek histaminu se může projevit histaminovou intolerancí, kterou trpí přibližně 1 % populace, ze které je 80 % jedinců středního věku. Často bývá histaminová intolerance

špatně interpretována a zaměňována s alergickou reakcí, s níž má řadu shodných symptomů. Histaminová intolerance je důsledek vzniku nerovnováhy nahromaděného histaminu v těle (Maintz a Novak, 2007). Tento nepoměr je způsoben především sníženou aktivitou enzymu DAO (Schnedl et al., 2019), a v případě jejího nedostatku a / nebo snížené aktivity je histamin přijatý potravou metabolizován mnohem pomaleji, hromadí se v těle a přes střevní sliznici proniká do oběhového systému. Častým důsledkem snížené aktivity DAO je užívání léčiv inhibitorů diaminoxidáz (DAOI) (Tabulka 3).

Tabulka 3: Diaminoxidáza inhibitory - nejznámější léky tlumící účinky DAO (Fuchs, 2011)

Léky tlumící účinky DAO	
Cimetidin	H2 blokátor – paradoxně blokuje druhý histaminový receptor
Expektorancia	N-acetyl-cystein (ambroxol)
Narkotika	thiopental
Opiáty	morfin, pethidin aj.
Analgetika	kyselina acetylsalicylová, NSAID (nesteroidní protizánětlivé léky), metamizol
Antihypotenziva	dobutamin
Antihypertenziva	např. verapamil, dihydralazine, alprenolol
Antiarytmika	propafenon
Diuretika	amilorid
Antibiotika	cefalosporiny, kyselina klavulanová
Cytostatika	cyklofosamid
Antidepresiva, antiparkinsonika	amitriptylin, inhibitory monoaminoxidázy (MAO)

S následným vyšším příjmem histaminu v důsledku konzumace zrajících sýrů, které mohou obsahovat až do 500 mg/kg histaminu, se mohou projevit příznaky doprovázené průjmami, hypotenzí, bolestmi hlavy, svěděním a návaly horka (Wöhrl et al., 2003; Kábrt, 2020). Řešením je orální podávání doplňků DAO. Tyto doplňky jsou připraveny z ledvin prasat, přímo navržených pro léčbu intolerance histaminu (Schnedl et al., 2019).

1.2 Faktory ovlivňující výskyt biogenních aminů a polyaminů

1.2.1 Mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou

Nezbytnou podmínkou přítomnosti a akumulace biogenních aminů ve fermentovaném mléčném výrobku je přítomnost mikroorganismů (Linares et al., 2012), které produkují substrátově specifické enzymy a dekarboxylují tak odpovídající aminokyseliny. Mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou mohou pocházet ze startérových kultur, případně mohou být přítomny v důsledku kontaminace (Burdychová a Komprda, 2007). Nejstudovanějšími dekarboxylázami je histidin dekarboxyláza (HDC), tyrosin dekarboxyláza (TDC) a lysin dekarboxyláza (LDC) produkované bakteriemi, které jsou kódovány geny *hdcA*, *tdcA* a *cadA*. Tyto geny se podílejí na dalších krocích procesu tvorby biogenních aminů, jako je transport a aktivace enzymů (Benkerroum, 2016). Produkce biogenních aminů se zdá být tak spíše závislá na kmeni než na bakteriálním druhu (Buňková et al., 2009).

Prospěšné mikroorganismy (Bakterie mléčného kysání)

Bakterie mléčného kysání mohou být součástí mikrobioty mléka, mohou být přítomné v důsledku kontaminace mléka během jeho získávání či zpracování a jsou také významnou součástí startovacích kultur (Özogul a Özogul, 2019), kde slouží ke zlepšení technologických a senzorických vlastností sýrů. Významnou vlastností bakterií mléčného kysání je především fermentace laktózy na kyselinu mléčnou za snížení pH hodnoty (Barbieri et al., 2019).

Mezi významné producenty biogenních aminů v sýrech patří většinou bakterie mléčného kysání rodu *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Streptococcus*. Tyto bakterie jsou považovány za hlavní producenty histaminu a tyraminu (Linares, 2012), ale mají vliv i na produkci kadaverinu, agmatinu, včetně polyaminů putrescinu, sperminu a spermidinu (Buňková et al., 2009).

Pokud se jedná o bakterie mléčného kysání, které se vyskytují již v mléce, jedná se o bakterie rodu *Enterococcus*, která je spojována zejména s produkcí tyraminu. Mezi nejběžnější druhy, které se v mléce vyskytují, patří *Enterococcus faecium*, *E. durans* a *E. faecalis* (Barbieri, et al., 2019). Kalhotka et al. (2012) testovali dekarboxylázovou aktivitu enterokoků z kozího mléka, a zjistili, že všechny testované kmeny *Enterococcus mundtii*, *E. faecium* a *E. durans* vykazovaly aktivitu tyrosinové i argininové dekarboxylázy.

