

# **Monitoring obsahu biogenních aminů ve vybraných fermentovaných mléčných výrobcích v ČR**

Bc. Gabriela Adamcová

---

Diplomová práce  
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav analýzy a chemie potravin  
akademický rok: 2011/2012

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Gabriela ADAMCOVÁ**  
Osobní číslo: **T10926**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Monitoring obsahu biogenních aminů ve vybraných fermentovaných mléčných výrobcích v ČR**

Zásady pro vypracování:

### **I. Teoretická část**

- 1. Popis výroby fermentovaných mléčných výrobků a podmínek skladování.**
- 2. Výskyt biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích.**
- 3. Faktory ovlivňující výskyt biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích.**

### **II. Praktická část**

- 1. Skladovací pokus s nejméně 50 vzorky fermentovaných mléčných výrobků.**
- 2. Měření obsahu biogenních aminů metodou HPLC bezprostředně po zakoupení a následně na konci doby použitelnosti.**
- 3. Vyhodnocení výsledků a formulace závěrů.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. HYLMAR, Bohumil. Výroba kysaných mléčných výrobků. 1. vyd. Praha: SNTL, 1986, 209 s.
2. ARENA, M. E., MANCA DE NADRA, M. C. Biogenic amine production by Lactobacillus. Journal of Applied Microbiology, 2001, 90, 158-162.
3. SILLA SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. International Journal of Food Microbiology, 1996, 29, 213-231.
4. HALASZ, A., BARATH, A., SIMON-SARKADI, L., HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in Food Science & Technology, 1994, 5, 42-49.
5. OZDESTAN, O., UREN, A. Biogenic amine content of kefir: a fermented dairy product. Eur Food Res Technol, 2010, 231, 101-107.

Vedoucí diplomové práce:

**doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

**6. ledna 2012**

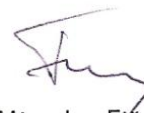
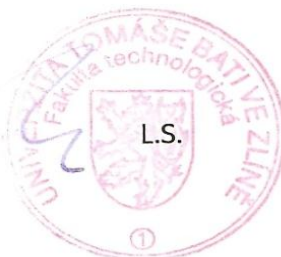
Termín odevzdání diplomové práce:

**21. května 2012**

Ve Zlíně dne 15. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ..... ADAMCOVÁ GABRIELA .....

Obor: ..... THEVP .....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně ..... 2.5.2012 .....

.....  
.....

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.



(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Biogenní aminy přítomné v potravinách mohou představovat závažné riziko pro zdraví konzumentů. Biogenní aminy bývají velmi často přítomny v potravinách fermentovaných. Mezi takovéto potraviny patří i fermentované mléčné výrobky. Tato práce byla zaměřena na monitoring obsahu biogenních aminů v těchto výrobcích dostupných na českém trhu. Vzorky byly připraveny derivatizací s dansylchloridem a analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Ve většině vzorků byl detekován tyramin. Druhým nejčastějším biogenním aminem byl putrescin, v několika vzorcích byl přítomen i kadaverin, spermidin a spermin. Množství biogenních aminů obsažených v testovaných výrobcích (0,14 – 29,43 mg/kg) nepředstavuje ohrožení zdraví.

Klíčová slova: mléčné výrobky, biogenní aminy, HPLC, tyramin, putrescin

## **ABSTRACT**

Biogenic amines in foods may represent a serious risk to consumer's health. Biogenic amines are found in fermented foods very often. Fermented dairy products belong to such foods. This work focuses on monitoring of the biogenic amines content in fermented dairy products in the Czech Republic. Samples were prepared by derivatization with dansylchloride and analyzed by high performance liquid chromatography. Tyramine was detected in most samples. The second most frequent biogenic amine was putrescine, in several samples was also present cadaverine, spermidine and spermine. The amount of biogenic amines contained in the tested products (0.14 - 29.43 mg/kg) does not constitute a health hazard.

Keywords: dairy products, biogenic amines, HPLC, tyramine, putrescine

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph. D. za trpělivost, vstřícnost a cenné rady, které mi při tvorbě této práce velmi pomohly.

Dále chci poděkovat doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph. D. a Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc a odborné rady při vypracování praktické části diplomové práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1 TECHNOLOGIE VÝROBY ZAKYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ</b> .....	<b>11</b>
1.1 FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY A JEJICH ROZDĚLENÍ.....	11
1.2 ZÁKYSOVÉ KULTURY .....	12
1.2.1 Použití zákysových kultur v jednotlivých kysaných mléčných výrobcích.....	14
1.3 VÝROBA FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ.....	14
<b>2 BIOGENNÍ AMINY A JEJICH VÝSKYT VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH</b> .....	<b>19</b>
2.1 CHARAKTERISTIKA A ROZDĚLENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ .....	19
2.2 VÝZNAM A ÚČINKY BIOGENNÍCH AMINŮ .....	21
2.2.1 Fyziologický význam biogenních aminů .....	21
2.2.2 Toxické účinky biogenních aminů .....	22
2.3 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH .....	23
2.3.1 Mikroorganismy produkující biogenní aminy .....	23
2.3.2 Biogenní aminy ve fermentovaných mléčných výrobcích.....	24
2.3.3 Biogenní aminy v sýrech.....	25
<b>3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH</b> .....	<b>28</b>
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>30</b>
<b>4 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>31</b>
<b>5 MATERIÁL A METODY PRÁCE</b> .....	<b>32</b>
5.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ.....	32
5.2 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ .....	33
5.2.1 Příprava vzorků na chromatografické stanovení.....	34
5.2.2 Chromatografické stanovení .....	35
<b>6 VÝSLEDKY</b> .....	<b>36</b>
6.1 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V BÍLÝCH JOGURTECH .....	36
6.2 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE SMETANOVÝCH JOGURTECH.....	40
6.3 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V JOGURTECH SE SNÍŽENÝM OBSAHEM TUKU .....	41
6.4 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V NÍZKOTUČNÝCH JOGURTECH .....	42
6.5 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V ZAKYSANÝCH SMETANÁCH .....	43
6.6 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V ACIDOFILNÍM MLÉKU.....	45
6.7 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V KEFÍROVÉM MLÉKU .....	46
6.8 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V KYSANÉM PODMÁSLÍ .....	47
6.9 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V ZAKYSANÉM MLÉKU.....	47
<b>7 DISKUZE</b> .....	<b>49</b>
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>53</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>54</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>62</b>



<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>63</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>64</b>

## ÚVOD

V posledních letech je kladen velký důraz na bezpečnost potravin. Jednou ze sledovaných oblastí je výskyt biogenních aminů v potravinách a jeho možné negativní dopady na zdraví konzumentů.

Biogenní aminy (BA) jsou zásadité nízkomolekulární látky, které jsou přirozenou součástí organismů. Jsou důležité pro růst a množení buněk, některé z nich plní funkci hormonů, neurotransmiterů apod. V malém množství jsou přítomny v mnoha druzích potravin. Vyšší množství biogenních aminů je zpravidla produktem mikroorganismů přítomných v potravě. Může jít o mikroorganismy kontaminující, ale důležitými producenty biogenních aminů jsou také kultury používané záměrně za účelem fermentace potravin. Z tohoto důvodu patří mezi potraviny s nejvyšším obsahem biogenních aminů právě fermentované potraviny, jako jsou sýry, fermentované masné výrobky, pivo, víno, či kysaná zelenina [1]. Z mléčných výrobků jsou v této oblasti poměrně dobře a značně prostudovány zrající sýry, zatímco fermentovaným mléčným výrobkům jako jsou jogurty, kefíry apod. není věnována příliš pozornost.

Fermentované mléčné výrobky jsou cenným zdrojem živin a mají prokazatelné pozitivní účinky na lidské zdraví. Jejich obliba mezi spotřebiteli roste. Hlavním technologickým procesem při jejich výrobě je fermentace a lze tedy očekávat přítomnost biogenních aminů v těchto výrobcích. Cílem této práce je proto zmapovat výskyt biogenních aminů v kysaných mléčných výrobcích prodávaných v České republice.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 TECHNOLOGIE VÝROBY ZAKYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

## 1.1 Fermentované mléčné výrobky a jejich rozdělení

V širším pojetí jsou mezi fermentované mléčné výrobky někdy zahrnovány všechny výrobky z mléka, při jejichž výrobě byly k tvorbě koagulátu použity čisté mlékařské kultury. V tomto smyslu jsou do této skupiny zahrnuty i tvarohy a sýry. V užším pojetí jde pak o výrobky, které vznikají kysáním mléka pomocí specifických mikroorganismů [2].

Vyhláška č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje (ve znění pozdějších předpisů), charakterizuje kysané mléčné výrobky jako výrobky získané kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi tepelně neošetřené po kysacím procesu [3].

Vyhláška dělí kysané mléčné výrobky do těchto skupin [3]:

- jogurt,
- jogurtové mléko,
- acidofilní mléko,
- kefir,
- kefirové mléko,
- kysané mléko nebo smetanový zákys,
- kysaná nebo zakysaná smetana,
- kysané podmáslí,
- kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou

Pro jogurty pak dále stanovuje podskupiny nízkotučný nebo odtučněný, se sníženým obsahem tuku a smetanový.

Jednotlivé druhy kysaných mléčných výrobků jsou charakteristické použitým druhem mikroorganismů [3].

Následující tabulka uvádí požadavky na obsah tuku a tukuprosté sušiny ve fermentovaných mléčných výrobcích podle vyhlášky č. 77/2003 Sb.

Tabulka 1. Požadavky na obsah tuku a tukuprosté sušiny ve fermentovaných mléčných výrobcích

Druh výrobku	Obsah tuku (v % hmot.)	Obsah sušiny tukuprosté (v % hmot. nejméně)
Kysaná smetana	více než 10,0 včetně	
Kysané mléko včetně jogurtového	více než 0,5	8,0
Kysané mléko odtučněné	méně než 0,5 včetně	8,0
Podmáslí	méně než 1,5 včetně	7,0
Jogurt bílý smetanový	více než 10,0 včetně	
Jogurt bílý	více než 3,0 včetně	8,2
Jogurt bílý se sníženým obsahem tuku	méně než 3,0	8,2
Jogurt bílý nízkotučný nebo odtučněný	méně než 0,5 včetně	8,2

## 1.2 Zákysové kultury

Zákysové kultury jsou vybrané živé mikroorganismy, které se používají ve vhodné formě jako očkovací dávka v množství nejméně  $10^6$  buněk/g s cílem zahájení fermentace. Účelem fermentace je prodloužení trvanlivosti výrobku a zlepšení chuti, vůně a vzhledu potraviny [4, 5].

Vhodnost mikroorganismů pro použití jako zákysové kultury je dána několika důležitými vlastnostmi. Jsou to schopnost fermentovat sacharidy a snižovat tak pH, schopnost hydrolyzovat bílkoviny a odbourávat aminokyseliny, syntéza sloučenin ovlivňujících texturu výrobku, produkce antimikrobiálních látek, produkce plyných a sensoricky významných látek [4, 5].

Zákysové kultury se vyrábí v různých formách. Jsou to tekuté kultury, lyofilizované kultury nebo hlubokozmrazené kultury. V případě klasické tekuté kultury je nutné provést postupné pomnožení prostřednictvím matečného a provozního zákysu [5].

Zákysové kultury se rozdělují podle několika různých kritérií. Podle skupin mikroorganismů se dělí na bakteriální, kvasinkové, plísňové a smíšené kultury. Podle optimální teploty růstu na kultury mezofilní (20 – 30 °C) a termofilní (40 – 45 °C). Podle funkce se kultury dělí na startovací, protektivní a probiotické [4, 5].

- Startovací kultury plní především technologickou funkci, neboli zajištění fermentačního procesu [4, 5].
- Protektivní kultury produkují látky s antimikrobiálním účinkem (organické kyseliny, peroxid vodíku, diacetyl atd.), které brání růstu nežádoucích mikroorganismů v potravíně [4, 5].
- Probiotické kultury jsou přidávány do výrobku hlavně z důvodu svého pozitivního působení na zdraví konzumentů [5].

Mezofilní bakteriální kultury jsou složeny převážně z rodů *Leuconostoc* a *Lactococcus*. Většinu tvoří homofermentativní kyselinotvorné koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Druhou složkou jsou aromatvorné koky, které využívají citrát z mléka a produkují kromě CO<sub>2</sub> i směs uhlíkatých sloučenin, které jsou původci typického aromatu. Patří mezi ně *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* a *Leuconostoc lactis* [4, 6, 7].

Mezofilní kultury jsou jednak nearomatické (obsahují jen kyselinotvorné koky) anebo aromatické (obsahují kyselinotvorné i aromatvorné koky). Nearomatické se používají například při výrobě sýrů s uzavřenou strukturou – čedar), aromatické pro výrobky, kde je tvorba aromatických látek žádoucí (zakysaná mléka, máslo, sýry s tvorbou ok – eidam, gouda) [4, 5].

Termofilní kultury jsou složené z bakterií rodů *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*. Z laktobacilů se tradičně používá *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* jako součást jogurtové kultury, *Lactobacillus acidophilus* tvořící acidofilní kulturu a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus helveticus* pro výrobu sýrů. Součástí jogurtové kultury je kromě *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* také *Streptococcus thermophilus* [4, 5, 8].



V současné době jsou často používány probiotické kultury rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* s optimem růstu při teplotě okolo 37 °C. Patří k nim například *Lactobacillus casei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri* a *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* a *B. lactis* [4, 5, 8].

### 1.2.1 Použití zákysových kultur v jednotlivých kysaných mléčných výrobcích

K výrobě jogurtů se používá tzv. jogurtová kultura, což je směs *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Kromě této základní kultury mohou být přidány i jiné mikroorganismy, které zlepšují chuť nebo texturu výrobku, avšak za předpokladu, že zůstane zachován optimální poměr *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* [2, 3, 4].

