

**Univerzita Pardubice**  
**Fakulta chemicko - technologická**

**Bakalářská práce**

**2009**

**Jana Voženílková**

**Univerzita Pardubice**  
**Fakulta chemicko - technologická**

**Tvorba biogenních aminů v sýrech**  
**Bakalářská práce**

**AUTOR PRÁCE: Jana Voženílková**

**VEDOUcí PRÁCE: doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**

**2009**

**University of Pardubice**  
**Faculty of chemical - technology**

**The formation of biogenic amines in  
cheese**

**Bachelor work**

**AUTHOR: Jana Voženílková**

**SUPERVISOR: doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**

**2009**

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Katedra analytické chemie  
Akademický rok: 2008/2009

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana VOŽENÍLKOVÁ**

Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**

Název tématu: **Tvorba biogenních aminů v sýrech**

### Zásady pro vypracování:

- 1) V literární rešerši charakterizujte biogenní aminy z chemického hlediska, popište možné biochemické cesty jejich vzniku a vliv na zdraví člověka.
- 2) Zhodnoťte příspěvek mikroorganismů k tvorbě biogenních aminů.
- 3) Z dostupné literatury zjistěte, jak lze zamezit tvorbě biogenních aminů v sýrech.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího práce.**

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Libor Červenka, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce:

**23. února 2009**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**26. června 2009**

- Zásady pro vypracování:
- 1) V úvodu práce charakterizujte biogenní aminy a chemické bloky, popište hlavní biogenní aminy a vliv na zdraví člověka.
  - 2) Zmíněte přírůstek mikroorganismů k tvorbě biogenních aminů.
  - 3) Z dostupné literatury vyberte jak se zaměřit tvorbu biogenních aminů v sýrech.
  - 4) Stručně popište až tři metody stanovení biogenních aminů v sýrech.

prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.  
děkan

L.S.

prof. Ing. Karel Vytřas, DrSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 23. února 2009

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20.06.2009

Jana Voženílková

### **Poděkování:**

Na tomto místě bych chtěla moc poděkovat panu doc. Ing. Liboru Červenkovi, Ph.D., vedoucímu mé práce, za odborné vedení, cenné podněty a připomínky k tématu, které jsem zpracovávala v mé bakalářské práci. Zvláštní poděkování patří mé rodině za to, že mi umožnila studovat na této škole, a také všem ostatním, kteří mi nějakým způsobem při tvorbě práce pomohli.

## SOUHRN

Tato bakalářská práce je věnována tvorbě biogenních aminů v sýrech.

V této práci jsou charakterizovány biogenní aminy z chemického hlediska a je popsán jejich vznik. Zabývá se vlivem konkrétních biogenních aminů v sýrech na zdraví konzumenta. Dotýká se příspěvku mikroorganismů k jejich tvorbě a podmínek, které tyto mikroorganismy k růstu potřebují.

V poslední části práce jsou zde rozebrány a přiblíženy vybrané metody stanovení biogenních aminů.

Klíčová slova: biogenní aminy, sýr, vysokoučinná kapalinová chromatografie



## **SUMMARY**

The bachelor work is devoted to the formation of biogenic amines in cheese.

In this work are characterized biogenic amines in chemical terms, and describes their creation. It deals with the influence of specific biogenic amines in cheese at the consumer health. It concerns the contribution of micro-organisms for their production and the conditions that are necessary to grow of these organisms.

In the last part of the work are analyzed and specified methods of determination of biogenic amines.

Keyword: biogenic amines, cheese, High performance liquid chromatography

# OBSAH

Obsah	9
Seznam obrázků	11
Seznam tabulek	12
Seznam zkratk	13
1. Úvod	14
2. Biogenní aminy	14
2.1. Dělení biogenních aminů podle chemické struktury	15
2.2. Vznik biogenních aminů	17
2.3. Tvorba BA v mléčných výrobcích	18
3. Vliv biogenních aminů na zdraví člověka	19
3.1. Vlivy konkrétních biogenních aminů na zdraví konzumenta	20
3.1.1 Histamin	20
3.1.2 Tyramin	21
3.1.3 Putrescin a kadaverin	21
3.1.4 Spermidin	21
3.1.5 Serotonin	21
3.1.6 Tryptamin	22
4. Příspěvek mikroorganismů k tvorbě biogenních aminů	22
4.1. Podmínky ovlivňující růst a množení těchto bakterií	20
4.2. Rozdělení bakterií	23
4.2.1 G- aerobní tyčinky a koky	24
4.2.2 G - fakultativně anaerobní tyčinky	25
4.2.3 G+ koky	26
4.2.4 Sporulující tyčinky a koky	27
4.2.5 G+ nesporeující tyčinky	28
4.2.6 Mykobakterie	28
4.2.7 Aktinomycéty a příbuzné organismy	28
5. Sýry	28
5.1. Výroba sýrů	29
5.1.1 Technologický postup výroby sýrů	29
5.1.1.1 Vybrané kroky technologického postupu	30
5.1.2 Požadavky na mléko pro výrobu sýrů	32

5.1.3 Hlavní sýrařské kultury při výrobě sýrů s vysoko-dohřívanou sýřeninou.	33
5.1.3.1 Kultury termofilních mikroorganismů	33
5.1.3.2 Propionové kultury	34
5.1.2.3 Kvasinky	34
5.2 Dělení sýrů	35
5.2.1 Sýry zrající v celé hmotě	35
5.2.1.1 Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou	35
5.2.1.2 Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou	36
5.2.2 Druhy zrajících sýrů	36
5.3 Koncentrace biogenních aminů v sýrech	38
5.3.1 Histamin	39
5.3.2 Tyramin	39
5.3.3 Putrescin	40
5.3.4. Kadaverin	40
5.3.5 Tryptamin	40
5.3.6 Spermin, spermidin	40
6. Stanovení biogenních aminů v sýrech	40
6.1. Metody stanovení biogenních aminů	41
6.1.1 Tenkovrstvá chromatografie	41
6.1.2 Vysokoučinná kapalinová chromatografie	42
6.1.3 Plynová chromatografie	44
6.1.4 Kapilární elektroforéza	45
Závěr	47
Seznam literatury	48

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1. Schéma biogenního aminu z příslušné aminokyseliny	17
Obr. č. 2. Obecný vzorec aminokyseliny a biogenního aminu	18
Obr. č. 3. Chemické vzorce BA	18
Obr. č. 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : a) barvení podle Grama, b) na krevním agaru	25
Obr. č. 5. Bakterie <i>E.coli</i> a) na živné půdě, b) barvení podle Grama	26
Obr. č. 6. <i>Lactococcus lactis</i>	27
Obr. č. 7. <i>Pediococcus pentosaceus</i>	27
Obr. č. 8. Schéma technologického postupu výroby sýru	30
Obr. č. 9. Formování sýřeniny	32
Obr. č. 10. Zrání sýrů ve sklepích	32
Obr. č. 11. Oka uvnitř Ementálu vzniklé mléčnou bakterií <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	34
Obr. č. 12: Kvasinka <i>Candida Krusei</i>	34
Obr. č. 13 Sýr s plísní uvnitř	37
Obr. č. 14 Měkký sýr s plísní napovrchu	38
Obr. č. 15 Schéma vysokoučinné kapalinové chromatografie	43
Obr. č. 16 Separace látek	44
Obr. č. 17. Schéma plynového chromatografu	44

## SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1 Biogenní aminy vyskytující se v potravinářských výrobcích	16
Tab. č. 2 Nejdůležitější biogenní aminy v sýrech	16
Tab. č. 3 Produkce aminů některými mikroorganismy	23
Tab. č. 4 Rozdělení sýrů dle obsahu tuku v sušině	35

## SEZNAM ZKRATEK

AMK	Aminokyseliny
BA	Biogenní amin
CZE	Kapilární zónová elektroforéza
FEA	Fenylethylamin
GC	Plynová chromatografie
G <sup>-</sup>	Gram negativní bakterie
G <sup>+</sup>	Gram pozitivní bakterie
HIS	Histamin
HPLC	(High-performance liquid chromatography) Vysokoučinná kapalinová chromatografie
KAD	Kadaverin
MO	Mikroorganismus
PUT	Putrescin
SER	Serotonin
SPD	Spermidin
SPM	Spermin
TLC	( Thin layer chromatography) Tenkovrstvá chromatografie
TR	Tryptamin
TYR	Tyramin

# 1. Úvod

Pro svou bakalářskou práci jsem si zvolila téma „Tvorba biogenních aminů v sýrech“. Nejen v současné době jsou sýry velmi oblíbenou potravinou, také já jsem jejich velkým konzumentem a sýry mě zajímají i z jiných stránek a pohledů, než je jejich výborná chuť.

Množství a typ biogenních aminů, které se tvoří v potravinách je závislý na povaze výrobku a zejména na přítomných mikroorganismech. Těchto mikroorganismů je velká řada, z tohoto důvodu jsem zvolila jen ty, podle mého názoru, nejdůležitější.

Část mé práce je věnována vlivu konkrétních biogenních aminů na lidský organismus po příjmu vyššího množství těchto látek. Malé množství biogenních aminů je pro lidský organismus nepostradatelný, avšak při vyšších koncentracích mohou způsobit zdravotní problémy.

Stanovením biogenních aminů se zabývá mnoho laboratoří a je popsáno několik metod právě pro jejich stanovení, neboť vzhledem k různorodosti potravin není možné vytvořit jednu univerzální metodu. Vybrala jsem si a zaměřila se jen na ty nejpodstatnější a nejvyužívanější, které jsem se snažila stručně přiblížit.

Cílem mé bakalářské práce je tedy poskytnout zájemcům ucelené informace, jejichž sehnání by mohlo být časově značně náročné. Při zpracování tohoto tématu jsem vycházela převážně z odborné literatury a přednášek na VŠCHT.

## 2. Biogenní aminy

Biogenní aminy (BA) jsou dusíkaté látky odvozené od aminokyselin (AMK), které vznikají jako produkty dekarboxylace základních, přirozeně se vyskytujících, AMK. Aminokyseliny jsou

přítomny ve všech živých organismech, kde tvoří základní složku proteinů a peptidů. V ještě užším smyslu se tímto pojmem většinou rozumí biogenní L-aminokyseliny - 20 základních stavebních složek všech proteinů (bílkovin) [1-4].

Biogenní aminy se přirozeně vyskytují u živočichů, rostlin a MO, kde plní významné fyziologické funkce. V organismu jsou BA především zdrojem dusíku pro biochemické reakce a mohou být jako stavební látky (např. fenylethylamin) účastníci se na biosyntéze hormonů, nebo mohou mít význam jako hormony (např. histamin) [2].