Při výrobě Olomouckých tvarůžků se mohou bakterie mléčného kysání uplatňovat ale i jako součást zákysu při výrobě průmyslového tvarohu (Tabulka 4) (Strmiska, 1991), kde později vykazují proteolytickou aktivitu během procesu zrání (Gandhi, 2006).

Tabulka 4: Charakteristika mlékařských kultur a biogenních aminů, které produkují (Gandhi, 2006; Barbieri et al., 2019)

Kultura	Optimální teplota	Bakterie mléčného kysání	Biogenní aminy
Smetanová kultura	20 - 30 °C	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i> <i>Leuconostoc lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	tyramin putrescin 2-fenylethylamin
Termofilní kultura	37 - 45 °C	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	histamin tyramin kadaverin putrescin

Bakterie *Lactobacillus helveticus*, *Lbc. buchneri* a *Lbc. curvatus* jsou odpovědné za akumulaci biogenních aminů. Některé specifické kmeny *Lbc. buchneri* a *Lbc. parabuchneri* mohou produkovat vysoké hladiny histaminu, a to i při chladničkové teplotě. Několika autory byly ze vzorků sýrů izolovány kmeny bakterie *Lbc. brevis* schopné produkce tyraminu. U dvou kmenů bakterie *Lbc. paracasei* a *Lbc. curvatus* subsp. *curvatus* byla schopnost produkce tyraminu v mléčném výrobku během 90 dnů zrání až do výše 200 mg/kg. Některé kmeny bakterie *Lbc. brevis* a *Lbc. curvatus* jsou schopny produkce jak tyraminu, tak i putrescinu.

Rovněž s vybranými kmeny bakterie *Leuconostoc* jsou spojovány vysoké hladiny biogenních aminů, zejména tyraminu a 2-fenylethylaminu. Ze sýra izolovaný kmen bakterie *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* dokázal kromě produkce výše zmíněných aminů i schopnost produkce putrescinu a kadaverinu.

Dalším významným rodem bakterií mléčného kysání je rod *Lactococcus*, který je podstatnou součástí startérové kultury, zejména druhy *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* a *Lc. lactis* subsp. *cremoris*. Některé kmeny (*Lc. lactis* subsp. *lactis* a *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) jsou spolu s bakteriemi *E. faecalis*, *E. hirae*, *Lbc. brevis* a *Lbc. curvatus* hlavními producenty putrescinu.

Bakterie *Streptococcus thermophilus* se obvykle vyskytuje v hojném množství v prvních krocích výroby sýra, akumulace biogenních aminů během skladování je ale v případě této bakterie zanedbatelná (Barbieri et al., 2019).

➤ **Mazová kultura**

Mazová kultura je směsná kultura bakterií a kvasinek tvořená aerobními bakteriemi *Brevibacterium linens*, *Micrococcus roseus* a kvasinkami *Torulopsis candida*, *Kluyveromyces lactis* a *Candida utilis*. Kultura se nanáší tzv. omýváním sýrů, kdy se po nasolení sýrů 5% roztokem soli mazová kultura rozstříkuje ve formě vodní suspenze (Görner a Valík, 2004). *Brevibacterium linens* je jednou z nejvýznamnějších grampozitivních bakterií, která se v procesu výroby sýrů nanáší na povrch a způsobuje oranžové zabarvení spolu s typickou vůní (Motta a Brandelli, 2002). Podle studie Leuschnera et al. (1998) byl po inokulaci sýra touto bakterií zjištěn během 4 týdnů zrání nižší obsah histaminu a tyraminu, a to až o 55-70 %.

Kontaminující mikroorganismy

Mezi kontaminující mikroorganismy mléka patří bakterie, kvasinky a plísně, u nichž je obecně produkce biogenních aminů dána specifickou charakteristikou kmene se silnou variabilitou v aminobiogenetickém potenciálu mezi různými kmeny, které patří do stejného druhu (Barbieri, 2019).

Významnými producenty biogenních aminů jsou gramnegativní bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, kam patří skupina koliformních bakterií *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, nebo *Serratia* spp., které jsou schopné spolu s gramnegativní bakterií *Pseudomonas* produkce histaminu, putrescinu nebo kadaverinu v důsledku nedostatečné hygieny během zpracování (Linares, 2012).

Grampozitivní bakterie *Staphylococcus* a *Bacillus* spp. jsou vedle bakterií mléčného kysání nejvýznamnějšími producenty histaminu a tyraminu (Linares et al. 2012; Barbieri et al., 2019).

Podle studie Bockelmann (1999) jsou nejčastěji detekovanými kvasinkami na povrchu sýrů zrajících pod mazem *Debaromyces hansenii* a *Geotrichum candidum*, které jsou včetně kvasinky *Yarrowia lipolytica* schopny produkce biogenních aminů (Tabulka 5) (Linares et al., 2012).