Kefír se vyrábí s pomocí kvasinek zkvašujících laktózu *Kluyveromyces marxianus* i nezkvašujících laktózu *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exitus* a dále rodů *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Aerobacter* [3, 4, 9].

Kefírové mléko vzniká za použití kvasinkových kultur rodu *Kluyveromyces*, *Debaryomyces* nebo *Candida* a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kvašení. Složení těchto kultur není konstantní [3, 4, 9].

Acidofilní mléko je charakteristické přítomností *Lactobacillus acidophilus*. Kromě něj se používají i další mezofilní nebo termofilní bakterie mléčného kvašení [3].

Kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou obsahuje bifidobakterie spolu s mezofilními či termofilními bakteriemi mléčného kvašení [3].

Kysaná mléka, smetanové zákysy, podmáslí a kysané smetany jsou výrobky fermentované mezofilními aromatickými bakteriálními kulturami [3].

## 1.3 Výroba fermentovaných mléčných výrobků

Průběh výroby kysaných mléčných výrobků se dá obecně rozdělit do těchto kroků [4, 5]:

1. Výběr mléka.
2. Standardizace obsahu tuku a tukuprosté sušiny.
3. Deaerace.
4. Homogenizace.

5. Tepelné ošetření.
6. Chlazení na teplotu kysání.
7. Zakysání.
8. Fermentace.
9. Chlazení.
10. Plnění do spotřebitelských obalů a skladování.

Rozhodujícími faktory pro výslednou jakost kysaných mléčných výrobků jsou zejména kvalita mléka, jeho standardizace a druhy použitých zákysových kultur [2].

#### 1. Výběr mléka

Mléko pro výrobu kysaných výrobků musí být čerstvé a musí mít normální chuť a vůni. Jakákoli odchylka by se projevila na kvalitě fermentovaného výrobku. Je potřeba použít mléko s nízkým CPM (celkový počet mikroorganismů) a prosté jakýchkoli inhibičních látek (antibiotika, dezinfekční prostředky), které by mohly negativně ovlivnit kysací proces. Důležitý je nízký počet psychrofilních mikroorganismů, jejichž metabolity mohou negativně ovlivnit jakost výsledných výrobků (chuť, vůni, konzistenci) nebo brzdit růst bakterií mléčného kvašení [2, 4, 5, 10].

#### 2. Standardizace obsahu tuku a tukuprosté sušiny

Obsah tuku se upravuje částečným nebo úplným odsmetaněním mléka, mísením mléka o různé tučnosti nebo přidáním smetany tak, aby bylo dosaženo požadované tučnosti výrobku. Tukuprostá sušina by měla tvořit minimálně 8,2 % výrobku. Zvýšením obsahu tukuprosté sušiny lze docílit pevnější konzistence výsledného výrobku a snížení vylučování syrovátky na povrchu výrobku [2, 4, 5, 10].

Obsah tukuprosté sušiny je možné zvýšit přidávkem sušeného odtučněného mléka, syrovátky nebo podmáslí, přidávkem mléčných koncentrátů či retentátu po ultrafiltraci odtučněného mléka. Také se využívá odpaření části vody na odparkách [2, 4, 5].

Kromě mléčné sušiny se do mléka přidávají také hydrokoloidy (želatina, škrob, pektin, agar). Vazbou vody zvyšují viskozitu a zlepšují tak konzistenci výrobku. Hydrokoloidy se nesmí používat u výrobků označených jako přírodní [4, 5].

Pro úpravu chutě výrobku se přidávají sacharidy a umělá sladidla buď samostatně, nebo jako součást ovocného podílu [4, 5].

### 3. Deaerace

Deaerací se rozumí snižování obsahu vzduchu v mléce, což je důležité zejména při použití striktně anaerobních bifidobakterií. Při deaeraci odtěkají některé nežádoucí látky a zvýší se viskozita. Odstranění vzduchu je také přínosné pro lepší průběh homogenizace [4, 5].

### 4. Homogenizace

Homogenizace je proces, při kterém dochází ke zmenšení tukových kuliček na jednotnou velikost, jejich rovnoměrnému rozdělení v mléce, a tím zabránění vyvstávání smetany během skladování. Průměr tukových kuliček by neměl přesáhnout 2 – 2,5  $\mu\text{m}$ . Homogenizované mléko má vyšší viskozitu a plnější chuť. U fermentovaných výrobků se díky homogenizaci rychleji tvoří koagulát, který má jemnější strukturu a menší sklon k uvolňování syrovátky díky zvýšení procenta vázané vody. Homogenizace se provádí při teplotě 60 – 75 °C a tlaku 20 – 25 MPa [2, 4, 5, 6].

### 5. Tepelné ošetření

Před samotným zakysáním se mléko zahřívá na 90 – 95 °C po dobu přibližně 2 - 5 minut. Při tomto tepelném ošetření dochází ke zničení nežádoucí mikroflóry a k denaturaci většiny bílkovin syrovátky, které pak stabilizují sraženinu výrobku. Také se inaktivují inhibiční látky, vytěsňuje se kyslík a zpřístupní se živiny pro kyselé kultury [2, 4, 5].

### 6. Chlazení na teplotu zakysání

Před kysáním je nutné mléko ochladit na optimální teplotu zakysání, která se liší podle použité mikrobiální kultury [4, 5].

## 7. Zakysání

Zákysové kultury je nutné před použitím rozmnožit. Toho se docílí postupným rozmnožováním pomocí matečné kultury, matečného zákysu a provozního zákysu. Matečné kultury a matečné zákysy se asepticky pěstují v menším množství v laboratorních podmínkách, provozní zákys v kovových zákysnicích o objemu několika set litrů. Zakysání se provádí přečerpáním připraveného, pečlivě rozmíchaného provozního zákysu do fermentačního tanku. Dnes se však místo provozního zákysu častěji používají koncentrované kultury (hlubokozmrazené, lyofilizované), které lze přidat do fermentačního tanku přímo [2, 4, 5].

## 8. Fermentace

Fermentace probíhá třemi různými způsoby, kterými vznikají 3 základní typy zakysaných výrobků [4, 5].

Typ 1 (Set type) – jedná se o výrobek s nerozmíchaným koagulátem. Mléko zaočkované zákysovou kulturou se ihned plní do spotřebitelských obalů, ve kterých pak probíhá samotná fermentace. Inkubace probíhá ve zracích skříních, tunelech nebo zracích místnostech, ve kterých je udržována potřebná teplota [4, 5, 10].

Typ 2 (Stirred type) – jde o výrobek s rozmíchaným koagulátem. Fermentace probíhá ve velkoobjemovém fermentačním tanku. Struktura koagulátu je následně rozrušena během chlazení a balení a vzniká tak výrobek krémovité konzistence [4, 5, 10].

Typ 3 (Drink type) – jde o výrobek určený k pití. Fermentace probíhá ve fermentačním tanku a během následujících operací (např. homogenizace) je rozrušena struktura koagulátu. Výsledný výrobek má nízkou viskozitu [4, 5].

Fermentace jogurtů přímo ve spotřebitelských obalech probíhá většinou při teplotách 42 – 45 °C, fermentace ve zracím tanku při teplotách obvykle nižších, okolo 30 – 36 °C [4, 5, 6].

U kefiru a kefirového mléka dochází kromě homofermentativního kvašení také ke kvašení heterofermentativnímu a etanolovému, což má za následek typické aroma a šumivý charakter nápoje. Fermentace probíhá obvykle dvoustupňově, nejdříve při teplotě 18 – 24 °C, poté při 8 – 10 °C [4, 5].

Fermentace kysaných smetan, podmáslí a mléka probíhá nejčastěji při teplotě 18 – 21 °C [5].

## 9. Chlazení

V případě výrobků set typu (typu 1) se chladí hotové výrobky v malých spotřebitelských obalech v chladicích komorách, nebo přímo v inkubačních zařízeních, které jsou uzpůsobené i k chlazení. Výrobky s rozmíchaným koagulátem nebo určené k pití (typ 2 a 3) se chladí buď přímo ve zracím tanku, nebo v deskových či trubkových výměnících tepla [4, 5].

## 10. Plnění a chlazení

Plnění výrobků do spotřebitelských obalů se uskutečňuje za aseptických podmínek, které zaručují vysokou jakost a trvanlivost zakysaných mléčných výrobků. Výrobky se poté chladí na teplotu okolo 5 °C v chladírně [4, 5].

Kysané mléčné výrobky se skladují, přepravují a uvádějí do oběhu při teplotě od 4 °C do 8 °C [3].

## 2 BIOGENNÍ AMINY A JEJICH VÝSKYT VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH

### 2.1 Charakteristika a rozdělení biogenních aminů

Biogenní aminy jsou dusíkaté látky o nízké molekulární hmotnosti, které mají charakteristické fyziologické účinky v živých organizmech. Některé mají funkci hormonální, některé jsou nervové mediátory nebo mohou být prekurzory pro syntézu živočišných a rostlinných hormonů, alkaloidů a dalších metabolitů [1, 11, 12, 13].

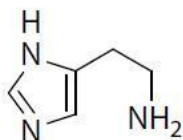
Mezi biogenní aminy se řadí například histamin, tyramin, adrenalin, noradrenalin, dopamin, agmatin, serotonin, putrescin, kadaverin apod. Ovšem z hlediska jejich možné přítomnosti v potravinách jsou nejčastěji sledovány jen některé z nich. Mezi nejdůležitější a v potravinách nejvíce sledované aminy patří histamin, tyramin, putrescin, 2-fenyletylamin, tryptamin, kadaverin, agmatin, spermin a spermidin [12].

Biogenní aminy se dělí podle chemické struktury (obr. 1) na aminy s alifatickým řetězcem (putrescin, kadaverin, spermidin, spermin a agmatin), aromatické (tyramin a 2-fenyletylamin) a heterocyklické (histamin a tryptamin). Putrescin, kadaverin, agmatin, spermidin a spermin se někdy řadí do samostatné skupiny tzv. polyaminů [1, 11, 14, 15].

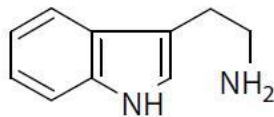
Biogenní aminy vznikají nejčastěji dekarboxylací z aminokyselin (tabulka 2) nebo aminací či transaminací aldehydů a ketonů. Dekarboxylace je katalyzována enzymy dekarboxylázami, které jsou buď přirozenou součástí živočišných a rostlinných organismů nebo častěji mikrobiálního původu. Mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou se mohou do potravin dostat nechtěně nebo jsou součástí startovacích kultur, které jsou do potravin přidávány záměrně [1].



## Heterocyklické

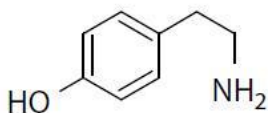


Histamin

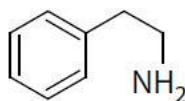


Tryptamin

## Aromatické

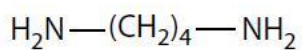


Tyramin

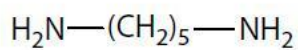


2-fenylethylamin

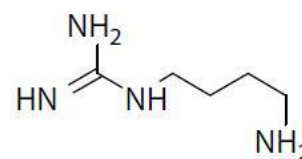
## Alifatické



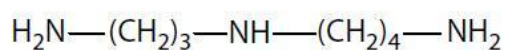
Putrescin



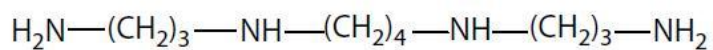
Kadaverin



Agmatin



Spermidin



Spermin

Obr. 1 Vzorce některých biogenních aminů [12]

Tabulka 2. Prekurzorové aminokyseliny a jim odpovídající biogenní aminy [1]

Aminokyselina	Odpovídající biogenní amin
Histidin	Histamin
Tryptofan	Tryptamin
Tyrosin	Tyramin
Fenylalanin	2-fenyletylamin
Lyzin	Kadaverin
Ornitin	Putrescin
Arginin	Spermin, spermidin, agmatin

## 2.2 Význam a účinky biogenních aminů

### 2.2.1 Fyziologický význam biogenních aminů

V eukaryotních organizmech mají biogenní aminy důležitou úlohu jako prekurzory při tvorbě hormonů a alkaloidů. Některé z nich mají funkci neurotransmiterů nebo jsou důležité pro růst a diferenciaci buněk. Biogenní aminy jsou též důležité pro regulaci funkce nukleových kyselin, syntézu bílkovin a zřejmě i stabilizaci membrán [1, 16].

U prokaryot má zřejmě tvorba biogenních aminů funkci zdroje energie, zvýšení odolnosti proti kyselému prostředí a ochrany před oxidativním a osmotickým stresem [16, 17].

Histamin je v organismu přítomen hlavně v žírných buňkách a bazofílech. Uplatňuje se jako mediátor zánětu a při vzniku časně alergické reakce, kdy se, vlivem vazby antigenu na IgE protilátku, uvolní z žírných buněk a navázáním na příslušné receptory (H1) působí na okolní tkáň. Histamin působí zejména na hladkou svalovinu, zvyšuje tvorbu hlenu na sliznicích, zvyšuje vylučování žaludeční šťávy a má také uplatnění jako neurotransmiter v mozku [18, 19, 20].

Tyramin je v těle syntetizován z aminokyseliny tyrozinu. Má sympatomimetické účinky, tzn., že stimuluje uvolňování katecholaminů jako je adrenalin, noradrenalin a dopamin. Nepřímo tak vede k vazokonstrikci a stimulaci srdeční činnosti. Zvyšuje se tak tepová frekvence a krevní tlak. Také dochází ke zvýšení hladiny krevní glukózy [19].

