

Izolace dekarboxyláza-pozitivních bakterií ze sýrů zrajících v solném nálevu

Bc. Petra Válková

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petra Válková**
Osobní číslo: **T11141**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin – specializace Technologie mléka a mléčných výrobků prezenční**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Izolace dekarboxyláza-pozitivních bakterií ze sýrů zrajících v solném nálevu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika a technologie sýrů zrajících v solném nálevu.
2. Dekarboxyláza pozitivní bakterie a vztah k sýrům.
3. Vlastnosti biogenních aminů.

II. Praktická část

1. Mikrobiologický rozbor sýrů zrajících v solném nálevu.
2. Chromatografické stanovení biogenních aminů.
3. Vyhodnocení výsledků.
4. Diskuse získaných výsledků a formulace závěrů práce.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] FOX, Patrick F., Paul L.H. MCSWEENEY, Timothy M. COGAN a Timothy P. GUINEE. Cheese – Chemistry, Physics and Microbiology (3rd Edition). Elsevier, 2004. ISBN 978-0-12-263651-6..

[2] WEIMER, Bart C. Improving the Flavour of Cheese. Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-0-8493-9158-3.

[3] HUTKINS, Robert W., Microbiology and Technology of Fermented Foods. USA: Wiley - IFT Press, 2006. ISBN 978-0-8138-0018-9.

[4] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH, Michal VOLDŘICH. Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin. VŠCHT Praha: KEY Publishing s.r.o., 2009. ISBN 978-80-7418-051-4.

[5] JAY, James M., Martin J. LOESSNER, David A. GOLDEN. Modern Food Microbiology (7th Edition) Springer, 2005. ISBN 0-387-23180-3.

Vedoucí diplomové práce:

doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce:

16. ledna 2013

Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2013

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: VÁLKOVÁ PETRA

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 ¹⁾;
- 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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ 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 ³⁾ 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, považuji 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 2.5.2013

Válková Petra

¹⁾ 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.

²⁾ 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 vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ 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). Odpirá-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

Teoretická část diplomové práce je zaměřena na charakteristiku sýrů zrajících v solném nálevu, charakteristiku dekarboxyláza pozitivních bakterií a biogenních aminů. V praktické části byl proveden rozbor 30 vzorků sýrů zrajících v solném nálevu a stanoveny počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformních bakterií, mléčných bakterií a enterokoků. Poté byly suspektní kolonie izolovány a byla zkoumána jejich dekarboxylační aktivita. Obsah biogenních aminů byl také zkoumán u jednotlivých vzorků sýrů.

Klíčová slova: sýry zrající v solném nálevu, dekarboxylační aktivita, biogenní aminy

ABSTRACT

Teoretic part of the thesis is focused on the characterisation of cheese ripened in brine, decarboxylase positive bacteria and biogenic amines. Thirty samples of cheese ripened in brine were analysed in the practical part. In microbiological analysis were determined by the number mesophilic aerobic and facultative anaerobic bacteria, coliform bacteria, lactic acid bacteria and enterococci. Suspected colonies were isolated and their decarboxylation activity in was examined. The content og biogenic amines was also investigated in individual samples of cheese.

Keywords: cheese ripened in brine, decarboxylation activity, biogenic amines

Úvodem bych chtěla paní doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D a panu doc. Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D za jejich pomoc při realizaci mé diplomové práce. Zejména za trpělivost, cenné rady, připomínky a vedení. Dále bych ráda poděkovala Ing. Ludmile Zálešákové za její ochotu a pomoc.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KLASIFIKACE SÝRŮ ZRAJÍCÍCH V SOLNÉM NÁLEUVU	12
2 TECHNOLOGIE VÝROBY	14
2.1 ZPRACOVÁNÍ MLÉKA	14
2.2 ZPRACOVÁNÍ SÝŘENINY	17
2.2.1 Zpracování koagulátu	17
2.2.2 Solení.....	18
2.2.3 Zrání a balení.....	20
2.2.4 Vady sýrů zrajících v solném nálevu	22
3 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH SÝRŮ	23
4 BIOGENNÍ AMINY	26
4.1 CHARAKTERISTIKA.....	26
4.2 DEKARBOXYLÁZOVÁ AKTIVITA	27
4.2.1 Podmínky vzniku BA	27
4.2.2 Výskyt BA v sýrech	29
4.3 TOXIKOLOGICKÝ ÚČINEK	29
II PRAKTICKÁ ČÁST	31
5 CÍL PRÁCE	32
6 MATERIÁL A METODY	33
6.1 METODY MIKROBIOLOGICKÉHO STANOVENÍ	33
6.1.1 Obecný zásady zpracování	33
6.1.2 Stanovení mléčných bakterií	33
6.1.3 Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů.....	34
6.1.4 Stanovení koliformních bakterií.....	34
6.1.5 Stanovení enterokoků.....	34
6.1.6 Vyjádření výsledku - počítání kolonií.....	34
6.1.7 Příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů.....	35
6.2 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	35
6.2.1 Chromatografické stanovení	36
7 VÝSLEDKY	37
7.1 MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR TESTOVANÝCH SÝRŮ.....	38
7.2 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ VE VZORCÍCH SÝRŮ	40
7.3 STANOVENÍ DEKARBOXYLÁZOVÉ AKTIVITY BAKTERIÍ IZOLOVANÝCH Z TESTOVANÝCH SÝRŮ	42
7.3.1 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z živné půdy PCA	42
7.3.2 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z živné půdy M17	47
7.3.3 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z živné půdy MRS	50

7.3.4	Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z testovaných sýrů na živné půdě Slanetz- Bratley Agar	52
8	DISKUZE	55
9	ZÁVĚR.....	62
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	64
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	69
	SEZNAM OBRÁZKŮ	70
	SEZNAM TABULEK.....	71
	SEZNAM PŘÍLOH.....	74

ÚVOD

Výzkum biogenních aminů začal již před 120 lety s identifikací sperminu, putrescinu a kadaverinu. Počátkem 20. století byl z živočišných tkání izolován histamin. Studium BA je důležité z hlediska potencionálního zdravotního rizika pro lidské zdraví. Polyaminy (spermin a spermidin) či řada biogenních aminů (BA) mají řadu biologických funkcí. V různých biochemických reakcích mohou být zdrojem dusíku, také mohou sloužit jako prekurzor pro tvorbu dopaminu či se podílet na diferenciaci buněk aj. [1,2]. Biogenní aminy se vyskytují v celé řadě potravin, podmínkou jejich výskytu je přítomnost bílkovin či volných aminokyselin. Vyskytují se jak v potravinách fermentovaných, tak nefermentovaných. Příkladem jsou ryby, masné výrobky, mléčné výrobky, víno, pivo, zelenina, ovoce aj [3].

Řada studií se zabývá detekcí biogenních aminů v sýrech. Nejčastěji jsou detekovány histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, tryptamin a fenyletylamin. Výzkumy poukazují na vyšší obsah BA ve zrajících sýrech v porovnání se sýry čerstvými [4]. Biogenní aminy byly také zkoumány v sýrech zrajících v solném nálevu, avšak studie ukazují, že nízké pH, vysoký obsah soli vytváří nepříznivé podmínky pro vznik BA [5]. V sýrech je nejvíce detekován tyramin, poté histamin, putrescin a kadaverin. Obsah BA závisí na celé řadě faktorů, jako je například kvalita již syrového mléka, typ kvasné kultury, doba zrání, rozsah proteolýzy atd. [2].

Diplomová práce je zaměřena na stanovení dekarboxyláza pozitivních mikroorganismů izolovaných ze sýrů zrajících v solném nálevu. Teoretická část pojednává o výrobě a klasifikaci sýrů zrajících v solném roztoku. Dále se zabývá biogenními aminy a jejich významem v potravinářství. V praktické části byl proveden mikrobiologický rozbor 30 vzorků sýra zakoupených v obchodním řetězci a izolovány suspektní kolonie, které byly testovány na produkci biogenních aminů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KLASIFIKACE SÝRŮ ZRAJÍCÍCH V SOLNÉM NÁLEVU

Výroba sýrů má dlouho historii. První písemné zmínky o výrobě sýrů sahají do doby asi 6000 let př.n.l. Již ve středověku se začalo profilovat mnoho současných sýrů. Moderní výroba sýrů je charakteristická užíváním průmyslových enzymů, sofistikovaným kvašením, dynamickým zráním či využíváním moderních linek na jejich výrobu. Některé zdroje uvádějí, že na světě existuje více než 1000 druhů sýra. Sýry se od sebe liší například použitým mlékem, tepelným ošetřením, použitými čistými mlékárenskými kulturami, tvarem, způsobem solení, způsobem a rozsahem zrání aj. Sýry se od sebe mohou lišit nejen po stránce technologické, ale mohou se lišit i obsahem tuku, obsahem sušiny či obsahem soli v sýru [12].

Sýry zrající v solném nálevu řadíme mezi nejstarší skupinu sýrů na světě. Tradičně se výroba orientovala na Středomoří a Balkán. Dnes je výroba rozšířena téměř po celém světě. Sýry se vyrábí v různých velikostech a tvarech. Charakteristická je čistá, slaná, jemně nakyslá chuť. S prodlužující se délkou zrání je chuť více výrazná až pikantní. Sýry se vyrábí z ovčího, kozího, buvolího a dnes i s kravského mléka [12,21].

Sýry zrající v solném nálevu se často označují také jako sýry bílé. Dle nomenklatury se řadí na rozhraní zrajících a nezrajících sýrů. Můžeme je konzumovat ihned po nasolení, daleko častěji se však vkládají do solných nálevů, kde zrají po určitou dobu. Sýry zrající v solném nálevu mohou být lisované, nelisované, pařené. Patří do skupiny měkkých, poloměkkých až polotvrdých sýrů [12,25]. Tabulka 1 popisuje rozdělení sýrů dle obsahu vody v sušině sýra. Výpočet obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra je znázorněn na obrázku 1.

Podle obsahu vody v tukuprosté sušině můžeme sýry rozdělit:

Tabulka 1. Rozdělení sýrů dle obsahu vody v sušině [36].

Sýr	% sušiny
Extra tvrdý	méně než 47,0 včetně
Tvrdý	47,0 až 54,9
Polotvrdý	55,0 až 61,9
Poloměkký	62,0 až 68,0 včetně
Měkký	více než 68,0

$$\%VVTPH = \frac{g \text{ vody}}{100 - g \text{ tuku}} \times 100$$

Obrázek 1. Voda v tukuprosté hmotě sýra [36].

Sýry měkké a poloměkké můžeme dále rozdělit na sýry kyselého a sladkého sýrařství. Příkladem kyselého sýrařství je například sýr Mish, který pochází z Egypta. Sortiment sýrů vyráběných sladkou cestou sýření je daleko bohatší. Řadíme sem například sýr Feta (Řecko), Balkánský sýr (Balkán), Teleme (Řecko), Akawi (Sýrie), Baida (Libanon), Domiati (Egypt) a jiné. K sýrům polotvrdým a tvrdým řadíme například sýr Halloumi (Kypr), Nalbusi (Jordánsko), Jadel (Česká republika). Sýry vyráběné sladkou cestou se solí 3 způsoby a to přidavkem soli do mléka, tzv. suchým způsobem solení, kdy se sůl vtírá na povrch sýru či pomocí solné lázně. U měkkých a poloměkkých sýrů volíme přidavek soli do mléka či vtírání soli na povrch sýra. U polotvrdých sýrů je charakteričtější solení pomocí solné lázně. Více v kapitole 2.2.2 [12,25].

Tabulka 2. Přehled sýrů zrajících v solném nálevu [1].

Měkké a poloměkké sýry	
- Kyselé srážení	Mish (Egypt)
- Sladké srážení	
<ul style="list-style-type: none"> • Solení na sucho 	Feta (Řecko), Teleme (Řecko), Brinza (Rusko, Izrael), Bli-pane-U-knskama (Srb-sko), Bjalo sirene (Bulharsko), Chanakh (Rusko), Beyaz peynir (Turecko), Akayí (Sýrie), Baida (Libanon), íránský bílý sýr (Irán)
<ul style="list-style-type: none"> • Solení do mléka 	Domiati (Egypt), Gibna Bayda (Súdán)
Polotvrdé sýry	
Halloumi (Kypr), Mudaffara a Magdula (Sýrie, Súdán), Nalbusi (Jordánsko)	

2 TECHNOLOGIE VÝROBY

2.1 Zpracování mléka

Před zahájením vlastní výroby se mléko obvykle tepelně ošetřuje, ale je možné vyrábět i ze syrového mléka, což je typičtější zejména pro menší farmy. U velké mechanizované výroby je obtížné zajistit standardní podmínky výroby. Mléko je díky svému složení ideální živnou půdou pro řadu saprofytických a dokonce patogenních mikroorganismů. V mléce je vhodné sledovat kromě mezofilních mikroorganismů i koliformní bakterie, které mohou být považovány za zdroj fekálního znečištění. Dále psychrotrofní mikroorganismy, které mohou být zdrojem termostabilních enzymů lipáz a proteáz. Jelikož jsou termostabilní, nemusí dojít během tepelného ošetření k jejich inaktivaci a může dojít k negativnímu ovlivnění vlastností dané suroviny [6,23]. Z toho důvodu je důležitá již jakost syrového mléka. Důsledkem pasterace je zničení většiny vegetativních mikroorganismů a inaktivace nativních či bakteriálních enzymů, které by mohly negativně ovlivnit danou výrobu a zároveň dochází k minimálním chemickým změnám mléka. Ve výrobě většiny sýrů volíme šetrnou pasteraci, kde se využívá teplot kolem 71 – 75 °C s výdrží 15 až 20 sekund. Je také možné využít i vyšších teplot, zejména u měkkých sýrů a poloměkkých sýrů, čímž je docíleno vyšší výtěžnosti výrobku. Účelem tepelného ošetření je standardizovat surovinu, prodloužit trvanlivost a zejména zajistit zdravotní nezávadnost. Šetrnou pasterací dochází k inaktivaci alkalické fosfatázy a současně je zachována aktivita laktoperoxidázy. K inaktivaci enzymů dochází jen částečně a výsledný pasterační efekt je 99,9 %. Šetrnou pasterací dochází k minimálním sensorickým změnám, a protože k inaktivaci sérových bílkovin dochází jen asi z 15 % je zachována bakteriostatická vlastnost mléka, což má příznivý vliv na jakost výrobku. Mléko je zdrojem přirozeně se vyskytujících antimikrobiálních látek (př. laktoferin, lysozym, xantioxidáza, bakteriociny aj.), které potlačují růst patogenních mikroorganismů. Pokud zvolíme vysokou pasteraci (85 °C / po dobu několika sekund), tak docílíme inaktivace i laktoperoxidázy a výsledný sterilační efekt je až 99,99 % [3,6,16,25]. Dále je pro zvýšení mikrobiální čistoty možné využít procesu baktofugace pomocí baktofugačních odstředivek. Baktofugační odstředivky představují zvláštní typ odstředivek, které se od odsmetaňovacích liší zejména konstrukčně. Baktofugace představuje účinnější způsob odstranění spór z mléka nežli tepelné ošetření, protože spóry bakterií jsou termostabilní a tepelným ošetřením nemusí dojít k jejich inaktivaci Na základě rozdíl-

né specifické hmotnosti dochází při baktofugaci k odstranění spór mikroorganismů z mléka [36,38].

Mléko je nutné pro výrobu sýrů standardizovat. Obsah tuku a bílkovin se během roku mění a tudíž se tyto parametry upravují, abychom při každé výrobě získali standardní výchozí surovinu. Pro standardizaci obsahu bílkovin je možné využít ultrafiltraci, což představuje proces, kdy dochází k selektivnímu oddělování makromolekul s molekulovou hmotností nad 1000 – 20 000 Da. Produkt se rozdělí na tzv. retentát, tedy bílkoviny které se zachytí na membráně, a permeát, který představuje voda, minerální látky, ve vodě rozpustné vitaminy a laktóza. Vzniklý retentát se poté využívá k navýšení obsahu bílkovin. Obsah tuku se upravuje pomocí odsmetaňovací odředivky. Dochází k rozdělení mléka na základě rozdílné specifické hmotnosti mléčného tuku a plazmy vlivem odstředivého pohybu. Ke standardizaci obsahu tuku dochází pomocí směšovacího zařízení nebo šaržovitě se smíchá mléko o různé tučnosti [12,6,24,38].

Během tepelného ošetření nedochází jen ke změnám bílkovin, ale také se mění forma vápníku přítomného v mléce. Vápník se tedy z původního rozpustného mění na nerozpustný, což má přímý vliv na vlastní koagulaci. Přítomnost vápníku je důležitá zejména v tzv. sekundární koagulační fázi. Vápník snižuje negativní náboj micel, tím dochází ke snížení její stability a následné agregaci kaseinových micel. Při nedostatku vápníku jsou zhoršené reologické vlastnosti gelu a také nastávají problémy s uvolňováním syrovátky [12,15]. Další velmi důležitou součástí je přídavek bakterií mléčného kvašení, které standardizují surovinu z mikrobiologického hlediska. Bez jejich přídavku nelze výrobu uskutečnit. Mezi primární vlastnosti zákysových kultur patří zejména fermentace laktózy s tvorbou kyseliny mléčné a následné snížení pH. Dle toho zda je kyselina mléčná výhradním produktem či vznikají i další látky jako je například kyselina octová, etanol, CO₂, diacetyl aj., můžeme BMK rozdělit na obligátně homofermentativní (např. rod *Lactococcus*, *Pediococcus*), fakultativně heterofermentativní (např. *Lactobacillus casei* subsp. *casei*) a obligátně heterofermentativní (např. *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*). Z hlediska teploty můžeme požívané kultury u této skupiny sýrů rozdělit na mezofilní a termofilní. Pro mezofilní bakterie je optimální teplota růstu do 30 °C, kdežto u termofilních 40 – 52 °C. Příkladem mezofilní kultury je *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. Mezi termofilní kultury řadíme např. *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus* aj. Často se však využívá vzájemné kombinace mezofilních a termofilních kultur, což má za následek vznik více

senzoricky aktivních látek [1,31,32,35]. Procesy zrání ovlivňují také nezákysové bakterie. Tyto bakterie pocházejí z prostředí a mohou pozitivně ovlivňovat výsledné sensorické vlastnosti výrobku. Příkladem jsou mezofilní laktobacily a dále zástupci rodů *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, ale také to mohou být v omezené míře kvasinky (např. *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaromyces hanserii*), příkladem je sýr Feta [12,14].