Sledování BA může být základem cenné informace v potravinářských provozech, v nichž důležitou roli hraje činnost MO (jedná se o výrobu sýrů, piva, vína, kysaného zelí, fermentovaných mastných výrobků). V souvislosti s BA je u potravin důležité také to, zda se jedná o fermentované (např. sýry, kysané zelí, pivo, víno) či nefermentované (např. mořské ryby, maso) potraviny. BA jsou ve vyšších koncentracích toxické pro lidský organismus. Právě proto je jim poslední dobou věnována velká pozornost. Obsah BA v potravinách je sledován i proto, že mohou být využity jako indikátory bakteriální kontaminace potravin (jako indikátor čerstvosti) [1-2].

Mezi BA vyskytujícími se v sýrech patří tyramin (TYR), histamin (HIS), putrescin (PUT), kadaverin (KAD), tryptamin (TR), fenylethylamin (FEA), spermin (SPM), spermidin (SPD). Produkce těchto BA je závislá na správném skladování potravin a je ovlivněna především pH, teplotou a růstem MO.

## **2.1 Dělení biogenních aminů podle chemické struktury**

Biogenní aminy jsou organické zásadité dusíkaté sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností. Podle chemické struktury dělíme BA na aromatické, heterocyklické a alifatické, jak je uvedeno v tabulce č. 1 a v tabulce č. 2.



**Tabulka 1: Biogenní aminy vyskytující se v potravinářských výrobcích [1].**

Chemická struktura	Biogenní aminy
aromatické	tyramin
	fenylethylamin
heterocyklické	histamin
	tryptamin
alifatické	putrescin
	kadaverin
	spermin
	spermidin
	agmatin

Alifatické BA řadíme mezi polyaminy, což jsou látky obsahující dvě a více aminoskupin ve své molekule. Polyaminy jsou nezbytnou součástí živých buněk a jsou důležité při regulaci funkcí nukleových kyselin, syntéze proteinů a podílí se i na stabilizaci membrán [5].

**Tabulka č. 2: Nejdůležitější biogenní aminy v sýrech [5].**

Triviální název	Systematický název	Zařazení
Putrescin	butan-1,4-diamin	alifatické, polyaminy
Kadaverin	pentan-1,5-diamin	alifatické, polyaminy
Spermidin	N-(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin	alifatické, polyaminy
Spermin	N,N-bis(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin	alifatické, polyaminy
Tyramin	4-(2-aminoethyl)fenol	aromatické, monoaminy
Fenyletylamin	2-fenyletanamin	aromatické, monoaminy
Histamin	2-(1H-imidazol-5-yl)etanamin	heterocyklické, monoaminy
Tryptamin	2-(1H-indol-3-yl)etanamin	heterocyklické, monoaminy
Serotonin	3-(2-aminoethyl)-1H-indol-5-ol	heterocyklické, monoaminy

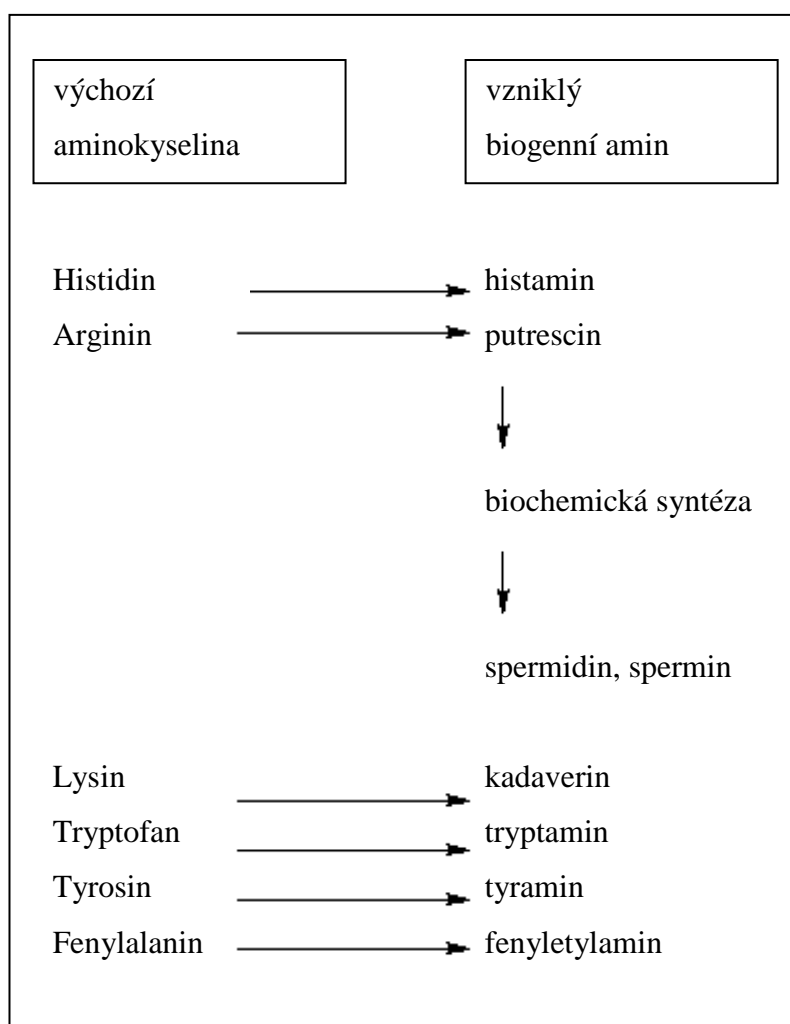
BA dále dělíme také podle počtu alkylových a arylových skupin navázaných na atom dusíku. Jde o BA primární, sekundární či terciární. Podle počtu reaktivních aminoskupin mohou být děleny na monoaminy

či polyaminy [5]. Toto rozdělení uvádí tabulka č. 2. Pro BA se kromě systematických názvů používají i názvy triviální (viz. tab. č. 2).

## 2.2 Vznik biogenních aminů

BA jsou odvozeny od příslušných AMK (viz. obr. č. 1), z nichž vznikají působením dekarboxyláz. Obecné vzorce výchozích AMK a vznikajícího BA jsou uvedeny v obr. č. 2. HIS vzniká dekarboxylací AMK histidinu pomocí histidindekarboxylázy, KAD dekarboxylací AMK lysinu pomocí lyzindekarboxylázy [6]. BA mohou popřípadě vznikat i aminací a přeměnou příslušných aldehydů a ketonů. Chemické vzorce vzniklých BA jsou znázorněny na obr. č. 3.

Obr. č. 1: Schéma vzniku biogenního aminu z příslušné aminokyseliny





z mléka, ze syřidel, ze zákysových a startovacích kultur a z kontaminující mikroflóry. Potenciálním producentem BA v sýrech by mohly být i použité druhy základních a doplňkových čistých mlékařských kultur.

V potravinách vznikají BA převážně jako produkty metabolismu přítomných MO. Ve fermentovaných potravinách se vyskytují zejména díky činnosti mléčných bakterií, které vykazují dekarboxylázovou aktivitu. BA mohou však vznikat rovněž vlivem kontaminující mikroflóry, např. hnilobných bakterií [1,2,8].

Výskytu vyššího množství BA v mléčných výrobcích lze zamezit kratší dobou fermentace, kratší dobou skladování a zejména použitím těch startovacích kultur při výrobě, které vykazují nejnižší možnou dekarboxylační aktivitu [3].

### **3. Vliv biogenních aminů na zdraví člověka**

Ve střevním traktu savců je přítomen detoxikační systém, který dokáže metabolizovat BA přijímané potravou. Hlavní součástí systému je dostatečné zastoupení enzymů – aminooxidas - monoaminoxidasy a diaminoxidasy. Mají však omezenou detoxikační kapacitu a nestačí pokrýt příjem BA v nadměrném množství. Tyto enzymy (monoaminoxidasy a diaminoxidasy) působí ve střevním epitelu tak, že do krevního oběhu putují již produkty oxidace BA. Aktivita těchto enzymů je ovlivněna alkoholem, který ji snižuje, ale hlavními inhibitory monoaminoxidasy jsou léky z řady antidepresiv. Tyto léky mohou obsahovat inhibitory aminooxidas. Dále se množství těchto aminooxidas snižuje s přibývajícím věkem člověka. Snižování aktivity monoaminoxidasy dochází ke vzniku migrén a projevům alergických reakcí. Aromatické aminy, jako TYR, nezpůsobují však žádné reakce, protože monoaminoxidasy ho oxidují dříve, než se TYR dostane do vlastního metabolismu [9].

BA jsou v nižších koncentracích pro lidský organismus nepostradatelné, ve vyšších koncentracích se již stávají toxické a při nadměrném příjmu potravou mohou vyvolávat v organismu projevy otravy a mohou ohrozit tak zdraví konzumenta. Některé BA, především sekundární aminy, mohou reagovat s dusitany obsaženými v potravinách za vzniku karcinogenních nitrosaminů.

Z toxikologického hlediska se mezi nejzávažnější BA řadí HIS a TYR. Patří k nejvíce zkoumaným a sledovaným BA v dnešní době. Účinky HIS a TYR zvyšují BA PUT a KAD, tyto BA sami o sobě nemají až tak velký vliv na organismus, ale jejich přítomnost a množství je v potravinářství důležité právě díky této vlastnosti [10]. Ve vysokých koncentracích, jak již bylo řečeno, BA mohou mít negativní vliv na zdraví člověka. Jejich vysoký příjem způsobuje zdravotní potíže, které mohou vést až k úmrtí konzumenta. Zdravotní stav konkrétní osoby určuje horní hranici toxicity a s tím i množství konzumované potraviny obsahující BA [1-5].

### **3.1 Vlivy konkrétních BA na zdraví konzumenta**

Některé BA se v organismu člověka projevují jako např. psychoaktivní a vasoaktivní látky. Psychoaktivní látky jsou látkami, kde BA působí na nervové přenašeče. Nejčastěji dochází k dočasným změnám vnímání a chování. Mezi tyto látky se řadí např. HIS. Vasoaktivní látky mají za následek hlavně kontrakce hladkého svalstva, rozšíření cév a tím i snížení krevního tlaku. Mezi vasoaktivní BA se řadí např. TR, FEA, TYR. BA mají přímý či nepřímý vliv na vaskulární systém a mohou se dělit na vasokontraktibilní, např. TYR a vasodilatační. PUT, SPD a SPM jsou důležité pro regulaci funkcí NK, syntézu bílkovin a pravděpodobně mají vliv i na stabilizaci membrán [1,5,11-12].

#### **3.1.1 Histamin**

Mezi nejzávažnější účinky HIS patří anafylaktický šok (příznaky: zrychlené dýchání, zrychlený tep, výrazná bledost, dušnost...), snížení

tlaku, bolesti hlavy, které mohou přecházet v silné migrény. Dalšími toxickými projevy jsou kontrakce hladké svaloviny střev jako břišní křeče, zvracení, průjmy. S otravou HIS může souviset i zarudnutí očí, kůže, potíže s dechem a třes. Největší otravy na HIS zaznamenávají země s vyšší konzumací ryb. Otrava se projevuje v rozmezí několika minut až tří hodin po požití kontaminované potravin. Projevuje se překrvením obličeje a šíje, silné bušení srdce. Ve vyšších koncentracích působí negativně na lidský organizmus. Tolerovaná horní koncentrace HIS v potravinách se pohybuje kolem 150-500 mg/kg [10,12-13].