Polyaminy spermin, spermidin a putrescin se přirozeně nacházejí ve všech živých buňkách. Účastní se téměř každého kroku v syntéze nukleových kyselin a proteinů a jsou tak ne-

zbytné pro růst a množení buněk. Mezi polyaminy se nově řadí i agmatin, který má funkci neurotransmiteru. Spermin a spermidin se také podílí na zrání, obnově a funkci střevní tkáně a mají také prokázané antioxidační účinky. Polyaminy spermin a spermidin jsou přirozenou součástí potravin v syrovém stavu [1, 15, 21, 22, 23].

### 2.2.2 Toxické účinky biogenních aminů

Pokud jsou biogenní aminy přijaty potravou v malém množství, obvykle jsou metabolizovány ve střevech systémem mono- a diaminooxidáz. Histamin může být také detoxifikován metylací nebo acetylací. Míra schopnosti takto detoxifikovat biogenní aminy je však velmi individuální, takže někteří jedinci mohou citlivě reagovat již na nižší obsah aminů v potravě. Na tento střevní systém mají také inhibiční účinky některé léky (IMAO – inhibitory monoaminooxidázy, antidepresiva) a alkohol. Proto se musí pacienti užívající tyto léky vyvarovat potravin, ve kterých je výskyt biogenních aminů častý [16, 24].

Dojde-li k selhání detoxifikačního systému ve střevech, ať už vlivem nadměrného množství aminů v potravě, nebo jeho oslabení vlivem inhibitorů monoaminooxidázy, dostávají se biogenní aminy do krevního oběhu a mohou způsobovat mnohé nežádoucí účinky na organismus. Riziková je hlavně současná konzumace více rizikových potravin najednou (fermentované výrobky, pivo, víno). Legislativně není určena povolená hranice všech biogenních aminů, ale za vysoké až velmi vysoké množství aminů v potravě jsou považovány desítky, respektive stovky mg/kg [15, 16].

Histamin je zodpovědný za pseudoalergickou reakci. Otrava histaminem zahrnuje příznaky jako je hypotenze, nevolnost, zvracení, bolesti břicha, průjem, zčervenání v obličeji, pálení v krku, zánět spojivek, bolesti hlavy, kopřivka otoky, lokální zánět, návaly horka, svědění a bušení srdce. Putrescin a kadaverin mohou toxicitu histaminu zvyšovat, neboť usnadňují jeho průchod střevní bariérou. Již 10 mg může u citlivých jedinců vyvolat některé ze jmenovaných příznaků, stovky mg jsou již toxické. Některé země mají legislativně danou hranici pro maximální obsah histaminu v rybách, např. v České republice je to 200 mg/kg [12, 21, 25].

Vysoké dávky tyraminu způsobují hypertenzi, horečku, migrénu, bušení srdce, pocení, nevolnost, zvracení a neuralgie. Nerovnováze hladiny tyraminu jsou rovněž připisovány

změny mozkových funkcí u mnoha chorob a stavů (Parkinsonova choroba, deprese, schizofrenie, drogová závislost) [13, 16, 21].

Ostatní biogenní aminy hrají spíše úlohu v zesilování účinků histaminu a tyraminu. Samy o sobě mají méně výrazné účinky. Polyaminy jsou selektivně vychytávány rychle rostoucími nádorovými buňkami a nepřímo tak podporují nádorové bujení. Putrescin a kadaverin mohou s dusitany tvořit karcinogenní nitrosaminy [1, 12, 25].

Tryptamin a 2-fenyletylamin mohou způsobovat migrénu [21].

## 2.3 Výskyt biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích

### 2.3.1 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Výskyt biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích závisí zejména na přítomnosti mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou. V případě fermentovaných mléčných výrobků se jedná převážně o bakterie mléčného kvašení. Přítomnost dekarboxylázy a schopnost tvořit jeden nebo více biogenních aminů byla zjištěna u mnoha různých druhů BMK. Jedná se však spíše o jednotlivé kmeny bakterií, než o bakteriální druh jako celek [16, 26, 27].

Producenty biogenních aminů jsou některé kmeny mnoha druhů bakterií mléčného kvašení, mezi které lze zařadit zástupce rodů *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* [25, 28].

Produkce tyraminu byla prokázána u kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Dekarboxylovat tyrozin mohou i další zástupci rodů *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Oenococcus* [21, 29, 30, 31].

Histamin produkují některé kmeny *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. casei* a *Lb. acidophilus*. *Lactococcus lactis* produkuje histamin a tryptamin. Tvorba histaminu je prokázána také u rodů *Oenococcus* a *Pediococcus*. Některé kmeny rodů *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* tvoří tryptamin. Produkce putrescinu byla zjištěna u rodu *Lactobacillus*. Fenyletylamin je produkován kmeny *Enterococcus faecalis* a *E. faecium*, *Lactobacillus curvatus*, *Lb. brevis* a *Lb. hilgardii* [21, 26, 27, 32, 33, 34].

### 2.3.2 Biogenní aminy ve fermentovaných mléčných výrobcích

Ve většině výrobků fermentovaných bakteriemi mléčného kvašení se nachází určité množství histaminu, kadaverinu, putrescinu a tyraminu. Z fermentovaných mléčných výrobků, jsou z hlediska přítomnosti biogenních aminů nejdůležitější a nejvíce sledované sýry. V mléku, jogurtech, tvarohu a nezrajících sýrech lze očekávat množství biogenních aminů nepřesahující 1mg/kg [1, 12, 23, 23, 25].

Vyšší množství biogenních aminů by se mohlo ve fermentovaných mléčných výrobcích nacházet v případě mikrobiální kontaminace a kažení, při kterém často dochází k vyšší produkci enzymu dekarboxylázy [35].

V čerstvém kravském mléku se přirozeně v malém množství nachází polyaminy spermin, spermidin a putrescin. Sanguansersri a kol. [36] zjistili v čerstvém mléku 0,8 µg/ml sperminu, 1,4 µg/ml spermidinu a 3,2 µg/ml putrescinu [1, 15, 21, 36]. Bardocz a kol. [37] našli v mléku stejné aminy, ale ve větším množství. Sperminu bylo 40,4 µg/ml, spermidinu 36,25 µg/ml a putrescinu 13,2 µg/ml. Tyto aminy pak můžeme nalézt i ve výrobcích z mléka [37].

V mléku je převažujícím polyaminem spermidin, ve fermentovaných výrobcích z mléka pak převažují putrescin a spermin [22].

Ve vzorcích 5 jogurtů naměřili Novella-Rodriguez a kol. [38] maximálně 0,43 mg/kg spermidinu a 0,34 mg/kg sperminu, 0,39 mg/l agmatinu a 0,27 mg/l kadaverinu. Eliassen a kol. [39] analyzovali stejné množství vzorků a zjistil 0 – 0,9 mg/kg putrescinu, 0 – 1,3 mg/kg spermidinu a 0 – 2,2 mg/kg sperminu. Ve vzorcích mléka a jogurtů byl nalezen jen kadaverin a polyaminy, obojí v malém množství. Obsah biogenních aminů v jogurtech byl mírně vyšší než v mléku.

Ozdestan a Uren [40] se ve své studii zaměřili na kefir. V deseti vzorcích kefiru byly nalezeny aminy putrescin, kadaverin a spermidin, v devíti z nich pak i tyramin. Převažujícím biogenním aminem byl právě tyramin, jehož obsah se pohyboval v rozmezí 0 – 12,8 mg/l. Celkový obsah biogenních aminů ve vzorcích kefiru byl 2,4 – 35,2 mg/l. Maximální koncentrace histaminu byla 4,0 mg/l.

Leszcynska a kol. [41] testovali 5 jogurtů a 3 kefiru na přítomnost histaminu. Obsah histaminu byl velmi nízký, maximum bylo 0,03 mg/kg u kefiru a 0,0176 mg/kg v případě jogurtů.

Bodmer a kol. [42] uvádí, že obsah histaminu v zakysané smetaně se pohybuje do 7 mg/kg, v jogurtech maximálně do 13 mg/kg, v čerstvém mléku do 0,3 mg/kg.

Farriol a kol. [43] uvádí, že jogurt obsahuje 9  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  putrescinu, 7  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  spermidinu a 6  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sperminu.

### 2.3.3 Biogenní aminy v sýrech

Zatímco v kysaných mléčných výrobcích bývá obsah biogenních aminů poměrně nízký, sýry patří mezi potraviny s nejvyšším obsahem biogenních aminů. Vysoké hladiny aminů byly zjištěny hlavně u různých zrajících sýrů [12]. Množství biogenních aminů je však značně variabilní nejen mezi jednotlivými druhy sýrů, ale i v rámci jednoho druhu [1]. Množství biogenních aminů se také liší v různých vrstvách sýru [16]. Sýry bývají bohaté na putrescin a spermidin [23].

Mezi hlavní producenty biogenních aminů v sýrech patří bakterie náležící mezi rody *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a *Streptococcus* [16].

V sýrech se nachází všechny potřebné složky a faktory důležité pro tvorbu biogenních aminů a i díky podmínkám zráního procesu představují ideální prostředí pro dekarboxylázovou aktivitu bakterií [40].

Přítomnost biogenních aminů byla zjištěna u mnoha druhů sýrů, například v sýrech typu čedar bylo naměřeno množství tyraminu až 1500 mg/kg. Vyšší hladiny biogenních aminů byly zjištěny v povrchových vrstvách sýrů, což značí, že jsou produkovány i aerobními bakteriemi. V sýrech edam a cheshire byla zjištěna významná množství fenyletylaminu. V sýru gouda bylo naměřeno toxické množství histaminu, které však bylo způsobeno kontaminující mikroflórou [35].

Novella-Rodríguez a kol. [24] zjistili vyšší hladiny biogenních aminů u zrajících sýrů, v porovnání se sýry nezrajícími. Hlavními aminy u zrajících sýrů byly kadaverin, putrescin a tyramin.

Produkce biogenních aminů v sýrech závisí na podmínkách a délce zrání, na množství a druhu mikroorganismů v mléku a na tepelném ošetření mléka před samotnou výrobou sýra. Více biogenních aminů nalézáme zpravidla v sýrech vyrobených z nepasterizovaného mléka. V čerstvém sýru byl nalezen pouze spermin, a to ve velmi malém množství 1,5 mg/kg. V polotvrdých sýrech byly nalezeny aminy kadaverin, tryptamin, spermidin a spermin. Hladiny polyaminů sperminu a spermidinu se mezi sýry příliš nelišily. Pravděpodobně



nejdou mikrobiálního původu, ale jsou přirozenou součástí mléka. Jejich vyšší množství je důsledkem zkoncentrování při výrobě sýra. Oproti tomu kadaverin a tryptamin vykazovaly koncentrační gradient v hmotě sýra. Zatímco koncentrace kadaverinu byla vyšší ve středové části sýra, množství tryptaminu bylo naopak vyšší v okrajové oblasti. V tvrdých zrajících sýrech byly navíc nalezeny aminy tyramin a putrescin. Hladiny tyraminu byly vyšší uvnitř sýra, koncentrace tryptaminu byla opět vyšší ve vnějších částech. Koncentrace putrescinu a kadaverinu se v rámci různých vrstev sýra nelišila [24].

Ve studii zjišťující výskyt biogenních aminů v sýrech na českém trhu, byl nejvyšší obsah biogenních aminů naměřen v sýrech ementálského typu (1123 mg/kg tyraminu a 151 mg/kg histaminu) a v měkkých zrajících sýrech jako jsou tvarůžky (739 mg/kg kadaverinu, 514 mg/kg putrescinu), bryzda (1110 mg/kg kadaverinu, 591 mg/kg putrescinu a 417 mg/kg tyraminu) nebo pivní sýr (283 mg/kg histaminu) [45].

V další studii zaměřené na sýr s plísní uvnitř hmoty (Niva) byl jako převládající biogenní amin určen tyramin (10 mg/kg - 875 mg/kg), dále se v sýru vyskytoval kadaverin (3 mg/kg - 491 mg/kg). Koncentrace tyraminu byla vyšší ve vnitřní části sýra. Kadaverin měl rozložení v sýru opačné. Nejvíce ho bylo naměřeno u povrchu [46].

V Olomouckých tvarůžkách byl zjištěn poměrně vysoký obsah kadaverinu (124 - 2413 mg/kg), tyraminu (117 - 1058 mg/kg), putrescinu (75 - 767 mg/kg) a histaminu (74 - 411 mg/kg). Celkový obsah biogenních aminů po sedmi týdnech skladování při 20 °C byl 4 600 mg/kg. Při skladování v chladírenských podmínkách při 5 °C bylo celkové množství biogenních aminů asi 3 krát nižší [47].

Celkový obsah biogenních aminů v tvrdém sýru holandského typu s 45 % tuku v sušině byl 419 mg/kg. Z toho 299,8 mg/kg tvořil tyramin, 60,8 mg/kg putrescin a 54,3 mg/kg fenyletylamin. Ostatní biogenní aminy byly přítomny v malém množství [48].

V sýru feta byly nejvíce zastoupeny aminy tyramin a putrescin. Celkový obsah biogenních aminů byl po 120 dnech zrání 617 mg/kg, z toho nejvíce tvořil tyramin s 246 mg/kg, dále putrescin se 193 mg/kg a histamin s 84,6 mg/kg [49].

V tureckém poloměkkém bílém sýru zrajícím v nálevu byly zjištěny aminy histamin, tyramin, fenyletylamin a tryptamin. Převládaly histamin a tyramin v maximálním množství 10,17 mg/kg, respektive 12,36 mg/kg [50].

V tavených sýrech byl zjištěn obsah tyraminu, putrescinu, kadaverinu a fenyletylaminu. Množství tyraminu se pohybovalo v rozmezí od 4 mg/kg po 160 mg/kg. Putrescin dosáhl nejvýše hodnoty 60 mg/kg a kadaverin dosáhl množství až 120 mg/kg. Nejvyšší byl u některých vzorků obsah fenyletylaminu, který dosahoval hodnot 8 mg/kg – 400 mg/kg [51].