Koagulace představuje složitý chemický děj, kdy cíleně způsobíme změnu polydisperzního systému a dojde tak ke změně stavu ze solu na gel s následným vyvločkováním kaseinu. Kasein představuje 80 % celkového dusíku kravského mléka. Mezi hlavní kaseiny patří α_{s1} -kasein, α_{s2} -kasein, β -kasein a κ -kasein v poměru 40:10:35:12 [20,38]. Kaseiny se v mléce nacházejí v tzv. submicelách, které jsou spojovány do micel pomocí fosfoserinových zbytků a vápenatých iontů. Molekula κ -kaseinu je na povrchu silně hydrofilní a nese výsledný negativní náboj, díky němuž se molekuly odpuzují. Pokud narušíme stabilitu kaseinových micel, dojde k potlačení elektrostatického odporu a ke koagulaci kaseinových micel za vzniku trojrozměrné struktury. Destabilizace dosáhneme také snížením pH do izoelektrického bodu kaseinu ($\text{pH} \approx 4,6$), což je podstata kyselého srážení. Pokud hovoříme o sladkém srážení, tak k destabilizaci dochází působením proteolytických enzymů [12]. Kyselého způsobu srážení se využívá například u výroby sýru Mish, kde koagulace nastává snížením pH do izoelektrického bodu kaseinu (4,6 pH) působením smetanového zákysu (tvořen laktokoky a leukonostoky) či přímým přidavkem kyseliny mléčné [12].

Jako proteolytické enzymy se používají syřidla, která mají vysokou substrátovou specifitu vůči kaseinu, tedy mají schopnost štěpit κ -kasein a zároveň mají omezenou proteolytickou aktivitu. Syřidla dle původu můžeme rozdělit na rostlinná, živočišná a také mikrobiální. Dnes se převážně používá chymozin produkovaný zejména geneticky modifikovanými mikroorganismy, jako jsou např. *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Mikrobiální rennin nahrazuje chymozin u více než poloviny světové produkce sýrů, vykazuje esterázovou aktivitu a je poměrně termolabilní [17,23]. Dobrá syřitelnost mléka závisí na celé řadě parametrů. Zejména je důležitý obsah kaseinových bílkovin a obsah minerálních látek (např. vápenatých, hořečnatých, draselných iontů). Soubor těchto vlastností je ovlivněn především genetickým typem dojnice, zdravotním stavem, stádiem laktace, ale také tepelným ošetřením mléka. Podstatou sladkého srážení je působení syřidlových enzymů na molekulu κ -kaseinu a její rozštěpení mezi aminokyselinami fenylalaninem v pozici 105 a metioninem v pozici 106. V této fázi koagulace není nutná přítomnost Ca^{2+} , proběhlé změny jsou enzymového charakteru. Peptid složený z 1 až 105. aminokyseliny po rozštěpení κ -

kaseinu se nazývá para- κ -kasein, který zůstává v koagulátu. Zbývající část (106. - 169. aminokyselina) odchází do syrovátky a nazývá se κ -kaseinmakropeptid. Vlivem oddělení κ -kaseinmakropeptidu dochází k vlastní koagulaci kaseinu. Hydrofóbní para- κ -kasein působí jako tmel v nově spojených micelárních útvarech. Přítomností Ca^{2+} dochází ke snížení negativního náboje micel a tím dochází k následnému propojování pomocí vápníkových můstků do trojrozměrné síťovité struktury [12,15,17,20,25,36,38]. Vlastnosti sýřeniny ovlivňuje doba sýření, teplota, dávka syřidla, kyselost mléka a také homogenizace. Při příliš dlouhé době sýření se může projevit tzv. terciární fáze syřidla, která je nežádoucí z hlediska vzniku hořkých peptidů, které se projeví hořkou chutí. Tuto fázi však pozitivně ovlivňují enzymy BMK, které tyto nežádoucí syřidlové enzymy odbourávají. Autoři se shodují, že s klesající teplotou klesá rychlost koagulace. Se zvyšující se dávkou syřidla klesá doba sýření. Mírným zvýšením kyselosti mléka podpoříme koagulaci, avšak příliš velká kyselost mléka dává vznik „krátkého těsta“ [12,7].

2.2 Zpracování sýřeniny

2.2.1 Zpracování koagulátu

Po koagulační fázi následuje zpracování sýřeniny zahrnující operace jako krájení, drobení a vytužování. Krájením dochází ke zmenšení původně celistvé hmoty na menší části a tím k usnadnění odvodu syrovátky. Drobení představuje další zmenšování již rozkrájené sýřeniny za vzniku sýrařského zrna. Pro podpoření syneréze se zařazuje vytužování, což je míchání zrna při teplotě sýření. Během syneréze dochází také ke zmenšování zrna na požadovanou velikost a odtoku kapilární vody [6,25,38]. Dalším krokem je přihřívání, typické u nízkodohříváných sýrů. Přihřívání představuje postupné zvyšování na teplotu 38 – 42 °C přímým přidavkem technologické vody obvykle po předešlém odpuštění části syrovátky [15,25]. Všechny operace zahrnující zpracování vzniklé sýřeniny podporují synerézi, což je děj kdy dochází ke zmenšování sýrařského zrna a odvodu syrovátky. Ovšem syneréze závisí i na dalších faktorech. Při vyšších pasteračních teplotách roste stupeň denaturace sérových bílkovin, čímž dochází k vazbě vody v sýřenině. Synerézi obecně urychluje vyšší obsah bílkovin, vyšší sýřící teplota, zpracování sýřeniny na menší sýrařské zrno, vícenásobné otáčení forem při odkapávání. Naopak ke zhoršené synerézi dochází vlivem vyšších pasteračních teplot, vyššího obsahu tuku ve směsi, nízké sýřící teplotě, ochlazení syrového zrna během formování či předčasné solení [7,12].

Tvarování je proces, který umožňuje dát sýru požadovaný tvar. Mimo jiné dochází také k odvodu syrovátky a k intenzivnímu rozkladu laktózy a tedy k prokysávání sýřeniny. Výsledkem je snížení pH. Dle toho, zda se vyrábíme měkký nebo polotvrdý sýr, volí se způsob tvarování. Při odkapávání se využívá atmosférického tlaku, kdy se zrno požadované velikosti nalije do perforovaných forem a nechá se odkapávat. Během této doby se formy několikrát obrátí, aby bylo docíleno rovnoměrného odvodu syrovátky. Charakteristickým znakem pro takto tvarované sýry je drobná konzistence a na řezu jsou patrné dutinky. Lisování představuje tvarování za tlaku vyššího než atmosférického. Lisování může probíhat například v lisovacích vanách, kde je zrno pod proudem syrovátky naléváno do lisovacích van, abychom zamezili osychání zrna (oklihnutí), které by se poté neslepilo. Jinou možností je použití hydraulických, pneumatických či mechanických lisů [8,12,15,38].

U řady sýrů (např. sýr Nalbusi, Halloumi, Jadel) se zařazuje paření, což je proces kdy dochází k hnětení mírně prokysaného zrna v horké vodě či syrovátce s následným vytahováním do vláken, čímž je dána charakteristická vláknitá konzistence. Během paření je možné přidat sůl či různá koření, které se podílí na výsledné chuti sýra. Pařením také dochází k podpoření trvanlivosti výrobku [7,12,15,25].

2.2.2 Solení

Užívání soli jako konzervačního činidla je známo již z historie. Spolu se sušením a kvašením tvoří základ konzervačních metod. Obsah soli v sýrech je různý. U sýrů zrajících v solném nálevu se obsah soli může pohybovat až kolem 6 %. Opakem jsou například čerstvé sýry, kde je obsah soli jen kolem 1,5 %. Extrémním případem je sýr Domianti, který může obsahovat až 12 – 15 % soli. Sůl společně s dalšími faktory, jako je nízké pH, vodní aktivita či redox-potenciál, přispívá k prodloužení údržnosti sýrů. Sůl také sýru dává tzv. druhotnou chuť (biochemickou aktivitou vzniká chuť primární a to kyselá). Sýr bez soli má fádni až prázdnou chuť. Dále zlepšuje stravitelnost sýra, podílí se na osmoticko-difuzních procesech a také ovlivňuje konzistenci sýra [12,38].

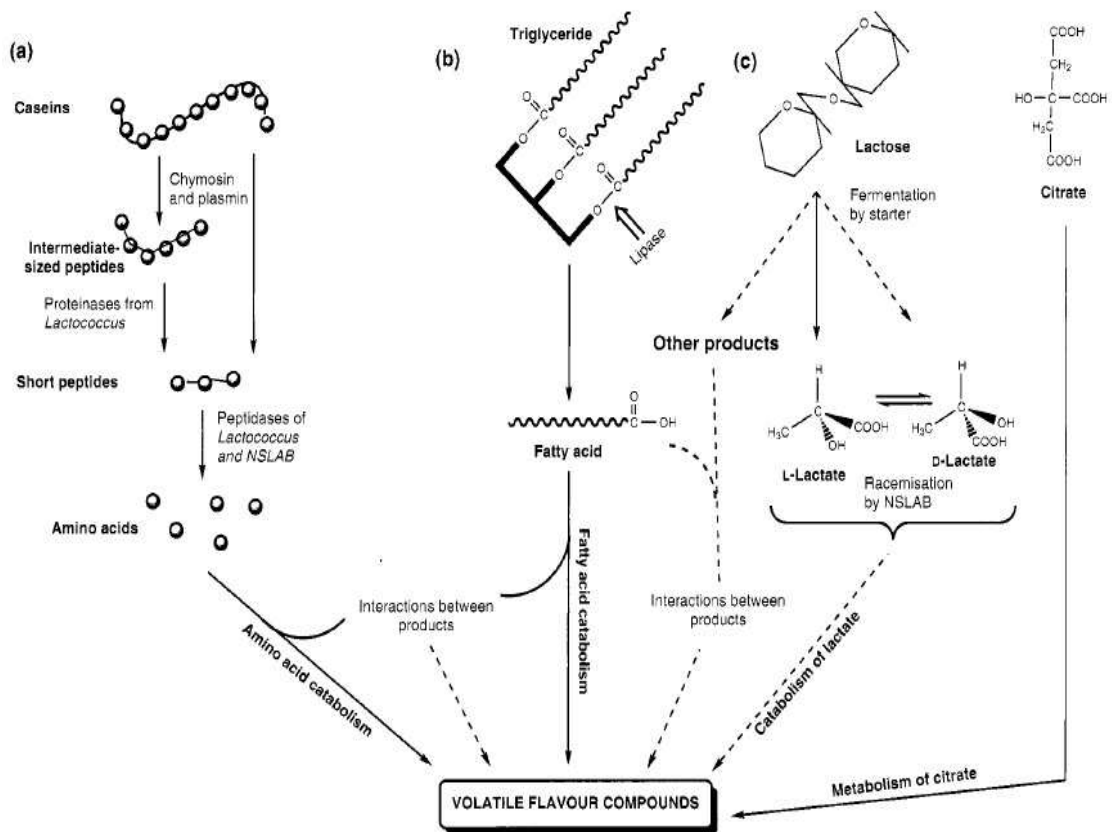
Během vlastního solení dochází vlivem difúze k pronikání látek povrchem sýra a zároveň dochází k uvolňování látek z prostředí sýra, například zbytků laktózy, kyseliny mléčné, rozpustných látek aj. Rychlost je dána koncentračním spádem, který je na počátku nejvyšší. Difúze může být zpomalována například vyšší viskozitou či tukovými kuličkami, které mohou blokovat kanálky mezi zrny. Zároveň dochází k uvolňování syrovátky a rozpustných solí do solné lázně [6,12,25,38]. NaCl ovšem může do jisté míry inhibovat pri-

mární mikroflóru. Citlivost se značně liší u jednotlivých druhů. Citlivějším druhem je například *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* v porovnání s *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Díky inhibici primární mikroflóry je zbývající laktóza rozložena nezákysovou mikroflórou, která je obecně méně citlivá na obsah NaCl [12]. NaCl ovlivňuje biochemickou aktivitu v sýru. Nízký obsah NaCl také ovlivňuje proteolytickou specifickou chymozinu. Mléko obsahuje řadu původních proteináz, z kterých je nejvýznamnější plazmin. Aktivita plazminu je dána teplotou tepelného ošetření, pH sýra a obsahem NaCl. Studie prokazují, že aktivita plazminu je inhibována při 4 % NaCl. NaCl ovlivňuje hydrataci kaseinu, což má zásadní vliv na reologii a texturu sýra. Toto lze snadno pozorovat u sýra bez obsahu soli a s obsahem soli. Sýr bez obsahu soli má měkkou až pastovitou konzistenci, kdežto sýr s obsahem soli má konzistenci tužší [18].

Při výrobě sýrů je možno využít čtyři způsoby solení. A to solení „do mléka“, „do těsta“, solení na sucho a pomocí solné lázně. Přídavek soli přímo do mléka zajišťuje rovnoměrnější rozptýlení soli, ovšem dochází ke ztrátám NaCl při odvodu syrovátky. Solení na sucho představuje vtírání suché soli na povrch vyformovaných sýrů. Solení se musí obvykle vícekrát opakovat, protože povrch sýra v kontaktu z koncentrovaného roztoku soli, která způsobuje kontrakci bílkovin a zpomaluje difuzi soli [6,12,25,38]. Solná lázeň musí splňovat důležité parametry, jako je obsah soli, teplota, kyselost, ale také mikrobiální čistota. Během solení dochází k uvolňování tepla, a tudíž se solná lázeň musí chladit. Teplota solné lázně by měla být taková, aby sůl plynule difundovala povrchem sýra. Teplota solné lázně se pohybuje v rozmezí 8 – 25 °C. Teploty vyšší způsobují hromadění soli v povrchových vrstvách sýra a odebírání vody ze středu sýra. Střed sýru může zůstat neprosolen a zároveň může docházet k nežádoucím mikrobiálním změnám. Dále se upravuje pH solné lázně, které závisí na druhu sýra. Obvykle se pH pohybuje v rozmezí 5,2 až 4,8. Kyselé prostředí je důležité pro potlačení nežádoucí mikroflóry. V málo kyselé lázni dochází ke zpomalení difuze soli a důsledkem mohou být neprosolené sýry. Koncentrace soli v solné lázni je 17 – 22 %. Při koncentraci 15 – 17 % proniká sůl do sýru rychleji, ale výsledná koncentrace v hmotě sýra je nižší. Naopak při koncentraci nad 22 % se na povrchu sýru vytvoří kůra, která kapiláry uzavře a brání tak difuzi soli. Neméně důležitým parametrem je i mikrobiální čistota solné lázně. V solné lázni se mohou vyskytovat sporotvorné bakterie, kvasinky, osmotolerantní mikroorganismy. Pro každý druh sýra je charakteristická doba solení, která se odvíjí od velikosti sýru a obsahu vody v sýru, a také na teplotě solné lázně [7,38].

2.2.3 Zrání a balení

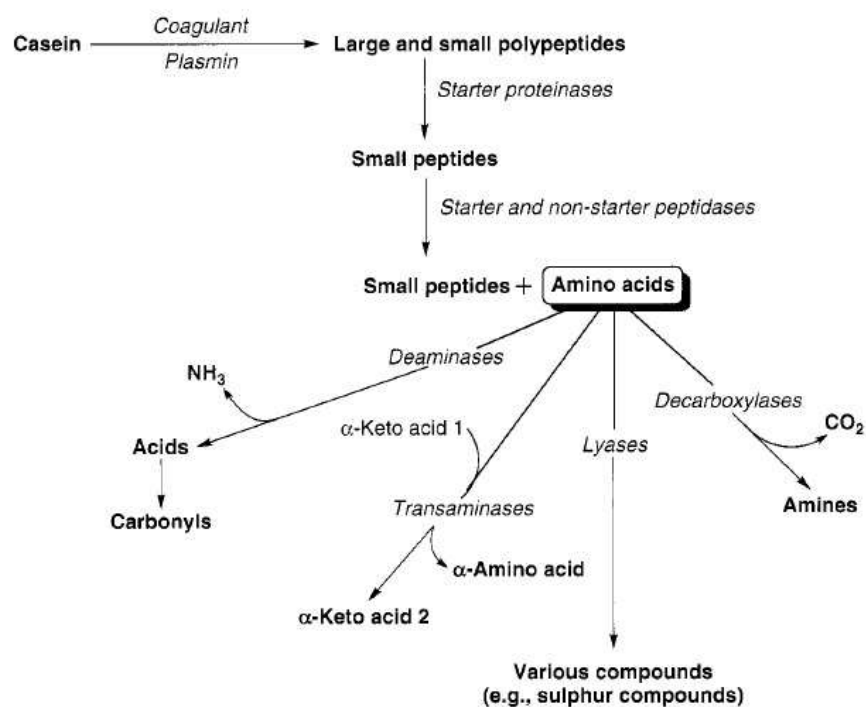
Mezi primárně probíhající děje v průběhu zrání patří glykolýza laktózy, katabolismus laktátu a citrátu, dále proteolýza a lipolýza. Následně probíhají reakce produktů, které vznikají při primárních dějích. Jedná se zejména o volné mastné kyseliny a volné aminokyseliny. Přehled základních biochemických procesů probíhajících v průběhu zrání sýrů je znázorněn v obr. 2.



Obrázek 2. Přehled biochemických procesů v průběhu zrání sýrů [12].

Rozklad laktózy je uskutečňován kyselinotvornými, popřípadě nekyselinotvornými bakteriemi. Výsledkem je vznik kyseliny mléčné či dalších kyselin, které snižují výsledné pH, což potlačuje růst nežádoucí mikroflóry. Mléko je zdrojem velmi malého množství citrátu, asi 8 mmol.l^{-1} . Pevná část citrátu je odváděna syrovátkou. Citrát je metabolizován citrát pozitivními druhy *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*. Výsledkem metabolismu je tvorba diacetylu, acetátu a acetoinu, které přispívají k výsledným sensorickým vlastnostem [19].

Proteolýza je jeden z nejdůležitějších dějů, které se odehrávají v průběhu zrání sýrů. Během proteolýzy dochází k hydrolyze kaseinů a to proteinázami syřidla a také BMK. Proteinázy se také běžně vyskytují v mléce, příkladem je plazmin. V průběhu proteolýzy dochází ke štěpení kaseinu nejprve na vysoko a poté nízkomolekulární peptidy. Tyto kratší peptidy mohou být dále hydrolyzovány až za vzniku volných aminokyselin. Volné aminokyseliny vstupují do dalších reakcí a dávají vznik sensoricky aktivním látkám, které jsou charakteristické pro jednotlivé druhy sýrů. Obsah volných aminokyselin závisí na délce zrání a tedy stupni proteolýzy. Pomocí intramolekulárních enzymů mikroorganismů dochází k přeměně těchto volných aminokyselin na sensoricky aktivní látky, jako jsou například aldehydy (př. acetaldehyd) alkoholy, aminy, fenoly, karbonylové sloučeniny (př. kyselina octová). Přehled proteolýzy a katabolizmu aminokyselin je znázorněn v obr. 3.