Tabulka 5: Kontaminující mikroorganismy produkující biogenní aminy v mléčných produktech (Linares et al., 2012)

Biogenní amin	Mikroorganismy	
Histamin	Plísně a kvasinky	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Geotrichum candidum</i>
	Gramnegativní	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Morganella morganii</i>
	Grampozitivní	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>Lbc. curvatus</i> , <i>Lbc. helveticus</i> , <i>Lbc. parabuchneri</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
Tyramin	Plísně a kvasinky	<i>Yarrowia lipolytica</i>
	Grampozitivní	<i>Enterococcus casseliflavus</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. hirae</i> , <i>Lbc. brevis</i> , <i>Lbc. curvatus</i> , <i>Lactococcus lactis</i>
Putrescin	Plísně a kvasinky	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i>
	Gramnegativní	<i>Enterobacteriaceae</i>
	Grampozitivní	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. hirae</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lbc. curvatus</i> , <i>Lactococcus lactis</i>
Kadaverin	Plísně a kvasinky	<i>Yarrowia lipolytica</i>
	Gramnegativní	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Halomonas sp.</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Pseudomonas putida</i>
Tryptamin	Gramnegativní	<i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i>
2-fenylethylamin	Plísně a kvasinky	<i>Yarrowia lipolytica</i>
	Gramnegativní	<i>Halomonas</i> , <i>Serratia</i>
	Grampozitivní	<i>Enterococcus</i>

1.2.2 Podmínky skladování

Tvorba biogenních aminů významně souvisí s podmínkami skladování, kdy zejména prodloužené doby skladování v kombinaci s vyšší teplotou činí potraviny náchylnější k tvorbě biogenních aminů. Naopak akumulace biogenních aminů je minimalizována při nižších teplotách inhibicí mikrobiálního růstu a snížením enzymatické aktivity. Z těchto důvodů by měly být při skladování sýrů použity nízké teploty, většina studií poukazuje na teploty okolo 5 °C, při které je akumulace histaminu, tyraminu, putrescinu a kadaverinu nízká. Tato „chladničková“ teplota může být na druhé straně stálým zdrojem biogenních aminů, vznikajících působením psychrotrofních bakterií (EFSA, 2011; Linares et al., 2012), zejména z rodu *Pseudomonas*. Tyto gramnegativní bakterie lze ale spolu s mikroorganismy rodu *Enterococcus* inaktivovat pasterací při teplotě nad 60 °C (Gardini et al., 2016).

Podle studie Vodehnalové (2012) došlo během skladování Olomouckých tvarůžků při teplotě 4 °C přesto k nárůstu obsahu biogenních aminů tyraminu, histaminu, putrescinu, kadaverinu, včetně polyaminů sperminu, spermidinu a putrescinu.

1.2.3 Vlastnosti produktů (sýra)

Jedním z významných faktorů, který ovlivňuje aktivitu aminokyselinové dekarboxylázy, je hodnota pH. V kyselém prostředí (mezi 4,00 až 5,50) je aktivita silnější (Ekici et al., 2019), přesto řada autorů doporučuje hladiny biogenních aminů snížit rychlým okyselením a omezit tak růst dekarboxylačních mikroorganismů (Linares et al., 2012).

Aktivitu aminokyselinové dekarboxylázy ovlivňuje i koncentrace chloridu sodného v sýru, neboť se zvýšenou koncentrací soli dochází k omezení produkce biogenních aminů příslušnými dekarboxylačními mikroorganismy (EFSA, 2011; Ruiz-Capillas a Herrero, 2019). Například u bakterie *Enterococcus faecalis* naočkované do mléka byla v důsledku vysoké koncentrace chloridu sodného (5 %) snížena produkce biogenních aminů 2-fenyethylaminu a tyraminu. Podobný účinek byl pozorován u sýrů s obdobnou koncentrací chloridu sodného u mléka naočkovaného bakteriemi *Lactobacillus bulgaricus* nebo *Lbc. buchneri* (Linares et al., 2012).

Významným faktorem, který ovlivňuje produkci biogenních aminů, je i aktivita vody. Jako optimální hodnota pro růst bakterií s dekarboxylázovou aktivitou se jeví hodnota mezi 0,90– 1,00. V případě sýrů se zvýšeným obsahem tuku dochází k postupnému poklesu vodní aktivity. Taková situace inhibuje proteolytické bakterie, omezuje tak dostupnost aminokyselin a následně snižuje tvorbu biogenních aminů (Benkerroum, 2016).

U sýrů zrajících pod mazem byl zjištěn vyšší obsah biogenních aminů na povrchu ve srovnání se středem (Strnadová et al., 2012). Toto tvrzení prokázala studie Buňkové et al. (2010). Autoři zjistili, že obsah kadaverinu, putrescinu, histaminu a tyraminu na povrchu eidamského sýra byl vyšší oproti obsahu těchto biogenních aminů ve středu sýra.