### 3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH

Biogenní aminy se mohou v potravíně tvořit a hromadit pokud jsou splněny 3 základní podmínky [1, 14, 52].

- V potravíně musí být přítomny volné aminokyseliny, které slouží jako substrát pro tvorbu biogenních aminů. Volné aminokyseliny jsou v potravíně přítomny buď přirozeně, nebo mohou být uvolněny proteolýzou. Proto mohou mikroorganismy s vysokou proteolytickou aktivitou zvýšit riziko tvorby biogenních aminů [44].
- Musí být přítomny mikroorganismy, které jsou schopny přeměňovat jednu nebo více aminokyselin na příslušný biogenní amin (mají enzym dekarboxylázu). Pro tvorbu vysokého množství biogenních aminů v potravíně je třeba  $10^7 - 10^9$  CFU/g bakterií s dekarboxylázovou aktivitou [21].
- V prostředí musí být podmínky a faktory vhodné a potřebné pro bakteriální růst, syntézu dekarboxylázy a dekarboxylázovou aktivitu. Posledně zmíněná podmínka zahrnuje faktory, které ovlivňují růst mikroorganismů v potravíně, aktivitu příslušných enzymů a kinetiku dekarboxylační reakce. Patří mezi ně teplota prostředí, pH, přítomnost kyslíku, aktivita vody, koncentrace soli, dostupnost živin (glukóza), růstová fáze buněk a obsah růstových faktorů (pyridoxal fosfát) [1, 38, 44].

Dostupnost zkvasitelných cukrů zvyšuje růst i dekarboxylázovou aktivitu bakterií. Glukóza o koncentraci 0,5 – 2 % se jeví jako optimální, zatímco koncentrace přes 3 % inhibuje tvorbu dekarboxylázy [1, 25, 35, 44].

Na tvorbu biogenních aminů má důležitý vliv i teplota. Většina mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou roste optimálně při teplotě od 20 °C do 37 °C. Nižší teploty růst zastavují nebo zpomalují [25, 44]. Vznik biogenních aminů ovlivňuje také tepelné ošetření mléka, které je pak použito pro výrobu. Bylo zjištěno, že některé kmeny BMK produkující biogenní aminy jsou schopny přežít pasterizaci (63 °C po dobu 30 minut). Nejvíce termorezistentní byly kmeny *Enterococcus durans* a *Lactobacillus curvatus*, jejichž počty se po pasterizaci snížily jen o 1 až 2 řády. *Enterococcus durans* byl kompletně inaktivován až při teplotě 78 °C po dobu 30 minut [53]. Na druhou stranu vede pasterizace k inaktivaci proteolytických enzymů, což má za následek nízký obsah volných aminokyselin jako substrátu pro tvorbu biogenních aminů [25].

Aktivita dekarboxylačních enzymů mikroorganismů se zvyšuje v kyselém prostředí, nejsilnější je v rozmezí pH 4 až 5,5. Možným vysvětlením je snaha mikroorganismů odolat kyselému prostředí pomocí tvorby zásaditých aminů z kyselých aminokyselin [1, 25, 44]. Ale příliš nízké pH tvorbu biogenních aminů snižuje [54].

Přítomností kuchyňské soli je aktivována tyrozindekarboxyláza a naopak histidindekarboxyláza je inhibována. Některé kmeny *Lactococcus lactis* produkují tyramin jen v prostředí o koncentraci 2% NaCl (oproti 0% a 1% NaCl) [25, 55].

Přítomnost kyslíku je potřebná pro mnoho bakterií s dekarboxylázovou aktivitou. Vyšší množství biogenních aminů bylo nalezeno v povrchových vrstvách sýra, než v jádru s nedostatečným přístupem kyslíku [25].

Pro dekarboxylaci aminokyselin je důležitým kofaktorem pyridoxalfosfát. Zásadní je zejména pro dekarboxylaci aminokyselin tyrozin, lyzin a ornitin [21, 25].

Přítomnost NaNO<sub>2</sub> aktivuje tyrozindekarboxylázu [25].

Velký význam má také přítomnost ostatních biogenních aminů v potravíně. Agmatin, histamin a putrescin zpětně inhibují histidindekarboxylázu [25].

Pro udržení nízkého obsahu biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích je důležité dodržování hygieny výroby a skladování, aby se zabránilo kontaminaci nežádoucí mikroflórou, pečlivý výběr surovin a startovacích kultur [1].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo stanovení obsahu biogenních aminů ve vybraných fermentovaných mléčných výrobcích a zjištění změny jejich obsahu po uplynutí doby trvanlivosti. Tyto výrobky byly zakoupeny v běžné obchodní síti v ČR.

Cílem teoretické části bylo:

- definovat fermentované mléčné výrobky a popsat jejich výrobu
- charakterizovat biogenní aminy a jejich výskyt ve fermentovaných mléčných výrobcích
- popsat faktory, které ovlivňují výskyt biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích

Cílem praktické části diplomové práce bylo:

- založit skladovací pokus s nejméně 50 vzorky fermentovaných mléčných výrobků
- stanovit obsah biogenních aminů ve vzorcích bezprostředně po nákupu a poté po uplynutí doby použitelnosti
- na základě výsledků formulovat závěry



## 5 MATERIÁL A METODY PRÁCE

### 5.1 Charakteristika vzorků

V období od 26. 9. 2011 do 6. 11. 2011 bylo v běžné obchodní síti zakoupeno celkem 110 vzorků fermentovaných mléčných výrobků, vždy 2 kusy téhož výrobku stejné šarže. Jednalo se o 28 druhů jogurtů, 14 druhů kysaných smetan, 4 druhy acidofilního mléka, 4 druhy kefirového mléka, 2 kysaná podmáslí a 3 druhy kysaného mléka včetně jogurtového (tabulka 3). Všechny výrobky byly přírodní, bez příchutě. Jeden ze vzorků stejné šarže byl analyzován bezprostředně po nákupu, druhý byl uskladněn v chladničce při teplotě  $6 \pm 2$  °C a analyzován na konci doby použitelnosti. Vzorky byly skladovány po dobu 7 – 30 dní (tabulka 3).

Přehled vzorků, obsah tuku ve vzorcích a dobu jejich skladování udává tabulka č. 3.

Tabulka č. 3. Přehled analyzovaných vzorků.

vzorek č.	druh výrobku	% tuku	skladováno (dny)
1	Jogurt bílý	3,4	14
2	Jogurt bílý	9,4	14
3	Jogurt bílý	3,1	14
4	Jogurt bílý	3,9	21
5	Jogurt bílý	3,1	21
6	Jogurt bílý	3	28
7	Jogurt bílý	3,5	14
8	Jogurt bílý	3	14
9	Jogurt bílý	3,2	21
10	Jogurt bílý	3,6	7
11	Jogurt bílý	3,9	14
12	Jogurt bílý	3,8	7
13	Jogurt bílý	3,5	14
14	Jogurt bílý	3,3	14
15	Jogurt bílý	3,8	14
16	Jogurt bílý	3,8	14
17	Jogurt bílý	3	21
18	Jogurt bílý smetanový	10,3	14
19	Jogurt bílý smetanový	10	14
20	Jogurt bílý smetanový	10,3	14
21	Jogurt bílý se sníženým obsahem tuku	2,7	21
22	Jogurt bílý se sníženým obsahem tuku	2,7	21
23	Jogurt bílý se sníženým obsahem tuku	2,5	7

Tabulka č. 3. Pokračování – přehled analyzovaných vzorků.

vzorek č.	druh výrobku	% tuku	skladováno (dny)
24	Jogurt bílý nízkotučný	0,1	14
25	Jogurt bílý nízkotučný	0,1	14
26	Jogurt bílý nízkotučný	0,1	14
27	Jogurt bílý nízkotučný	0,1	28
28	Jogurt bílý nízkotučný	0,1	21
29	Zakysaná smetana	15	16
30	Zakysaná smetana	15	16
31	Zakysaná smetana	12	16
32	Zakysaná smetana	12	16
33	Zakysaná smetana	15	21
34	Zakysaná smetana	30	30
35	Zakysaná smetana	11	30
36	Zakysaná smetana	10	30
37	Zakysaná smetana	15	30
38	Zakysaná smetana	15	9
39	Zakysaná smetana	12	9
40	Zakysaná smetana	10	14
41	Zakysaná smetana	15	18
42	Zakysaná smetana	16	18
43	Acidofilní mléko	1,5	21
44	Acidofilní mléko	3,7	21
45	Acidofilní mléko	3,6	18
46	Acidofilní mléko	1,5	9
47	Kefírové mléko	1,2	9
48	Kefírové mléko	1,1	18
49	Kefírové mléko	1,2	23
50	Kefírové mléko	1,2	7
51	Zakysané podmásli	1	14
52	Zakysané podmásli	1	14
53	Zakysané mléko	1,1	16
54	Zakysané mléko	1,8	21
55	Zakysané mléko	1,5	14

## 5.2 Stanovení biogenních aminů

Nejdříve bylo potřeba biogenní aminy ze vzorků vyextrahovat. V tomto případě byla použita 0,6 M HClO<sub>4</sub>. Jelikož samotné biogenní aminy není možné detekovat pomocí UV/VIS spektrometrie, je nutné na ně navázat látku, kterou takto detekovat lze. K derivatizaci byl

použit dansylchlorid (5-(diametylamino)naftalen-1-sulfonylchlorid). Dansylderiváty biogenních aminů je poté nutné separovat, což bylo provedeno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Dansylderiváty byly detekovány spektrofotometricky při vlnové délce 254 nm [12, 56, 57].

### 5.2.1 Příprava vzorků na chromatografické stanovení

Nejprve byl každý vzorek zhomogenizován promícháním, případně protřepáním. Do prázdné hliníkové misky bylo naváženo cca 25 – 50 g vzorku a to vždy dvě misky od každého vzorku. Misky se vzorky byly umístěny nejméně na 4 hodiny do mrazicího boxu s teplotou  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Poté byly vzorky umístěny do lyofilizátoru typu ALPHA 1-4LSC (CHRIST, SRN) a lyofilizovány. Lyofilizované vzorky byly zváženy a rozmělněny na prášek. Rozmělněné vzorky byly až do další fáze analýzy uskladněny v uzavřených igelitových sáčkách v mrazicím zařízení.

Další fází přípravy vzorků byla derivatizace pomocí dansylchloridu (Sigma-Aldrich, USA). Do 15 ml zkumavky byl navážen 1 g rozmělněného vzorku, ke kterému bylo přidáno 10 ml 0,6 M  $\text{HClO}_4$  (Sigma-Aldrich). Obsah zkumavky byl promíchán pomocí vortexu a umístěn na laboratorní třepačku, kde byl po dobu 30 minut třepán. Následně byly zkumavky odstředěny při 6000 otáčkách po dobu 20 minut (EBA 21; Hettich SRN). Supernatant byl přelit do odměrné baňky o obsahu 25 ml. K sedimentu bylo napipetováno 7 ml 0,6M  $\text{HClO}_4$ , vzorek byl opět promíchán na vortexu a třepán 20 minut na třepačce. Zkumavky byly 20 minut odstřeďovány při 6000 otáčkách a supernatant byl přidán do odměrných baněk. K sedimentu bylo přidáno dalších 7 ml 0,6 M  $\text{HClO}_4$  a postup třepání a odstřeďování byl zopakován. Supernatant byl přelit do odpovídajících odměrných baněk a množství roztoku v nich bylo doplněno 0,6 M  $\text{HClO}_4$  po rysku vyznačující 25 ml.

Suspenze byla přefiltrována přes papírový filtr a 1 ml filtrátu byl napipetován do derivatizační nádoby. Z každé odměrné baňky byly takto připraveny 3 derivatizační nádoby (3 paralelní stanovení). Podle Dadáková a kol. [58] bylo ke vzorku do každé derivatizační nádoby přidáno 100  $\mu\text{l}$  vnitřního standardu (1,7-heptandiamin /Sigma-Aldrich/ o koncentraci 500 mg/l), 1,5 ml karbonátového pufru o pH 11,1 – 11,2 a 2 ml čerstvě připraveného roztoku dansylchloridu o koncentraci 5 g/l v acetonu (Merck, SRN). Pufr byl připraven smícháním 50 ml 0,5 M  $\text{NaHCO}_3$  a 12 ml 0,5 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Poté bylo v pufru rozpuštěno 16,65 g 5  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a pH bylo upraveno na výsledných 11,1 – 11,2. Derivatizační nádoby byly uzavřeny a v temnu třepány po dobu 20 hodin.

Po 20 hodinách bylo ke vzorkům přidáno 200  $\mu$ l roztoku prolinu (Sigma-Aldrich) a vzorky byly třepány další hodinu. Poté byly ke vzorkům přidány 3 ml heptanu (Sigma-Aldrich) a byly 3 minuty pečlivě ručně protřepávány. Po ustálení heptanové vrstvy z ní byl odpipetován 1 ml do vialky. Pod proudem dusíku byl při teplotě 60 °C heptan odpařen. Suchý odparek byl zředěn 1,5 ml acetonitrilu (Sigma-Aldrich), poté přefiltrován přes stříkačkový filtr s porozitou 0,22  $\mu$ m. Takto připravené vzorky byly buď dávkovány do chromatografického systému, nebo byly ihned po naředění acetonitrilem uloženy do mrazicího zařízení (teplota pod -18 °C) a uchovávány až do chromatografické analýzy.