Obrázek 3. Přehled proteolýzy a katabolizmu aminokyselin v průběhu zrání sýrů [12].

Lipolýza je charakteristický děj pro sýr Feta. Během lipolýzy dochází činností lipáz k rozštěpení esterové vazby mezi glycerolem a mastnými kyselinami. Mastné kyseliny jsou prekurzorem pro vznik řady těkavých látek. Mezi těkavé aromatické sloučeniny řadíme alkoholy, aldehydy, ketony (př. aceton). V sýrech pak můžeme nalézt zejména kyselinu máselnou, kaprinovou nebo laurovou a dále kyselinu palmitovou, stearovou, olejovou, li-

nolenovou a linolovou [34]. Zdrojem lipolytických enzymů je mléko, bakterie mléčného kvašení, zejména pak sekundární mikroflóra a nezákysové mikroorganismy [12,16,19,27,38].

Sýry zrající v solném nálevu se obvykle balí do velkých spotřebitelských balení, jako jsou plechovky. Dříve se ve velké míře využívali dřevěné sudy, což bylo zejména z manipulačního hlediska nevhodné a také sýry dostávaly silnější a kořeněnou chuť. Další možnostmi jsou individuální balení a popřípadě přídavek nejrůznějšího koření [12,15]. Bylo zjištěno, že druh obalu (dřevěný sud či plechovka) má vliv na chemické parametry sýru. Příkladem je sýr Feta, u kterého bylo zjištěno, že pokud zraje v dřevěném sudu má nižší vlhkost a nižší obsah soli [33].

2.2.4 Vady sýrů zrajících v solném nálevu

Nejčastěji vady způsobují mezofilní a termofilní koky a termofilní tyčinky a to zejména v prvních dnech zrání, kdy sýry zrají při vyšší teplotě. Příkladem vady je skoré duření se vyskytující se zejména na začátku zrání. Tato vada je charakteristická tvorbou plynu a v jeho důsledku tvorbou malých nepravých ok, které dávají sýru tzv. houbovitou konzistenci. Tuto vadu způsobují především koliformní bakterie, které se mohou pomnožit v první fázi zrání, kdy je příznivá teplota i pH. Tato vada se ovšem u této skupiny sýrů vyskytuje jen zřídka. V případě, že sýry nejsou zcela ponořeny v solném roztoku, může docházet k rozvoji plísní. Další možnou vadou je měknutí sýrů, které vzniká v případě, že koncentrace soli v solném roztoku je nižší než obsah vody v sýru. S problémem se setkáváme častěji u sýrů, které jsou nedostatečně prokysané a skladovány v solném roztoku při nižší teplotě. S vadami se setkáváme i u solného roztoku. Dochází ke kalení roztoku, způsobené nejčastěji *Lactobacillus planarum*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, díky produkci exopolysacharidů [12,15]. V sýrech i solném roztoku se může vyskytovat celá řada halofilních či halotolerantních bakterií (příkladem jsou stafylokoky, mikrokoky, enterokoky a koryneformní bakterie) či kvasinek [37].

3 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH SÝRŮ

Skupina sýrů zrajících v solném nálevu je poměrně široká. Sýry se liší velikostí, tvarem, použitým mlékem či vlastní technologií. Níže jsou popsány příklady vybraných druhů sýrů zrajících v solném nálevu.

Feta – řecký sýr vyrábějící se z ovčího či kozího mléka. Patří k nejstarším sýrům na světě. Sýr má bílou barvu, drobivou konzistenci s řadou malých otvorů. Chuť je lehce nakyslá a slaná [12,21,30]. Mléko se po šetrné pasteraci zchladí na kysací teplotu. Přidá se CaCl_2 , zákysová termofilní kultura *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a syřidlo. Mléko se nechá v klidu srážet. Poté se vzniklá sýřenina opatrně rozkrájí a nalije do perforovaných forem, kde se nechá odkapávat při teplotě 14-16 °C po dobu 2 až 3 hodin. Následuje vtírání soli na povrch sýra a tento postup se opakuje, dokud se nedocílí požadovaného obsahu soli. Prosolené sýry se nechají při teplotě kolem 15 °C několik dnů, dokud pH sýra není asi 4,4-4,6. Během této doby se na povrchu sýra vytvoří jemné osliznutí (tvořené bakteriemi mléčného kvašení, kvasinkami a osmotolerantními koky), které má zásadní vliv na výsledné sensorické vlastnosti. Izolovány byly bakterie *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* a kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii*. Na povrchu sýra byly také izolovány halotolerantní mikroorganismy jako jsou například stafylokoky, mikrokoky, enterokoky a koryneformní bakterie. Osliznutí se před balením odstraňuje roztokem solí nebo měkkými kartáči a vodou. Sýry jsou v plechovkách zalévány 6 – 8 % roztokem NaCl a skladovány za snížení teploty (4-5 °C), což výrazně zpomalí biochemické procesy. Při této teplotě jsou sýry skladovány po zbytek doby zrání což je asi 5 až 6 týdnů [37].

Akawi - má tvar hranolu, bílou barvu, plastickou konzistenci a na řezu je hladký, celistvý s malým množstvím dutinek [2]. Vzniklá sýřenina je předlisována v lisovací vaně. Součástí lisovací vany je také krájecí zařízení, které předlisovanou sýřeninu nakrájí na jednotlivé čtverce o velikosti 10 x 10 cm. Takto připravené čtverce se ručně balí do plachetek a následuje vlastní lisování nyní za vyššího tlaku. Po dosažení titrační kyselosti 65-85 °SH se sýry vkládají do solné lázně na 24 hodin. Poté následuje balení (individuální, skupinové) a možné dochucování nejrůznějšími kořeními [7,12,15,38].

Jadel - se vymyká skupině bílých sýrů, jedná se o sýr z nízkodohřívané sýřeniny, kde charakteristickou vláknitou strukturu získáme pařením sýřeniny [7,15]. K mléku ošetřeného šetrnou pasterací, vychlazeného na kysací teplotu je přidán CaCl_2 , mezofilní kultura a kul-

tura *Lactobacillus helveticus*, syřidlo. Vzniklá sýřenina se zpracovává na velikost zrna 5-7 mm, dále následuje přihřívání na teplotu 38-42 °C, viz kapitola 2.1. Lisování zrna probíhá v lisovací vaně, kde zároveň dochází ke kysání zrna na požadovanou titrační kyselost 90-105 °SH. Prokysaná sýřenina se nakrájí na menší bloky a dochází k paření v horké vodě o teplotě kolem 80 °C. Hmota se stává plastickou a dochází k pletení do tvaru housek. Pro docílení zafixování tvaru se sýry se ponořují do ledové vody. Poté následuje solení pomocí solné lázně a balení, které může být individuální nebo velkoobjemové, kde se sýry vkládají do plechovek či plastových nádob a jsou zalévány solným roztokem [7].

Halloumi – tradiční sýr z Kypru, který se ovšem vyrábí mimo jiné i v Rumunsku a Lisabonu. Po řadu let se vyráběl ze syrového ovčího nebo ze směsi ovčího a kozího mléka. Dnes převládá výroba z pasterovaného kravského mléka. Barva je bílá až šedožlutá. Halloumi je polotvrdý sýr bez kůry. Struktura je elastická a kompaktní. Podle znalců jsou ty nejlepší sýry obohacené mátou. Typické pro tento sýr je paření sýřeniny při teplotě 90-95 °C po dobu 30 minut [12,21]. Vzniklá sýřenina se lisuje, poté se nakrájí na menší bloky a ty jsou pařeny v horké syrovátce po dobu 40-80 minut. Následuje zchlazení vtírání soli na povrch sýra. Následující den jsou bloky vloženy do solného roztoku [37].

Teleme – sýr pocházející z Řecka. Vyrábí se jak z kravského, ovčího i kozího mléka. Barva je bílá až nažloutlá. Konzistence je lehce drobivá, jemná, hutná. Chuť je typicky slaná, smetanová, pikantní, zejména při výrobě z kozího mléka [12,21]. Mléko se ošetří šetrnou pasterací, zchladí na kysací teplotu (asi 32°C). Následuje přídavek CaCl₂, termofilní kultury nebo směsi *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* v poměru 1:3 a syřidla. Vzniklá sraženina se rozkrájí na velikost zrna 1 až 2 cm. Poté se zrno nalije do perforovaných forem a nechá se odkapávat. Sýr se solí pomocí solné lázně při teplotě 15-16 °C po dobu 20 hodin. Jakmile je pH sýra 4,8 dochází k přemístění do plechovek se solným roztokem a jsou skladovány po dobu 1 až 2 měsíců za chladírenských teplot [37].

Nalbusi – je polotvrdý sýr. Často se vyrábí z čerstvého ovčího mléka nebo ze směsi ovčího a kozího mléka. Charakteristickou operací je krátké vaření sýřeniny ve slaném roztoku obohacném o koření [12]. Tradiční výroba nezahrnuje přídavek kysacích kultur pouze syřidla. Sýřenina je krátce předlisována a dochází k vtírání soli na povrch sýra. Charakteristické pro tento sýr je paření předlisovaného zrna ve vodě obsahující sůl a různá koření. Poté se sýry balí a zalévají solným roztokem [38].

Mudaffara – vyrábí se ze syrového kravského mléka nebo ze směsi kravského, ovčího a kozího mléka. Sýřenina se krátce paří, což sýru dává charakteristickou vláknitou strukturu [12]. Vzniklá sýřenina se nakrájí a nechá se prokysávat. Poté následuje záhřev na teplotu asi 75 °C, což udělí sýru charakteristickou vláknitou strukturu. Následuje solení pomocí solné lázně a balení sýrů do spotřebitelského balení [38].

Beyaz peynir – velmi oblíbený sýr v Turecku. Původně se vyráběl z ovčího mléka, dnes se používá i mléko kozí či kravské. Jeho textura je měkká až středně tvrdá v závislosti na zrajlosti [1,21]. Sýr se spotřebovává v čerstvém stavu nebo také jako zrající v solném roztoku [12].

4 BIOGENNÍ AMINY

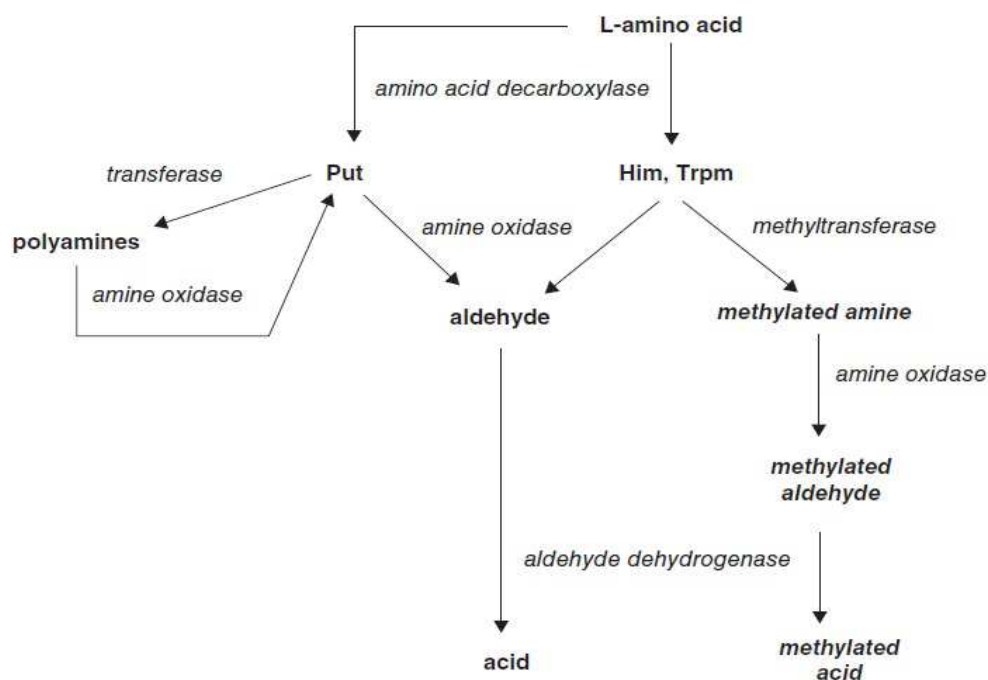
4.1 Charakteristika

Biogenní aminy (BA) můžeme charakterizovat jako alifatické (putrescin, kadaverin, spermidin, spermin, agmatin), aromatické (tyramin, fenyletylamin) a heterocyklické (histamin, tryptamin) báze odvozené od aminokyselin vykazující různé biologické funkce. BA vznikají z aminokyselin působením dekarboxyláz, jako důsledek mikrobiální kontaminace a při kvasných procesech. Přehled biogenních aminů a jejich prekurzorů je uveden v tabulce 3.

Tabulka 3. Biogenní aminy a jejich prekurzory [1].

Původní aminokyselina	Biogenní amin
Arginin	Agmatin
Arginin, Ornitin	Putrescin
Fenylalanin	2- fenyletylamin
Histidin	Histamin
Lysin	Kadaverin
Tryptofan	Dopamin, Tryptamin
Tyrosin	Tyramin
Putrescin	Spermin, Spermidin

Putrescin je výchozí sloučeninou pro syntézu spermidinu a sperminu. Reakce je katalyzována spermidinsyntázou a sperminsyntázou za spoluúčasti S-adenosyl-L-methioninu. Spermin a spermidin mají za specifických podmínek odlišné biologické účinky ve srovnání s ostatními BA [1,11,13]. Metabolické cesty tvorby a degradace biogenních aminů jsou znázorněny v obr. 4.



Obrázek 4. Metabolické cesty tvorby a degradace biogenních aminů [2].

4.2 Dekarboxylázová aktivita

4.2.1 Podmínky vzniku BA

Pro tvorbu biogenních aminů je důležitá zejména přítomnost aminokyselin, přítomnost mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou a také optimální podmínky pro růst daných mikroorganismů. Mezi bakterie s dekarboxylázovou aktivitou patří zástupci rodů *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Klebsiella*, *Escherichia*. Dekarboxylázová aktivita je silnější v kyselém prostředí (optimální pH 4,0), při teplotě 20-37 °C. Potravin z hlediska vzniku BA můžeme rozdělit na fermentované a nefermentované. Jelikož BA vznikají převážně působením bakteriálních dekarboxyláz, lze tedy předpokládat, že vyšší výskyt BA bude u fermentovaných potravin. Výjimku tvoří ryby zejména makrelovité, kde obsah BA ve svalovině může přesáhnout 100 mg/100 g. Nárůst BA lze pozorovat především u špatně skladovaného produktu. Z ostatních nefermentovaných potravin lze malý výskyt BA předpokládat zejména v masě, mléce, čokoládě, houbách, u některých druhů zeleniny. Přehled významných mikroorganismů produkujících biogenní aminy v různých potravinách jsou znázorněny v tabulce 4. Při dodržování všech zásad správné hygienické praxe lze množství BA značně snížit. Odstranění BA z potravin je velmi náročné. Částečného snížení dosáhneme u tepelně zpracovaných výrobků reakcí s redukcujícími cukry [1,2,9,11]. Vznik BA také do jisté míry ovlivňuje přítomnost soli. Pro většinu BA

působí sůl inhibičně, ale naopak syntéza histaminu nebo tyraminu může být v přítomnosti NaCl zvýšena. Dále s rostoucí dobou skladování výrobku roste i množství biogenních aminů [12].

Tabulka 4. Významné mikroorganismy produkující biogenní aminy [11].

Potravina	Izolované bakterie	Nalezené aminokyseliny
Ryby	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiela pneumonia</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Vibrio alginolytiens</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus xylosum</i>	Histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, agmatin, spermidin, spermin,
Sýry	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	Histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin
Maso a masné výrobky	<i>Pediococcus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i>	Histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin
Fermentovaná zelenina	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin
Fermentované sojové produkty	<i>Fuzoporus oligosporus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Trichosporon beiglii</i>	Histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin

4.2.2 Výskyt BA v sýrech

Zrající sýry jsou vhodným prostředím pro vznik BA. Díky probíhající proteolýze může docházet ke zvýšení obsahu volných aminokyselin, což je vhodný substrát pro bakterie s dekarboxylační aktivitou. Tvorba BA je přičítána zejména nezákysovým mikroorganismům, ale ani roli zákysových mikroorganismů nelze vyloučit. Proto musí být kladen důraz na tyto zákysové mikroorganismy a vybírat pro výrobu ty, které nemají dekarboxylázovou aktivitu. Vznik BA ovlivňuje celá řada faktorů, například vyšší teplota zrání sýrů, vyšší pH, nízká koncentrace soli může přispívat ke vzniku BA. Vliv má také již jakost syrového mléka, typ mléka (kravské, kozí, ovčí). Obecně se uvádí, že v sýrech se nejvíce nachází tyramin, poté následuje histamin, putrescin a kadaverin [2].