### **3.1.2 Tyramin**

Je řazen do skupiny vazoaktivních aminů. TYR je součástí alkaloidů a důležitých neuroaminů. Z toxikologického hlediska je TYR spolu s HIS jedním z nejzávažnějších BA. TYR obsažený v potravinách může vyvolávat tvorbu otoků. Další příznaky vyvolané otravou TYR jsou silné bolesti hlavy spolu se zvracením, zvýšení teploty a prudké zvýšení krevního tlaku, může být příčinou krvácení do mozku a selhání srdce [6,10,12-13].

### **2.1.3 Putrescin a kadaverin**

Při vaření vznikají z PUT a KAD tzv. sekundární aminy: piperidin a pyrolidin, které jsou limitním faktorem pro tvorbu nitrosaminů, které jsou silně karcinogenní.

### **3.1.4 Spermidin**

Vzhledem k tomu, že SPD podporuje buněčné dělení a rozmnožování tkání, není jejich vyšší koncentrace v potravinách žádoucí u pacientů s nádorovým onemocněním.

### **3.1.5 Serotonin**

Jedná se o monoamin nervového mediátoru, který je syntetizován v centrálním nervovém systému. Ve vysoké koncentraci je obsažen v destičkách, gastrointestinálním traktu, neuronech v mozku. Umožňuje komunikaci mezi jednotlivými synapsi v mozku a ovlivňuje nálady, emoce, paměť, bolest, spánek, chuť k jídlu a sexualitě. Má regenerační a

antioxidační účinky (omezuje riziko vzniku rakoviny) a má významnou roli v procesu stárnutí buněk a orgánů. Nedostatek SER způsobuje snížení přenosu nervových vzruchů [1].

### 3.1.6 Tryptamin

Lokální tkáňové hormony (katecholaminy), vliv na krevní tlak, peristaltiku střev, psychické funkce [6].

## 4. Příspěvek mikroorganismů k tvorbě biogenních aminů

Množství a typ BA, který se tvoří v potravinách je závislý na povaze výrobku a zejména na množství a druhu přítomných MO. Bakterie s přítomností dekarboxylačních enzymů mohou AMK transformovat na toxické BA.

Dekarboxylasy aminokyselin se vyskytují u mnoha druhů bakterií, jako jsou např. rody: *Achromobacter*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* a některé druhy mléčných bakterií, především *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* [1-3,5-6].

Převážné množství BA produkuje MO *Bacillus cereus*, bakterie *E. coli* v mléce produkuje převážně HIS a TYR, rod *Streptococcus* produkuje po určité době skladování sýra zvýšené množství TYR.

### 4.1 Podmínky ovlivňující růst a množení těchto bakterií

Většina bakterií vykazující dekarboxylační aktivitu patří mezi fakultativně anaerobní MO. Tyto MO mohou růst jak za přítomnosti, tak i nepřítomnosti kyslíku [1,3-6,14]. Podmínek, které ovlivňují růst a množení těchto MO je velké množství, z nichž velký význam mají

především pH, teplota a doba skladování potravin. Produkce BA některými MO jsou uvedeny v tabulce č. 3.

- pH: je rozdílné u mléčných bakterií, které mají rády slabě kyselé prostředí a u hnilobných bakterií, kterým naopak vyhovuje neutrální až slabě zásadité prostředí. Optimální pH pro dekarboxylázy je obvykle v kyselé oblasti (pH kolem 5,5) [1,3,4,14].
- Teplota: mezofilní bakterie: většina rodů bakterií, výše jmenovaných, se množí a rostou v rozmezí 20 - 45 °C, největšího růstu a množení dosáhnou při t = 37 °C [1,3,4,14-15].
- Doba skladování potravin: bylo zjištěno, že pokud potraviny dlouhodobě skladujeme, obsah BA v těchto potravinách se výrazně zvyšuje, zejména ve fermentovaných výrobcích, dále také v ovoci a zelenině [1,3,14].
- Přítomnost volných AMK a využitelných sacharidů.

**Tabulka č. 3: Produkce aminů některými mikroorganismy [16].**

Mikroorganismus	Tyramin	Histamin	Putrescin	Kadaverin	Tryptamin	Fenyletylamin
Enterococcy	+	-	-	-	-	-
Lactobacily	+	+	+	+	-	-
Pediococcy	-	-	-	-	-	-
Entrerebacter	-	+	+	+	-	-

## 4.2 Rozdělení bakterií

Systematickým pojmenováním a uspořádáním bakterií se zabývá mezinárodní výbor pro bakteriologickou nomenklaturu. V praxi se používá Bergeův systém (Berge's Manual of Determinative Bacteriology - 9. vydání), kde jsou všechny známé, izolované a identifikované bakterie uspořádány do 19. skupin [17].



## **Bakterie významné v potravinářství se dělí převážně do 7 různých skupin:**

- $G^-$  aerobní tyčinky a koky,
- $G^-$  fakultativně anaerobní tyčinky a koky,
- $G^+$  koky,
- Sporulující tyčinky a koky,
- $G^+$  nesporulující tyčinky,
- Mykobakterie,
- Aktinomycety a příbuzné organismy [17].

Důležitým znakem u bakterií je jejich barvení podle Grama, podle kterého se dělí na grampozitivní ( $G^+$ ) a gramnegativní ( $G^-$ ) bakterie. Jde o barvení fixovaného preparátu krystalovou violetí a následném moření buněk jódem v roztoku KI. Vzniká komplex barvivo – jód – buněčné složky. Tento komplex se tvoří jak u  $G^+$  bakterií, tak i u  $G^-$  bakterií. Rozdíl vzniká v době, kdy se preparát barví organickým rozpouštědlem (alkohol, aceton). Z  $G^-$  se barvivo vymývá a bakterie se odbarvují, kdežto z  $G^+$  se barvivo nevymyje. Pro zvýraznění rozdílu se  $G^-$  dobarvují kontrastním barvivem. Častým barvivem pro dobarvení je karbolfuchsin nebo safranin. V mikroskopu se pozorují  $G^+$  jako modře až fialově zbarvené MO a  $G^-$  jako červené MO [17,18].

### **4.2.1 $G^-$ aerobní tyčinky a koky**

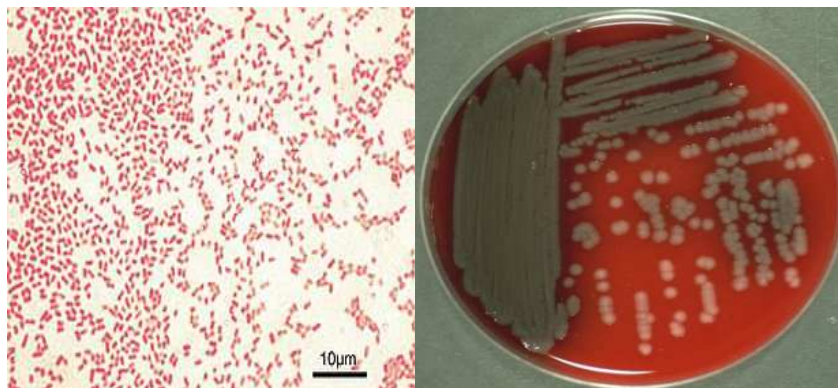
#### Rod *Pseudomonas*:

Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou bez kvasných schopností s bohatým enzymovým vybavením (lipolytické a proteolytické enzymy).

*Pseudomonas aeruginosa* tvoří zelené pigmentace, má typický pach a vyskytuje se v odpadních vodách, je patogenní, účastní se hnisavých procesů. [17]. Nemá pouzdro, je však obalena někdy slizovou vrstvou. Bakterie *P. aeruginosa* tvoří pigment a to konkrétně modrozelený pyocianin. Na obr. č. 4 vlevo je vidět tyčinkovitý tvar této bakterie po barvení podle Grama, vpravo na tomto obrázku je *P.*

*aeruginosa* na krevním agaru, optimální doba růstu bakterií je jeden až dva dny.

Obr. č. 4: *Pseudomonas aeruginosa*: a) barvení podle Grama[19], b) na krevním agaru[20].



#### 4.2.2 $G^-$ fakultativně anaerobní tyčinky

Jedná se převážně o střevní bakterie. Jedním z nich je *Escherichia coli*, která patří do koliformních MO [17].

##### Rod *Escherichia*

*Escherichia coli*: její vyrostlé kolonie na živné půdě jsou na obr. č. 5 vlevo, vpravo na obrázku je tato bakterie barvena podle Grama a je vidět její tyčinkovitý tvar. Vyskytuje se ve střevním traktu živočichů a některé kmeny jsou patogenní. Patří mezi koliformní MO. Koliformní bakterie jsou  $G^-$  tyčinky, které netvoří spory a jsou schopné růstu na kultivačním médiu obsahujícím žlučové sole či jiné povrchově aktivní látky s podobnými vlastnostmi. Mají schopnost fermentovat laktózu při teplotě 35 °C nebo 37 °C se současnou produkcí kyselin, plynu a aldehydu během 24 - 48 hod [17].

##### Rod *Salmonella*

Bakterie  $G^-$  jsou fakultativně anaerobní tyčinky. Tyto bakterie nezkrvají laktosu a produkují  $H_2S$ , využívají citrát a jsou patogenní, jedná se o původce salmonelóz (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*) a tyfu (*S. typhi*, *S. paratyphi*) [17].

Obr. č. 5: Bakterie *E. coli*: a) na živné půdě [21], b) barvení dle Grama [22].



#### 4.2.3 G<sup>+</sup> koky

##### Rod *Streptococcus*

##### *Lactococcus*

*Lactococcus lactis* (jeho vyrostlé kolonie na živné půdě jsou na obrázku č. 6) je G<sup>+</sup> bakterie, jejím tvarem jsou koky, které se vyskytují v párech, krátkých řetízcích. Podle podmínek růstu mohou mít i vejcovitý tvar s délkou 0,5 až 1,5 μm. Bakterie *L. lactis* nevytváří spóry a není pohyblivá [23], produkuje nisin [17].

Bakterie *L.lactis* zkvašováním sacharidů produkuje kyselinu mléčnou. Jako zdroje uhlíku, které tato bakterie čerpá jsou: fruktóza, galaktóza, glukóza, laktóza, maltóza, mannitol, mannosu, ribosa, sacharosa a trehalosa. [21]. Důvodem, že se tato bakterie stala nejdůležitějším MO používaným v mlékárenském průmyslu, je právě díky produkci kyseliny mléčné a používá se tak při výrobě mléčných fermentovaných výrobků jako je např. sýr, podmáslí [24-26]. *L. lactis* subsp. *Lactis* (dříve *Streptococcus lactis* [27]) se používá v počátečních stádiích k výrobě sýrů včetně sýrů Brie, Cabernet, čedar, Colbi a mnoho dalších. *Lactococcus* má dva poddruhy s rozdílnými fenotypy a genotypy. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a subsp. *cremoris*, kde subsp. *lactis* je preferován pro výrobu měkkých sýrů, zatímco *L. lactis* subsp. *cremoris* je preferován pro výrobu sýrů tvrdých [28].