### 5.2.2 Chromatografické stanovení

Z každého spotřebitelského balení fermentovaného mléčného výrobku bylo předchozím postupem získáno 6 vzorků připravených k analýze pomocí HPLC. Vzorky byly umístěny do přístroje, kde byly automaticky dávkovány do kolony a separovány gradientovou elucí podle Smělá a kol. [59] (kolona Cogent HPS C18 s rozměry 150 x 4,6 mm a velikostí částic 5 $\mu$ m, Cogent USA; termostat kolon Agilent 1260 Infinity, UV/VIS DAD detektor Agilent 1200, Agilent Technologies, USA; binární pumpa a autosampler LabAlliance, USA). Dansylderiváty biogenních aminů byly detekovány spektrofotometricky UV zářením o vlnové délce 254 nm.

Výsledné chromatogramy byly vyhodnoceny pomocí programu Clarity a kalibračních křivek získaných analýzou směsí standardů.

## 6 VÝSLEDKY

U vzorků fermentovaných mléčných výrobků byl zjišťován obsah 8 biogenních aminů: tryptaminu (TR), fenyletylaminu (PHE), putrescinu (PU), kadaverinu (CA), histaminu (HI), tyraminu (TY), spermidinu (SD) a sperminu (SM). Z nich byl alespoň u jednoho vzorku detekován putrescin, kadaverin, tyramin, spermidin a spermin. Aminy tryptamin, fenyletylamin a histamin nebyly zjištěny v žádném vzorku. Ve všech 55 vzorcích fermentovaných mléčných výrobků byla zjištěna přítomnost alespoň jednoho biogenního aminu. Nejvíce zastoupeným byl tyramin, který byl mezi 55 analyzovanými vzorky přítomen v 50 výrobcích. Jeho množství však bylo malé (0,14 – 15,43 mg/kg). Druhým nejčastějším biogenním aminem zjištěným ve 20 vzorcích byl putrescin v množství od 1,81 mg/kg do 26,09 mg/kg. Ve 3 vzorcích (č. 22 – jogurt se sníženým obsahem tuku, č. 46 – acidofilní mléko a č. 50 – kefirové mléko) byl přítomen kadaverin (0,34 mg/kg – 4,26 mg/kg), ve 3 (č. 2, 6, 7 – bílé jogurty) byl spermidin (0,21 mg/kg – 0,27 mg/kg) a v jednom (č. 6 bílý jogurt) spermin (1,01 mg/kg).

### 6.1 Obsah biogenních aminů v bílých jogurtech

Testováno bylo celkem 17 bílých jogurtů s obsahem tuku 3 – 9,4 %. Celkový obsah biogenních aminů na počátku testování se v těchto výrobcích pohyboval v rozmezí  $0,14 \pm 0,01$  mg/kg (vzorek č. 12) až  $15,76 \pm 2,25$  mg/kg (vzorek č. 2). Po uplynutí doby použitelnosti bylo nejméně biogenních aminů ve vzorku č. 13 ( $0,34 \pm 0,03$  mg/kg), nejvíce biogenních aminů obsahoval vzorek č. 2 ( $29,43 \pm 1,91$  mg/kg). Celkem 10 vzorků obsahovalo méně než 10 mg/kg biogenních aminů, 5 vzorků (č. 1, 4, 5, 6, 10) obsahovalo 10 – 20 mg/kg BA a u 2 vzorků (č. 2 a 3) bylo naměřeno více než 20 mg/kg (tabulka č. 4). U 16 vzorků došlo během skladování ke zvýšení obsahu biogenních aminů, u vzorku č. 1 se množství biogenních aminů lehce snížilo (cca o 3 %).

Vzorek č. 6 obsahoval na konci doby použitelnosti 4 biogenní aminy (PU, TY, SD, SM), vzorky č. 2 a č. 7 obsahovaly aminy 3 (PU, TY, SD) a u vzorků č. 1, 3, 4, 5 a 10 byly přítomny 2 biogenní aminy (PU, TY). U zbylých vzorků byl stanoven pouze tyramin (tabulka č. 5)

Tabulka č. 4 Celkový obsah biogenních aminů v bílých jogurtech (mg/kg)

amin	celkový obsah BA*		
	vzorek č.	počátek	konec
1		11,21 ± 1,32	10,90 ± 1,17
2		15,76 ± 2,25	29,43 ± 1,91
3		4,11 ± 0,28	25,40 ± 1,57
4		11,56 ± 0,59	19,96 ± 1,01
5		12,07 ± 0,58	16,39 ± 0,89
6		5,02 ± 0,22	15,38 ± 0,43
7		2,48 ± 0,19	3,99 ± 0,24
8		0,45 ± 0,04	1,90 ± 0,16
9		0,52 ± 0,03	4,38 ± 0,29
10		6,14 ± 0,31	12,04 ± 0,78
11		0,30 ± 0,03	1,06 ± 0,06
12		0,14 ± 0,01	1,01 ± 0,03
13		0,18 ± 0,02	0,34 ± 0,03
14		0,44 ± 0,04	0,70 ± 0,04
15		1,06 ± 0,04	2,20 ± 0,16
16		0,29 ± 0,03	1,16 ± 0,11
17		0,70 ± 0,05	0,98 ± 0,04

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

Tyramin byl detekován ve všech 17 vzorcích zařazených do testování. Ve vzorcích testovaných ihned po nákupu byl obsah tyraminu přepočítaný na kilogram původního výrobku nízký (0,14 ± 0,01 až 1,06 ± 0,04 mg/kg), pouze u jednoho vzorku (č. 15) překročil množství 1 mg/kg (tabulka č. 5). Hladina tyraminu na konci doby použitelnosti u některých vzorků vzrostla i několikanásobně. Množství tyraminu u vzorku č. 3 bylo na konci testu téměř 10 x vyšší než po zakoupení, u vzorků č. 2, 9, 12 bylo zvýšení 7 až 8 násobné. Vzorky 8, 10 a 16 obsahovaly na konci doby použitelnosti 4 – 5 krát více tyraminu než na začátku. Množství tyraminu se přibližně ztrojnásobilo u vzorků 4, 7 a 11, u vzorku č. 15 bylo asi dvojnásobné. U ostatních vzorků se obsah tyraminu během skladování zvýšil jen mírně. (tabulka č. 5).

U necelé poloviny vzorků bílých jogurtů byl stanoven putrescin. Na počátku doby použitelnosti dosahovala hladina putrescinu hodnot od 1,81 ± 0,15 mg/kg do maximálně 15,2 ± 2,11 mg/kg. Během skladování došlo ve vzorcích k většímu či menšímu nárůstu množství

putrescinu, které pak dosahovalo  $1,93 \pm 0,13$  až  $25,12 \pm 1,41$  mg/kg. Jen u vzorku č. 1 došlo k mírnému poklesu obsahu putrescinu, z  $10,95 \pm 1,27$  na  $10,62 \pm 1,13$  mg/kg. U vzorku č. 3 se hladina putrescinu zvýšila více než 5krát, u vzorku č. 6 přibližně 3krát (tabulka č. 5).

Spermidin a spermin byly detekovány jen u 3 vzorků (č. 2, 6, 7), a to pouze na konci doby použitelnosti (tabulka č. 5). Množství spermidinu i sperminu bylo nízké a pohybovalo se v rozmezí  $0,21 \pm 0,02$  až  $1,01 \pm 0,05$  mg/kg.

Vzorek číslo 16 byl v době, kdy mu končila použitelnost, napaden plísní. Na tvorbu biogenních aminů to zřejmě nemělo vliv.

Tabulka č. 5 Obsah biogenních aminů v bílých jogurtech bezprostředně po nákupu a na konci doby použitelnosti (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		TYRAMIN*		SPERMIDIN*		SPERMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
1	10,95 ± 1,27	10,62 ± 1,13	0,26 ± 0,05	0,28 ± 0,04	ND**	ND**	ND**	ND**
2	15,2 ± 2,11	25,12 ± 1,41	0,56 ± 0,14	4,10 ± 0,48	ND**	0,21 ± 0,02	ND**	ND**
3	3,47 ± 0,26	19,11 ± 1,32	0,64 ± 0,02	6,29 ± 0,25	ND**	ND**	ND**	ND**
4	11,23 ± 0,56	18,98 ± 0,98	0,33 ± 0,03	0,98 ± 0,03	ND**	ND**	ND**	ND**
5	11,58 ± 0,54	15,56 ± 0,84	0,49 ± 0,04	0,83 ± 0,05	ND**	ND**	ND**	ND**
6	4,13 ± 0,18	12,81 ± 0,28	0,89 ± 0,04	1,29 ± 0,09	ND**	0,27 ± 0,01	ND**	1,01 ± 0,05
7	1,81 ± 0,15	1,93 ± 0,13	0,67 ± 0,04	1,85 ± 0,09	ND**	0,21 ± 0,02	ND**	ND**
8	ND**	ND**	0,45 ± 0,04	1,90 ± 0,16	ND**	ND**	ND**	ND**
9	ND**	ND**	0,52 ± 0,03	4,38 ± 0,29	ND**	ND**	ND**	ND**
10	5,55 ± 0,29	8,92 ± 0,53	0,59 ± 0,02	3,12 ± 0,25	ND**	ND**	ND**	ND**
11	ND**	ND**	0,30 ± 0,03	1,06 ± 0,06	ND**	ND**	ND**	ND**
12	ND**	ND**	0,14 ± 0,01	1,01 ± 0,03	ND**	ND**	ND**	ND**
13	ND**	ND**	0,18 ± 0,02	0,34 ± 0,03	ND**	ND**	ND**	ND**
14	ND**	ND**	0,44 ± 0,04	0,70 ± 0,04	ND**	ND**	ND**	ND**
15	ND**	ND**	1,06 ± 0,04	2,20 ± 0,16	ND**	ND**	ND**	ND**
16	ND**	ND**	0,29 ± 0,03	1,16 ± 0,11	ND**	ND**	ND**	ND**
17	ND**	ND**	0,70 ± 0,05	0,98 ± 0,04	ND**	ND**	ND**	ND**

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.



## 6.2 Obsah biogenních aminů ve smetanových jogurtech

Skupina smetanových jogurtů byla zastoupena 3 vzorky s obsahem tuku 10 – 10,3 %. Celkový obsah biogenních aminů na počátku byl nejnižší u vzorku č. 20 ( $0,45 \pm 0,03$  mg/kg) a nejvyšší u vzorku č. 18 ( $9,51 \pm 0,27$  mg/kg). Na konci skladování se obsah biogenních aminů u stejných vzorků zvýšil na  $2,69 \pm 0,17$ , respektive  $26,59 \pm 2,32$  mg/kg (tabulka č. 6)

Tabulka č. 6 Celkový obsah BA ve smetanových jogurtech (mg/kg)

amin vzorek č.	celkový obsah BA*	
	počátek	konec
18	$9,51 \pm 0,27$	$26,59 \pm 2,32$
19	$4,37 \pm 0,25$	$5,67 \pm 0,44$
20	$0,45 \pm 0,03$	$2,69 \pm 0,17$

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n = 6).

Ve vzorcích smetanových jogurtů se opět vyskytoval tyramin a putrescin. Putrescin byl detekován u 2 ze 3 vzorků (č. 18 a 19). Jeho množství se pohybovalo mezi  $2,81 \pm 0,17$  mg/kg na začátku (č. 19) a  $26,09 \pm 2,28$  mg/kg na konci testování u vzorku č. 18. U vzorku č. 18 se množství putrescinu v průběhu skladování zvýšilo téměř trojnásobně z  $9,02 \pm 0,22$  na  $26,09 \pm 2,28$  mg/kg, u dalšího vzorku k takovému nárůstu nedošlo (tabulka č. 7). Ve všech smetanových jogurtech byl nalezen tyramin. Jeho hladina však byla poměrně nízká, nejvyšších hodnot dosáhl u vzorku č. 20 na konci doby použitelnosti ( $2,69 \pm 0,17$  mg/kg). U všech tří vzorků došlo k nárůstu množství tyraminu během skladování. U vzorku č. 18 je nárůst nepatrný (z  $0,49 \pm 0,05$  na  $0,50 \pm 0,04$  mg/kg), zatímco u vzorku č. 20 je konečný obsah téměř šestinásobný (z  $0,45 \pm 0,03$  na  $2,69 \pm 0,17$  mg/kg).

Tabulka č. 7 Obsah BA ve smetanových jogurtech (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		TYRAMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec
18	9,02 ± 0,22	26,09 ± 2,28	0,49 ± 0,05	0,50 ± 0,04
19	2,81 ± 0,17	3,23 ± 0,17	1,56 ± 0,08	2,44 ± 0,27
20	ND**	ND**	0,45 ± 0,03	2,69 ± 0,17

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.

### 6.3 Obsah biogenních aminů v jogurtech se sníženým obsahem tuku

Ve skupině jogurtů se sníženým obsahem tuku (2,5 – 2,7 %) byl u všech tří vzorků detekován tyramin. Bezprostředně po nákupu vzorků množství tyraminu nepřesahovalo  $0,76 \pm 0,03$  mg/kg (vzorek č. 21). Na konci doby použitelnosti dosahovalo hodnot přibližně 2-3 krát vyšších ( $1,13 \pm 0,07$  až  $1,73 \pm 0,14$  mg/kg). Kromě tyraminu byl u jednoho výrobku zjištěn putrescin (č. 21) a u jednoho vzorku kadaverin (č. 22). Obsah putrescinu ve vzorku č. 21 se v průběhu skladování více než ztrojnásobil (z  $3,36 \pm 0,15$  na  $11,59 \pm 0,20$  mg/kg) Vzorek č. 22 obsahoval ihned po nákupu  $1,37 \pm 0,10$  mg/kg kadaverinu, jehož množství během skladování vzrostlo na  $4,26 \pm 0,27$  mg/kg (tabulka č. 8)

Tabulka č. 8 Obsah BA v jogurtech se sníženým obsahem tuku (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		KADAVERIN*		TYRAMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
21	3,36 ± 0,15	11,59 ± 0,20	ND**	ND**	0,76 ± 0,03	1,73 ± 0,14
22	ND**	ND**	1,37 ± 0,10	4,26 ± 0,27	0,45 ± 0,04	1,54 ± 0,07
23	ND**	ND**	ND**	ND**	0,32 ± 0,03	1,13 ± 0,07

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.