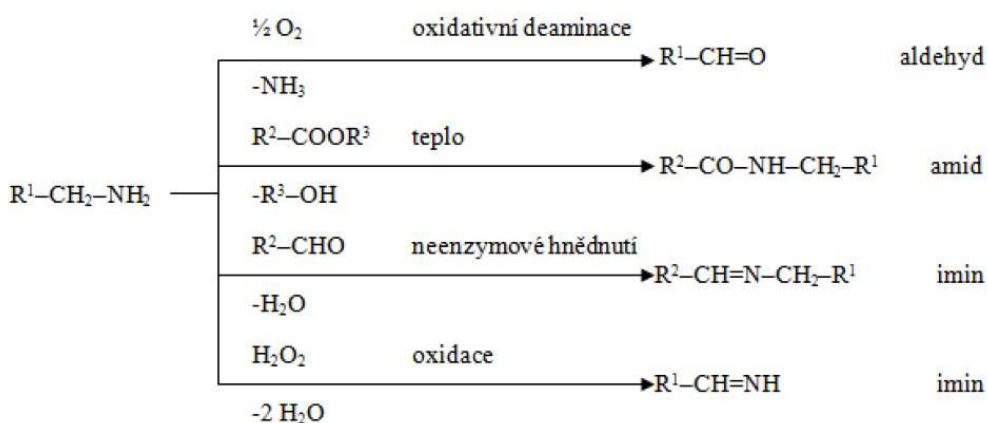
Biogenními aminy se zabývá řada studií. Obsah BA byl studován v sýru Feta po dobu 4 měsíců. Studie ukazuje, že nízké pH, vysoký obsah soli vytváří nepříznivé podmínky pro dekarboxylázovou aktivitu a stanovený obsah biogenních aminů je nízký. Ve vyzrálých sýrech byl prokázán výskyt putrescinu a tyraminu, zatímco koncentrace tryptaminu a fenylalaninu byly velmi nízké a to po celou dobu zrání [5]. BA jsou také studovány v sýrech eidamského typu. Studie byla zaměřena na obsah kadaverinu, putrescinu, tyraminu a histaminu ve 4 vrstvách v závislosti na 3 teplotních režimech zrání. V průběhu celé doby zrání (98 dnů) byl analyzován nejvyšší obsah tyraminu, putrescinu a kadaverinu u sýrů zrajících při 10 °C. Nižší obsah BA byl analyzován u vzorků sýrů, které byly po 38 dnech zrání při 10 °C přemístěny do zracího sklepa o teplotě 5 °C. Nejnižší stanovené množství bylo u vzorků sýra, který byl po 23 dnech zrání při 10°C přemístěn do zracího sklepa o teplotě 5 °C. Histamin nebyl detekován v žádném vzorku [40]. Vyšší obsah BA byl stanoven u sýrů eidamského typu, jejichž zrání probíhalo při teplotě 16 ± 2 °C. Detekován byl vyšší obsah tyraminu, putrescinu a kadaverinu až dvojnásobně v porovnání s kontrolními vzorky zrajícími při teplotě 10 ± 2 °C. Na konci experimentu byl obsah BA v urychlovaném vzorku až 800 mg. kg⁻¹ (56. den) a u kontrolního vzorku 350 mg. kg⁻¹ (112. den) [26].

4.3 Toxikologický účinek

BA jsou pro lidský organizmus nepostradatelné, ale ve vyšších koncentracích mohou působit psychoaktivně anebo vasoaktivně. Ve střevech se na odbourávání BA podílí monoaminooxidáza a diaminooxidáza. Aktivita těchto enzymů výrazně ovlivňuje toxický účinek. Vysoké koncentrace BA není schopen enzymový systém eliminovat a dochází k nepříznivým projevům pro lidský organizmus. Mezi symptomy vysokých dávek patří

vyrážka, kopřivka, zvracení, průjem, bolesti hlavy, křeče, bušení srdce aj. Mezi výrazně zesilující faktory intoxikace řadíme alkohol, léčiva, gastrointestinální choroby. Výrazné nepříznivé účinky na lidské zdraví mají vyšší koncentrace histaminu, tyraminu a fenyletylaminu. Možný výskyt tryptaminu a agmatinu není spojován s nepříznivým vlivem na lidské zdraví. Maximální přípustné množství je těžce stanovitelné, protože je potřeba brát v úvahu aktivitu enzymů (monoaminoxidáz a diaminoxidáz), přítomnost inhibitorů (léčiva, popř. alkohol) nebo aktivátorů. Putrescin, spermin, spermidin a kadaverin nemají nepříznivý účinek na lidské zdraví, mohou ale reagovat s dusitany za vzniku potenciálně či pravděpodobně karcinogenních nitosaminů [1,2,9-11]. Polyaminy, spermin a spermidin mají řadu biologických funkcí. V různých biochemických reakcích mohou být zdrojem dusíku, také mohou sloužit jako prekurzory řady enzymů, nukleových kyselin či proteinů. Při regulaci buněčného růstu, zejména při diferenciaci buněk mají významnou funkci zejména polyaminy. Pro urychlení hojení ran a popálenin je žádoucí zvýšený příjem potravních polyaminů [12].

BA patří mezi reaktivní sloučeniny, kromě enzymových reakcí mohou BA oxidativní deaminací poskytovat aldehydy. Reakcí s triacylglyceroly vznikají amidy a mastné kyseliny, které vstupují do reakcí neenzymového hnědnutí stejně jako další aminokyseliny. Výsledným produktem jsou iminy. Mohou být prekurzory sekundárních aminů, které vytváří nebezpečné produkty. BA velmi snadno reagují s dusitany za vzniku nitrosaminů, které jsou považovány za karcinogenní. Obrázek 5 popisuje hlavní reakce biogenních aminů [10,11].



Obrázek 5. Hlavní reakce biogenních aminů [12].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo izolovat dekarboxyláza pozitivní bakterie ze sýrů zrajících v solném nálevu a kvantifikovat jejich dekarboxylázovou aktivitu.

Pro vypracování diplomové práce bylo důležité řešit následující dílčí úkoly.

- Zpracovat rešerši o výrobě sýrů zrajících v solném nálevu a o významu biogenních aminů
- Realizovat mikrobiologický rozbor
- Chromatografické stanovení biogenních aminů
- Na základě teoretické části a stanovených výsledků formulovat závěry

6 MATERIÁL A METODY

Analýza byla provedena celkem u 30 vzorků sýrů zrajících v solném nálevu. Většina analyzovaných sýrů byla zcela náhodně zakoupena v obchodních řetězcích v České republice. Vzorky byly jak z pultového prodeje, tak také balené sýry již od výrobce. Analyzovanými vzorky byly sýry Jadel, Feta, Balkánský sýr (s příchutěmi i bez příchutě), Akawi (s příchutěmi i bez příchutě) viz tabulka 5. Pět vzorků představoval sýr Akawi skladovaný po dobu jednoho roku při teplotě 10-15 °C. Na jednotlivá stanovení bylo použito vždy 5 vzorků.

Tabulka 5. Počty jednotlivých vzorků zrajících v solném nálevu

Druh sýra		Počet kusů
Balkánský sýr	bez příchutě	11
	s příchutí	1
Jadel	bez příchutě	5
Akawi	bez příchutě	5
	s příchutí	5
Feta		3

6.1 Metody mikrobiologického stanovení

6.1.1 Obecný zásady zpracování

Pro jednotlivá stanovení bylo třeba navážit 3 až 5 g vzorku. Ke vzorku byl poté přidán 9ti násobek fyziologického roztoku a vzorek byl po dobu 5 minut homogenizován na homogenizátoru typu Stomacher. Poté byla připravena příslušná desítková ředění suspekze vzorků.

6.1.2 Stanovení mléčných bakterií

Stanovení mléčných bakterií bylo provedeno dle platné normy ČSN ISO 15214 a ČSN 560094. Očkováno bylo 0,1 ml roztěrem na sterilní živné půdy MRS (de Man, Rogosa, Sharpe agar, laktobacily) a M17 (mléčné koky). Očkováno bylo 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ředění.

Kultivace na živné půdě M17 probíhala při teplotě 30 °C /24 hodin a kultivace na živné půdě MRS probíhala při teplotě 30 °C /48 hodin.

6.1.3 Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů

Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů bylo realizováno dle platné normy ČSN EN ISO 4833. Očkováno bylo 0,1 ml roztěrem na sterilní živnou půdu PCA (Plate Count agar). Očkováno bylo 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ředění. Kultivace probíhala při teplotě 30 °C /24 hodin.

6.1.4 Stanovení koliformních bakterií

Stanovení koliformních bakterií bylo realizováno dle platné normy ČSN ISO 4832. Očkováno bylo 0,1 ml (ředění 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) roztěrem na sterilní EA (Endův Agar). Kultivace probíhala při teplotě 37 °C /24 hodin.

6.1.5 Stanovení enterokoků

Stanovení enterokoků bylo realizováno dle platné normy ČSN ISO 6887-1. Očkováno bylo 0,1 ml (ředění 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) roztěrem na sterilní živnou půdu SBA (Slanetz-Bartley Agar). Kultivace probíhala při teplotě 37 °C /24 hodin.

6.1.6 Vyjádření výsledku - počítání kolonií

Pro správné hodnocení a výsledek je potřeba dobře zvolit dané ředění, tak aby na plotnách bylo max. 300 kolonií. Petriho misky s větším množstvím kolonií se obvykle nepočítají. Počet mikroorganismů obvykle vyjadřujeme jako KTJ (kolonie tvořící jednotku) nebo CFU (colony forming units) na jednotku objemu či hmotnosti ($KTJ \cdot ml^{-1}$, $KT \cdot g^{-1}$). Vlastní výpočet:

$$N = \frac{\Sigma_c / n}{d \cdot V}$$

Kde:

N = počet mikroorganismů ($KTJ \cdot ml^{-1}$, $KTJ \cdot g^{-1}$)

Σ_c = počet všech kolonie tvořících jednotek na plotnách použitých pro výpočet

n = počet ploten použitých pro výpočet

d = příslušné použité ředění

V = objem inokula (ml)

$$N = \frac{\Sigma_c}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

Kde:

Σ_c = počet všech kolonie tvořících jednotek na plotnách použitých pro výpočet

n_1 = počet ploten prvního ředění použitých pro výpočet

n_2 = počet ploten druhého ředění použitých pro výpočet

d = příslušné použité ředění

V = objem inokula (ml)

6.1.7 Příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů

Po kultivaci byly izolovány suspektní kolonie. Nejprve byly dané kolonie přeočkovány na příslušnou živnou půdu (dle toho, ze které byly izolovány-MRS, M17, PCA, Endův agar, SBA) a poté byly izolovány jednotlivé kolonie křížovým roztěrem. Pro další analýzu bylo použito 94 suspektních kolonií. Izolované kolonie byly přeočkovány do zkumavek s tekutou živnou půdou (Nutrient Broth (kolonie z PCA agaru), M17 Broth (kolonie z M17 agaru a Slanetz-Bartley agaru), MRS Broth) a kultivovány 24 hodin / 30 °C. Poté byla každá zkumavka přeočkována do 4 zkumavek s tekutou živnou půdou, tentokrát obohacenou o aminokyseliny (prekurzory biogenních aminů). Přidány byly aminokyseliny histidin, lysin, arginin, ornitin, tyrozin a fenylalanin, každá v 0,2% (v/w) koncentraci. Kultivace probíhala po dobu 24 hodin/30 °C. Následující den byl obsah ve zkumavkách odstředěn 20 min při 4600 ot. Do ependorfkové mikrozkušavky bylo nepipetováno 750 µl vzorku a 750 µl kyseliny chloristé (c = 1,2 mol/l). Z každé zkumavky byly paralelně připraveny 3 zkumavky. Mikrozkušavky byly do analýzy uchovávány při teplotě -18 °C.

6.2 Stanovení biogenních aminů

Vzorky sýra byly lyofilizovány, poté bylo naváženo do zkumavky 1g vzorku a přidáno 10 ml 0,6M HClO₄. Z každého vzorku sýra byly pro analýzu paralelně připravovány 2 vzorky. Obsah ve zkumavce byl promíchán pomocí vortexu a 30 min třepán na třepačce. Následovalo odstředění při 6000 ot. /20 minut. Tekutý podíl byl přelit do 25 ml odměrné baňky.

Dále bylo přidáno 7 ml 0,6M HClO₄. Obsah byl opět promíchán pomocí vortexu a 30 min třepán na třepačce a odstředěn. Tekutý podíl byl přelit do 25 ml odměrné baňky. Opět následoval přídavek 7 ml 0,6M HClO₄ a následující postup byl stejný. Odměrná baňka byla po rysku doplněna 0,6M HClO₄. Jednotlivé extrakty byly přefiltrovány přes papírový filtr [39].

Následující postup je stejný pro lyofilizované vzorky sýra i pro mikrobiální vzorky. Do zkumavek bylo nepipetováno 100 µl vnitřního standartu (1,7 - heptandiamin), přidán 1 ml extraktu, 1,5 ml uhličitanového pufru o pH 11,0 – 11,1 a 2 ml dansylchloridu o koncentraci 5 g/l v acetonu. Zkumavky byly uzavřeny a 20 hodin třepány v temnu. Následující den bylo přidáno 200 µl prolinu a opět se zkumavky nechaly 1 hodinu třepat v temnu. Následoval přídavek 3 ml heptanu a třepání po dobu 3 minut. 1 ml heptanové vrstvy byl odpipeťován do vialky a při teplotě 60 °C pod proudem dusíku do sucha. K suchému odparu bylo přidáno 1,5 ml acetonitrilu a vialky byly uzavřeny a do analýzy skladovány při teplotě -18 °C. Bezprostředně před analýzou byl vzorek přefiltrován přes stříkačkový filtr s porozitou 0,22 µm a dávkován do chromatografického zařízení [39].

6.2.1 Chromatografické stanovení

Metoda stanovení biogenních aminů byla provedena dle metodiky podle Dadákové a kol. [39]. Pro detekci byla zvolena metoda HPLC, metoda vykazující vysokou citlivost a reprodukovatelnost výsledků. Před detekcí bylo nutné vzorky derivatizovat, v našem případě pomocí dansylchloridu, což představuje klasické derivatizační činidlo pro pre-kolonovu derivatizaci. Dansylchlorid dává barevné produkty, které lze detekovat spektrofotometricky při vlnové délce 254 nm. Aminy byly separovány s využitím binárního systému acetonitril-voda s průtokem 1 ml/1 minutu [39].

7 VÝSLEDKY

V průběhu 6 měsíců byly provedeny jednotlivé mikrobiologické rozboru u 30 vzorků sýrů zrajících v solném roztoku, které byly náhodně zakoupeny v obchodní síti v ČR. Mikrobiologický rozbor byl zaměřen na stanovení celkových počtů mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, stanovení mléčných bakterií, koliformních bakterií a enterokoků. Poté byly vybírány suspektní kolonie a ty byly testovány na produkci biogenních aminů. Obsah biogenních aminů byl také zkoumán již v samotných vzorcích sýrů. Vzorky byly označeny písmeny A – EE viz tabulka 6.

Tabulka 6. Seznam vzorků

A	Balkánský sýr	P	Jadel
B	Balkánský sýr, pultový prodej	Q	Jadel
C	Balkánský sýr	R	Jadel
D	Balkánský sýr, pultový prodej	S	Jadel, pultový prodej
E	Balkánský sýr	T	Jadel, pultový prodej
F	Balkánský sýr, pultový prodej	U	Akawi s kořením tzatziky
G	Balkánský sýr	V	Akawi s kořením gyros
H	Balkánský sýr	W	Akawi s kořením česnek
I	Balkánský sýr, pultový prodej	X	Akawi s kořením tzatziky
J	Balkánský sýr	Z	Akawi zrající 1 rok v solném nálevu
K	Balkánský sýr	AA	Akawi zrající 1 rok v solném nálevu
L	Balkánský sýr, pultový prodej	BB	Akawi zrající 1 rok v solném nálevu
M	Feta, pultový prodej	CC	Akawi zrající 1 rok v solném nálevu
N	Feta, pultový prodej	DD	Akawi zrající 1 rok v solném nálevu
O	Feta, pultový prodej	EE	Akawi s kořením gyros

7.1 Mikrobiologický rozbor testovaných sýrů

Výsledky počtu mikroorganismů ve vzorcích balkánského sýra jsou shrnuty v tabulce 7. Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů se pohybovaly v rozmezí $6,0 \cdot 10^3$ až $1,8 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktobacilů se pohybovaly od $1,1 \cdot 10^2$ do $4,7 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků byly v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ KTJ/g až $1,4 \cdot 10^4$ KTJ.g⁻¹. Přítomnost koliformních bakterií byla prokázána pouze u vzorku H, a to v počtu $2,1 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹. U ostatních vzorků (A-L) nebyly koliformní bakterie stanoveny. Přítomnost enterokoků byla prokázána u vzorků F a J. U vzorku F byl počet enterokoků $3,0 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹ a u vzorku J $5,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹.

Tabulka 7. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích Balkánského sýra (A-L)

Vzorky	Stanovené mikroorganismy				
	CPM	laktobacily	laktokoky	koliformní bakterie	enterokoky
A	$1,3 \cdot 10^5$	$8,3 \cdot 10^5$	$5,5 \cdot 10^2$	<10	
B	$6,0 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^2$		
C	$2,4 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^4$		
D	$1,4 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^2$	$7,3 \cdot 10^2$		
E	$1,8 \cdot 10^6$	$7,0 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^5$		
F	$2,4 \cdot 10^4$	$9,0 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^4$		$3,0 \cdot 10^2$
G	$1,6 \cdot 10^5$	$3,7 \cdot 10^3$	$2,7 \cdot 10^4$	<10	
H	$2,8 \cdot 10^6$	$6,4 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^3$	<10
I	$1,8 \cdot 10^5$	$6,4 \cdot 10^2$	$9,1 \cdot 10^2$	<10	
J	$1,3 \cdot 10^6$	$4,7 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^5$	<10	$5,5 \cdot 10^3$
K	$2,2 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^4$	<10	
L	$2,4 \cdot 10^5$	$7,9 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^5$		

Tabulka 8 pojednává o výsledcích počtů mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýrů Feta. Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů se pohybovaly v rozmezí $1,2 \cdot 10^5$ až $1,3 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktobacilů se pohybovaly od $2,7 \cdot 10^4$ do $1,0 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků byly v rozmezí $1,5 \cdot 10^4$ KTJ.g⁻¹ až $2,8 \cdot 10^5$ KTJ.g⁻¹. Přítomnost koliformních bakterií byla prokázána pouze u vzorku N, a to v počtu $3,6 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹. U ostatních vzorků (M a O) nebyly koliformní bakterie stanoveny. Přítomnost enterokoků byla prokázána u vzorku O v počtu $2,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹.

Tabulka 8. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýrů Feta (M-O)

Vzorky	Stanovené mikroorganismy				
	CPM	laktobacily	laktokoky	koliformní bakterie	enterokoky
M	1,9.10 ⁵	2,7.10 ⁴	1,5.10 ⁴	<10	
N	1,3.10 ⁶	7,8.10 ⁵	2,8.10 ⁵	3,6.10 ²	<10
O	1,2.10 ⁵	1,0.10 ⁶	4,9.10 ⁴	<10	2,510 ³

Výsledky počtu mikroorganismů ve vzorcích sýrů Jadel jsou shrnuty v tabulce 9. Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly v rozmezí 3,2.10² až 6,6.10³ KTJ.g⁻¹. Počty laktobacilů se pohybovaly od 1,1.10² do 3,7.10³ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků byly v rozmezí 1,1.10² KTJ.g⁻¹ až 1,5.10³ KTJ.g⁻¹. Přítomnost koliformních bakterií byla prokázána u vzorku Q v počtu 3,6.10² KTJ.g⁻¹. U ostatních vzorků (P-T) nebyly koliformní bakterie stanoveny. Přítomnost enterokoků byla prokázána u vzorku R v počtu 2,5.10⁻³ KTJ/g.