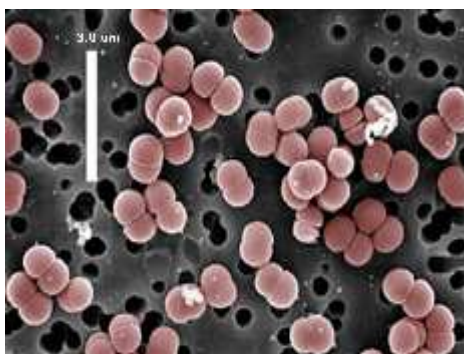
##### *Pediococcus*

*Pediococcus pentosaceus* (viz obr. č. 7) jsou  $G^+$ , fakultativně anaerobní, nepohyblivé bakterie. *P. pentosaceus* může být izolován z různých rostlinných materiálů a zrajících sýrů, je také typickou součástí mikroflóry většiny druhů sýrů v průběhu jejich zrání [29-30].

Obr. č. 6: *Lactococcus lactis* [31].



Obr. č. 7: *Pediococcus pentosaceus* [32].



#### Rod *Leuconostoc*

Tvoří slizovitá pouzdra z dextranu (způsobuje ucpávání potrubí v potravinářském průmyslu, slizovatění šťáv) [17].

#### **4.2.4 Sporulující tyčinky a koky**

##### Rod *Bacillus* ( $G^+$ tyčinky)

*B. subtilis*

Vyskytuje se v seně, vodě, vzduchu, snadno se dostává do potravin, způsobuje sladké srážení mléka. Enzymy amylázy se používají pro průmyslové výroby [17].

#### **4.2.5 G<sup>+</sup> nesporeující tyčinky**

##### Rod *Lactobacillus*

Dlouhé nepohyblivé tyčinky. Vyskytují se v mléce, dutině ústní, trávicím traktu savců, obilí a půdě. Většina druhů roste při teplotě 45 °C. Činnost mléčných bakterií se využívá k výrobě sýrů (*L. cassei*, *L. delbrückei subsp. Lactis*, *L. helveticus*) [17].

#### **4.2.6 Mykobakterie**

##### Rod *Mykobakterie*

Rovné nebo mírně zakřivené tyčinky tvořící vlákna až mycélia, která se mohou rozpadat až na koky G<sup>+</sup>, acidorezistentní (buňky obarvené karlobfuchsinem se neodbarvují kyselinami ani alkoholem). Vysoká rezistence je zajištěna složením buněčné stěny - vysoký obsah lipidů a vosků. Vyskytují se v půdě, vodě, saprofytický i parazitický se vyskytují u člověka i zvířat [17].

#### **4.2.7 Aktinomycéty a příbuzné organismy**

G<sup>+</sup> aerobní, tvoří dlouhá větvená vlákna (hyfy) a mycelium, které se rozpadá na tyčinky nebo koky. Aktinomycéty tvoří nejpočetnější skupinu bakterií v půdě, způsobují typický plísňový pach půdy, uplatňují se při rozkladu rostlinného i živočišného materiálu [17].

## **5. Sýry**

Z výživového hlediska nám sýry poskytují plnohodnotné bílkoviny, vápník a vitamíny. Negativní vlastností některých sýrů je vysoký obsah nasycených tuků a vysoký obsah kalorií [33].

### **Vápník (Ca)**

Mléčné výrobky obsahují minerální látku Ca, která spadá do skupiny makroelementů. Makroelementy jsou ty minerální látky, jejichž denní spotřeba pro člověka je nad 100 mg. Ca je stavební složkou kostí a

zubů, je důležitý pro emulgaci tuků, pro svalovou činnost a srážlivost krve. Při nedostatku Ca dochází k osteomalacii, osteoporóze, zvýšení nervové dráždivosti. Využitelnost vápníku se liší podle druhu přijímaných potravin. Ze sýra je využitelnost 30 % [34]. Denní potřeba člověka je průměrně 0,8 – 1 g Ca, těhotné a kojící ženy mají spotřebu až 2g Ca denně [33].

## **Vitamíny**

Důležitým vitamínem v sýrech, je vitamín B<sub>12</sub>. Jedná se o strukturně velmi složitou látku patřící mezi tzv. korinoidy. Vitamín B<sub>12</sub> je vitamínem rozpustným v tucích a jeho absorpce probíhá v trávicím traktu. Zdrojem vitamínu B<sub>12</sub> jsou živočišné látky - maso, vejce a mléko, v rostlinných látkách se nevyskytuje, proto zdroje tohoto vitamínu, v sýru jsou důležité především pro vegetariány. Denní potřeba je 2,4 - 3 µg. Nedostatek může způsobit neurologické poruchy, poruchy hybnosti a halucinace [34].

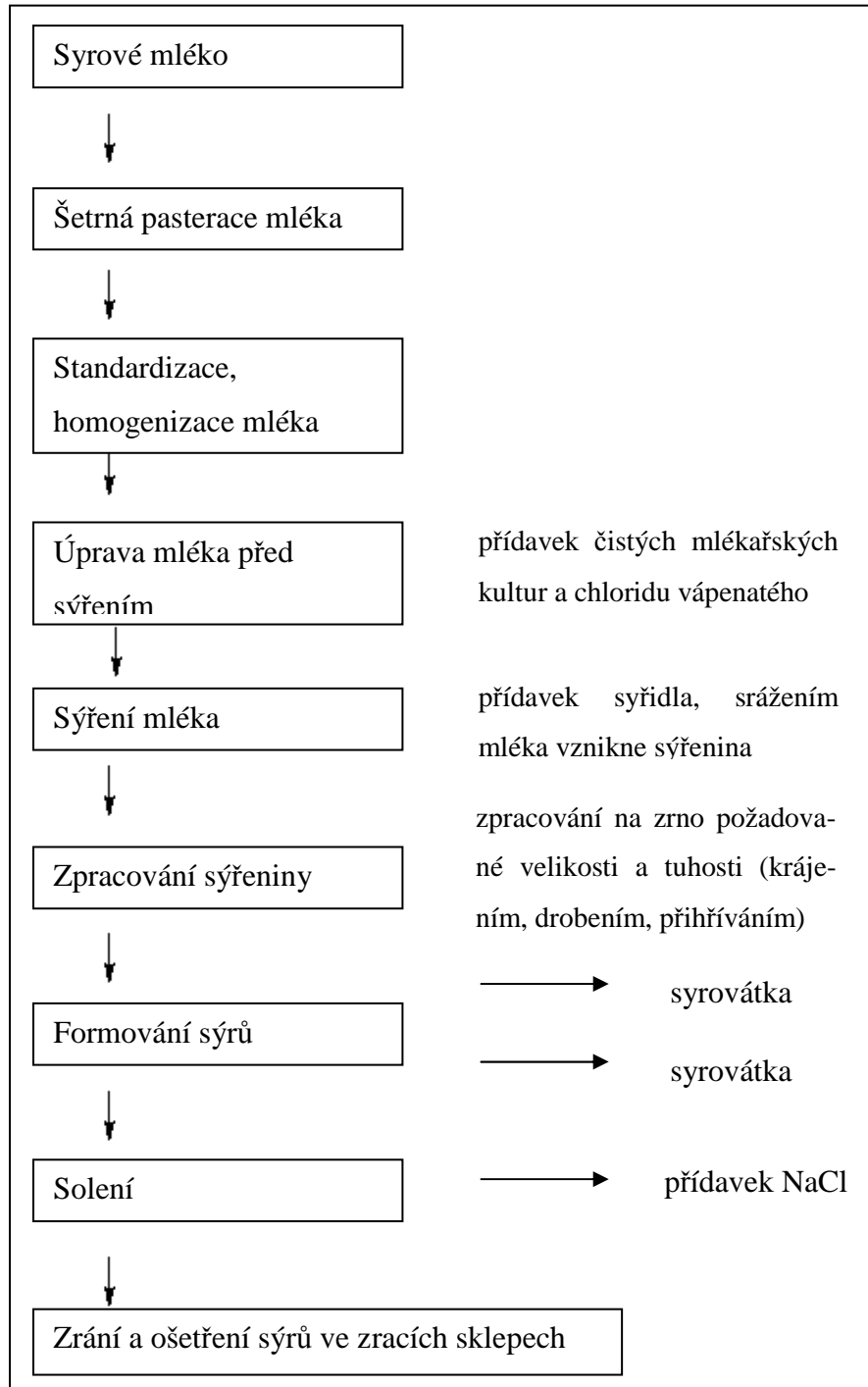
## **5.1. Výroba sýrů**

Sýrů je v současné době na trhu velké množství, jejichž technologie postupu výroby se skládá z několika kroků. V závislosti na druhu vyráběného sýra se mohou některé kroky lišit. Hlavní surovinou pro tuto výrobu je mléko. Nejčastěji se používá kravské mléko, dále může být použito např. i kozí či ovčí [35]. Na tuto základní surovinu jsou kladeny požadavky, které určují jakost mléka. Podmínky pro úspěšnou výrobu a zrání sýrů je především přítomnost potřebných druhů užitečných MO v sýru, dostatečný počet MO a jejich působení [36].

### **5.1.1 Technologický postup výroby sýrů**

Hlavní kroky jsou podobné pro výrobu sýrů při použití všech tří druhů mléka. Než se mléko srazí, musí se homogenizovat, abychom získali požadovaný objem proteinu, tuku a dalších důležitých látek. Na obrázku č.8 je schematicky znázorněn postup výroby sýrů od syrového mléka po jeho konečné zrání ve sklepích, následuje již jen balení vyrobených sýrů do obalů.

Obr. č. 8: Schéma technologického postupu výroby sýru [37].



#### 5.1.1.1 Vybrané kroky technologického postupu

##### **Pasterace mléka**

Pasterací mléka se rozumí zahřátí mléka na teplotu 72 °C - 74 °C po dobu 20 – 30 sekund, účelem je usmrcení škodlivých MO.

## **Standardizace mléka**

Jedná se o úpravu obsahu tuku v mléce.

## **Homogenizace mléka**

Je vhodná zvláště pro některé druhy sýrů, např. Nivu. Dochází při ní ke zmenšení tukových kuliček v mléce a tím pak ke snadnějšímu rozkladu tuku v průběhu zrání a k tvorbě charakteristické chuti a vůně sýra [35,37].