1.3 Olomoucké tvarůžky

1.3.1 Charakteristika Olomouckých tvarůžků

Olomoucké tvarůžky jsou jediným původním českým sýrem, který roku 2010 získal chráněné zeměpisné označení. Vyrábí se v oblasti Loštic na Hané již od roku 1876. Název současné společnosti A.W. pochází po bývalém vlastníkovi společnosti Aloisu Wesselsovi, který v roce 1897 převzal živnost po svém otci. Olomoucké tvarůžky jsou řazeny do kategorie sýrů zrajících pod mazem. Proteolytickým rozkladem plnohodnotných bílkovin v tvarůžku při procesu zrání vzniká následně účinkem povrchové mikroflóry jejich charakteristická chuť a vůně, na druhou stranu může vznikat i toxické množství biogenních aminů. Vyrábí se bez přídavku syřidel, barviv, aromat a stabilizátorů. Obsah tuku nepřesahuje jedno procento a obsah sušiny se pohybuje od 34 do 38 %. Podrobnější informace o složení Olomouckých tvarůžků jsou uvedeny v tabulce 6 (Tvarůžek, 2017; Černý et al., 2009).

Tabulka 6: Výživová hodnota Olomouckých tvarůžků na 100 g výrobku (Tvarůžek, 2017)

Základní složky	Obsah (g)
Tuky	do 0,5
Sacharidy	2,6
Bílkoviny	28
Sůl	5

1.3.2 Technologie výroby Olomouckých tvarůžků

1) Výroba základní suroviny (průmyslový tvaroh)

Základní vstupní surovinou pro výrobu Olomouckých tvarůžků je průmyslový tvaroh, který vzniká kyselým srážením. Při srážení bílkovin se neuplatňují enzymy syřidla (případně jen minimálně), nýbrž se využívá činnosti mikroorganismů, které laktózu fermentují na kyselinu mléčnou, která následně způsobí vysrážení bílkovin (Obermaier a Čejna, 2013). Pro výrobu tvarůžků se vyrábí průmyslový tvaroh z pasterovaného odtučněného mléka třemi různými způsoby, které se liší v přípravě syřeniny. Při jednotepelném i dvoutepelném způsobu výroby se mléko zakysá smetanovým zákysem. Při termofilním způsobu výroby se použije termofilní kultura obsahující bakterie v poměru koků a tyčinek 1:1 (Strmiska, 1991). Složení používaných kultur je blíže uvedeno v kapitole 2.2.1, v tabulce 4. Tvaroh se ukládá tak, aby nevznikaly vzduchové prostory, které za příznivých teplot umožňují rozvoj mnohých sporulujících mikroorganismů rodu *Bacillus* spp. (Cempírková, 1997).

2) Zpracování tvarohu

Do tvarůžkářské firmy v Lošticích se vozí již hotový průmyslový tvaroh. Složení různých typů tvarohu je pro výslednou chuť velmi důležité, protože jak bylo uvedeno výše, tvarohy mají rozdílné zastoupení použitých mlékařských kultur (Strmiska et al., 1991, Tvarůžek, 2017). Tvaroh se mele, přidává se sůl a z dopravníku pak padají nasolené hrudky do betonové nádrže, kde se tvaroh udusá, přikryje folií a nechá několik dnů uležet.

Po konci této části výroby se tvaroh míchá v určitých poměrech (Tvarůžek, 2017). Dlouhodobě skladované tvarohy se nemohou zpracovávat samostatně, ale promíchávají se v betonových nádržích s tvarohy krátkodobě skladovanými (2 až 4 týdny) za účelem snížení kyselosti tak, aby se omezila spotřeba regulátorů kyselosti hydrogenuhličitanu sodného (E500), který vyvolává měkkou konzistenci a roztékání a uhličitanu vápenatého (E170), který vyvolává naopak konzistenci tuhou a pevnou. Podmínkou složení průmyslového tvarohu je tedy dosažení titrační kyselosti od 125 až 160 SH, úprava obsahu soli na 4,5 % a přídavek vody za cílem dosažení sušiny na 32 až 34 %, včetně znaku mléčně nakyslé chuti a hrudkovité konzistence (Olšanský, 1956; Bohmová, 1990; Strmiska 1991; Hynková, 1994). V případě potřeby se pak kyslejší tvarohy neutralizují regulátory kyselosti a přidávají se také další mlékařské kultury.

Ve formovacím stroji se tvaroh bez tvaru změní na kolečka, věnečky nebo tyčinky, které se skládají na rošt a suší (Strmiska et al., 1991; Tvarůžek, 2019).