Tabulka 9. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýrů Jadel (P-S)

Vzorky	Stanovené mikroorganismy				
	CPM	laktobacily	laktokoky	koliformní bakterie	enterokoky
P	6,4.10 ²	1,1.10 ²	9,0.10 ²	<10	<10
Q	1,2.10 ³	9,0.10 ²	1,1.10 ²	3,6.10 ²	
R	6,6.10 ³	3,7.10 ³	2,0.10 ²	<10	2,510 ³
S	8,2.10 ²	1,1.10 ²	1,2.10 ²		<10
T	3,2.10 ²	1,1.10 ²	1,5.10 ³		

Tabulka 10 ukazuje výsledky počtu mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýrů Akawi. Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů se pohybovaly v rozmezí 1,1.10² až 5,2.10⁵ KTJ.g⁻¹. Počty laktobacilů se pohybovaly od 3,2.10² do 6,1.10⁵ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků byly v rozmezí 1,3.10² KTJ.g⁻¹ až 1,3.10⁶ KTJ.g⁻¹. Přítomnost koliformních bakterií byla prokázána pouze u vzorku BB v počtu 5,2.10² KTJ.g⁻¹. U ostatních vzorků (U-EE) nebyly koliformní bakterie stanoveny. Přítomnost enterokoků byla prokázána u vzorku W, AA, CC a EE. U vzorku W byl počet enterokoků 2,5.10⁴ KTJ.g⁻¹, u vzorku AA byly počty enterokoků 1,3.10² KTJ.g⁻¹, u vzorku CC byly počty enterokoků 2,2.10³ KTJ.g⁻¹ a u vzorku EE byly počty enterokoků 6,5.10⁴ KTJ.g⁻¹.

Tabulka 10. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýru Akawi (U-EE)

Vzorky	Stanovené mikroorganismy				
	CPM	laktobacily	laktokoky	koliformní bakterie	enterokoky
U	$5,2 \cdot 10^5$	$4,8 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^4$	<10	
V	$1,1 \cdot 10^5$	$5,8 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^4$	<10	
W	$2,1 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^3$	$2,8 \cdot 10^4$	<10	$2,5 \cdot 10^4$
X	$1,1 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$	$8,5 \cdot 10^4$	<10	
Z	$6,2 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^2$	<10	<10
AA	$1,6 \cdot 10^5$	$3,7 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^2$	
BB	$1,8 \cdot 10^4$	$6,1 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^6$	$5,2 \cdot 10^2$	<10
CC	$1,8 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^2$	$8,1 \cdot 10^4$	<10	$2,2 \cdot 10^3$
DD	$1,1 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^4$	$4,1 \cdot 10^3$	<10	
EE	$4,5 \cdot 10^4$	$8,6 \cdot 10^4$	$8,3 \cdot 10^4$	<10	$6,5 \cdot 10^4$

7.2 Stanovení biogenních aminů ve vzorcích sýrů

Výsledky stanovení biogenních aminů tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu ve vzorcích Balkánského sýra (vzorky A až L) jsou shrnuty v tabulce 11. Z výsledků vyplývá, že tryptamin, fenylethylami, putrescin, kadaverin, histamin a spermidin nebyly detekovány v žádném ze vzorků Balkánského sýra.

Tabulka 11. Stanovení biogenních aminů (tyraminu a sperminu) ve vzorcích Balkánského sýra

Vzorky	Biogenní aminy	
	Tyramin	Spermin
A	$21,08 \pm 0,87$	$40,39 \pm 2,63$
B	$7,39 \pm 0,16$	$19,39 \pm 1,91$
C	$20,54 \pm 1,76$	$57,58 \pm 2,50$
D	$2,38 \pm 0,25$	$13,86 \pm 0,87$
E	$15,70 \pm 0,89$	$44,24 \pm 2,11$
F	$3,23 \pm 0,23$	$16,63 \pm 0,96$
J	$3,99 \pm 0,24$	$12,72 \pm 0,83$
K	$3,84 \pm 0,33$	$12,86 \pm 0,73$
L	ND ^x	$11,26 \pm 0,56$

Pozn. ND^x - nebylo detekováno

Tyramin byl detekován u všech testovaných Balkánských sýrů s vzorku L. Nejvyšší detekované množství tyraminu ($21,08 \pm 0,87 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) bylo stanoveno u vzorku sýru A. ve všech analyzovaných vzorcích Balkánského sýra byla zjištěna přítomnost sperminu. Nejvyšší detekované množství sperminu ($57,58 \pm 2,50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) bylo detekováno u vzorku C.

V tabulkách 12 a 13 jsou shrnuty výsledky stanovení biogenních aminů ve vzorcích sýru Feta. Tryptamin, fenyletylamin a spermidin nebyly stanoveny u žádného vzorku sýrů Feta. Limitující množství putrescinu bylo zjištěno u vzorku M ($308,50 \pm 19,29 \text{ mg.kg}^{-1}$) a vzorku N ($349,99 \pm 0,91 \text{ mg.kg}^{-1}$). Kadaverin byl detekován pouze u jednoho vzorku (M), u tohoto vzorku byl zjištěn v množství $31,01 \pm 1,66 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Histamin byl detekován u vzorku M v množství $46,76 \pm 2,11 \text{ mg.kg}^{-1}$. Limitující množství tyraminu bylo detekováno u vzorku M $380,431 \pm 21,90 \text{ mg.kg}^{-1}$, u vzorku N $122,71 \pm 9,57 \text{ mg.kg}^{-1}$, u vzorku O $133,25 \pm 10,99 \text{ mg.kg}^{-1}$. Spermidin nebyl detekován u žádného vzorku sýru Feta. Nejvyšší detekované množství $73,41 \pm 1,77 \text{ mg.kg}^{-1}$ sperminu bylo u vzorku M.

Tabulka 12. Stanovení biogenních aminů (putrescinu a kadaverinu) ve vzorcích sýra Feta

Vzorky	Biogenní aminy	
	Putrescin	Kadaverin
M	$308,50 \pm 19,29$	$31,01 \pm 1,66$
N	$349,99 \pm 0,91$	ND ^x
O	12,27	ND ^x

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Histamin byl detekován rovněž pouze u vzorku M, a to v množství $46,76 \pm 2,11 \text{ mg.kg}^{-1}$. Limitující množství tyraminu bylo detekováno u vzorku M $380,43 \pm 21,90 \text{ mg.kg}^{-1}$, u vzorku N $122,71 \pm 9,57 \text{ mg.kg}^{-1}$, u vzorku O $133,25 \pm 10,99 \text{ mg.kg}^{-1}$. Nejvyšší detekované množství $73,41 \pm 1,77 \text{ mg.kg}^{-1}$ sperminu bylo stanoveno u vzorku M.

Tabulka 13. Stanovení biogenních aminů (histaminu, tyraminu a sperminu) ve vzorcích sýra Feta

Vzorky	Biogenní aminy		
	Histamin	Tyramin	Spermin
M	$46,76 \pm 2,11$	$380,43 \pm 21,90$	$73,41 \pm 1,77$
N	ND ^x	$122,71 \pm 9,57$	$12,96 \pm 10,84$
O	ND ^x	$133,25 \pm 10,99$	$42,33 \pm 2,05$

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Výsledky stanovení biogenních aminů ve vzorcích sýrů Jadel (P-T) jsou shrnuty v tabulce 14. Tryptamin, fenyletylamin, putrescin, histamin a spermidin nebyly detekovány v žádném ze vzorků P-T. Kadaverin byl stanoven pouze u vzorku R v množství $11,65 \pm 0,65 \text{ mg.kg}^{-1}$. Nejvyšší detekované množství tyraminu ($27,57 \pm 1,88 \text{ mg.kg}^{-1}$) bylo u vzorku T. Nejvyšší detekované množství sperminu bylo zjištěno u vzorku R, a to v množství $20,97 \pm 1,13 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Tabulka 14. Stanovení biogenních aminů (tyraminu, sperminu a kadaverinu) ve vzorcích sýra Jadel

Vzorky	Biogenní aminy		
	Tyramin	Spermin	Kadaverin
P	7,71±0,28	11,90±0,67	ND ^x
Q	9,09±0,60	18,711±0,85	ND ^x
R	11,43±0,86	20,97±1,13	11,65±0,65
T	27,57±1,88	5,04±0,47	3,22±0,09

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

V tabulce 15 jsou popsány výsledky stanovení biogenních aminů ve vzorcích sýra Akawi (U-EE). Tryptamin, fenyletylamin, putrescin, histamin a spermidin nebyly detekovány u žádného ze vzorků sýra Akawi. Přítomnost kadaverinu byla detekována pouze u vzorku EE, a to v množství 3,45±0,17 mg.l⁻¹. Tyramin nebyl detekován u vzorku W. Nejvyšší detekované množství 46,66±2,93 mg.l⁻¹ tohoto biogenního aminu bylo stanoveno u vzorku U. Nejvyšší detekované množství sperminu bylo u vzorku U (58,32±3,40 mg.l⁻¹).

Tabulka 15. Stanovení biogenních aminů (kadaverinu, tyraminu a sperminu) ve vzorcích sýra Akawi

Vzorky	Biogenní aminy		
	Kadaverin	Tyramin	Spermin
U	ND ^x	46,66±2,93	58,32±3,40
V	ND ^x	3,84±0,33	12,86±0,73
W	ND ^x	ND ^x	11,26±0,56
EE	3,45±0,17	41,98±2,79	10,90±0,65

Pozn. ND^x - nebylo detekováno

7.3 Stanovení dekarboxylázové aktivity bakterií izolovaných z testovaných sýrů

7.3.1 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z živné půdy PCA

Výsledky dekarboxylázové aktivity bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra jsou uvedeny v tabulkách 16 a 17. Ze vzorku B byly na půdě PCA izolovány 3 kmeny bakterií. U izolátů byla stanovena produkce tyraminu, fenyletylaminu, putrescinu i kadaverinu. Nejvyšší množství tryptaminu bylo detekováno u izolátu H1 a to 12,1±0,6 mg.l⁻¹. U izolátů J1, J2, J3 nebyla tvorba tryptaminu detekována. Nejvyšší množství fenyletylaminu (6,15±0,37 mg.l⁻¹) bylo detekováno u izolátu J1. Limitní množství putrescinu bylo stanoveno u izolátů B2 (308,7±22,0 mg.l⁻¹), E1 (1282,1±49,6 mg.l⁻¹), E3 (356,5±27,4 mg.l⁻¹),

H1 ($395,8 \pm 32,3 \text{ mg.l}^{-1}$). Kadaverin byl u 3 izolátů stanoven v limitním množství a tou izolátu J1 ($229,12 \pm 9,32 \text{ mg.l}^{-1}$), J2 ($124,93 \pm 7,56 \text{ mg.l}^{-1}$), J3 ($201,60 \pm 15,35 \text{ mg.l}^{-1}$).

Tabulka 16. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenyletylamin	Putrescin	Kadaverin
B1	$3,7 \pm 0,3$	$0,1 \pm 0,0$	$0,8 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$
B2	$4,6 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$308,7 \pm 22,0$	$4,9 \pm 0,5$
B3	$3,5 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$
E1	$8,1 \pm 0,8$	$2,0 \pm 0,1$	$1282,1 \pm 49,6$	$30,3 \pm 0,9$
E2	$4,9 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,0$	$1,3 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,2$
E3	$5,1 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$	$356,5 \pm 27,4$	$10,8 \pm 0,8$
F1	$2,3 \pm 0,2$	$0,1 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$
F2	$2,9 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$
F3	$1,8 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,0$	$0,8 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$
F4	$2,6 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,0$	$0,8 \pm 0,0$	$1,8 \pm 0,1$
F5	$4,5 \pm 0,4$	$0,2 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$
H1	$12,1 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,1$	$395,8 \pm 32,3$	$20,3 \pm 1,6$
I1	$3,7 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$
I2	$4,4 \pm 0,3$	$0,1 \pm 0,0$	$1,1 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$
J1	ND ^x	$6,15 \pm 0,37$	$5,60 \pm 0,29$	$229,12 \pm 9,32$
J2	ND ^x	ND ^x	$2,70 \pm 0,18$	$124,93 \pm 7,56$
J3	ND ^x	ND ^x	$3,85 \pm 0,23$	$201,60 \pm 15,35$

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

U bakterií izolovaných na půdě PCA ze sýrů B a I byla prokázána produkce histaminu. Histamin nebyl detekován u kmenů izolovaných ze vzorků sýra J. Nejvyšší množství histaminu ($36,2 \pm 0,4 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu E3. Produkce tyraminu byla stanovena u všech bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra. Nejvyšší množství tyraminu ($47,53 \pm 2,90 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo detekováno u izolátu H1. Tvorba spermidinu nebyla detekována u izolátů J1, J2, J3. U kmenů izolovaných z ostatních vzorků sýrů (B-I) byl spermidin stanoven řádově v desetinách mg/l. Spermin nebyl detekován u izolátů I1, I2. Nejvyšší množství spermidinu ($43,57 \pm 1,83 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu J1.

Tabulka 17. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin

B1	0,6±0,0	2,8±0,2	0,5±0,0	2,5±0,2
B2	2,7±0,1	1,7±0,2	0,4±0,0	2,7±0,2
B3	0,3±0,0	1,5±0,1	0,5±0,0	0,8±0,1
E1	6,2±0,4	10,5±0,7	0,6±0,0	2,9±0,2
E2	0,6±0,0	2,0±0,2	0,5±0,0	3,1±0,2
E3	3,0±0,2	1,8±0,2	0,4±0,0	2,0±0,1
F1	0,3±0,0	1,4±0,1	0,3±0,0	0,1±0,0
F2	0,4±0,0	0,9±0,1	0,4±0,0	0,1±0,0
F3	0,5±0,0	1,6±0,1	0,7±0,0	0,1±0,0
F4	0,4±0,0	1,0±0,1	0,4±0,0	0,1±0,0
F5	0,6±0,0	0,9±0,1	0,7±0,0	0,4±0,0
H1	6,0±0,4	2,0±0,1	0,6±0,0	0,4±0,0
I1	0,7±0,0	2,1±0,2	0,4±0,0	ND ^x
I2	0,6±0,0	1,8±0,1	0,7±0,0	ND ^x
J1	ND ^x	47,53±2,90	ND ^x	43,57±1,83
J2	ND ^x	38,82±3,04	ND ^x	37,55±2,39
J3	ND ^x	37,25±2,41	ND ^x	34,43±2,72

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

V tabulkách 18 a 19 jsou shrnuty výsledky dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných na půdě PCA ze vzorků sýrů Feta. Nejvyšší množství ($4,0 \pm 0,3 \text{ mg.l}^{-1}$) tryptaminu bylo detekováno u izolátu M2. Stanovená množství fenyletylaminu byla u všech izolátů bakterií ze vzorků sýrů Feta v desetinách mg.l^{-1} . Nejvyšší detekované množství putrescinu ($3,8 \pm 0,4 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo zjištěno u izolátu O2. Nejvyšší množství kadaverinu ($2,2 \pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo detekováno u izolátu M2.

Tabulka 18. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenyletylamin	Putrescin	Kadaverin
M2	3,4±0,2	0,2±0,0	0,9±0,1	1,7±0,1
M2	4,0±0,3	0,2±0,0	0,7±0,0	2,2±0,1
N1	2,4±0,2	0,2±0,0	1,8±0,1	1,6±0,1
N2	2,6±0,2	0,1±0,0	1,9±0,1	1,2±0,1
O1	2,9±0,3	0,9±0,1	1,9±0,2	1,9±0,2
O2	2,9±0,2	0,2±0,0	3,8±0,4	1,5±0,1
O3	3,2±0,3	0,1±0,0	1,7±0,1	1,6±0,1
O4	3,4±0,3	0,1±0,0	1,4±0,1	1,4±0,1

Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu byla detekována u všech kmenů izolovaných na půdě PCA ze vzorků sýrů Feta. Histamin a spermidin byly stanoveny řádově v desetinách mg.l^{-1} . Nejvyšší množství tyraminu ($4,7\pm 0,3 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno shodně u izolátů O1 a O2. Nejvyšší množství sperminu ($2,5\pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu M2.

Tabulka 19. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků ze vzorků sýrů Feta (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
M1	$0,3\pm 0,0$	$2,0\pm 0,2$	$0,5\pm 0,0$	$2,4\pm 0,2$
M2	$0,3\pm 0,0$	$1,9\pm 0,1$	$0,6\pm 0,0$	$2,5\pm 0,2$
N1	$0,3\pm 0,0$	$1,7\pm 0,1$	$0,4\pm 0,0$	$0,4\pm 0,0$
N2	$0,4\pm 0,0$	$2,1\pm 0,2$	$0,4\pm 0,0$	$1,0\pm 0,0$
O1	$0,4\pm 0,0$	$4,7\pm 0,3$	$0,5\pm 0,0$	$0,4\pm 0,0$
O2	$0,4\pm 0,0$	$4,7\pm 0,3$	$0,4\pm 0,0$	$0,3\pm 0,0$
O3	$0,4\pm 0,0$	$1,2\pm 0,1$	$0,4\pm 0,0$	$0,2\pm 0,0$
O4	$0,3\pm 0,0$	$1,2\pm 0,1$	$0,4\pm 0,0$	$0,1\pm 0,0$

Výsledky dekarboxylázové aktivity bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra jsou uvedeny v tabulkách 20 a 21. Nejvyšší množství tryptaminu ($3,1\pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Q5. Produkce fenyletylaminu byla stanovena u všech izolátů řádově v desetinách mg.l^{-1} . Nejvyšší množství ($3,7\pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) putrescinu bylo stanoveno u izolátu Q3. Nejvyšší množství ($2,0\pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) kadaverinu bylo zjištěno u izolátu Q3. Nejvyšší množství ($3,1\pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) histaminu bylo stanoveno u izolátu Q5. Nejvyšší množství ($6,3\pm 0,4 \text{ mg.l}^{-1}$) tyraminu bylo stanoveno u izolátu Q3. Nejvyšší množství ($1,7\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) spermidinu bylo stanoveno u izolátu Q5. Nejvyšší množství sperminu ($1,2\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo detekováno u izolátu Q5.