## **Srážení**

Do mléka se přidá buď syřidlo (tj. mikrobiální enzym), bakterie mléčného kvašení, nebo kombinace obojího. Následně dojde k jeho vysrážení, kdy se mléko promění ve dvě substance – pevnou, tedy tvaroh (sýrařské zrno), a tekutou, což je syrovátka [35,37]. Syrovátka má nízké zastoupení sušiny a to do 4 %. Formování sýřeniny je vyobrazeno na obr. č. 9.

## **Zrání**

Zrání je enzymatický pochod, během kterého sýr získává svou charakteristickou vůni, chuť, vzhled a konzistenci. Mění se složení sýra, k největším změnám dochází u mléčného cukru a bílkovin. Sýry mohou zrát několik dnů ale i řadu měsíců. S tím jak postupuje fermentace, mění se tvaroh v kašovitou hmotu. Sýr vyžaduje trvalou pozornost. Musí se pravidelně obracet a některé i ručně kartáčovat. Na zrání mají rozhodující vliv teplota, vlhkost a proudění vzduchu [35]. Zrání se často provádí ve sklepích (viz. obr. č. 10), kde mají sýry ke zrání vhodné podmínky.

Zrání rozeznáváme:

- 1) primární, neboli anaerobní: sýry zrají v celé hmotě
- 2) zrání sekundární, neboli aerobní: sýry zrají od povrchu směrem dovnitř.

Primární zrání probíhá pomaleji (u sýrů tvrdých, s plísní ve hmotě), sekundární rychleji (u sýrů kyselých a měkkých).



Obr.č.9 :Formování sýřeniny [37].



Obr. č. 10: Zrání sýrů ve sklepích [37].



### 5.1.2 Požadavky na mléko pro výrobu sýrů

Jakost kravského mléka pro výrobu sýrů je určena celkovým chemickým složením mléka a jeho fyzikálními, mikrobiálními a hygienickými vlastnostmi. Podle způsobu zpracování a zužitkování se mění i význam těchto vlastností [38].

Obecně určují jakost mléka:

- počet mikrobiálních zárodků, které musí být co nejnižší,
- obsah tuku a kaseinu mléka, tento obsah musí být vysoký,
- mléko musí být zdravotně nezávadné a nesmí být při nadojení a po nadojení mechanicky znečištěné,

- mléko nesmí obsahovat látky, které nepříznivě ovlivňují chuť a vůni vyráběných výrobků [38,39].

Tyto požadavky na jakost mléka pro výrobu sýrů jsou doplněné dalšími důležitými znaky, které rozhodují o vhodnosti mléka k výrobě určitých druhů sýrů. Je to tzv. sýřitelnost mléka. Sýřitelnost mléka je schopnost mléka k sýření a vytváření pevné sýřeniny. Pro výrobu sýrů je také důležitým znakem tzv. kvasnost mléka, což je schopnost mléka být vhodným prostředím pro rozmnožování a činnost užitečných MO, především bakterií mléčného kvašení a to jak v mléce, tak i v čerstvé sýřenině [38].

### **5.1.3 Hlavní sýrařské kultury při výrobě sýrů s vysoko-dohřívanou sýřeninou**

Jako sýrařské kultury pro výrobu sýrů s vysoko dohřívanou sýřeninou se používají převážně termofilní MO, propionové kultury a kvasinky. V sýrařství je základem, aby kultura použita pro výrobu sýra byla schopna produkovat kyselinu mléčnou, rozložit proteiny, produkovat oxid uhličitý [40].

#### **4.1.3.1 Kultury termofilních mikroorganismů**

Termofilní bakterie jsou teplomilné bakterie, které mohou být dvojího druhu, a to striktně termofilní, nerostoucí pod 30 °C s optimem růstu 55 °C a maximem 80 °C a fakultativně termofilní s optimem růstu 45 – 55 °C a maximem růstu 75 °C a rostoucí i při teplotách pod 30 °C. Většina termofilních bakterií je sporulujících, mezi termofilní MO patří i aktinomycety. Význam mají v konzervárenství, potravinářství a cukrovarnictví. Žádný z termofilních MO není patogenní [40].

Jako kultury se převážně využívá laktobacilů, *Lactobacillus helveticus*, *acidophilus*, *lactis*. Tyto MO jsou často v kombinaci se streptokoky. Běžnou kombinací MO se používá např. *Lactobacillus helveticus* a *Str. thermophilus* v poměru 1:1. K výrobě sýrů ementálského typu se přidávají v obsahu 0,05-0,1% [41].

### 5.1.3.2 Propionové kultury

Tyto kultury využívají produkty mléčného kvašení laktosy, hlavně kyselinu mléčnou ke tvorbě kyseliny propionové, octové a CO<sub>2</sub>, jejich největší aktivita je zjištěna při pH nad 5,2. Při výrobě sýrů mají za následek tvorbu pravých ok (viz. obr. č. 11), také se podílejí na chuťových vlastnostech sýra. Nejvýznamnějšími jsou *Propionibacterium freudenreichii* a *shermanii* [42].

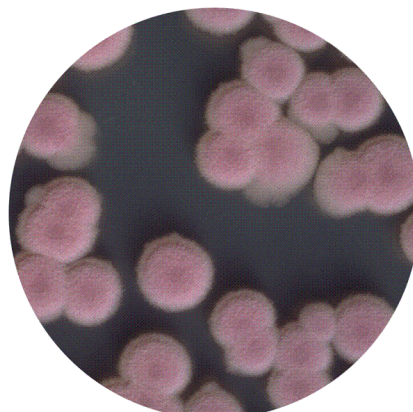
**Obr. č. 11: Oka uvnitř Ementálu vzniklé mléčnou bakterií *Propionibacterium freudenreichii* [43].**



### 5.1.2.3 Kvasinky

Kvasinky jsou eukaryotní jednobuněčné MO patřící mezi houby (Fungi). Jsou uplatňovány při výrobě a zrání sýrů jen v malé míře. Nejčastěji kvasinka *Candida Krusei* (viz. obr. č. 12), která bývá součástí kultur pro tvrdé sýry a symbioticky podporuje rozvoj tyčinkovitých bakterií mléčného kysání [17,36].

**Obr. č. 12: Kvasinka *Candida Krusei* [44].**



## 5.2 Dělení sýrů

Sýry můžeme rozdělit podle několika hledisek a to např. podle použité suroviny, tuhosti těsta (měkké, poloměkké, polotvrdé, tvrdé, velmi tvrdé sýry), dalším a zásadním kritériem dělení sýrů je způsob, jakým byla získána z mléka sraženina na výrobu sýra. Jedná se o sýry:

- kyselé – mléko se srazí působením kyseliny mléčné, která je produktem bakterií mléčného kysání,
- sladké - při sražení mléka sýřidlem se získá sýřenina -základ k výrobě sýrů.

Významné je také dělení sýrů podle obsahu tuku v sušině, kde se sýry řadí, dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. [45], do 5 skupin, jak je uvedeno v tabulce č. 4.

**Tabulka č.4 : Rozdělení sýrů dle obsahu tuku v sušině[45]**

Druh sýra	Obsah tuku v sušině
Vysokotučné sýry	nejméně 60% t. v s.
Plnotučné sýry	nejméně 45 % t. v s.
Polotučné sýry	nejméně 25 % t. v s.
Nízkotučné sýry	nejméně 10 % t. v s.
Odtučněné sýry	méně než 10 % t. v s.

Podle zrání a zpracování sýřeniny je možné sýry rozdělit na dvě základní skupiny: zrající a nezrající sýry.

### 5.2.1 Sýry zrající v celé hmotě:

#### 5.2.1.1 Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou

U sýrů eidamského typu je charakteristické dohřívání sýřeniny horkou vodou na teploty 40 °C a praní sýrového zrna, délka zrání by měla být alespoň 2 měsíce, záleží na tom, jestli zrají ve fólii nebo pod nátěrem (př. eidam, Gouda).

U nízkodohřívaných sýrů s tvorbou ok se využívá propionová kultura (př. Madeland), u sýrů čedarového typu (pocházejí z Velké Británie) je postup výroby označován jako „čedarování“, charakteristický

je vysoký stupeň prokysání sýřeniny (používá se vyšší dávka mezofilové kultury a těsně před sýřením i termofilní kultura), sýrové zrno se dohřívá přes plášť výrobničku, po odpuštění syrovátky a předlisování se sýřenina mele a solí suchou solí, osolená sýrová hmota se formuje a lisuje, ve zrací fólii zrají sýry při teplotě 6 – 10 °C 2 – 12 měsíců, sýřenina čedarového typu se může využít i pro výrobu pařených sýrů (př. Kaškaval), které se mohou také udit (Oštiepok) [46-48].

#### 5.2.1.2 Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou

Mléko pro tyto tvrdé sýry musí být nejvyšší kvality a jeho tepelné ošetření co nejšetrnější, společným znakem jsou vysoké dohřívací teploty (48 – 56 °C) u sýrů ementálského typu tvorbu oka zajišťuje propionová kultura, sýřenina se zpracovává na drobné zrno a při vypouštění syrovátky nesmí dojít k jejímu provzdušnění, zrání trvá celkem tři měsíce a probíhá ve 3 fázích - první fáze zrání trvá 1 měsíc při teplotě 12 – 14 °C, poté v kvasném sklepě při teplotě 23 °C dochází k rozvoji propionové kultury, tzv. otevírání sýrů, následuje dozrávání v chladném sklepě (př. ementál) u sýrů typu moravský bochník je rozdíl v nižší teplotě dohřívání, sýry zrají pouze v chladném sklepě, nemají oka při výrobě sýrů ke strouhání jsou operace uzpůsobené tak, aby došlo k co největšímu odloučení syrovátky, sýry se obvykle vyrábějí s nižším obsahem tuku v sušině (30 %) typická je dlouhá doba zrání - až 1 rok (př. Parmazán) [46-48].

#### 5.2.2 Druhy zrajících sýrů

Zrající sýry mohou být s plísní uvnitř, jako je např. niva a modřenín (viz. obr. č. 13), nebo s plísní napovrchu, zástupcem této skupiny je Hermelín (viz. obr. č. 14).

#### **MADELAND**

Polotvrdý sýr s nízkodohřívanou sýřeninou a tvorbou oka. Doba zrání: sýr se uvádí do tržní sítě ve vhodném stupni zralosti, nejméně po 4 týdnech zrání. Skladování: výrobky se uchovávají v čistých, chladných, dobře větratelných prostorech při teplotě od 4 °C do 8 °C [46].

## **PRIMATOR**

Tvrký sýr s tvorbou ok s vysokodohřívanou sýřeninou. Primator patří mezi přírodní sýry ementálského typu s vysokodohřívanou sýřeninou, které jsou nejvydatnějším zdrojem vápníku v naší potravě. Doba zrání: sýr se uvádí do tržní sítě ve vhodném stupni zralosti, nejméně po 6 týdnech zrání. Skladování: v čisté, tmavé a chladné místnosti, dobře větratelné, při teplotě od 4°C do 8°C [46].