Celkové množství biogenních aminů v průběhu skladování rostlo z  $0,32 \pm 0,03$  až  $4,12 \pm 0,18$  mg/kg na hodnoty přibližně trojnásobné ( $1,13 \pm 0,07$  až  $13,32 \pm 0,34$  mg/kg) (tabulka č. 9).

Tabulka č. 9 Celkový obsah BA v jogurtech se sníž. obs. tuku (mg/kg)

amin vzorek č.	celkový obsah BA*	
	počátek	konec
21	4,12 ± 0,18	13,32 ± 0,34
22	1,82 ± 0,14	5,8 ± 0,34
23	0,32 ± 0,03	1,13 ± 0,07

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

#### 6.4 Obsah biogenních aminů v nízkotučných jogurtech

Do skupiny nízkotučných jogurtů bylo zařazeno pět vzorků o koncentraci tuku 0,1%. V této skupině výrobků byla zjištěna přítomnost dvou biogenních aminů, putrescinu a tyraminu. Putrescin byl detekován u 3 vzorků (č. 24, 25, 26). Nejnižší množství tohoto aminu bylo na začátku experimentu u vzorku č. 26 ( $4,10 \pm 0,18$  mg/kg), nejvyšší u vzorku č. 24 ( $9,24 \pm 0,26$  mg/kg). Po uplynutí doby použitelnosti došlo u jednoho vzorku (č. 24) k mírnému snížení obsahu putrescinu na  $7,42 \pm 1,12$  mg/kg (tabulka č. 10). U dvou zbývajících vzorků došlo k mírnému zvýšení hladiny putrescinu (ze  $4,10 \pm 0,18$  na  $5,02 \pm 0,12$  mg/kg u vzorku 26 a z  $8,21 \pm 0,89$  na  $10,52 \pm 1,26$  mg/kg u vzorku 25). Tyramin se nevykytoval pouze u jednoho vzorku (vzorek č. 25). V ostatních však byl přítomen jen v nízkém množství do  $0,50 \pm 0,05$  mg/kg na začátku (vzorek č. 26) a do  $2,04 \pm 0,15$  mg/kg na konci doby použitelnosti u vzorku č. 28.

Tabulka č. 10 Obsah BA v nízkotučných jogurtech (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		TYRAMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec
24	9,24± 0,26	7,42 ± 1,12	0,17 ± 0,01	0,25 ± 0,00
25	8,21 ± 0,89	10,52 ± 1,26	ND**	ND**
26	4,10 ± 0,18	5,02 ± 0,12	0,50 ± 0,05	0,76 ± 0,04
27	ND**	ND**	0,37 ± 0,03	1,50 ± 0,10
28	ND**	ND**	0,43 ± 0,01	2,04 ± 0,15

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.

Celkové množství biogenních aminů na začátku testování bylo v rozmezí  $0,37 \pm 0,03$  mg/kg (č. 27) až  $9,41 \pm 0,27$  mg/kg (č. 24). Kromě vzorku č. 24 došlo během skladování u všech nízkotučných jogurtů k nárůstu množství biogenních aminů ( $1,50 \pm 0,10$  až  $10,52 \pm 1,26$  mg/kg). U vzorku č. 24 se obsah biogenních aminů snížil z  $9,41 \pm 0,27$  na  $7,67 \pm 1,12$  mg/kg (tabulka č. 11).

Tabulka č. 11 Celkový obsah BA v nízkotučných jogurtech (mg/kg)

amin vzorek č.	celkový obsah BA*	
	počátek	konec
24	$9,41 \pm 0,27$	$7,67 \pm 1,12$
25	$8,21 \pm 0,89$	$10,52 \pm 1,26$
26	$4,6 \pm 0,23$	$5,78 \pm 0,16$
27	$0,37 \pm 0,03$	$1,50 \pm 0,10$
28	$0,43 \pm 0,01$	$2,04 \pm 0,15$

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n = 6).

## 6.5 Obsah biogenních aminů v zakysaných smetanách

Do testování bylo zařazeno 14 vzorků kysaných smetan s obsahem tuku 10 – 30 %. U 12 vzorků zakysané smetany byl detekován tyramin jako jediný biogenní amin, u zbylých 2 vzorků (č. 41 a 42) byl nalezen putrescin (tabulka č. 12) Množství tyraminu ve vzorcích analyzovaných ihned po nákupu bylo přibližně o 1 řád vyšší, než v případě jogurtů a pohybovalo se v rozmezí  $1,93 \pm 0,10$  až  $8,62 \pm 0,56$  mg/kg. V průběhu skladování se ve většině vzorků (č. 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 38) zásadně nezvyšovalo. Na konci doby použitelnosti dosahovalo hodnot  $5,54 \pm 0,23$  až  $15,43 \pm 0,40$  mg/kg. U vzorků č. 33 a 37 byl nárůst téměř dvojnásobný (na  $10,91 \pm 0,81$ , u vzorků č 39 a 40 více než trojnásobný (na  $8,80 \pm 0,49$  mg/kg, respektive  $6,97 \pm 0,19$ ). Stejně tak množství putrescinu se během skladování zvýšilo jen mírně a dosáhlo tak maximální hodnoty  $8,84 \pm 0,73$  mg/kg oproti počátečním hodnotám  $6,64 \pm 0,31$  mg/kg.

Tabulka č. 12 Obsah BA v zakysané smetaně (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		TYRAMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec
29	ND**	ND**	8,62 ± 0,56	9,21 ± 0,27
30	ND**	ND**	7,11 ± 0,12	7,80 ± 0,36
31	ND**	ND**	8,28 ± 0,69	8,56 ± 0,43
32	ND**	ND**	5,07 ± 0,26	5,54 ± 0,23
33	ND**	ND**	6,29 ± 0,38	10,91 ± 0,81
34	ND**	ND**	8,01 ± 0,67	8,28 ± 0,76
35	ND**	ND**	6,19 ± 0,44	6,52 ± 0,28
36	ND**	ND**	6,59 ± 0,44	7,02 ± 0,42
37	ND**	ND**	8,30 ± 0,20	15,43 ± 0,40
38	ND**	ND**	5,61 ± 0,37	7,06 ± 0,15
39	ND**	ND**	2,60 ± 0,20	8,80 ± 0,49
40	ND**	ND**	1,93 ± 0,10	6,97 ± 0,19
41	6,64 ± 0,31	8,84 ± 0,73	ND**	ND**
42	6,66 ± 0,28	8,65 ± 0,89	ND**	ND**

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.

Tabulka č. 13 Celkový obsah BA v zakysané smetaně (mg/kg)

amin vzorek č.	celkový obsah BA*	
	počátek	konec
29	8,62 ± 0,56	9,21 ± 0,27
30	7,11 ± 0,12	7,80 ± 0,36
31	8,28 ± 0,69	8,56 ± 0,43
32	5,07 ± 0,26	5,54 ± 0,23
33	6,29 ± 0,38	10,91 ± 0,81
34	8,01 ± 0,67	8,28 ± 0,76
35	6,19 ± 0,44	6,52 ± 0,28
36	6,59 ± 0,44	7,02 ± 0,42
37	8,30 ± 0,20	15,43 ± 0,40
38	5,61 ± 0,37	7,06 ± 0,15
39	2,60 ± 0,20	8,80 ± 0,49
40	1,93 ± 0,10	6,97 ± 0,19
41	6,64 ± 0,31	8,84 ± 0,73
42	6,66 ± 0,28	8,65 ± 0,89

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

Jelikož byla u každého vzorku detekována přítomnost jen jednoho biogenního aminu, tak celkový obsah biogenních aminů odpovídá obsahu jednotlivých aminů (tabulka č. 13).

## 6.6 Obsah biogenních aminů v acidofilním mléku

Do skupiny acidofilních mlék byly zařazeny 4 výrobky, jejichž obsah tuku se pohyboval od 1,5 do 3,7 %. U tří z nich (č. 43, 44, 46) byl zaznamenán obsah tyraminu, který se na počátku testování pohyboval v hodnotách od  $0,48 \pm 0,03$  do  $6,62 \pm 0,55$  mg/kg. Na konci doby použitelnosti vzrostl na  $2,56 \pm 0,12$  až  $7,52 \pm 0,29$  mg/kg (tabulka č. 14). Nejvyšší nárůst obsahu tyraminu byl zjištěn u vzorku č. 46, kde došlo k více než pětinasobnému navýšení. U zbylých 2 vzorků bylo zvýšení tyraminu mírné.

Tabulka č. 14 Obsah BA v acidofilním mléku (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		KADAVERIN*		TYRAMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
43	ND**	ND**	ND**	ND**	$4,53 \pm 0,16$	$7,52 \pm 0,29$
44	ND**	ND**	ND**	ND**	$6,62 \pm 0,55$	$7,51 \pm 0,33$
45	$4,06 \pm 0,3$	$4,42 \pm 0,34$	ND**	ND**	ND**	ND**
46	ND**	ND**	$0,35 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,03$	$2,56 \pm 0,12$

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.

U vzorku č. 46 byl detekován kadaverin, jehož množství ve vzorku bylo nízké ( $0,35 \pm 0,01$  mg/kg) a během skladování zůstalo konstantní. V jednom vzorku acidofilního mléka (vzorek č. 45) byl rovněž detekován putrescin v množství 4,06 – 4,42 mg/kg.

Tabulka č. 15 Celkový obsah BA v acidofilním mléku (mg/kg)

amin vzorek č.	celkový obsah BA*	
	počátek	konec
43	$4,53 \pm 0,16$	$7,52 \pm 0,29$
44	$6,62 \pm 0,55$	$7,51 \pm 0,33$
45	$4,06 \pm 0,3$	$4,42 \pm 0,34$
46	$0,83 \pm 0,04$	$2,91 \pm 0,14$

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n = 6).

Celkový obsah biogenních aminů dosahoval na začátku testování hodnot  $0,83 \pm 0,04$  mg/kg až  $6,62 \pm 0,55$  mg/kg (tabulka č. 15). Na konci doby použitelnosti se obsah všech biogenních aminů ve vzorcích acidofilního mléka zvýšil na  $2,91 \pm 0,14$  mg/kg až  $7,52 \pm 0,29$  mg/kg. K nejvyššímu nárůstu došlo u vzorku č. 46, u kterého se množství biogenních aminů zvýšilo 3,5 krát (z  $0,83 \pm 0,04$  na  $2,91 \pm 0,14$  mg/kg).

## 6.7 Obsah biogenních aminů v keřirovém mléku

Do testu byly zahrnuty 4 vzorky keřirového mléka o tučnosti 1,1 – 1,2 %. Vzorek číslo 50 byl jako jediný ze všech 55 analyzovaných vzorků vyroben z kozího mléka. Ve vzorcích keřirového mléka byly detekovány celkem 3 biogenní aminy. U 3 vzorků (č. 48, 49, 50) to byl putrescin, jehož množství se pohybovalo od  $2,57 \pm 0,21$  mg/kg do  $6,41 \pm 0,42$  mg/kg u čerstvých výrobků testovaných ihned po zakoupení (tabulka č. 16). S končící dobou použitelnosti množství putrescinu stoupl na  $3,44 \pm 0,16$  až  $14,25 \pm 1,14$  mg/kg. Nejvyšší nárůst tohoto aminu byl zaznamenán u vzorku č. 50 (více než dvojnásobný). U vzorku č. 50 byl zjištěn také kadaverin, jehož množství však bylo nepatrné ( $0,34$  mg/kg) a v průběhu skladování se neměnilo. Ve třech vzorcích (č. 47, 49, 50) byl obsažen také tyramin. Hladiny tyraminu dosahovaly výše  $0,41 \pm 0,03$  až  $1,68 \pm 0,06$  mg/kg na začátku testování a během skladování se zvýšily na  $0,75 \pm 0,03$  až  $4,03 \pm 0,21$  mg/kg. U vzorků číslo 47 a 49 bylo toto navýšení více než dvojnásobné.

Tabulka č. 16 Obsah BA v keřirovém mléku (mg/kg)

amin vzorek č.	PUTRESCIN*		KADAVERIN*		TYRAMIN*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
47	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,68 \pm 0,06$	$4,03 \pm 0,21$
48	$2,57 \pm 0,21$	$3,44 \pm 0,16$	ND**	ND**	ND**	ND**
49	$2,66 \pm 0,23$	$3,67 \pm 0,29$	ND**	ND**	$1,34 \pm 0,11$	$3,55 \pm 0,24$
50	$6,41 \pm 0,42$	$14,25 \pm 1,14$	$0,34 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,03$	$0,41 \pm 0,03$	$0,75 \pm 0,03$

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n = 6).

\*\* ND – biogenní amin nedetekován.

Celkové množství biogenních aminů ve vzorcích keřirového mléka dosahovalo poměrně širokého rozpětí od  $1,68 \pm 0,06$  mg/kg u vzorku č. 47 na počátku testu až po  $15,34 \pm 1,20$

mg/kg u vzorku č. 50 na konci experimentu (tabulka č. 17). Celkové konečné množství BA u vzorku č. 50 bylo výrazně vyšší, než u ostatních 3 vzorků (2 – 4,5 krát).