3) Sušení a omývání tvarůžků

Při sušení dochází k rozvoji povrchových mikroorganismů, které způsobují oxidační procesy. Nejdůležitějšími mikroorganismy jsou zde kvasinky *Torulopsis candida*, *Tor. lactis*, *Tor. olomucensis*, *Candida crusei*, *Can. moravika*, *Can. mycoderma* a plísně *Oospora lactis*, *O. casei*. Oxidační procesy za účasti přítomných dehydrogenáz oxidují kyselinu mléčnou na kyselinu pyrohroznovou, která se činností dalších oxidačních enzymů rozkládá na vodu a oxid uhličitý. Tímto biochemickým pochodem se v povrchových vrstvách tvarůžků snižuje kyselost, čímž je umožněn rozvoj proteolytickým bakteriím, tvořícím povrchový maz a zabezpečujícím další zrání sýra. Poté, co se touto oxidací dosáhne zvýšení pH na povrchu sýrů na pH 6,4, se tvarůžky omývají, aby se odstranily povrchové oxidační mikroorganismy a vytvořilo se tak vhodné prostředí pro činnost aerobních mikroorganismů (Cempírková, 1997).

Následující proces omývání tvarůžků probíhá při teplotě o 10 °C nižší. Jednotlivé rošty tvarůžků se protahují přes horní a dolní vodní clonu tak, aby se spláchla povrchová vrstva kvasinek, které tam vznikají nastartováním zrání. Tvarůžky se omývají v 5% roztoku soli, spolu s roztokem soli se rozstříkuje také mazová kultura (Görner a Valík, 2004). Voda musí mít teplotu okolo 20 až 25 °C, aby bakterie nebyly zachlazeny a proces zrání úspěšně pokračoval. Jakmile se voda odpaří, putují tvarůžky do chladírny. Při teplotě kolem 10 °C zde zůstanou po dobu několika hodin (Tvarůžek, 2018).

4) Zrání

Zrání tvarůžků probíhá částečně i v průběhu předchozích technologických kroků. Po omytí se odstraní povrchové oxidační mikroorganismy a vytváří se tak vhodné prostředí pro růst aerobních mikroorganismů, zejména bakterie *Brevibacterium linens* (Cempírková, 1997). Tato bakterie také podporuje zrání a díky ní se povrch tvarůžků zbarví do oranžova (Tvarůžek, 2018). Pokud byl použit tvaroh s termofilní kulturou, dochází k růstu dalších aerobních bakterií *Lactobacillus casei*, *Lbc. lactis* a *Lbc. helveticus*. Tyto mikroorganismy obstarávají další zrání, tzn. rozklad bílkovin na albumózy a peptony a postupně dále na aminokyseliny a amoniak. Během zrání dostávají tvarůžky typický vzhled, konzistenci, vůni a chuť (Cempírková, 1997).

5) Rolování a balení

Tvarůžky se sbírají z roštu a jeden kousek po druhém se srolují v určitém počtu k sobě. Následně se zváží a uloží do bedny (Tvarůžek, 2018). Zabalený výrobek po zvážení prochází detektorem kovů a v chladírně centrálního skladu mohou ještě dozrávat (Tvarůžek, 2019).

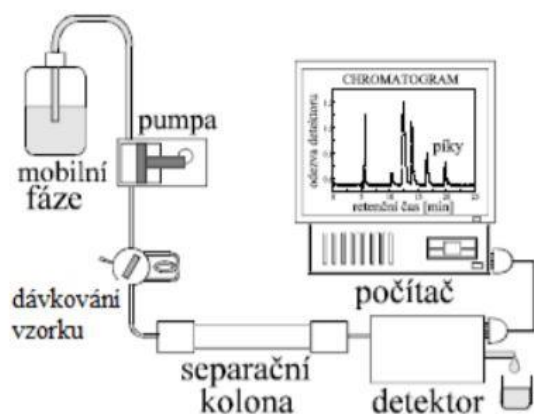
1.4 Metody stanovení biogenních aminů a polyaminů

Pro stanovení biogenních aminů a polyaminů v potravinách lze využít několika metod. Jedná se o chromatografii na tenké vrstvě (TLC), iontoměničovou chromatografii (IEC), plynovou chromatografii (GC), kapilární zónovou elektroforézu (CZE), ale zejména vysoce účinnou kapalinovou chromatografii (HPLC) (Dadáková, 2009). Roku 2004 byla zavedena nová technika ultra účinné kapalinové chromatografie (UPLC), která využívá principu separace na porézních částicích menších než 2 μm . Výhody UPLC v porovnání s klasickou HPLC jsou až devítinásobné zkrácení doby analýzy, dvojnásobné zlepšení rozlišení a trojnásobné zlepšení citlivosti. To vede k ohromné úspoře času, ale také nákladů na energii a organická rozpouštědla a jejich ekologickou likvidaci (Olšovská a Jurková, 2012).