## **ARCHIVNÍ SÝR**

Tvrký sýr s vysokodohřívanou sýřeninou potažený potravinářským voskem. Doba zrání: sýr se uvádí do tržní sítě ve vhodném stupni zralosti, nejméně po 7 týdnech zrání. Skladování: výrobky se skladují v čisté, tmavé a chladné, dobře větratelné místnosti při teplotě od 4°C do 8 °C [46].

## **MORAVSKÝ BOCHNÍK**

Tvrký sýr bez ok s vysokodohřívanou sýřeninou. Doba zrání: sýr se uvádí do tržní sítě ve vhodném stupni zralosti, nejméně po 5 týdnech zrání. Skladování: v čisté, tmavé, chladné, dobře větratelné místnosti při teplotě od 4 °C do 8 °C [46].

## **EIDAMSKÁ CIHLA**

polotvrký sýr s nízkodohřívanou sýřeninou

Doba zrání: sýr se uvádí do tržní sítě ve vhodném stupni zralosti, nejméně po 4 týdnech zrání. Skladování: výrobky se uchovávají v čistých a chladných, dobře větratelných prostorách při teplotě od 4°C do 8 °C [46].

Obr. č. 13: Sýr s plísní uvnitř a) Niva [49], b) Modřenín [50].



Obr. č. 14: Měkký sýr s plísní na povrchu [50].



### 5.3 Koncentrace biogenních aminů v sýrech

Riziko výskytu BA v sýrech se mění podle druhu vyráběného sýra a nebezpečí jejich tvorby se zvyšuje při výrobě sýrů, které mají dlouhou periodu zrání nebo u skupiny sýrů zrajících pod mazem. Musí se také dbát na vysokou mikrobiální jakost nakupovaného mléka. Zavést do laboratorní praxe mikrobiální metody vhodné pro preventivní sledování výskytu MO vykazujících dekarboxylázovou aktivitu. Souběžně s mikrobiální kontrolou mléka a sýrů je žádoucí sledovat i další suroviny a pomocné látky používané při výrobě sýrů, dobu zrání, startovací kultury a dodržovat hygienu při výrobě sýra.

Riziko BA zvyšují faktory:

- vysoký podíl proteolytických bakterií a enzymů v soustavě,
- volné AMK, nízké pH produktu, vyšší koncentrace NaCl, dekarboxylázová aktivita,
- používání málo kontrolovatelných přirozených fermentací nebo nepříliš kvalitních startovacích kultur,
- nedostatečná pasterace,
- neodpovídající podmínky skladování, podmínky zrání [13].

Při analýzách vzorků sýrů jsou nejvíce zastoupeny BA TYR a PUT, dále ve velké míře následovali KAD a HIS, kdežto hodnoty TR,

FEA, SPD a SPM byly nízké. Obsah a profil BA v sýrech je závislý zejména na typu sýra. Nejvyšší koncentrace BA byly nalezeny v sýrech s vysokodohřívanou sýřeninou a v měkkých zrajících sýrech, zatímco u sýrů smetanových a termizovaných jednotlivé BA nejsou detekovány nebo jsou obsaženy v malém množství.

### **5.3.1 Histamin**

HIS vzniká při mikrobiologickém rozkladu potravin, a proto se velmi hojně vyskytuje v potravinách živočišného původu jako jsou například ryby (konzervovaný tuňák, uzené makrely), mléčné výrobky nebo maso. Kromě toho může být obsažen i ve výrobcích procházejících mikrobiologickým kvašením a fermentací, jako je sýr, pivo, víno (obsah histaminu je rozdílný v červeném a bílém víně, kde červené víno obsahuje více histaminu než bílé víno), kyselé zelí, uzeniny, kávová zrna, černý čaj a extrakty droždí [39].

Pomalu zrající druhy sýrů (starší ročníky goudy, ementál a čedar) obsahují více histaminu než rychle zrající druhy sýrů (mladší ročníky goudy). Měkké sýry jako Camembert a Brie obsahují také větší množství HIS.

Z měkkých sýrů je nejvyšší koncentrace HIS nalezena u pivního sýra (cca 280 mg/kg). Tyto hodnoty jsou řádově vyšší než u měkkých sýrů ze zahraničí. U českých sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou jsou hodnoty histaminu řádově nižší (u ementálu cca 150 mg/kg) než uváděné hodnoty v zahraničních sýrech stejného typu (ementál až 1500 mg/kg) [39].

### **5.3.2 Tyramin**

Nejvyšší koncentrace TYR jsou nalezeny u sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou (ementál 1123 mg/kg), měkkých zrajících sýrů (bryndza 417 mg/kg) a sýrů plísňových (Hermelín 187 mg/kg). U zahraničních sýrů téhož typu však bývají nalézány hodnoty i násobně vyšší (např. parmazán 2460 mg/kg) [39].



### **5.3.3 Putrescin**

S výjimkou měkkých zrajících sýrů a sýrů plísňových byla koncentrace PUT u českých sýrů relativně nízká. Nejvyšší koncentrace jsou u brynzy (591 mg/kg) a tvarůžků (514 mg/kg) [39].

### **5.3.4 Kadaverin**

Dřívější studie uvádějí, že sýry mohou obsahovat vysoké koncentrace KAD, u sýra Camembert přesáhla hladina 1000 mg/kg. V českých sýrech obsahovala vysoké hladiny KAD bryndza (1110 mg/kg), tvarůžky (739 mg/kg) a Niva (699 mg/kg). U ostatních sýrů dosahovaly koncentrace KAD nízkých až středních hodnot [39].

### **5.3.5 Tryptamin**

Koncentrace TR je u sýrů nízká nebo TR se nenachází vůbec. Zahraniční prameny připouští i vysoké koncentrace (rocquefort až 600 mg/kg). U sýrů s vysokými koncentracemi tryptaminu byl prokázán i 2-fenylethylamin [39].

### **5.3.6 Spermin, spermidin**

Polyaminy (SPM a SPR) jsou v sýrech nalezeny v koncentracích odpovídajících jednotkám, výjimečně desítkám mg/kg. Nejvyšší koncentrace jsou stanoveny u plísňových a měkkých zrajících sýrů [39].

## **6. Stanovení biogenních aminů v sýrech**

V současnosti se zabývá stanovením BA řada laboratoří a je jim věnována velká pozornost. Během pár let byla nalezena a vypracována řada metod pro jejich stanovení. Metody jsou vždy určeny pro určitý typ analyzovaného vzorku a vzhledem k různorodosti vzorků není možné najít jednu univerzální metodu pro stanovení BA ve všech druzích potravin [8,45]. V potravinářství mají význam zejména metody stanovující aromatické, heterocyklické či BA jako celek.

## **6.1. Metody stanovení biogenních aminů**

V současné době se ke stanovení BA vyvinula řada metod, z nichž se využívá především chromatografických metod, zejména tenkovrstvá chromatografie, plynová chromatografie a kapalinová chromatografie, dále se BA mohou stanovit také elektromigrační metodou - kapilární elektroforézou [45]. Většina metod pro stanovení BA je z časového hlediska velmi náročná a nelze je v běžném provozu použít a je určena vždy pro určitý typ analyzovaného vzorku (potravin).

Ke stanovení BA v potravinách lze využít řadu analytických metod. Jedná se převážně o metody chromatografické. Chromatografie je separační, analytická, fyzikálně-chemická metoda pro separaci a analýzu směsí látek, jejímž základním principem je rozdělování složek směsí mezi mobilní a stacionární fázi. Mobilní fáze je ta, která se v chromatografickém systému pohybuje. Stacionární fáze je v chromatografickém systému fáze, která je nepohyblivá. Touto fází může být pevná látka nebo film kapaliny zakotvený na pevné látce [51].

Mezi současné chromatografické metody stanovení BA patří zejména tenkovrstvá kapalinová chromatografie, plynová chromatografie, kapilární zónová elektroforéza [36,52], vysokoúčinná kapalinová chromatografie a iontově výměnná chromatografie.

Nejvyžívanější metodou v praxi pro stanovení BA v sýrech je metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Většina metod pro stanovení biogenních aminů je časově velmi náročná a nelze je v běžném provozu použít.

### **6.1.1 Tenkovrstvá chromatografie**

Tenkovrstvá chromatografie (TLC) patří mezi poměrně jednoduché metody stanovení a lze ji použít pro větší množství vzorků.

Její nevýhodou je celkem vysoká časová náročnost a nepatří mezi zcela přesné metody.

Provedení TLC spočívá v nanesení kapky analyzované směsi na startovní místo. Tenká vrstva se jedním koncem ponoří do mobilní fáze, tak, aby startovní pozice kapek analytu zůstaly nad hladinou mobilní fáze. Mobilní fáze vzlíná tenkou vrstvou přičemž dochází k transportu a dělení analyzované směsi. Analýza se ukončuje, když čelo mobilní fáze dorazí do blízkosti protilehlého konce tenké vrstvy. Čelo mobilní fáze je označeno a tenká vrstva je vysušena. Vysušená vrstva, na které jsou patrné skvrny jednotlivých složek směsi v různé vzdálenosti od startu, představuje chromatogram této metody.

V případě analýzy BA se používá dvoufázová TLC. Tato metoda využívá systému rozpouštědel chloroform – dietyler – triethylamin (v poměru 6:4:1) a dále chloroform – triethylamin (v poměru 6:1). Derivatizace BA se provádí zejména pomocí dansylchloridu s následnou denzitometrickou detekcí při vlnové délce 254 nm [53-54].

### **6.1.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie**

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) se řadí mezi nejčastěji používané separační metody. HPLC vyniká vysokou účinností, dobrou opakovatelností, jedná se tedy o citlivou a přesnou metodu. HPLC je založena na separaci analytů na základě jejich distribuce mezi stacionární a mobilní fází. Mobilní fází je zde kapalina. Během separace dochází k mnoha typům interakcí. Uplatňují se interakce analytů s mobilní fází, interakce mobilní fáze se stacionární fází a sorpce analytů na stacionární fází. Na základě rozdílné velikosti distribuční konstanty jsou některé analyty na koloně zadržovány méně a některé více [55]. Schéma HPLC je znázorněno na obr. č. 15.