Tabulka 20. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Jadel (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
Q1	$2,6\pm 0,2$	$0,1\pm 0,0$	$1,0\pm 0,0$	$1,5\pm 0,1$
Q2	$2,8\pm 0,2$	$0,6\pm 0,0$	$1,0\pm 0,1$	$1,9\pm 0,1$
Q3	$3,1\pm 0,3$	$1,1\pm 0,1$	$3,7\pm 0,2$	$2,0\pm 0,2$
Q4	$3,0\pm 0,3$	$0,1\pm 0,0$	$1,3\pm 0,1$	$1,8\pm 0,1$
Q5	$3,1\pm 0,2$	$0,2\pm 0,0$	$1,7\pm 0,1$	$1,2\pm 0,1$

Tabulka 21. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků ze vzorků sýrů Jadel (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
Q1	0,4±0,0	5,6±0,5	0,4±0,0	0,2±0,0
Q2	0,3±0,0	5,0±0,3	0,4±0,0	0,1±0,0
Q3	0,5±0,0	6,3±0,4	0,5±0,0	0,1±0,0
Q4	0,4±0,0	1,7±0,1	0,4±0,0	0,8±0,1
Q5	3,1±0,2	0,2±0,0	1,7±0,1	1,2±0,1

Ze vzorků sýrů Akawi bylo izolováno 16 kmenů bakterií, které byly zkoumány na produkci biogenních aminů. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 22 a 23. Tryptamin nebyl detekován u izolátů bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi. Nejvyšší množství tryptaminu ($7,02 \pm 0,44 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Z4. Fenyletylamin nebyl detekován u izolátu W1. Nejvyšší množství fenyletylaminu ($6,44 \pm 0,34 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Z2. Produkce putrescinu byla u 2 izolátů stanovena v limitním množství přesahujícím 100 mg.l^{-1} . U izolátu V2 bylo stanoveno množství putrescinu na $490,8 \pm 27,6 \text{ mg.l}^{-1}$, u izolátu V3 $403,5 \pm 21,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Nejvyšší množství kadaverinu ($9,57 \pm 0,60 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Z4.

Tabulka 22. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
V1	4,5±0,3	0,2±0,0	2,3±0,2	2,0±0,1
V2	4,7±0,3	0,3±0,0	490,8±27,6	5,1±0,4
V3	4,6±0,3	0,3±0,0	403,5±21,5	5,8±0,6
V4	3,9±0,2	0,2±0,0	2,9±0,2	1,9±0,1
V5	4,1±0,3	0,2±0,0	0,5±0,0	1,8±0,1
W1	2,8±0,2	ND ^x	0,6±0,0	1,1±0,1
W2	3,1±0,2	0,1±0,0	1,6±0,1	1,2±0,1
X1	4,4±0,3	0,1±0,0	1,1±0,1	2,2±0,1
X2	4,0±0,3	0,4±0,0	1,7±0,1	1,9±0,1
X3	3,3±0,3	0,1±0,0	1,3±0,0	1,6±0,1
X4	3,7±0,3	0,2±0,0	1,3±0,1	1,8±0,2
X5	4,4±0,2	0,2±0,0	1,4±0,1	2,1±0,1
Z1	ND ^x	6,10±0,38	8,51±0,56	1,76±0,06
Z2	ND ^x	6,44±0,34	6,04±0,30	5,64±0,27
Z3	ND ^x	6,04±0,34	4,28±0,21	1,92±0,17
Z4	7,02±0,44	6,30±0,45	4,51±0,16	9,57±0,60

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Produkce histaminu a spermidinu nebyla detekována u izolátů bakterií ze vzorků sýra Z. Nejvyšší množství histaminu ($4,7 \pm 0,3 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu V3. Nejvyšší množství tyraminu ($43,94 \pm 1,93 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Z4. Nejvyšší množství spermidinu ($1,22 \pm 0,06 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Z1. Spermin nebyl detekován u izolátů X1, X2 a X3. Nejvyšší množství sperminu ($36,77 \pm 2,32 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu Z4.

Tabulka 23. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda PCA)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
V1	$0,5 \pm 0,0$	$2,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,0$	$2,4 \pm 0,2$
V2	$1,7 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$	$3,6 \pm 0,4$
V3	$4,7 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,0$	$3,2 \pm 0,1$
V4	$0,7 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,0$	$2,8 \pm 0,2$
V5	$0,5 \pm 0,0$	$3,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,0$	$2,8 \pm 0,2$
W1	$0,3 \pm 0,0$	$1,1 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$
W2	$0,3 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$
X1	$0,6 \pm 0,0$	$1,8 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,0$	ND ^x
X2	$0,7 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$	ND ^x
X3	$0,7 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,0$	ND ^x
X4	$0,7 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,0$	$1,6 \pm 0,1$
X5	$0,8 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,0$	$2,5 \pm 0,2$
Z1	ND ^x	$15,51 \pm 1,14$	$1,22 \pm 0,06$	$10,69 \pm 0,26$
Z2	ND ^x	$40,02 \pm 3,30$	ND ^x	$26,33 \pm 1,79$
Z3	ND ^x	$39,61 \pm 0,68$	ND ^x	$26,98 \pm 0,48$
Z4	ND ^x	$43,94 \pm 1,93$	ND ^x	$36,77 \pm 2,32$

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

7.3.2 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z živné půdy M17

V tabulkách 24 a 25 jsou shrnuty výsledky produkce biogenních aminů u izolátů bakterií izolovaných na půdě M17 ze vzorků sýrů Balkásnského sýra. Tryptamin byl detekován pouze u izolátu I1 a to v množství $4,3 \pm 0,3 \text{ mg.l}^{-1}$. U kmenů izolovaných z ostatních sýrů (J, K) nebyla tryptamina detekován. Fenyletylamin nebyl detekován u izolátů J1, J2, J5 a K1. Nejvyšší množství fenyletylaminu ($32,35 \pm 2,01 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu J3. Tvorba putrescinu byla detekována pouze u izolátu I1 v množství $2,5 \pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$. Kadaverin nebyl

detekován u bakterií J1, J2, J5 a K1 izolovaných na půdě M17. Nejvyšší množství kadaverinu ($8,99 \pm 0,53$ mg/l) bylo stanoveno u izolátu J3. Produkce histaminu byla detekována pouze u izolátu I1 a to v množství $0,5 \pm 0,0$ mg.l⁻¹. Nejvyšší množství tyraminu ($25,24 \pm 1,99$ mg.l⁻¹) bylo stanoveno u izolátu K1. Spermidin byl detekován pouze u izolátu I1 v množství $0,7 \pm 0,0$ mg.l⁻¹. Nejvyšší množství sperminu ($24,43 \pm 1,56$ mg.l⁻¹) bylo stanoveno u izolátu J3.

Tabulka 24. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda M17)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
I1	$4,3 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,0$	$2,5 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,2$
J1	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
J2	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
J3	ND ^x	$32,35 \pm 2,01$	ND ^x	$8,99 \pm 0,53$
J4	ND ^x	$29,74 \pm 1,94$	ND ^x	$6,47 \pm 0,37$
J5	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
K1	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Tabulka 25. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda M17)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
I1	$0,5 \pm 0,0$	$1,3 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,0$
J1	ND ^x	$23,61 \pm 0,57$	ND ^x	$18,90 \pm 0,94$
J2	ND ^x	$20,14 \pm 1,51$	ND ^x	$17,35 \pm 1,26$
J3	ND ^x	$24,43 \pm 1,56$	ND ^x	$24,43 \pm 1,56$
J4	ND ^x	$20,33 \pm 0,70$	ND ^x	$16,53 \pm 0,98$
J5	ND ^x	$21,31 \pm 1,27$	ND ^x	$19,30 \pm 1,02$
K1	ND ^x	$25,24 \pm 1,99$	ND ^x	$22,21 \pm 0,92$

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Dekarboxylázová aktivita bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta na půdě M17 je shrnuta v tabulkách 26 a 27. Nejvyšší množství tryptaminu ($2,3 \pm 0,2$ mg.l⁻¹) bylo stanoveno u izolátu O3. Nejvyšší množství fenyletylaminu ($2,7 \pm 0,2$ mg.l⁻¹) bylo stanoveno u izolátu O3. Nejvyšší množství putrescinu ($2,2 \pm 0,2$ mg.l⁻¹) bylo detekováno u izolátu O3. Nejvyšší množství kadaverinu ($2,0 \pm 0,1$ mg.l⁻¹) bylo stanoveno u izolátu O4. Histamin, spermidin a spermin byly stanoveny u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta na půdě M17 řádově

v desetinách mg.l^{-1} . Nejvyšší množství tyraminu ($5,1\pm 0,4 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu O1.

Tabulka 26. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda M17)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
O1	$1,3\pm 0,1$	$0,8\pm 0,1$	$1,5\pm 0,1$	$1,3\pm 0,1$
O2	$1,8\pm 0,1$	$0,4\pm 0,0$	$1,5\pm 0,1$	$1,6\pm 0,1$
O3	$2,3\pm 0,2$	$2,7\pm 0,2$	$2,2\pm 0,2$	$1,3\pm 0,1$
O4	$2,1\pm 0,1$	$0,4\pm 0,0$	$1,6\pm 0,1$	$2,0\pm 0,1$
O5	$1,7\pm 0,1$	$0,4\pm 0,0$	$1,7\pm 0,1$	$1,4\pm 0,1$

Tabulka 27. Produkce histaminu, tryptaminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda M17)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
O1	$0,2\pm 0,0$	$5,1\pm 0,4$	$0,5\pm 0,0$	$0,2\pm 0,0$
O2	$0,3\pm 0,0$	$2,3\pm 0,2$	$0,3\pm 0,0$	$0,6\pm 0,0$
O3	$0,1\pm 0,0$	$2,0\pm 0,1$	$0,3\pm 0,0$	$0,3\pm 0,0$
O4	$0,1\pm 0,0$	$1,7\pm 0,1$	$0,5\pm 0,0$	$0,5\pm 0,0$
O5	$0,3\pm 0,0$	$2,0\pm 0,1$	$0,3\pm 0,0$	$0,8\pm 0,1$

Dekarboxylázová aktivita zkoumaná u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi na půdě M17 je popsána v tabulkách 28 a 29. Nejvyšší množství tryptaminu ($1,5\pm 0,0 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu W2. Fenyletylamin, histamin, spermidin a spermin byly stanoveny řádově v desetinách mg.l^{-1} . Nejvyšší množství putrescinu ($4,2\pm 0,3 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo zjištěno u izolátu W2. Nejvyšší množství kadaverinu ($1,2\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu W1. Nejvyšší množství tyraminu ($2,0\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo detekováno u izolátu W2.

Tabulka 28. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda M17)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
W1	$1,4\pm 0,1$	$0,3\pm 0,0$	$1,7\pm 0,2$	$1,2\pm 0,1$
W2	$1,5\pm 0,0$	$0,4\pm 0,0$	$4,2\pm 0,3$	$1,0\pm 0,1$

Tabulka 29. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Akawi (živná půda M17)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
W1	0,3±0,0	1,1±0,1	0,7±0,1	0,7±0,0
W2	0,2±0,0	2,0±0,1	0,4±0,0	0,3±0,0

7.3.3 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z živné půdy MRS

V tabulkách 30 a 31 jsou shrnuty výsledky produkce biogenních aminů u izolátů bakterií izolovaných na půdě MRS ze vzorků Balkánského sýra. Tryptamin, fenyletylamin, putrescin a kadaverin nebyly detekovány u izolátů J1, J2, J3, J4, K1, L1. Nejvyšší množství tryptaminu ($14,1 \pm 0,9 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu E1. Nejvyšší množství fenyletylaminu ($1,9 \pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu E1. Nejvyšší množství putrescinu ($6,8 \pm 0,6 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu E1. Nejvyšší množství kadaverinu ($2,7 \pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu H1.

Tabulka 30. Produkce tryptaminu, fenylethyleaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda MRS)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
E1	14,1±0,9	1,9±0,1	6,8±0,6	2,5±0,2
E2	11,2±0,5	1,1±0,0	4,3±0,4	2,3±0,1
E3	10,3±0,5	0,8±0,0	4,5±0,3	2,5±0,1
H1	9,8±0,9	7,6±0,7	6,4±0,5	2,7±0,1
J1	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
J2	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
J3	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
J4	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
K1	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x
L1	ND ^x	ND ^x	ND ^x	ND ^x

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Produkce histaminu a spermidinu nebyla detekována u kmenů J1-J4, K1 a L1 izolovaných ze vzorků Balkánského sýra. Nejvyšší množství histaminu ($2,0 \pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu E2. Limitní množství tyraminu ($395,0 \pm 33,1 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo vyprodukováno izolátem H1. Nejvyšší množství spermidinu ($0,5 \pm 0,0 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo shodně stanoveno u izolátů E1 a E3. Spermin nebyl detekován u izolátu E3. Nejvyšší produkce sperminu ($25,10 \pm 1,82 \text{ mg.l}^{-1}$) byla stanovena u izolátu J4.

Tabulka 31. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda MRS)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
E1	1,6±0,1	1,8±0,1	0,5±0,0	0,4±0,0
E2	2,0±0,1	1,4±0,1	0,4±0,0	0,4±0,0
E3	1,7±0,1	2,1±0,1	0,5±0,0	ND*
H1	1,6±0,1	395,0±33,1	0,4±0,0	2,7±0,1
J1	ND*	18,06±0,74	ND*	23,23±0,20
J2	ND*	14,30±0,46	ND*	18,03±1,43
J3	ND*	15,46±1,13	ND*	20,44±1,74
J4	ND*	18,82±1,41	ND*	25,10±1,82
K1	ND*	17,48±0,74	ND*	20,22±0,85
L1	ND*	14,30±0,59	ND*	15,95±1,29

Pozn. ND*...nebylo detekováno

Dekarboxylázová aktivita zkoumaná u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta na půdě MRS je popsána v tabulkách 32 a 33. Tryptamin, fenyletylamin, putrescin a kadaverin nebyly detekovány u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta. Nejvyšší množství histaminu ($2,0\pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu O1. Limitní množství tyraminu přesahující množství 100 mg.l^{-1} bylo produkováno rovněž u izolátu O1, a to v množství $113,4\pm 50,6 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermidin byl stanoven řádově v mg.l^{-1} u obou testovaných izolátů bakterií. Spermin nebyl stanoven u izolátu O2, u izolátu O1 byl spermin stanoven v množství $0,7\pm 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$.

Tabulka 32. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda MRS)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
O1	2,0±0,2	113,4±50,6	0,4±0,0	0,7±0,1
O2	1,6±0,1	86,4±8,2	0,3±0,0	ND*

Pozn. ND*...nebylo detekováno

Ze sýru Jadel byl na půdě MRS izolován 1 kmen. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 33. Tryptamin, fenyletylamin, putrescin, kadaverin, histamin a spermidin nebyly detekovány u tohoto izolátu ze sýra Jadel. Tyramin byl stanoven v množství $17,98\pm 1,39 \text{ mg.l}^{-1}$ a spermin byl stanoven v množství $23,38\pm 0,71 \text{ mg.l}^{-1}$.

Tabulka 33. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Jadel (živná půda MRS)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Histamin	Tyramin	Spermidin	Spermin
T1	ND [*]	17,98±1,39	ND [*]	23,38±0,71

Pozn. ND^{*}...nebylo detekováno

V tabulkách 34 a 35 jsou shrnuty výsledky produkce biogenních aminů u bakterií izolovaných na půdě MRS ze vzorků sýrů Akawi. Tryptamin, fenyletylamin, putrescin a kadaverin nebyly detekovány u izolátů EE2 a EE3. Tryptamin byl v množství 10,9±0,7 mg.l⁻¹ stanoven u izolátu EE1. Fenyletylamin byl v množství 1,8±0,1 mg.l⁻¹ detekován u izolátu EE1. Putrescin byl v množství 6,3±0,6 mg.l⁻¹ detekován u izolátu EE1. Kadaverin byl v množství 2,9±0,1 mg.l⁻¹ detekován u izolátu EE1. Histamin a spermidin nebyly detekovány u testovaných izolátů bakterií ze sýrů Akawi. Nejvyšší detekované množství tyraminu (21,14±1,11 mg.l⁻¹) bylo stanoven u izolátu EE1. Nejvyšší detekované množství sperminu (43,96±1,59 mg.l⁻¹) bylo zjištěno u izolátu EE2.

Tabulka 34. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda MRS)

Vzorky	Biogenní aminy			
	Tryptamin	Fenylethylenamin	Putrescin	Kadaverin
EE1	10,9±0,7	1,8±0,1	6,3±0,6	2,9±0,1
EE2	ND [*]	ND [*]	ND [*]	ND [*]
EE3	ND [*]	ND [*]	ND [*]	ND [*]

Pozn. ND^{*}...nebylo detekováno

Tabulka 35. Produkce tyraminu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Akawi (živná půda MRS)

Vzorky	Biogenní aminy	
	Tyramin	Spermin
EE1	21,14±1,11	37,26±1,93
EE2	19,61±0,88	43,96±1,59
EE3	17,25±1,27	34,47±2,06

7.3.4 Stanovení dekarboxylázové aktivity u bakterií izolovaných z testovaných sýrů na živné půdě Slanetz- Bratley Agar

Výsledky produkce biogenních aminů u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi jsou shrnuty v tabulkách 36 a 37. Ze vzorku sýra CC (sýr Akawi zrající 1 rok v solném nálevu)

bylo na půdě SBA izolováno 7 kmenů bakterií. U všech testovaných izolátů nebyla prokázána produkce tryptaminu, histaminu a spermidinu. Fenyletylamin byl v množství $6,23 \pm 0,26 \text{ mg.l}^{-1}$ detekován u izolátu CC6. U izolátů CC1, CC2, CC3, CC4, CC5 a CC7 nebyla detekována produkce fenyletylaminu. Nejvyšší množství putrescinu ($90,41 \pm 6,14 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu CC5. Nejvyšší množství kadaverinu ($7,16 \pm 0,41 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu CC1. Nejvyšší množství tyraminu ($18,53 \pm 0,97 \text{ mg.l}^{-1}$) a sperminu ($28,93 \pm 2,60 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu CC6.

Tabulka 36. Produkce fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Akawi (živná půda SBA)

Vzorky	Biogenní aminy		
	Fenylethylamin	Putrescin	Kadaverin
CC1	ND ^x	$14,68 \pm 0,63$	$7,16 \pm 0,41$
CC2	ND ^x	$14,62 \pm 0,78$	$6,77 \pm 0,46$
CC3	ND ^x	$11,07 \pm 0,49$	$5,41 \pm 0,24$
CC4	ND ^x	$13,07 \pm 0,85$	$5,41 \pm 0,33$
CC5	ND ^x	$90,41 \pm 6,14$	$5,44 \pm 0,13$
CC6	$6,23 \pm 0,26$	$12,10 \pm 0,87$	$5,77 \pm 0,53$
CC7	ND ^x	$11,80 \pm 1,09$	$6,06 \pm 0,14$

Pozn. ND^x...nebylo detekováno

Tabulka 37. Produkce tyraminu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýra Akawi (živná půda SBA)

Vzorky	Biogenní aminy	
	Tyramin	Spermin
CC1	$17,08 \pm 1,54$	$27,72 \pm 1,14$
CC2	$13,20 \pm 1,10$	$22,56 \pm 1,12$
CC3	$15,00 \pm 1,29$	$22,26 \pm 1,77$
CC4	$9,07 \pm 0,49$	$14,58 \pm 0,87$
CC5	$16,31 \pm 1,31$	$26,54 \pm 1,65$
CC6	$18,53 \pm 0,97$	$28,93 \pm 2,60$
CC7	$15,50 \pm 1,04$	$25,77 \pm 1,80$

Výsledky produkce biogenních aminů u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi jsou uvedeny v tabulce 38. U všech testovaných izolátů nebyla prokázána tvorba tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu.