HPLC je analytická separační metoda, která se využívá k separaci široké škály analytů (Dohnal, Kadlečková, 2013). Pro separaci je rozhodující afinita daného analytu k mobilní a stacionární fázi. Stacionární fáze je modifikovaný sorbent (Borkovcová, 2011), který je zakotven na pevném nosiči a nachází se uvnitř chromatografické kolony. Nejpoužívanější stacionární fázi je oktadecylový zbytek (C_{18}) a částečně i oktylový zbytek (C_8). Mobilní fázi je zde kapalina, která je kolonou protlačována pomocí vysokotlaké pumpy za vysokého tlaku. Mobilní fázi může být voda, vodný roztok anorganické nebo organické soli, pufr, či směs vody / vodného roztoku a / nebo organických rozpouštědel (Dohnal a Kadlečková, 2013).

Hlavními částmi chromatografu jsou zásobníky s mobilní fází, vysokotlaká pumpa, dávkovač (autosampler), kolona, detektor, řídicí a vyhodnocující jednotka (PC s příslušným programem). V průběhu analýzy protéká chromatografickým systémem mobilní fáze, která je ze zásobních lahví vedena přes vysokotlaké čerpadlo do dávkovače, kde je do proudu mobilní fáze dávkován vzorek a dále do kolony, kde dochází k separaci jednotlivých složek. Výstup z kolony je veden do detektoru, kde jsou jednotlivé složky detekovány a vedou odtud do odpadu. Signál z detektoru je zaznamenáván pomocí počítače v podobě chromatogramu (Obrázek 7) (Borkovcová, 2011).

Obrázek 7: Schéma kapalinového chromatografu (HPLC) (Dohnal a Kadlečková, 2013)



Pomocí chromatogramu zjišťujeme retenční čas. Jedná se o kvalitativní údaj, který udává, zdali je vůbec látka přítomna ve směsi, kdy tento údaj porovnáváme s retenčním časem standardu (Borkovcová, 2011). Retenční čas je doba od nástřiku vzorku do kolony až po dosáhnutí maxima píku (Křížek a Šíma, 2015). Plocha píku je naopak kvantitativní údaj, který je přímo úměrný koncentraci analytu. Vyhodnocení obsahu analyzované látky je provedena pomocí kalibrační přímky metodou vnějšího standardu. Ke zvýšení kvality analýzy se často používá vnitřní standard. Jako vnitřní standard se používají sloučeniny, které mají obdobnou strukturu a vlastnosti jako analyzovaná látka, ve výsledném chromatogramu jiný retenční čas, kdy nedochází ke koeluci píků (Borkovcová, 2011).

Následující pasáž Materiál a metodika o rozsahu 9 stran 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.

Následující pasáž Výsledky a diskuze o rozsahu 11 stran 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.

Následující pasáž Závěr o rozsahu 1 strany 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

Následující pasáž Summary o rozsahu 1 strany 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.

2 SEZNAM LITERATURY

1. ASPI. (2004): Vyhláška 305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách.
2. Barbieri, F.; Montanari, C.; Gardini, F.; Tabanelli, G. (2019): Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria: A Review. *Foods*, 8(1): 17.
3. Benkerroum, N. (2016): Biogenic Amines in Dairy Products: Origin, Incidence, and Control Means. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15:801-826.
4. Bohmová, J. (1990): Výzkum výroby průmyslového tvarohu a olomouckých tvarůžků. Závěrečná práce, Praha.
5. Burdychová, R.; Komprda T. (2007): Biogenic amine-forming microbial communities in cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 276:149-155.
6. Buňková, L.; Buňka, F.; Hlobilová, M.; Vaňátková, Z.; Nováková, D.; Dráb, V. (2009): Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research and Technology*, 229:533-538.
7. Buňková, L.; Buňka, F.; Mantlová, G.; Čablová, A.; Sedláček, I.; Švec, P.; Pachlová, V.; Kráčmar, S. (2010): Effect of ripening and storage conditions on the distribution of tyramine, putrescine and cadaverine in Edam-cheese. *Food Microbiology*, 27(7):880-888.
8. Buňková, L.; Buňka, F.; Pollaková, E.; Podešvová, T.; Dráb, V. (2011): The effect of lactose, NaCl and an aero/anaerobic environment on the tyrosine decarboxylase activity of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *International Journal of Food Microbiology*. 147:112–119.