Tabulka č. 17 Celkový obsah BA v kefirovém mléku (mg/kg)

amin vzorek č.	celkový počet BA*	
	počátek	konec
47	1,68 ± 0,06	4,03 ± 0,21
48	2,57 ± 0,21	3,44 ± 0,16
49	4,00 ± 0,34	7,22 ± 0,53
50	7,16 ± 0,47	15,34 ± 1,20

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

## 6.8 Obsah biogenních aminů v kysaném podmáslí

Ve dvou vzorcích kysaného podmáslí byl detekován pouze jediný biogenní amin, konkrétně tyramin. Počátečním množstvím bylo  $1,26 \pm 0,09$  mg/kg, respektive  $1,33 \pm 0,08$  mg/kg, které se v průběhu skladování zvýšilo na  $5,04 \pm 0,18$  mg/kg a  $4,61 \pm 0,20$  mg/kg. To odpovídá tři a půl až čtyřnásobnému nárůstu.

Tabulka č. 18 Obsah BA v kysaném podmáslí (mg/kg)

amin vzorek č.	TYRAMIN*	
	počátek	konec
51	1,26 ± 0,09	5,04 ± 0,18
52	1,33 ± 0,08	4,61 ± 0,20

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 6).

## 6.9 Obsah biogenních aminů v zakysaném mléku

Do experimentu byly zařazeny 3 vzorky zakysaného mléka, včetně jednoho mléka jogurtového. Obsah tuku ve výrobcích se pohyboval od 1,1 do 1,8 %. Jediným detekovaným biogenním aminem byl tyramin (tabulka č. 19). Jeho množství na začátku testování bylo  $2,53 \pm 0,17$  mg/kg až  $3,65 \pm 0,20$  mg/kg. Během skladování se množství tyraminu mírně zvyš-



valo na  $3,19 \pm 0,21$  mg/kg až  $6,15 \pm 0,32$  mg/kg. Pouze u vzorku č. 55 byl nárůst obsahu tyraminu během skladování více než dvojnásobný (z  $2,86 \pm 0,11$  mg/kg na  $6,15 \pm 0,32$  mg/kg). U zbylých vzorků bylo zvýšení nižší.

Tabulka č. 19 Obsah BA v kysaném mléku (mg/kg)

amin	TYRAMIN*	
	počátek	konec
vzorek č.		
53	$2,53 \pm 0,17$	$3,19 \pm 0,21$
54	$3,65 \pm 0,20$	$4,24 \pm 0,14$
55	$2,86 \pm 0,11$	$6,15 \pm 0,32$

\* Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n = 6).

## 7 DISKUZE

Tento experiment byl zaměřen na monitoring obsahu biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích. V obchodní síti v České republice jsou tyto výrobky nejčastěji zastoupeny jogurty, kysanými a jogurtovými mléky, acidofilními mléky, kefirovými mléky, kysanou smetanou a podmáslem.

V posledních letech se stal výskyt biogenních aminů centrem zájmu vědeckých pracovníků po celém světě. Co se týče výrobků z mléka, velká část vědeckých prací se zaměřuje na zrající sýry, neboť obsah biogenních aminů v nich bývá vysoký [35, 45, 46, 47]. Naopak výzkumných projektů zabývajících se fermentovanými mléčnými výrobky je velmi málo, a pokud jsou, zaměřují se především na jogurty, případně kefir [38, 39, 40, 41]. Proto bylo zapotřebí provést souhrnný experiment mapující výskyt biogenních aminů v celé škále těchto výrobků. Zaměřili jsme se na výrobky přírodní, bez příchuti. Ochucených výrobků je nesrovnatelně větší množství a při jejich výrobě je užíváno mnoho přídatných látek, které by mohly vznik biogenních aminů ovlivňovat, ať už pozitivně nebo negativně. Bylo by tudíž obtížné srovnávat stejné druhy výrobků (dokonce i se stejnou příchutí), které se však svým složením mohou velmi lišit. Navíc přísady, které se do výrobků přidávají z důvodu ochucení (např. ovocný podíl nebo další produkty na bázi ovoce) mohou být zdrojem kontaminující mikroflóry, která rovněž může disponovat dekarboxylázovou aktivitou [60, 61].

Vzhledem k povaze fermentovaných mléčných výrobků, jejich složení a způsobu jejich výroby u nich bylo možno očekávat výskyt biogenních aminů. Jak bylo uvedeno výše, biogenní aminy vznikají v prostředí, kde jsou příznivé podmínky pro jejich vznik (volné aminokyseliny, mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou, vhodné pH, teplota, apod.) [1, 38, 44]. Fermentované mléčné výrobky tyto podmínky splňují.

Mnoho autorů uvádí, že ve fermentovaných mléčných výrobcích se nachází nízké množství biogenních aminů, obvykle nepřesahujících 1 mg/kg [12, 23, 25]. Výsledky této práce u mnoha vzorků tuto hranici značně přesahují. Celkové množství biogenních aminů se pohybovalo v rozmezí od 0,14 mg/kg do 29,43 mg/kg. Obsah biogenních aminů nižší než 1 mg/kg byl naměřen jen v 13 vzorcích z 55 na počátku testování a na konci doby použitelnosti pouze ve 3 vzorcích (č. 13, 14, 17).

Z hlediska možných negativních dopadů na lidské zdraví jsou nejvýznamnější biogenní aminy v potravinách histamin a tyramin. Histamin nebyl detekován u žádného z 55 vzorků fermentovaných mléčných výrobků. Leszcynska a kol. [41] naopak histamin ve vzorcích

jogurtů a kefirů detekovali, jeho množství však bylo malé. Nejvíce naměřili 0,03 mg/kg u kefiru a 0,0176 mg/kg v případě jogurtů. Bodmer a kol. [42] uvádí obsah histaminu ve fermentovaných mléčných výrobcích vyšší (v jogurtech maximálně 13 mg/kg a v zakysané smetaně nanejvýš 7 mg/kg).

Naopak tyramin byl přítomen ve všech analyzovaných vzorcích v rozmezí od  $0,14 \pm 0,01$  mg/kg do  $15,43 \pm 0,40$  mg/kg. Shalaby [62] udává jako hranici toxicity pro tyramin 100 mg na kilogram nebo litr výrobku. Tomuto množství se žádný z testovaných výrobků nepřiblížil. Avšak Kuley a Ozogul [63] udávají, že už pouhých 6 mg tyraminu může být nebezpečných pro pacienty léčené inhibitory monoaminoxidázy (IMAO). Přes tuto hranici se dostalo 15 testovaných vzorků. Nejvyšší obsah tyraminu vykazovaly hlavně zakysané smetany, u 8 z nich (č. 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37) byl obsah tohoto biogenního aminu vyšší než 6 mg/kg již na začátku testování. Na konci doby použitelnosti přesáhly tuto hranici i vzorky 38, 39 a 40. Vyšší množství tyraminu bylo naměřeno také u 2 vzorků acidofilního mléka (č. 43 a 44). U ostatních výrobků bylo množství tyraminu na počátku testování poměrně nízké ( $0,14 \pm 0,01$  až  $3,65 \pm 0,20$  mg/kg) a zvyšovalo se až v průběhu skladování. Vzhledem k tomu, že jsou fermentované mléčné výrobky obvykle konzumovány v množství maximálně několika set gramů, nemělo by toto množství biogenních aminů představovat riziko pro zdraví konzumentů, ani v případě osob léčených IMAO. Potenciální nebezpečí by hrozilo pouze v případě současné konzumace jiných na BA bohatých potravin (zrající sýry, ryby, pivo, víno atd.) [1].

Polyaminy putrescin, spermin a spermidin jsou přirozenou součástí mléka, proto se jejich produkce obvykle nepřipisuje přítomným mikroorganismům, ale předpokládá se, že pochází z původního materiálu. Sanguansermsri a kol. [36] zjistili v čerstvém mléku 0,8 mg/l sperminu, 1,4 mg/l spermidinu a 3,2 mg/l putrescinu. Bardocz a kol. [37] našli v mléku stejné aminy, ale ve větším množství. Sperminu bylo 40,4 mg/l, spermidinu 36,25 mg/l a putrescinu 13,2 mg/l. Spermin a spermidin byly v tomto experimentu detekovány pouze u bílých jogurtů na konci doby použitelnosti a jejich obsah spíše odpovídal nižšímu z uvedených množství. Množství spermidinu se pohybovalo od  $0,21 \pm 0,02$  do  $0,27 \pm 0,01$  mg/kg a sperminu bylo naměřeno  $1,01 \pm 0,05$  mg/kg. Hladiny putrescinu u fermentovaných mléčných výrobků se pohybovaly mezi 1,81 mg/kg a 26,09 mg/kg. V průběhu skladování se množství putrescinu zvyšovalo, kromě vzorku č. 1 a 24, u kterých došlo k mírnému poklesu. U vzorku č. 50 bylo navýšení množství putrescinu během skladování více než dvojnásobné, 3krát vyšší obsah na konci doby použitelnosti byl naměřen u vzorků č. 6,

18 a 21. V případě vzorku č. 3 bylo navýšení více než pětinasobné. Lze tedy předpokládat, že obsah putrescinu u těchto výrobků pochází spíše z dekarboxylázové činnosti přítomných mikroorganismů, než aby pocházel z mléka.

V porovnání s dalšími mléčnými výrobky, kterými jsou sýry, dosahuje množství biogenních aminů v testovaných výrobcích o několik řádů nižších hodnot, zatímco u zrajících sýrů není výjimkou obsah biogenních aminů v řádech gramů na kilogram [45, 47], v případě jogurtů, kefírů a fermentovaných mlék či smetan se nejvyšší naměřené množství blížilo 3 desítkám miligramů na kilogram. Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben podmínkami při výrobním procesu a skladování. Zrající sýry zrají i několik měsíců při vyšších teplotách (různé sýry při teplotách 10 – 16 °C) [4], zatímco fermentované mléčné výrobky prochází procesem fermentace za teplot příznivých pro růst bakterií a tvorbu biogenních aminů jen po dobu několika málo hodin. Poté jsou zchlazeny a uchovávány při chladírenských teplotách, které nejsou optimální pro růst mikroorganismů a tím pádem i pro tvorbu biogenních aminů. Také celková doba jejich použitelnosti a tím i doba, po kterou mohou ve výrobcích biogenní aminy vznikat, většinou nepřesahuje 3 až 4 týdny. Přesto u fermentovaných mléčných výrobků dochází během chladírenského skladování k nárůstu obsahu biogenních aminů, mnohdy i několikanásobnému. To lze vysvětlit tím, že při nízkých teplotách nedochází k úplnému zastavení růstu a metabolické aktivity bakterií, ale pouze k jejich zpomalení, což nevede k úplnému zastavení tvorby biogenních aminů, ale jen k jejímu pomalejšímu nárůstu [44].

Ozdestan a Uren [40] zjistili v kefíru přítomnost putrescinu, kadaverinu, spermidinu a tyraminu. Tyramin byl detekován v rozmezí 0 – 12,8 mg/l, putrescin a kadaverin dosahovaly průměrných hodnot 1,93 mg/l, respektive 1,03 mg/l. V této práci byly ve vzorcích kefíru stanoveny stejné biogenní aminy, vyjma spermidinu. Jejich množství ( $2,57 \pm 0,21$  mg/kg až  $14,25 \pm 1,14$  mg/kg putrescinu,  $0,34 \pm 0,02$  mg/kg kadaverinu a  $0,41 \pm 0,03$  mg/kg až  $4,03 \pm 0,21$  mg/kg tyraminu) řádově odpovídá uvedeným výsledkům. Kefírové mléko vyrobené z kozího mléka (č. 50) obsahovalo výrazně vyšší množství biogenních aminů (2 – 4,5 krát). Je otázkou, zda má toto vyšší množství souvislost s výchozí surovinou (rozdílným složením kravského a kozího mléka) nebo s rozdílnou mikroflórou. Pro toto tvrzení by bylo potřeba analyzovat více výrobků z kozího mléka.

Novella-Rodriguez a kol. [38] a Eliassen a kol. [39] se zaměřili na výskyt polyaminů v jogurtech. Množství sperminu, spermidinu, putrescinu a kadaverinu se pohybovalo pod 1 mg/l [38], ve studii [39] spermidin a spermin dosahovaly hodnot 1,3 mg/l, respektive 2,2

mg/l. V případě vzorků v této práci byl obsah putrescinu vyšší a dosáhl maximální hodnoty 26,09 mg/kg. Obsah sperminu a spermidinu ( $1,01 \pm 0,05$  mg/kg a  $0,21 \pm 0,02$  mg/kg až  $0,27 \pm 0,01$  mg/kg) řádově odpovídá uvedeným výsledkům. U 3 vzorků (č. 22, 46, 50) byl detekován kadaverin. Množství kadaverinu u vzorků č. 46 a 50 bylo nízké ( $0,35$  mg/kg a  $0,34$  mg/kg) a během skladování se neměnilo, což pravděpodobně znamená, že kadaverin byl přítomen již v mléku použitém na výrobu. U vzorku č. 22 došlo k trojnásobnému navýšení obsahu kadaverinu (z  $1,37 \pm 0,10$  mg/kg na  $4,26 \pm 0,27$  mg/kg), lze tedy předpokládat, že tento jogurt obsahuje bakterie s aktivní lyzindekarboxylázou.

Vzorek č. 1 (bílý jogurt) a č. 24 (nízkotučný jogurt) byly jedinými vzorky, u kterých došlo během skladování k mírnému poklesu obsahu putrescinu. Jedním z vysvětlení může být, že již na začátku testování obsahovalo každé spotřebitelské balení výrobku jiné množství putrescinu, přestože se jednalo o výrobky stejné šarže. Druhou možností je, že bakterie obsažené ve výrobku odbouraly část obsahu putrescinu. Fadda a kol. [64] zjistili, že některé kmeny BMK bez dekarboxylázové aktivity mohou odbourávat tyramin.