U bakterií izolovaných na živné půdě SBA nebyla prokázána produkce histaminu a kadaverinu. Nejvyšší množství tyraminu ($31,20 \pm 1,30 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo stanoveno u izolátu EE8. Nejvyšší množství sperminu ($50,40 \pm 3,61 \text{ mg.l}^{-1}$) bylo detekováno u kmene EE7.

Tabulka 38. Stanovení histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných z živné půdy SBA ze vzorků sýrů EE

Vzorky	Biogenní aminy	
	Tyramin	Spermin
EE1	$16,83 \pm 1,01$	$42,18 \pm 1,96$
EE2	$16,38 \pm 1,34$	$44,37 \pm 2,05$
EE3	$14,05 \pm 0,74$	$29,99 \pm 1,58$
EE4	$18,41 \pm 1,72$	$34,14 \pm 2,49$
EE5	$12,38 \pm 0,53$	$28,19 \pm 1,49$
EE6	$18,59 \pm 0,64$	$39,74 \pm 2,99$
EE7	$27,01 \pm 1,49$	$50,40 \pm 3,61$
EE8	$31,20 \pm 1,30$	$32,81 \pm 1,18$
EE9	$24,77 \pm 1,71$	$41,34 \pm 1,61$
EE10	$21,51 \pm 0,93$	$39,36 \pm 2,02$
EE11	$16,71 \pm 0,96$	$34,11 \pm 1,60$

8 DISKUZE

Diplomová práce se zabývá stanovením produkce biogenních aminů u bakterií izolovaných ze sýrů zrajících v solném nálevu. Práce je rovněž doplněna o mikrobiologickou analýzu testovaných sýrů a o vlnatší stanovení biogenních aminů v samotných vzorcích sýra. U jednotlivých vzorků sýrů byly v rámci mikrobiologického rozboru stanoveny počty mléčných, mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformních bakterií a enterokoků.

Mikrobiologickým rozbohem bylo zjištěno, že celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů se v sýrech Jadel pohybovaly v rozmezí $3,2 \cdot 10^2$ až $6,6 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹. Rozdíly v počtech nebyly zaznamenány ani v případě, porovnáme-li sýr Jadel balený u výrobce a sýr z pultového prodeje. Počty laktokoků se pohybovaly v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ až $1,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹. Stanovené počty laktobacilů se pohybovaly v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ do $3,7 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹. Přítomnost koliformní bakterií byla prokázána u 1 testovaného vzorku sýru Q a to v počtu $3,6 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹. Přítomnost enterokoků byla opět prokázána pouze u jednoho testovaného vzorku sýru R v počtu $2,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹.

Dalšími analyzovanými vzorky byly vzorky sýrů Feta. Sýry Feta byly zakoupeny u pultového prodeje v obchodní síti. Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly stanoveny v rozmezí $1,2 \cdot 10^5$ až $1,3 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků byly zjištěny v rozmezí od $5 \cdot 10^4$ až $2,8 \cdot 10^5$ KTJ.g⁻¹, počty laktobacilů byly v rozmezí od $2,7 \cdot 10^4$ do $1,0 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. V jednom vzorku sýru Feta (N) byla prokázána přítomnost koliformních bakterií v počtu $3,6 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹. Přítomnost enterokoků byla potvrzena pouze u vzorku sýru Feta O v počtu $2,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹.

Následně byl mikrobiologický rozbor proveden u sýrů Akawi. Sýry Akawi byly zakoupeny jednak neochucené a rovněž ochucené kořením (například s kořením tzaziki, s česnekem nebo s kořením gyros). Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly stanoveny v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ až $5,2 \cdot 10^5$ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků se pohybovaly v rozmezí $1,3 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹ až $1,3 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktobacilů byly stanoveny v rozmezí od $3,2 \cdot 10^2$ do $6,1 \cdot 10^5$ KTJ.g⁻¹. Nejvyšší počet enterokoků byl stanoven u vzorku sýra Akawi W v počtu $6,5 \cdot 10^4$ KTJ.g⁻¹. Přítomnost koliformních bakterií byla prokázána pouze u jednoho vzorku BB (sýr Akawi zrající 1 rok v solném nálevu) v počtu $5,2 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹.

Poslední testovanou skupinou byly vzorky Balkánských sýrů. Počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů se pohybovaly v rozmezí od $6,0 \cdot 10^3$ do $4,7 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktokoků byly stanoveny v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ a $1,4 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Počty laktobacilů byly od $1,2 \cdot 10^2$ a $4,7 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹. Výsledky stanovení koliformních bakterií byly u většiny vzorků negativní, ovšem u jednoho vzorku Balkánského sýra byl prokázán výskyt koliformních bakterií. Přítomnost enterokoků byla prokázána u 2 vzorků Balkánského sýra, u vzorku F z pultového prodeje byly počty enterokoků $3,0 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹ a u vzorku J $5,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹.

Mikrobiologickým rozborem vzorků Balkánského sýru, sýru Feta, Jadel a Akawi bylo zjištěno, že počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly nejvyšší u vzorků Balkánského sýra a nejnižší u vzorků sýrů Jadel. Metoda CPM poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a rekontaminace surovin či hotových výrobků [48]. Dle výsledků lze doporučit při výrobě Balkánských sýrů zvýšenou pozornost při dodržování hygienických podmínek výroby, přepravy a skladování. Počty laktobacilů byly nejvyšší u vzorků Balkánského sýra a nejnižší u vzorků sýrů Jadel, což může být pravděpodobně dáno již vlastní technologií výroby. Při výrobě sýru Jadel se používá jako primární kultúra mezofilní složená z laktokoků a leukonostoků, a také doplňková kultúra tvořená zejména laktobacily (např. *Lactobacillus helveticus*), kdežto u Balkánského sýru jsou laktobacily již součástí primární kyselové kultury. Mnohé laktobacily mohou být zařazeny mezi nezákysové bakterie. Počty laktokoků byly nejvyšší u vzorků Akawi a nejnižší u sýrů Jadel. Opět si lze tuto skutečnost vysvětlit již použitou technologií. Laktokoky jsou součástí primární startovací mikroflóry jak u sýrů Akawi tak u sýrů Jadel. Ovšem v průběhu technologie výroby sýru Jadel dochází k paření zrna při teplotě obvykle kolem 80 °C, což je příliš vysoká teplota pro růst laktokoků, které patří mezi mezofilní mikroorganismy a teploty na 45 °C je inaktivují [50]. Počty koliformních bakterií byly nejvyšší u vzorků Balkánského sýra a nejnižší u vzorků sýrů Jadel a Feta. Koliformní bakterie v potravinářské mikrobiologii slouží jako indikátory fekálního znečištění, jejich průkaz poukazuje na sekundární kontaminaci [49]. Počty enterokoků byly nejvyšší u vzorků sýrů Akawi a nejnižší u vzorků sýrů Feta a Jadel. Enterokoky můžeme charakterizovat jako aerotolerantní koky, rostoucí i při 6,5 % NaCl. Původním stanovištěm enterokoků je gastrointestinální trakt člověka a živočichů, sekundárně mléko a mléčné výrobky. Dnes tvoří součást mikroflóry sýrů pocházející ze sekundárních kultur či jako součást nezákysové kultur, popřípadě mohou být indikátory sanitace mlékárenských provozů [50]. Výskyt

v sýrech Akawi si lze vysvětlit spíše jako důsledek nedostatků sanitace mlékárenských provozů.

Biogenní aminy tryptamin, fenyletylamin a spermidin nebyly detekovány u žádného z testovaných vzorků sýrů. Putrescin byl stanoven u 2 vzorků (v obou případech sýr Feta). Kadaverin byl stanoven u 4 vzorků (M - Feta, R - Jadel, T - sýr jadel, EE - Akawi). Histamin byl stanoven pouze u 1 vzorku (M-Feta). Tyramin byl detekován u 18 vzorků (nebyl detekován pouze u L - Balkánský sýr a W - Akawi). Přítomnost sperminu byla zjištěna u všech testovaných vzorků sýrů. Koncentrace putrescinu byla u 2 vzorků sýrů Feta vyšší jak 100 mg.kg^{-1} , u vzorku M v množství $308,50 \pm 19,29 \text{ mg.kg}^{-1}$ a u vzorku N v množství $349,99 \pm 12,67 \text{ mg.kg}^{-1}$. Detekovaná množství kadaverinu nepřesáhla u žádného z analyzovaných vzorků sýrů zrajících v solném nálevu 100 mg.kg^{-1} . Kadaverin byl detekován u vzorků M (sýr Feta), R (Balkánský sýr, pultový prodej), T (Akawi zrající 1 rok v solném nálevu), EE (Akawi). Maximální stanovené množství kadaverinu nepřesáhlo u těchto vzorků 40 mg.kg^{-1} . Histamin byl detekován pouze u jednoho vzorku (M, sýr Feta) v množství $46,76 \pm 2,11 \text{ mg.kg}^{-1}$. Tyramin byl detekován u 3 vzorků sýrů Feta v množství vyšším než 100 mg.kg^{-1} , u vzorku M v množství $380,43 \pm 2,90 \text{ mg.kg}^{-1}$, u vzorku N $122,71 \pm 9,57 \text{ mg.kg}^{-1}$, u vzorku O $133,25 \pm 10,99 \text{ mg.kg}^{-1}$. Spermin byl detekován u všech zkoušených vzorků, ovšem jeho množství u žádného ze vzorků nepřesáhlo 50 mg.l^{-1} .

Z výsledků stanovení BA ve vzorcích sýrů vyplývá, že mezi biogenní aminy, které byly detekovány ve vzorcích sýrů zrajících v solném nálevu v množství nad 100 mg.kg^{-1} , lze zařadit putrescin a tyramin. Putrescin byl v koncentraci 100 mg.kg^{-1} a vyšší stanoven u vzorků M a N (v obou případech sýr Feta). Množství tyraminu nad 100 mg.kg^{-1} bylo stanoven u vzorků M a O (sýry Feta). Význam tyraminu souvisí především s jeho schopností reagovat s léky ze skupiny antidepresiv s následným rizikem hypertenzních krizí. Tyramin způsobuje zvýšení krevního tlaku, zvýšení srdeční činnosti, zrychlený dech, zvýšení glykémie atd. [51]. Literatura uvádí, že zvýšený obsah putrescinu slouží především jako indikátor hygienických nedostatků v technologii zpracování či skladování potravin [12]. Proto je velmi důležité dbát na dobré hygienické podmínky výroby.

Výskyt biogenních aminů byl zkoumán ve vzorcích tureckých bílých sýrů zrajících v solném nálevu. Nejvíce se ve vzorcích sýrů vyskytoval tyramin, histamin, fenyletylamin a tryptamin [45]. Z provedené analýzy vyplývá, že sýry zrající v solném nálevu nejsou příliš vhodným prostředím pro tvorbu biogenních aminů, což může být dáno zejména nízkým pH, vysokým obsahem soli, poměrně malou proteolýzou. Srovnáme-li obsah BA stanove-

ných v sýrech s rozsáhlejší proteolýzou, tak obsah BA může být až několikanásobně vyšší. Například bylo zjištěno, že obsah tyraminu v sýru eidamského typu může být až 500 mg.kg⁻¹ [41]. Výsledky zjištěné v této diplomové práci se shodují s již proběhlými studiemi, které se týkaly obsahu biogenních aminů v sýru Feta, kde nejvíce se vyskytujícími biogenními aminy byly putrescin a tyramin, zatímco tryptamin a fenyletylamin se vyskytovaly ve velmi malých množstvích [25]. Obsah tyraminu a histaminu byl studován v bílých sýrech zrajících v solném nálevu a bylo zjištěno, že úroveň BA vzroste méně u sýrů s vyšší obsahem soli, než u sýrů kde byl obsah soli nižší. Ovšem sůl nezabrání tvorbě BA úplně [46]. V tureckém sýru Beyaz byl obsah putrescinu, kadaverinu a tyraminu přítomen v koncentracích do 53,3 mg.kg⁻¹ [47]. Bylo zjištěno, že mléko pro výrobu sýrů ovlivňuje množství biogenních aminů ve výsledných sýrech. U sýrů vyrobených z ovčího mléka bylo pozorováno větší množství biogenních aminů než v sýrech vyrobených z mléka kravského [42]. Výskyt BA byl také zkoumán v Olomouckých tvarůžcích. Převládajícími BA byly u těchto sýrů tyramin, kadaverin, histamin a putrescin, kdežto tryptamin, spermin, spermidin byly detekovány ve velmi malém množství. Obsah BA byl v rozmezí 445 až 2447 mg.kg⁻¹ [43], což je několikanásobně vyšší množství než bylo stanoveno u vzorků sýrů zrajících v solném nálevu. Zkoumán byl také obsah BA v tavených sýrech. Obsah BA v jednotlivých vzorcích nebyl pro konzumenty toxikologicky závažný [44].

Ze 14 vzorků sýra bylo z živné půdy PCA izolováno 46 suspektních kolonií. Tryptamin byl detekován u 44 izolátů bakterií izolovaných z této živné půdy. Maximální detekované množství tohoto biogenního aminu nepřesáhlo 13 mg.l⁻¹. Fenyletylamin byl stanoven u izolátů z půdy PCA ze všech 14 vzorků sýra (B-Z), jeho detekovaná množství však byla nízká do 2 mg.l⁻¹. Putrescin byl rovněž detekován u všech kmenů bakterií izolovaných na živné půdě PCA. U 5 izolátů (E1, E2, H1, V2, V3) však bylo stanoveno limitující množství přesahující 100 mg.l⁻¹. U izolátu E1 (izolát z Balkánského sýru) bylo stanoveno množství až 1282±49,6 mg.l⁻¹, u kmene E2 (Balkánský sýr) 356,5±27,4 mg.l⁻¹, u kmene H1 (Balkánský sýr) 395,8±32,3 mg.l⁻¹, u izolátu V2 (Akawi s kořením gyros) 490,8±27,6 mg.l⁻¹ a u izolátu V3 403,5±21,5 mg.l⁻¹. Kadaverin byl opět detekován u bakterií izolovaných na půdě PCA ze všech 14 vzorků sýra. Jen u 3 izolátů z Balkánského sýra (J1, J2, J3) byla detekovaná množství vyšší než 100 mg.l⁻¹. U izolátu J1 bylo stanoveno množství 229,12±9,32 mg.l⁻¹, u kmene J2 124,93±7,56 mg.l⁻¹ a u kmene J3 201,60±15,35 mg.l⁻¹. U ostatních izolátů detekované množství nepřesáhlo 21 mg.l⁻¹. Produkce histaminu byla zaznamenána pouze u menšího počtu izolátů ze sýrů zrajících v solném nálevu, histamin byl detekován u

bakteriálních kmenů izolovaných z testových vzorků sýrů v množství do $6,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Produkce tyraminu byla stanovena u všech bakterií izolovaných na půdě PCA, ovšem detekovanámnožství nepřesáhla $10,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermidin byl stanoven u 40 kmenů bakterií izolovaných na půdě PCA. Spermidin nebyl detekován u kmenů izolovaných na půdě PCA ze vzorků sýra J (Balkánský sýr) a Z (Akawi zrající 1 rok v solném nálevu). U ostatních bakterií izolovaných na půdě PCA bylo stanovené množství spermidinu do $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermin byl stanoven u 41 kmenů izolovaných na půdě PCA. U izolátů ze vzorku I (Balkánský sýr, pultový prodej) nebyl spermin detekován. U ostatních kmenů izolovaných na půdě PCA byl tento biogenní amin zjištěn, ovšem detekované množství nebyla vyšší než $3,6 \text{ mg.l}^{-1}$.

U 5 vzorků sýrů (I, J, K - Balkánský sýr, O - sýr Feta, W - sýr Akawi) bylo na živné půdě M17 izolováno 14 kmenů. Tryptamin byl detekován u 3 vzorků sýra v maximálním množství $4,3 \pm 0,3 \text{ mg.l}^{-1}$. U kmenů izolovaných na půdě M17 ze vzorků sýrů J (Balkánský sýr) a K (Balkánský sýr) nebyl tryptamin detekován. Stanovené množství fenyletylaminu u bakterií izolovaných na půdě M17 ze vzorků sýrů I, J a K (vše Balkánský sýr), O (sýr Feta), W (sýr Akawi s kořením česnek) byla do 33 mg.l^{-1} . Putrescin nebyl detekován u kmenů bakterií izolovaných z půdy M17 ze vzorků sýrů J a K (v obou případech Balkánský sýr). U ostatních bakterií izolovaných na půdě M17 byl tento biogenní amin detekován v maximálním množství do $4,2 \text{ mg.l}^{-1}$. Kadaverin byl detekován u kmenů izolovaných na půdě M17 ze 4 vzorků sýra. U izolovaných kmenů J1, J2, J5 a K1 nebyl kadaverin detekován. U kmenů I1, J3, J4 a u kmenů izolovaných ze vzorků sýra O (Feta) a W (Akawi s kořením česnek) bylo detekováno maximálním množství kadaverinu $8,99 \text{ mg/l}$. Histamin nebyl detekován u izolátů z půdy M17 ze vzorků sýrů J a K. U izolátů ze vzorků sýrů I, O a W bylo maximální stanovené množství histaminu $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Produkce tyraminu byla zjištěna u všech kmenů izolovaných na půdě M17 ze vzorků sýrů I, J, K, O, W. Maximální stanovené množství tyraminu bylo $25,24 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermidin nebyl detekován u kmenů izolovaných na půdě M17 ze vzorků sýrů J a K. U vzorků I, O, W bylo maximální stanovené množství spermidinu $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermin byl prokázán u kmenů bakterií izolovaných na půdě M17 ze všech vzorků sýra. Maximální stanovené množství bylo $24,43 \text{ mg.l}^{-1}$.