9. Cempírková, R.; Hejlová, Š.; Lukášová, J. (1997): *Mikrobiologie potravin*. České Budějovice: Jihočeská univerzita. ISBN 80-7040-254-7.
10. Chaidoutis, E.; Migdanis, A.; Keramydas, D.; Papalexis, P. (2019): Biogenic amines in food as a public health concern An outline of histamine food poisoning. *Archives of Hellenic Medicine*, 36(3):419-425.
11. Černý, V.; Kvasničková, E.; Havlíková, Š.; Kalhotka, L. (2009): Výskyt mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou v sýrech. *Mlékařské listy*, 116:16-18.
12. Dadáková, E.; Křížek, M.; Pelikánová, T. (2009): Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 116:365-370.
13. Dincer, E.; Oguz, M.; Baris, Y. (2018): Biochemical and pharmacological properties of biogenic amines. *IntechOpen*, doi: 10.5772/intechopen.81569.
14. Doeun, D.; Davaatseren, M.; Chung, M.S. (2017): Biogenic amines in food. *Food Science and Biotechnology*, 26(6):1463-1474.
15. EFSA (2011): Scientific Opinion on Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA*. 9(10):2393.
16. Ekici, E.; Okut, H.; Isleyici, O.; Sancak, Y.C.; Tuncay, R.M. (2019): The Determination of Some Microbiological and Chemical Features in Herby Cheese. *Foods*, 8:23.
17. Fernández, M.; Lopez, P.; Palencia, P.F.; Corbi, A.; Trip, H.; Lolkema, J. S. (2010): Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64:95-100.
18. Finberg, J.P.M.; Rabey J.M. (2016): Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology. *Frontiers in Pharmacology*, 7:340.
19. Fuchs, M.; Švarcová, I.; Macková, L.; Mynaříková, H. (2011): Histaminová intolerance, snížená aktivita diaminooxidázy. Diagnostika a laboratorní technika. *Alergie*, 3.

20. Gandhi, D.N. (2006): [online] Microbiology of Fermented Dairy Products. *Food and Industrial Microbiology*. Dostupné na: <http://nsdl.niscair.res.in/jspui/bitstream/123456789/117/1/dairymicrobiology.pdf>
21. Gardini F.; Ozogul, Y.; Suzzi, G.; Tabanelli, G.; Özogul F. (2016): Technological Factors Affecting Biogenic Amine Content in Foods: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 7:1218.
22. Gloria, M.B.A. (2003): Amines. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 173-181.
23. Görner F.; Valík, L. (2004): *Aplikovaná mikrobiológia potravín*. Malé centrum, Bratislava, 528, ISBN 80-967064-9-7.
24. Hynková, M. (1994): *Problematika výroby olomouckých tvarůžků*, Praha.
25. Kalač, P.; Krausová, P (2005): A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*. 90:219-230.
26. Kalač, P.; Švecová, S.; Pelikánová T (2002): Levels of biogenic amines in typical vegetable products. *Food Chemistry*. 77:349-351.
27. Kalač, P.; Špička, J.; Křížek, M.; Šteidlová, S.; Pelikánová, T. (1999): Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut. *Food Chemistry*, 67:275-280.
28. Kalač, P. (2014): Health effects and occurrence of dietary polyamines: a review for the period 2005-mid 2013. *Food Chemistry*, 161:27-39.
29. Kalač, P.; Křížek, M. (2005): Biogenní aminy a polyaminy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví. *Potravinářská revue*, 2:40-42.

30. Kalhotka L.; Manga, I.; Přichystalová, J.; Šustová, K. (2012) Activity test of the genus *Enterococcus* isolated from goat milk and cheese. *Acta Veterinaria Brno*, 81:145-151.
31. Kábrt J. (2020): [online] Jak řešit potíže spojené s histaminovou intolerancí. Program health plus. Dostupné na: <https://programhplus.cz/jak-resit-potize-spojene-s-histaminovou-intoleranci>
32. Komprda, T.; Rejchrtová, E.; Sládková, P.; Zemánek, L.; Vymlátílová, L. (2012): Effect of some external factors on the content of biogenic amines and polyamines in a smear-ripened cheese. *Dairy Science & Technology*, 92:367-382.
33. Komprda, T. (2005). Biogenní aminy a polyamidy ve fermentovaných potravinách živočišného původu. *Veterinářství*, 10:646-650.
34. Koolman, J.; Röhm, K.H. (2012): *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2977-0.
35. Koukolík, F. (2010): Evoluce a evoluční teorie pro lékaře. Institut klinické a experimentální medicíny. *Praktický lékař*, 90(1).
36. Křížek, M. (1995): Možnosti ovlivnění biogenních aminů v silážích. *Veterinary Medicine*, 40, (4):111-115.
37. Leuschner, R.G.K.; Hammes, W.P. (1998): Degradation of histamine and tyramine by *Brevibacterium linens* during surface ripening of Munster cheese. *Journal of Food Protection*, 61:874-878.
38. Linares, D.M.; Martín, M.C.; Ladero, V.; Alvarez, M.A.; Fernández, M. (2011): Biogenic Amines in Dairy Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51:7, 691-703.