Z výsledků vyplývá, že nelze všeobecně označit některou skupinu výrobků za bohatou nebo chudou na obsah biogenních aminů. Obsah biogenních aminů v rámci skupiny stejného druhu výrobků se totiž značně liší (jogurty, kefirová mléka). Jediné, z hlediska obsahu biogenních aminů poměrně vyvážené skupiny výrobků, jsou zakysané smetany, kysaná mléka a podmáslí.

## ZÁVĚR

Fermentované mléčné výrobky představují důležitý zdroj živin a jsou podstatnou součástí zdravé výživy. Přítomné mikroorganismy mají pozitivní vliv na zdraví člověka a správné trávicí funkce. Cílem této práce bylo zjistit, jestli kysané mléčné výrobky prodávané v České republice obsahují biogenní aminy a zda se množství biogenních aminů v těchto výrobcích skladováním mění.

Výsledkem tohoto experimentu byla zjištění, že:

- Každý z testovaných výrobků obsahoval minimálně jeden biogenní amin. Celkové množství biogenních aminů dosáhlo maximální hodnoty 29,43 mg/kg (u bílého jogurtu).
- Nejčastěji detekovaným aminem byl tyramin (50 vzorků), druhým v pořadí byl putrescin (20 vzorků). V ojedinělých případech byly detekovány aminy kadaverin, spermin a spermidin (3 vzorky).
- Ve většině vzorků (kromě č. 1 a 24) došlo uskladněním ke zvýšení množství biogenních aminů.
- Vzhledem k množství biogenních aminů přítomných ve fermentovaných mléčných výrobcích (0,14 – 29,43 mg/kg) lze říci, že fermentované mléčné výrobky nepředstavují riziko pro konzumenty, neboť jejich obsah nedosahuje toxických hodnot biogenních aminů.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] SANTOS SILLA, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 29, 213–231.
- [2] HYLMAR, Bohumil. *Výroba kysaných mléčných výrobků*. Praha: SNTL, 1986, 212 s.
- [3] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. (novelizována vyhláškou č. 78/2005 Sb. a vyhláškou 370/2008 Sb.) ze dne 27. března 2003, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In *Sbírka zákonů České republiky*. 2003, 32, s. 2488 – 2516.
- [4] KADLEC, Pavel et al. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin*. Ostrava: KEY Publishing, 2009, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
- [5] KADLEC, Pavel et al. *Technologie potravin II*. Praha: VSCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-510-7.
- [6] HRABĚ, Jan et al. *Technologie výroby potravin živočišného původu pro kombinované studium*. Zlín: UTB, 2007, 185 s.
- [7] WALSTRA, Pieter et al. *Dairy Science and Technology*. 2. vyd. Boca Raton: CRC Press, 2006, 763 s. ISBN 978-0-8247-2763-5.
- [8] PRAKASH TAMANG, Jyoti a Kasipathy KAILASAPATHY. *Fermented Foods and Beverages of the World*. Boca Raton: CRC Press, 2010, 434 s. ISBN 978-1-4200-9495-4.
- [9] CHANDAN, Ramesh C. et al. *Manufacturing yogurt and fermented milks*. Ames: Blackwell Publishing, 2006, 364 s. ISBN 978-0-8138-2304-1.

- [10] TAMIME, A. Y. et al *Fermented Milks*. Ames: Blackwell Science, 2006, 262 s. ISBN 978-0-632-06458-8.
- [11] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. 2nd ed. Tábor: OSSIS, 2002. 343 s. ISBN 808665902X.
- [12] KOMPRDA, T. et al. *Handbook of Dairy Foods Analysis*. 2010. chapter 41, Amines, p. 861–878. ISBN 978-1-4200-4631-1.
- [13] TRIVEDI, K. et al. Tyramine Production by Enterococci from Various Foodstuffs: A Threat to the Consumers. *Czech journal of food science*. 27. 2009, p. 357 – 360.
- [14] KALAČ, Pavel a Petra KRAUSOVÁ. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*. 90. 2005, p. 219 – 230.
- [15] KALAČ, Pavel et al. *Advances in Food Science and Technology*. 2010. Chapter 6, The roles of dietary polyamines in human health and their occurrence in foods. 91 – 112. ISBN 978-1-61668-415-0.
- [16] SPANO, G. et al. Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2010, 64, 95 – 100.
- [17] TKACHENKO, A. et al. The role of the natural polyamine putrescine in defense against oxidative stress in *Escherichia coli*. *Archives of microbiology*. 2001, 176(1-2), 155 – 157.
- [18] KAWA, A. The role of mast cells in allergic inflammation. *Respiratory Medicine*. 2012, 106, 9 – 14.



- [19] GANONG, W. F. et al. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. vyd. Praha: Galén, 2005, 890 s. ISBN 8072623117.
- [20] PETERS, L. J. et al. Histamine: metabolism, physiology, and pathophysiology with applications in veterinary medicine. *Journal of veterinary emergency and critical care*. 2009, 19 (4), 311 – 328.
- [21] SANTOS, W. C. et al. Bioactive amines formation in milk by *Lactococcus* in the presence or not of rennet and NaCl at 20 and 32 °C. *Food chemistry*. 2003, 81, 595 – 606.
- [22] LARQUE, E. et al. Biological significance of dietary polyamines. *Nutrition*, 2007, 23, 87 – 95.
- [23] BARDOCZ, Susan. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in food science and technology*. 1995, 6, 341 – 346.
- [24] NOVELLA-RODRÍGUEZ, S. et al. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *Journal of food science*. 2003, 68 (3), 750 – 755.
- [25] KOHAJDOVÁ, Z. et al. 2008. Biogénne amíny v potravinách. In *Potravinárstvo* [online]. 2. február 2008, roč. 2, č. 1 [cit. 2008-02-08]. s. 30 - 49. Dostupné: <[http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo\\_no1\\_2008.pdf](http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo_no1_2008.pdf)>. ISSN 1337-0960.
- [26] ARENA, M. E. and M. C. MANCA DE NADRA. Biogenic amine production by *Lactobacillus*. *Journal of applied microbiology*. 2001, 90, 158 – 162.
- [27] BUŇKOVÁ, L. et al. Komparace různých metod detekce dekarboxylázové aktivity u bakterií mléčného kvašení. *Potravinárstvo*. 2010, 4, 372 – 380.

- [28] BERNARDEAUA, M. et al. Safety assessment of dairy microorganisms: The Lactobacillus genus. *International Journal of Food Microbiology*. 2008, 126 (3), 278 – 285.
- [29] BUŇKOVÁ, L. et al. Tyramin production of technological important strains of Lactobacillus, Lactococcus and Streptococcus. *European food res technology*. 2009, 229, 533 – 538.
- [30] KUČEROVÁ, K. et al. Production of biogenic amines by Enterococci. *Czech journal of food science*. 2009, 27 (2), 50 – 55.
- [31] PRYIADARSHANI, W. M. D. et al. Screening selected strains of probiotic lactic acid bacteria for their ability to produce biogenic amines. *International journal of food science and technology*. 2011, 46, 2062 – 2069.
- [32] LANDETE, J. M. et al. Tyramin and phenylethylamine production among lactic acid bacteria isolated from wine. *International Journal of Food Microbiology*. 2007, 115 (3), 364 – 368.
- [33] LANDETE, J. M. et al. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. *Food control*. 2007, 18, 1569 – 1574.
- [34] DE LLANO, D. G. et al. Biogenic amine production by wild lactococcal and leuconostoc strains. *Letters in applied microbiology*. 1998, 26, 270 – 274.
- [35] HALÁSZ, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in food science and technology*. 1994, 5, 42 – 49.
- [36] SANGUANSEMSRI, J. et al. Polyamines in human and cow's milk. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1974, 27, 859 – 865.

- [37] BARDOCZ, S. The role of dietary polyamines. *European Journal of clinical nutrition*. 1993, 47 (10), 683 – 690.
- [38] NOVELLA-RODRIGUEZ, S. et al. Biogenic Amines and Polyamines in Milks and Cheeses by Ion-Pair High Performance Liquid Chromatography. *Journal. Agric. Food Chem.* 2000, 48 (11), 5117 – 5123.
- [39] ELIASSEN, K.A. et al. Dietary polyamines. *Food chemistry*, 2002, 78 (3), 273 – 280.
- [40] OZDESTAN, O. et al. Biogenic amine content of kefir: a fermented dairy product. *Eur Food Res Technol.* 2010, 231, 101 - 107.
- [41] LESZCZYŃSKA, J. et al. The Histamine Content in Some Samples of Food Products. *Czech journal of food science.* 2004, 22 (3), 81 – 86.
- [42] BODMER, S. et al. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflammation research.* 1999, 48, 296 – 300.
- [43] FARRIOL, M. et al. Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves. *Nutricion hospitalaria.* 2004, XIX(5), 300 – 304.
- [44] KAROVIČOVÁ, J. and Z. KOHAJDOVÁ. Biogenic Amines in Food. *Chemical Papers.* 2005, 59 (1), 70—79.
- [45] STANDAROVÁ, E. et al. The occurrence of biogenic amines in dairy products on the Czech market. *Acta scientiarum polonorum, Medicina Veterinaria.* 2008, 7(4), 35 – 42.
- [46] KOMPRDA, T. et al. Contents of Some Biologically Active Amines in a Czech Blue-vein Cheese. *Czech journal of food science.* 2008, 26, 428 – 440.

- [47] STANDAROVÁ, E. et al. Biogenic Amine Production in Olomouc Curd Cheese (Olomoucké tvarůžky) at Various Storage Conditions. *Acta veterinaria*. Brno: 2010, 79, 147 – 156.
- [48] KOMPRDA, T. et al. Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food chemistry*. 2007, 102, 129 – 137.
- [49] VALSAMAKI, K. et al. Biogenic amine production in Feta cheese. *Food chemistry*. 2000, 71, 259±266.
- [50] ONER, Z. et al. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *LWT*. 2006, 39, 449–454.
- [51] EL- SAYED, M. M. Biogenic Amines in Processed Cheese Available in Egypt. *International dairy journal*. 1996, 6, 1079 – 1086.
- [52] ERTAN ANLI, R. et al. Biogenic Amines in Wines. Food reviews international. 2009, 25, 86 – 102.
- [53] LADERO, V Survival of biogenic amine-producing dairy LAB strains at pasteurisation conditions. *International Journal of Food Science and Technology*. 2011, 46, 516–521.
- [54] GARDINI, Fausto et al. Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytické activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*. 2001, č. 64, 105 - 117.
- [55] BUŇKOVÁ, L. et al. 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*. 2011, 147, 112 – 119.
- [56] ONAL, Armagan. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*. 2007,103, 1475–1486.
- [57] PROESTOS, Ch. et al. Determination of biogenic amines in wines by HPLC with precolumn dansylation and fluorimetric detection. *Food Chemistry*. 106. 2008, s. 1218–1224.
- [58] DADÁKOVÁ, E. et al. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 2009, 106, 365-370.
- [59] SMĚLÁ, D. et al. Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování, *Chemické listy*, 2004, 98 432-437.
- [60] KALÁČ, P. et al. Levels of biogenic amines in typical vegetable products. *Food Chemistry*. 2002, 77, 349-351.
- [61] ICMSF. *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*, 2 .ed. Springer, 2005, 736 p. ISBN: 0-306-48675-X
- [62] SHALABY, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food research international*. 1996, 29(7). 675-690,
- [63] KULEY, E et al. Synergistic and antagonistic effect of lactic acid bacteria on tyramine production by food-borne pathogenic bacteria in tyrosine decarboxylase broth. *Food chemistry*. 2011, 127, 1163–1168.

- [64] FADDA, S. et al. Tyramine degradation and tyramine/histamine production by lactic acid bacteria and *Kocuria* strains. *Biotechnology letters*. 2001, 23, 2015–2019

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

HPLC Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

BA Biogenní aminy.

CPM Celkový počet mikroorganismů.

IMAO Inhibitory monoaminoxidázy

BMK Bakterie mléčného kvašení

TR Tryptamin

PHE Fenyletylamin

PU Putrescin

CA Kadaverin

HI Histamin

TY Tyramin

SD Spermidin

SM Spermin

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1 Vzorce některých biogenních aminů..... str. 21



**SEZNAM TABULEK**

1. Požadavky na obsah tuku a tukuprosté sušiny ve fermentovaných mléčných výrobcích.	str. 13
2. Prekurzorové aminokyseliny a jim odpovídající biogenní aminy	str. 2
3. Přehled analyzovaných vzorků.	str. 33
4. Celkový obsah biogenních aminů v bílých jogurtech (mg/kg)	str. 38
5. Obsah biogenních aminů v bílých jogurtech bezprostředně po nákupu a na konci doby použitelnosti (mg/kg)	str. 40
6. Obsah BA ve smetanových jogurtech (mg/kg)	str. 41
7. Celkový obsah BA ve smetanových jogurtech (mg/kg)	str. 42
8. Obsah BA v jogurtech se sníženým obsahem tuku (mg/kg)	str. 42
9. Celkový obsah BA v jogurtech se sníženým obs. tuku (mg/kg)	str. 43
10. Obsah BA v nízkotučných jogurtech (mg/kg)	str. 43
11. Celkový obsah BA v nízkotučných jogurtech (mg/kg)	str. 44
12. Obsah BA v zakysané smetaně (mg/kg)	str. 45
13. Celkový obsah BA v zakysané smetaně (mg/kg)	str. 45
14. Obsah BA v acidofilním mléku (mg/kg)	str. 46
15. Celkový obsah BA v acidofilním mléku (mg/kg)	str. 46
16. Obsah BA v keřírovém mléku (mg/kg)	str. 47
17. Celkový obsah BA v keřírovém mléku (mg/kg)	str. 48
18. Obsah BA v kysaném podmásli (mg/kg)	str. 48
19. Obsah BA v kysaném mléku (mg/kg)	str. 49