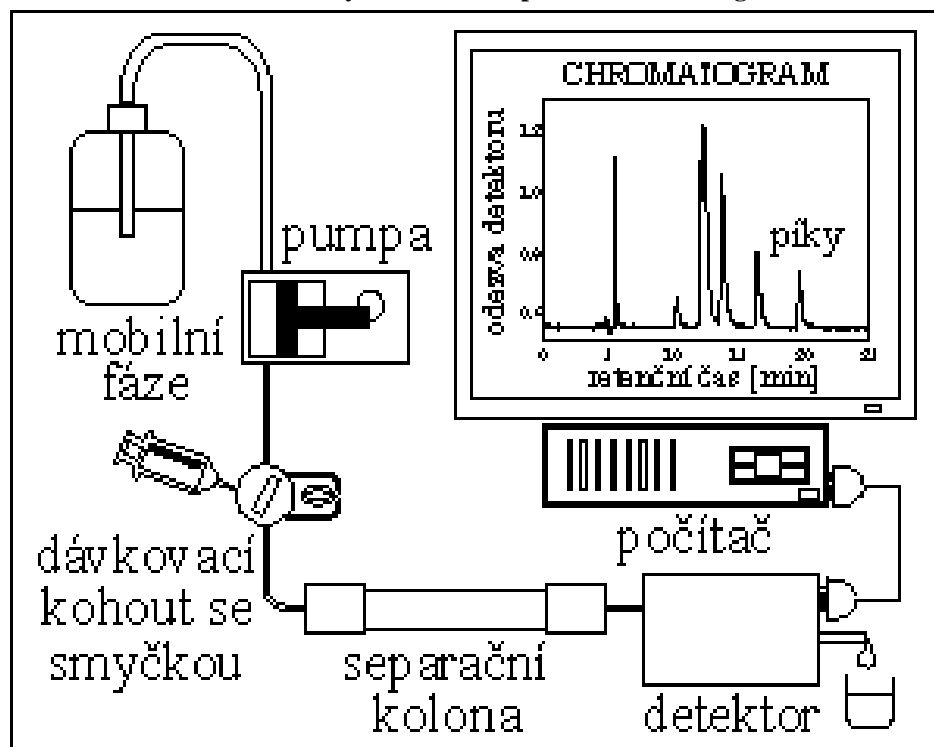
Pro stanovení sýrů homogenizují a BA byly extrahují v 10% kyselině trichloroctové. BA v alikvotním podílu kyselého extraktu reakcí

s dansylchloridem převedou na jejich dansylderiváty, extrahují do nepolárního rozpouštědla (petrolether, n-hexan) a po odpaření analyzují [39].

Často používanou variantou je RP-HPLC po postkolonové derivatizaci o-ftalaldehydem (OPA). Lze použít rovněž merktaptoetanol (2-ME), následuje fluorimetrická detekce.

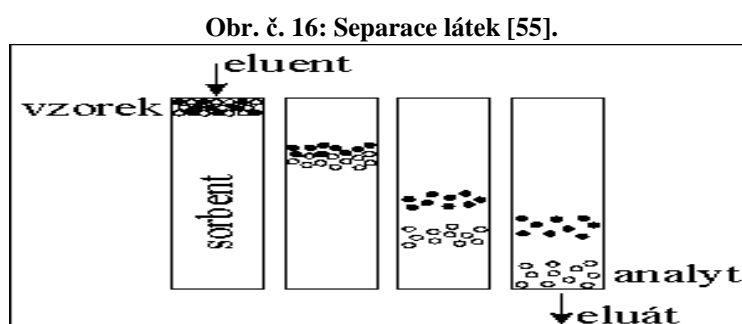
Jako další derivatizační činidla se používají např. 1,2-naftochinon-4-sulfonát (spektrofotometrická detekce), 4-chloro-7-nitrobenzofurazan (spektrofotometrická detekce), aj. Pro detekci některých BA není nutné použít derivatizační činidlo, jedná se zejména o stanovení HIS a TR. U HIS je možné použít UV/VIS DAD detektor, tj. detektor diodového pole. Kromě výše uvedených detekcí je možné použít i konduktometrický detektor. Stále častěji se používá pro stanovení BA kombinace HPLC s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS) [56-57].

Obr. č. 15: Schéma vysokoúčinné kapalinové chromatografie [55].



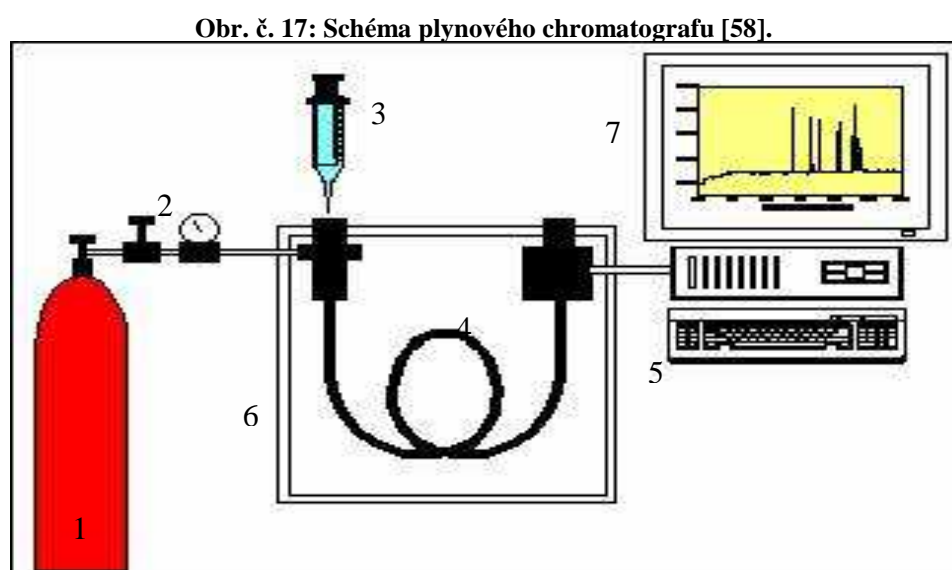
Separace (dělení) probíhá v separační koloně, která obsahuje stacionární (nepohyblivou) fázi = sorbent a mobilní (pohyblivou) fázi = eluent (viz obr. č. 16).

Rozdílné analyty (dělené látky) mají rozdílnou afinitu ke stacionární fázi. Různé analyty podléhají různé distribuci (rozdělování) mezi mobilní a stacionární fázi. Rozdílné analyty jsou rozdílně zadržovány a rozdílně zpoždovány (retardovány).



### 6.1.3 Plynová chromatografie

Pro stanovení BA se nejčastěji používá plynová chromatografie (GC) (schéma GC je uvedeno na obr. č 17) využívá ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) za použití anhydridu kyseliny heptafluoromáselné jako derivatizačního činidla (pro převod BA na těkavý derivát).



Popis schéma:

- 1) Zdroj nosného plynu
- 2) Regulátor průtoku
- 3) Dávkovací systém (injektor)
- 4) Chromatografická kolona
- 5) Detektor
- 6) Termostaty pro injektor, kolonu a detektor
- 7) Vyhodnocovací zařízení (zapisovač, počítač)

Nosný plyn ( $H_2$ ,  $N_2$ , He, Ar) má za úkol unášet vzorek kolono a jeho výběr závisí na druhu kolony a na detektoru, důležité je však také to, aby nosný plyn byl netoxický a byl bezpečný pro práci. Dávkovač: slouží k zavedení vzorku do nosného plynu, musí zajistit odpaření vzorku v co nejkratším čase. Detektor slouží k detekci látek v nosném plynu, signalizuje jejich přítomnost, kolona je umístěna stacionární fáze a nastává zde separace složek [58].

#### **6.1.4 Kapilární elektroforéza**

Jednou z elektromigračních metod, která se v praxi pro stanovení BA využívá, je kapilární elektroforéza (CE), která je založena na rozdílné migraci ionizovaných látek ve stejnosměrném elektrickém poli.

Výhodami CE je jednoduchá instrumentace, vysoké rozlišení a účinnost separací, malá spotřeba vzorku, rychlost analýzy, malá spotřeba chemikálií a malé množství odpadů, nevýhodou je však koncentrační citlivost.

Nejjednodušší a nejčastěji používanou formou kapilární elektroforézy se využívá pro stanovení BA zejména kapilární zónová elektroforéza (CZE), která je vhodná pro separaci a stanovení iontů lišících se svou molekulovou hmotností, tvarem a nábojem. Dochází k dělení molekul s nábojem na základě jejich rozdílných mobilit (elektroforetických pohyblivostí). Nastává proces, kdy elektroosmotický tok separačního roztoku uvnitř kapiláry unáší kladné a záporné ionty k

detektoru. Tyto ionty navíc migrují svými rozdílnými elektroforetickými rychlostmi uvnitř roztoku, a tím se vzájemně dělí. Během jednoho experimentu lze dělit, detekovat a stanovit oba dva druhy iontů, kationy i aniony. Separace látek se provádí v kapiláře z taveného křemene. Kapilára je na vnějším povrchu pokryta vrstvou žlutého až hnědého polyimidu, který značně zvyšuje pružnost kapiláry a současně odstraňuje její křehkost. Kapiláru lze tedy ohýbat, aniž by se poškodila nebo dokonce zlomila [59].

Stejně jako v případě chromatografických technik, také u elektromigračních metod je nutná derivatizace analyzovaných složek. Pomocí derivatizačního činidla dochází ke vzniku fluoreskujících či absorbujících produktů.

Mezi nejpoužívanější derivatizační činidla patří: o-ftalaldehyd (OPA), fenyliizotiokyanát (FITC), 9-fluoroenylmetyloxokarbamát (FMOC), dansylchlorid, aj. Analyt může s činidlem reagovat před dělením či až po rozdělení směsi v kapiláře. Je možné využít i derivatizace vzorku přímo v kapiláře („on-column“ nebo „in-capillary“), v níž je obsažen základní elektrolyt dohromady s derivatizačním činidlem [53,59].

## Závěr

Tvorba biogenních aminů je stále zkoumanou kapitolou. Nejzávažnějšími biogenními aminy vzhledem k působení na zdraví člověka jsou histamin a tyramin, které jsou v dnešní době nejvíce sledovány díky jejich negativnímu vlivu při vyšších koncentracích

Právě díky negativnímu vlivu biogenních aminů na člověka je nutné k zamezení jejich tvorbě. K tomu přispívá řada faktorů. Mezi nimi je např. doba fermentace, kratší doba skladování. Nejvíce snad omezíme výskyt biogenních aminů používáním při výrobě potravin startovací kultury, které vykazují nejnižší možnou dekarboxilační aktivitu.

V dnešní době pro stanovení biogenních aminů v sýrech se nejvíce používá chromatografie jako taková. Konkrétní metoda uplatňovaná v praxi je vysokoúčinná kapalinová chromatografie, která se stala oblíbenou právě kvůli vysoké účinnosti, dobré opakovatelnosti a je metodou citlivou a přesnou.

Mým cílem bylo poskytnout zájemcům o tento obor ucelené informace, které jsem během sepisování nashromáždila. Do jaké výše jsem svůj cíl naplnil, to už musím nechat na čtenáři.