39. Linares, D.M.; Del Río, B.; Ladero, V.; Marzinez, N. Fernández, M; Martín, M.C.; Alvarez, M.A. (2012): Factors Influencing Biogenic Amines Accumulation in Dairy Products. *Frontiers in Microbiology*, 3:180.
40. Matouš B. (2010): *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén. ISBN: 978-807262-702-8.
41. Maintz, L.; Novak, N. (2007): Histamine and histamine intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85:1185-1196.
42. Molnár – Perl, I. (2005): Quantitation of Amino Acids and Amines by Chromatography: Methods and Protocols. *Journal of Chromatography*, 70:232.
43. Motta, A.S.; Brandelli, A. (2002): Characterization of an antibacterial peptide produced by *Brevibacterium linens*. *Journal of Applied Microbiology*, 63-70.
44. Muñoz-Esparza, N.C.; Latorre-Moratella, M.L.; Comas-Basté O.; Toro-Funes, N.; Vaciana-Nogués M. T.; Vidal-Carou M.C. (2019): Polyamines in Food. *Frontiers in Nutrition*, 6:108.
45. Obermaier, O.; Čejna, V. (2013): *Jak poznáte kvalitu? Sýry a tvarohy*. Praha: Sdružení českých spotřebitelů pro Českou technologickou platformu pro potraviny. ISBN: isbn978-80-87719-06-0.
46. Olšovská, J.; Jurková, M. (2012): Nové trendy v kapalinové chromatografii a jejich využití v analýze piva a pivovarských surovin. Teoretický úvod. *Kvasný Průmysl*, 58(2):30-35.
47. Ordóñez, J.L.; Callejón, R. (2019): Biogenic Amines in Non-fermented Food. *Biogenic amines in Food: Analysis, Occurrence and Toxicity*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 76-102.

48. Özgül, Ö; Üren, A. (2013): Biogenic Amine Content of Tarhana: A Traditional Fermented Food. *International Journal of Food Properties*, 16(2):416-428.
49. Özogul, Y.; Özogul, F. (2019): Biogenic Amines Formation, Toxicity, Regulations in Food. *Biogenic Amines in Food: Analysis, Occurrence and Toxicity*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1-17.
50. Rao, T.S.; Yeragani, V.K. (2009): Hypertensive crisis and cheese. *Indian Journal of Psychiatry*, 51(1):65-66.
51. Ruiz-Capillas, C.; Jiménez-Colmenero, F. (2004): Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44:489-499.
52. Ruiz-Capillas, C.; Herrero, A.M. (2019): Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods*, 8:62.
53. Santos Silla, M.H. (1996) Biogenic amines: their importance in foods, *International Journal of Food Microbiology*, 29:213-231.
54. Spano G.; Russo, P.; Lonvaud – Funel, A.; Lucas, P.; Alexandre, H.; Grandvalet, C.; Coton, E.; Coton, M.; Barnavon, L.; Bach, B.; Rattray, F.; Bunte, A.; Magni, C.; Ladero, V.; Alvarez, M.; Fernández, M.; Lopez, P.; Palencia, P.F.; Corbi, A.; Trip H.; Lolkema, J.S. (2010): Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*. 3:95-100.
55. Schnedl, W.J.; Schenk, M.; Lackner, S.; Enko, D.; Mangge, H.; Foster, F. (2019): Diamine oxidase supplementation improves symptoms in patients with histamine intolerance. *Food Science and Biotechnology*, 28:1779-1784.
56. Strmiska, J.; Hušek, V.; Minařík, R. (1991): *Výroba tvarohu a tvarohových specialit: Nové technologie*. Praha: SNTL. Technika a technologie potravinářského průmyslu. ISBN 80-03-00481-0.OI 10.1007/s00217-009-1075-3.

57. Strnadová, D.; Konečná, H.; Jůzl, M. (2012): Evaluation of quality measurement of olomouc cake of cheese during ripening. *Mendelova univerzita v Brně*. 5:205-210.
58. *Tvarůžek: magazín tradiční a jedinečné pochoutky*. (jaro/léto 2017): Loštice: A.W., spol. s r.o. 6-16.
59. *Tvarůžek: magazín tradiční a jedinečné pochoutky*. (jaro/léto 2018): Loštice: A.W., spol. s r.o. 12-13.
60. *Tvarůžek: magazín tradiční a jedinečné pochoutky*. (jaro/léto 2019): Loštice: A.W., spol. s r.o. 7.
61. Velíšek, J.; Hajšlová, J. (2009): *Chemie potravin*. 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-16-9.
62. Vodehnalová, K. (2012): *Výskyt biogenních aminů a polyaminů ve zrajících sýrech po ukončení doby spotřeby*. České Budějovice. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.
63. Wöhrl, S.; Hemmer, W.; Focke-Tejkl, M.; Rappersberger, K.; Reinhart, J. (2003): Histamine intolerance-like symptoms in healthy volunteers after oral provocation with liquid histamine. *Allergy and Asthma Proceedings: The Official Journal of Regional and State Allergy Societies*. 25:305-311.

Následující pasáž Seznam obrázků o rozsahu 1 strany 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.

Následující pasáž Seznam tabulek o rozsahu 2 stran 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.

Následující pasáž Seznam grafů o rozsahu 1 strany 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.