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Komprda, T. Obecná hygiena potravin Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004.
- [2] Kalač, P., Křížek, M. Biogenní aminy a polyaminy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví. Potravinářská Revue, 2005. 2, 40-42.
- [3] Valsamaki, K., Michaelidou, A., Polychtonieadou, A. Biogenic amine production in Feta cheese. Food Chemistry, 2000. 71 (2), 259-266.
- [4] Santos, M.H.S., Biogenic amines: their importance in foods. Journal of Food Microbiology, 1996. 29 (2-3), 213-231.
- [5] Roginski, H., Fuquay, J. W.; Fox, P.F., Encyclopedia of dairy sciences. London: Academic press, 2002.
- [6] Velíšek, J., Chemie potravin 3. Tábor: Osis, 1996.
- [7] Suková, I., Biogenní aminy v mléčných výrobcích, ÚZEI, 2006, [cit: 09-06-25], [on-line]  
<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=50116&ids=314>
- [8] Leuschner, R. G. K., Kurihara, R.; Hammes, W. P., Effect of enhanced proteolysis on formation of biogenic amines by lactobacilli during Gouda cheese ripening. International Journal of Food Microbiology, 1998. 44 (1-2), 15-20.
- [9] Shalaby, A. R, Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research International, 1996. 29 (7), 675-690.

[10] Křížek, M., Kalač, P., Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě, 1998. Č. 4, 151-159.

[11] Hui, J. Y., Taylor, S. L., Inhibition of in vivo histamine metabolism in rats by foodborne and pharmacologic inhibitors of diamine oxidase, histamine N-methyl transferase and monoamine oxidase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1985. 8, 241–249.

[12] Brinkl B., Damink C., Joosten H. M. L. J., Huist Veld, J. H. J., Occurrence and formation of biologically active amines in foods, *Int. J. Food Microbiol.*, 1990. 11: 73-84.

[13] Křížek, M.: The determination of biogenic amines in silage. *Arch. Anim. Nutr.*, Berlin, 41, 1991. Č. 1, 97-104.

[14] Edwards, S. T., Sandine, W. E., Symposium: Microbial metabolites of importance in dairy products. *Journal of Dairy Science*, 1981. 64 (12), 2341-2438.

[15] ROSYPAL, S., a kol., Nový přehled biologie, Scientia, 2003.

[16] Brichta, J., Honzlová A., Mikrobiální aktivity v potravinách živočišného původu a tvorba biogenních aminů, Sborník přednášek Aktuální problematika, mikrobiologie potravin, 2000. II: 45-51.

[17] Pejchalová, M., Učební texty VŠCHT Pardubice, Obecná mikrobiologie, 2007.

[18] Vytřasová, J., Bílková, Z., Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie, Pardubice, 2003. 30.

[19] Obrázek: *Pseudomonas aeruginosa* Gram, Wikipedie, [09-05-20], [on-line]

[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Pseudomonas\\_aeruginosa\\_Gram.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_Gram.jpg)

[20] Obrázek: *Pseudomonas aeruginosa*, KVL, [09-05-17], [on-line]  
<http://www.microbiologyatlas.kvl.dk/biologi/images/kolonier/pseudomonasaeruginosa.jpg>

[21] Obrázek: *E. coli*, Univerzita Jiangnan, [05-06-09], [on-line]  
<http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/072-1.jpg>

[22] Obrázek: *E. coli*, Suite101.com Media Inc, [05-06-09], [on-line]  
[http://www.suite101.com/view\\_image.cfm/180490](http://www.suite101.com/view_image.cfm/180490)

[23] Roissart, H., Luquet, F. M., *Bactéries lactiques, Aspekts fondamentaux et technologiques*. Uriage, Lorica, France, 1994. Vol. 1, 605.

[24] Madigan, M., Martinko J. Brock, *Biology of Microorganisms*, 2005.

[25] Schleifer, K. H, Kraus J, Dvořák K, Kilpper-Balz R, Collins MD, Fischer Z., *Transfer of Streptococcus lactis and related streptococci to the genus Lactococcus gen. nov.*, 1985. 183-195.

[26] Coffey A, Ross R. P., *Bacteriophage-resistance systems in dairy starter strains: molecular analysis to application*, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002. 82 (1-4): 303-21.

[27] Chopin, M., Roualt, A., Galleron, N., *Insertion and amplification of foreign genes in the Lactococcus lactis subsp. lactis chromosome*, 1989. 1769-74.

[28] Bolotin, A., Wincker, S., Mauer, S., Jaillon, O., Malmme, K., Weissenbach, J., Dusko Ehrlich, S., Sorokin., A., *The complete genome sequence of the lactic acid bacterium Lactococcus lactis ssp.* Cold Spring Harbor, Laboratory 2001. Volume 11, 731-753.

[29] Simpson, W. J., H. Taugiuchi, Wood, B. J. B., Holzapfel, W. H., The genus *Pediococcus*, *Tetratogenococcus* and *Aerococcus*,. The Genera of Lactic Acid Bacteria. Chapman & Hall, London, 1995. 125-172.

[30] Axelsson, L., Salminen, S., Von Wright, A., Dekker, M., Lactic acid bacteria: classification and physiology, Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, New York, 1998. s. 1-72

[31]Obrázek: *Lactococcus lactis*, American souciety for microbiology, [05-06-09], [on-line]

[http://www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/ccImages/Articleimages/Atlas\\_StreakPlating/Lactococcuslactis\\_Variations\\_fig5.jpg](http://www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/ccImages/Articleimages/Atlas_StreakPlating/Lactococcuslactis_Variations_fig5.jpg)

[32] Obrázek: *Pediococcus pentosaceus*, J. Craig Venter Institute, [06-06-09], [on-line]

[http://www.genomenewsnetwork.org/gnn\\_images/news\\_content/11\\_02/keepers\\_art/keep\\_3.jpg](http://www.genomenewsnetwork.org/gnn_images/news_content/11_02/keepers_art/keep_3.jpg)

[33] Novák, V., Buňka, F., Základy ekonomiky výživy, Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005.

[34] Korecká, L., Učební texty VŠCHT Pardubice, Potravinářská biochemie, 2009.

[35] Yoplait Czech, a. s.: Technologie výroby, výroba v šesti krocích, [06-06-09], [on-line]

<http://www.reverend.cz/technologie-vyroby.aspx>

- [36] Křížek, M., Pelikánová, T., Determination of seven biogenic amines in foods by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr. A*, 815, 1998, s. 243-250.
- [37] Oliveira, A., Nielsen, J., Förster, J., Modeling *Lactococcus lactis* using a genome-scale flux model. *BMC Mikrobiologie*. 2005. Volume 5.
- [38] Kněz, V., Černá, M., Sága, P., Suchomel, J., Torš, J., Tenda, O., Tvrdík, J., *Mlékárenská příručka*, Praha: 1974.
- [39] Standarová, E., Borkovcová, I., Vorlová, L., *Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Veterinářství*, 2008. 58: 735-739.
- [40] Gosta Bylund, M., *Sc. Dairy processing handbook*, Publisher: TetraPak Processing systems, Lund: Sweden, Printed in 1995, ABS - 22186
- [41] Říhová Ambrožová, J., *Bakterie termofilní.*, *Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník*, VŠCHT Praha, [cit. 09-08-13], [online]  
[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-006/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/).
- [42] Zimák, E., *Technologie pro 4. ročník SPŠ studijního programu zpracování mléka*, Praha, 1988.
- [43] Obrázek: Ementál, Wikipedie, [09-07-20], [on-line]  
<http://cs.wikipedia.org/wiki/Ement%C3%A1l>
- [44] Obrázek: *Candida kruisei*, [09-07-06], [on-line]  
<http://candida.inetcz.com/foto/C.KRUSELDS.gif>
- [45] *Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. (novelizován vyhláškou č.370/2008 Sb. dne 26. 9. 2008) ze dne 6. března 2003, kterou*

se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Sbírnka zákonů České republiky. 2003, s. 2488-2516.

[46] Madeta, Charakteristika sýrů, Madeta, a. s., [09-07-15], [on-line]  
[http://www.madeta.cz/assets/files/Skola\\_syru/6.charakteristika\\_syru\\_madeta\\_syry\\_tvrde\\_polotvrde.pdf](http://www.madeta.cz/assets/files/Skola_syru/6.charakteristika_syru_madeta_syry_tvrde_polotvrde.pdf)

[47] Scott, R., Robinson, R. K., Wilbey, R.A., Cheesemaking practice.  
Verlag : Springer, 1998

[48] Kadlec, P., Technologie potravin II., Praha: VŠCHT, 2002

[49] Obrázek: ,Plíšňový sýr Niva, Niva, s. r. o., [09-06-15], [on-line]  
<http://www.syr-niva.cz/image.php?nid=3607&oid=498965&width=375&height=372>

[50] Obrázek: Sedlčanský hermelín, Modřeniín, Povltavské mlékárny, a. s. , [09-06-22], [on-line]  
<http://www.povltavskemlekarny.cz/sedlcansky.html>

[51] Zýka, J. a kolektiv, Analytická příručka, díl1, 1979. 205–251.

[52] Lange, J., Thomas, K., Wittmann, Ch., Comparison of a capillary electrophoresis method with high-performance liquid chromatography for the determination of biogenic amines in various food samples. Journal of Chromatography B, 2002. 779 (2), 229-239.

[53] Komprda, T., Neznalová, J., Standara, S., Bover-Cid, S., Effect of starter culture and storage on the content of biogenic amines in dryfermented sausage poličan. Meat Science, 2001. 59 (3), 267-276.

- [54] Smělá, D., Pechová, P., Komprda, T., Klejdus, B., Kubáň, V., Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické Listy*, 2004. 98, 432-437.
- [55] Štulík, K., Ševčíková, J., Pacáková, V., Jelínek, I., Coufal, P., Bosáková, Z., Nakladatelství Karolinum, Praha, 2005.
- [56] Castillo, M. A., Castells, R. C., Procedure for the determination of biogenic amines by derivatization with dabsyl chloride and reversed phase liquid chromatography., 2000. s.: 54 (11-12), 711-716
- [57] Bockhardt, A., Krause, I., Klostermeyer, H., Determination of biogenic amines by RP-HPLC of the dabsyl derivatives, 1996. 203 (1), 65-70.
- [58] Brandl, Z., a kol., Plynová chromatografie, studenti a zaměstnanci Biologické fakulty Jihočeské Univerzity  
[http://tomcat.prf.jcu.cz/sima/analyticka\\_chemie/separb.htm](http://tomcat.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/separb.htm)
- [59] KNĚŽ, V. Výroba sýrů, Praha: SNTL, 1960

## ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	<b>Tvorba biogenních aminů v sýrech</b>
Autor práce	<b>Jana Voženílková</b>
Obor	<b>Hodnocení a analýza potravin</b>
Rok obhajoby	<b>2009</b>
Vedoucí práce	<b>doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.</b>
Anotace	<p>Tato práce pojednává o biogenních aminech v sýrech, zmiňuje se o jejich vzniku, působení na zdraví člověka a o metodách stanovení.</p> <p>This work deals with the biogenic amine in cheese, refers to their creation, it deals with the influence on human health and methods of measurement.</p>
Klíčová slova	<p>biogenní aminy, sýr, vysokoúčinná kapalinová chromatografie</p> <p>biogenic amines, cheese, high performance liquid chromatography</p>