Z testovaných sýrů bylo z živné půdy MRS izolováno 16 kmenů bakterií. Tryptamin, fenyletylamin, putrescin, kadaverin a histamin nebyly detekovány u kmenů izolovaných na živné půdě MRS ze vzorků sýrů J, K (oba Balkánský sýr), L (Balkánský sýr z pultového prodeje), O (Feta), T (Jadel, pultový prodej) a kmenů izolovaných ze vzorků sýrů EE2, EE3 (Akawi s kořením gyros). U kmene EE1 a kmenů izolovaných ze vzorků sýrů E a H bylo

maximální stanovené množství tryptaminu $14,1 \text{ mg.l}^{-1}$. Fenyletylamin nebyl detekován u kmenů izolovaných ze vzorků sýrů J, K, L - Balkánský sýr, O - sýr Feta, T – sýr Jadel). Maximální stanovené množství fenyletylaminu bylo $1,9 \text{ mg.l}^{-1}$. Putrescin nebyl detekován u kmenů izolovaných ze vzorků sýrů J, K, L, O, T. Maximální stanovené množství putrescinu bylo u těchto kmenů $6,8 \text{ mg.l}^{-1}$. Kadaverin nebyl detekován u izolátů vzorků sýrů J, K, L, O, T. Maximální stanovené množství kadaverinu bylo $2,9 \text{ mg.l}^{-1}$. Histamin nebyl detekován u kmenů izolovaných na půdě MRS ze vzorků sýrů J, K, L, T a EE (Akawi s kořením gyros). Maximální stanovené množství histaminu bylo $2,0 \text{ mg/l}$. Tyramin byl detekován u bakterií izolovaných z půdy MRS ze sýrů E, H, I, J, K, L (Balkánský sýr), O (sýr Feta), T (sýr Jadel) a EE (sýr Akawi). U vzorků sýrů H a O bylo stanoveno limitující množství tyraminu přesahující 100 mg.l^{-1} . U izolátu ze vzorku H bylo detekováno množství $395,0 \pm 33,1 \text{ mg.l}^{-1}$ tyraminu. U kmene O1 izolovaného ze vzorku sýra O bylo detekováno množství tyraminu $113,4 \pm 50,6 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermidin nebyl detekován u bakterií izolovaných na půdě MRS ze vzorků J, K, L, T, EE. U izolátů ze vzorků sýrů E, H, O bylo zjištěno maximální množství $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Spermin nebyl detekován u kmene O2 (izolovaného ze sýru Feta). U ostatních kmenů izolovaných ze vzorků sýra E, H, J, K, L, O, T, EE bylo maximální tohoto polyaminu $25,1 \text{ mg.l}^{-1}$.

Ze 2 vzorků sýrů (O – sýr Feta, EE - sýr Akawi) bylo na živné půdě SBA izolováno 18 kmenů. Tryptamin nebyl detekován u žádného z testovaných kmenů izolovaných na SBA. Biogenní aminy tyramin, histamin a spermidin nebyly detekovány u kmenů izolovaných ze vzorků sýrů CC (Akawi zrající 1 rok v solném nálevu). Fenyletylamin byl detekován pouze u kmene CC6 v množství $6,23 \text{ mg.l}^{-1}$. Nejvyšší detekované množství putrescinu bylo zjištěno u kmene CC5 ($90,41 \text{ mg.l}^{-1}$). Maximální množství kadaverinu bylo $90,41 \text{ mg.l}^{-1}$, maximální množství tyraminu bylo $31,20 \text{ mg.l}^{-1}$. Maximální stanovené množství sperminu bylo $28,93 \text{ mg.l}^{-1}$. U kmenů izolovaných ze vzorku EE (Akawi zrající 1 rok v solném nálevu) nebyl detekován tryptamin, fenyletylamin, putrescin, kadaverin, histamin a spermidin. Maximální stanovené množství tyraminu bylo $31,20 \text{ mg.l}^{-1}$. Maximální stanovené množství sperminu bylo $42,18 \text{ mg.l}^{-1}$.

U 8 kmenů izolovaných z živné půdy PCA byla prokázána vysoká dekarboxylační aktivita. Ve všech případech byla detekována množství některého ze stanovovaných BA vyšší než 100 mg/l . Vysoká dekarboxylační aktivita byla prokázána u kmenů E1, E2, H1, J1, J2, J3, V2 a V3. Nejčastějším BA stanoveným v limitujícím množství byl putrescin a poté ka-

daverin. Putrescin byl dokonce u kmene izolovaného ze sýru ze sýru Jadel stanoven v koncentraci 1282,1 mg.l⁻¹.

Jak již bylo zmíněno výše, zvýšený obsah kadaverinu a putrescinu slouží především jako indikátor nedostatků v technologii zpracování či skladování potravin a jejich produkce bývá často přisuzována bakteriím z čeledi *Enterobacteriaceae* [12]. Z výsledků plyne, že pouze u jednoho vzorku Balkánského sýra byla prokázána přítomnost koliformních bakterií a zároveň detekováno limitní množství kadaverinu či putrescinu.

Na živné půdě MRS byly izolovány 2 kmeny s vysokou dekarboxylační aktivitou. Detekovaná množství BA byla u těchto kmenů vyšší než 100 mg.l⁻¹. V obou případech byl limitujícím BA tyramin. Tyramin byl v limitujícím množství stanoven jak u samotných vzorků sýra, tak také jako BA vyskytující se v limitujícím množství u kmenů izolovaných na půdě MRS z testovaných sýrů. Tyramin patří mezi toxikologicky významné biogenní aminy. Maximální limit pro tyramin je obtížné stanovit z důvodu rozdílnosti odolnosti detoxikačního systému mezi lidmi. Uvádí se, že množství tyraminu 100 mg.kg⁻¹ může ve stravě působit škodlivě. Tvorbu tyraminu ovlivňuje jednak dostupnost tyrozinu, ale také další faktory jako jsou podmínky tepelného ošetření, startovací kultury, obecné hygienické podmínky výroby [40].

V jednotlivých vzorcích sýrů zrajících v solném nálevu byly nejvíce se vyskytujícími BA tyramin a putrescin. Tyto BA se vyskytovaly v limitním množství více než 100 mg.kg⁻¹ ve vzorcích sýrů Feta. Nejvíce vyskytujícími se BA produkovanými dekarboxyláza pozitivními bakteriemi v limitním množství 100 mg.l⁻¹ byly putrescin a kadaverin, které byly detekovány u kmenů izolovaných z půdy PCA. Dekarboxyláza pozitivní kmeny byly izolovány ze vzorků Balkánských sýrů a sýrů Akawi. Tudíž nebyl prokázán přímý vztah mezi vzorky sýrů s nejvyšším obsahem BA a dekarboxylační aktivitou bakterií izolovaných z daných vzorků sýrů zrajících v solném nálevu.

9 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá stanovením dekarboxyláza pozitivních bakterií izolovaných ze sýrů zrajících v solném nálevu doplněná o stanovení biogenních aminů v samotných vzorcích testovaných sýrů. Detekce biogenních aminů byla provedena pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Pro analýzu bylo použito 30 vzorků sýrů zrajících v solném nálevu. U jednotlivých vzorků byl proveden mikrobiologický rozbor, v rámci kterého byly stanoveny počty mléčných, mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformních bakterií a enterokoků. Izolované kmeny byly testovány na produkci biogenních aminů, a to tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu, kadaverinu, histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu. Celkem bylo izolováno 94 kmenů bakterií. Na základě zjištěných výsledků lze formulovat závěry:

- Celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly u testovaných vzorků sýrů stanoveny v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ až $4,7 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹,
- Celkové počty laktokoků byly u testovaných vzorků sýrů v rozmezí $1,1 \cdot 10^2$ až $1,4 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹.
- Celkové počty laktobacilů byly u testovaných vzorků sýrů v rozmezí $1,2 \cdot 10^2$ až $4,7 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹.
- Počty koliformních bakterií byly u testovaných vzorků sýrů v rozmezí $3,2 \cdot 10^2$ až $2,1 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹.
- Počty enterokoků byly u testovaných vzorků sýrů v rozmezí $1,3 \cdot 10^2$ až $6,5 \cdot 10^4$ KTJ.g⁻¹.
- Vysoká dekarboxylační aktivita byla prokázána u 9 kmenů izolovaných na živné půdě PCA ze vzorků Balkánského sýra a ochuceného sýra Akawi, u kterých byla detekovaná množství některého ze stanovovaných BA vyšší než 100 mg/l. Nejčastějším BA stanoveným v limitujícím množství byl putrescin a poté kadaverin.
- U kmenů izolovaných na živných půdách M17 a SBA se neprokázala vysoká dekarboxylační aktivita.
- Na živné půdě MRS byly byly izolovány ze vzorků sýru Feta a Balkánského sýra 2 kmeny s vysokou dekarboxylační aktivitou.

Z analýzy vyplývá, že sýry zrající v solném nálevu nejsou příliš vhodným prostředím pro tvorbu biogenních aminů, což může být dáno zejména nízkým pH, vysokým obsahem soli, poměrně malou proteolýzou. Lze však doporučit sledovat výskyt biogenních aminů v sýrech z hlediska potenciálního rizika intoxikace.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin II*. OSSIS, 2009. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [2] STADLER, Richard H. a David R. LINEBACK. *Process-Induced Food Toxicants - Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks*. John Wiley & Sons, 2009. ISBN 978-0-470-07475-6. 756 s.
- [3] SILLA SANTOS, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. *Food Microbiology*. 1996, 29, 213-231 s.
- [4] BUŇKOVÁ L., ADAMCOVÁ, G., HUDCOVÁ, K., VELICHOVÁ, H., PACHLOVÁ, V., LORENCOVÁ, E., BUŇKA, F. Monitoring of biogenic amines in cheeses manufactured at small-scale farms and in fermented dairy products in the Czech Republic. *Food Chemistry*. 2013
- [5] VALSAMAKI, K., MICHAELIDOU, A., POLYCHRONIADOU, A., Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chemistry*. 2000, 71, 259-266
- [6] KADLEC, Pavel; MELZOCH, Karel; VOLDŘICH, Michal. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze: Co byste měli vědět o výrobě potravin?*. [s.l.] : KEY Publishing s.r.o, 2010. 536 s.
- [7] ZIMÁK, Emil. *Technologie pro 4. ročník SPŠ*. Praha: SNTL, 1988. 361 s.
- [8] HUTKINS, Robert W. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Wiley - IFT Press, 2006. 519 s. ISBN 978-0-8138-0018-9.
- [9] KOMPRDA, Tomáš. *Obecná hygiena potravin: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita*. Brno, 2007. ISBN 978-80-7157-757-7. 148 s.
- [10] KONVIČKOVÁ, J., KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic amines in Food. *Czech Journal of Food Science*. 2003, 53, 70-79.
- [11] SHALBY, A. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food research International*. 1966, 29, 675-690.
- [12] FOX, Patrick F., Paul L.H. MCSWEENEY, Timothy M COGAN a Timothy P. GUINEE. *Cheese-chemistry, Physic and Microbiology: 3rd edition*. London: Elsevier, 2004. 466 s. ISBN 978-0-08-062343-9.

- [13] DOSTÁL, Jiří a Petr KAPLAN. A SPOL. *Lékařská chemie II.: Masarykova univerzita*. Brno, 2003. 223 s. ISBN 80-210-2731-2.
- [14] GERRIT, Smit. *Dairy Processing - Improving Quality*. Woodhead Publishing, 2003. ISBN 978-1-85573-676-4. 536 s.
- [15] ZADRAŽIL, Karel. *Mlékařství: Česká zemědělská univerzita v Praze, Argonomická fakulta*. Praha, 2002. 125 s. ISBN 80-86642-15-1.
- [16] WEIMER, Bart C. *Improving the Flavour of Cheese*. Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-0-8493-9158-3. 620 s.
- [17] VODRÁŽKA, Zdeněk, Pavel RAUCH a Jan KÁŠ. *Enzymologie: VŠCHT*. Praha, 1991. 245 s. ISBN 80-7080-124-7.
- [18] KILCAST, David a Fiona ANGUS. *Reducing Salt in Foods - Practical Strategies*. Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-1-84569-018-2. 420 s.
- [19] LAW, Barry A a A.Y. TAMIME. *Technology of Cheesemaking (2nd Edition)*. John Wiley & Sons, 2010. ISBN 978-1-4051-8298-0. 500 s.
- [20] MOHANTY, A., MUKHOPADHYAY, U., GROVER, S., BATISH, V. Bovine chymosin: Production by rDNA technology an application in cheese manufacture. *Biotechnology Advances*. 1999, 17, 205-217.
- [21] CALLEC, Christian. *Encyklopedie sýrů*. 2002. 256 s. ISBN 80-7234-225-8.
- [22] *Cepac* [online]. 2013 [cit. 2013-04-28]. Potravinářská mikrobiologie III., distanční text. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz>>.
- [23] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství II.: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita Brno*. Brno, 2003. ISBN 80-7157-342-6. 84 str.
- [24] BRITZ, Theror J. a Richard K. ROBINSON. *Advanced dairy science and technology*. John Wiley a sons, 2008. ISBN 978-1-4051-3618-1. 320 str.
- [25] HRABĚ, Jan, Pavel BŘEZINA a Pavel VALÁŠEK. *Technologie výroby potravin živočišného původu: UTB*. Zlín, 2006. 180 s. ISBN 80-7318-405-2.
- [26] PACHLOVÁ, V. Distribuce vybraných složek v přírodním sýru v průběhu jeho zrání. Zlín: UTB ve Zlíně, 2011. [disertační práce]

- [27] GEORGALA, A., MOSCHOPULOU, E., AKTYPIS, A., MASSOURAS, T., KANDARAKIS, I., ANIFANTAKIS, E. Evolution of lipolysis during the ripening of traditional Feta cheese. *Food Chemistry*, 2005, 93, 73-80.
- [28] RANTSIOUA, K., URSOB, R., DOLCIA, p., COMIB, G., COCOLINA, L. Microflora of Feta cheese from four Greek manufacturers. *International Journal of Food Microbiology*. 2008, 126, 36-42.
- [29] LITOPOULOU-TZANETAKI, E., TZANETAKIS, N. Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*. 2011, 101, 17-32.
- [30] MANOLOPOULOU, E., SARANTINOPOULOUS, P., ZOIDOU, E., AKTYPIS, A., MOSCHOPOULOU, E., KADNARAKIS, I., ANIFANTAKIS, E. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, 82, 153-161.
- [31] HAYALOGLUA, A.A., GUVENB, M., FOXC, P.F., HANNONC, J.A., MCSWEENEY, P.L. Proteolysis in Turkish White-brined cheese made with defined strains of *Lactococcus*. *International Dairy Journal*. 2004, 14, 599-610.
- [32] PAPPAA, E., MASSOURASB, T., SOTIRAKOGLUC, K., KANDARAKISB, I. Formation of volatile compounds in Teleme cheese manufactured with mesophilic and thermophilic dairy starters. *Small Ruminant Research*. 2013, 111, 110-119.
- [33] KONDYLI, E., PAPPA, E.C., VLACHOU, A.M. Effect of package type on the composition and volatile compounds of Feta cheese. *Small Ruminant Research*. 2012, 108, 95-101.
- [34] KAMINARIDES, S., STAMOU, P., MASSOURAS, T. Changes of organic acids, volatile aroma compounds and sensory characteristics of Halloumi cheese kept in brine. *Food Chemistry*. 2007, 100, 219-225.
- [35] PAPPAA, E.C., KANDARAKISB, I., ANIFANTAKISB, E.M., ZERFIRIDISC, G.K. Influence of types of milk and culture on the manufacturing practices, composition and sensory characteristics of Teleme cheese during ripening. *Food Control*. 2006, 17, 570-581.
- [36] Vyhláška 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, v platném znění. *Sbírka zákonů*, 2003

- [37] ROBINSON, Richard K. *Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3*. Elsevier, 2000. 2405 s. ISBN 978-0-12-227070-3.
- [38] *Cepac* [online]. 2007 [cit. 2011-05-23]. Mlékárenská technologie I., distanční text. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz>>.
- [39] DADAKOVÁ, E., KŘÍŽEK, M., PELIKÁNOVÁ, T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 2009, 116, 365-370.
- [40] KOMPRDA, T., BURDYCHOVÁ, R., DOHNAL, V., CWIKOVÁ, O., SLÁDKOVÁ, P., DVOŘÁČKOVÁ, H. Tyramine production in Dutch-type semi-hard cheese from two different producers. *Food Microbiology*. 2008, 25, 219-227 s.
- [41] PACHLOVÁ, V., BUŇKA, F., FLASAROVÁ, R., VÁLKOVÁ, P. The effect of elevated temperature on ripening of Dutch type cheese. *Food Chemistry*. 2012, 132, 1846-1854 s.
- [42] LANCIOTTI, R., PATRIGNANI, F., IUCII, L., GEURZONI, M., SUZZI, G., BALLETTI, N., GARDINI, F. Effect of milk high pressure homogenization on biogenic amine accumulation during ripening of ovine and bovine Italian cheese. *Food Chemistry*. 2007, 104, 693-701.
- [43] STANDÁROVÁ, E., VORLOVÁ, L., KORDIOVSKÁ, P., JANŠTOVÁ, M., DRAČKOVÁ, M., BORKOVCOVÁ, I. Biogenic amine production in Olomouc curd cheese at various storage conditions. *Avat vet.Brno*. 2010, 79, 147-156.
- [44] KOMPRDA, T., NOVICKÁ, K., KALHOTKA, L., SMĚLÁ, D. Biogenic amine content in sterilised and pasteurised long-term stored processed cheese. *Czech Journal of Food Science*. 2005, 23, 209-216.
- [45] ONER, Z., KARAHAN, A., ALOGLU, H. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese ripening. *Food Science and Technology*. 2006, 39, 449-454.
- [46] VARLÍK, H., UGUR, M. Investigations on the formation and detection of some biogenic amines (histamine and tyramine) in white cheese produced by different techniques. *Food Science and Technology, Toxikology*. 2002, 53, 31-34.
- [47] DURLU-OZKAYA, F., ALICHANIDIS, E., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., TUNAIL, N. Determination of biogenic amine content of Beyaz cheese and biogenic amine

production ability of some lactic acid bacteria. *Food Science and Technology*. 1999, 54, 680-682.

[48] BURDYCHOVÁ, Radka a Pavla SLÁDKOVÁ. *Mikrobiologická analýza potravin: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita*. Brno, 2007. 207s. ISBN 978-80-7375-116-4.

[49] ČERNÍKOVÁ, Michaela a Zuzana VAŇÁTKOVÁ. *Praktická cvičení z potravinářské mikrobiologie: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta*. Zlín, 2010. 134 s. ISBN 978-80-7318-749-1.

[50] *Cepac* [online]. 2013 [cit. 2013-04-28]. Potravinářská mikrobiologie I., distanční text. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz>>.

[51] BRÁZDOVÁ, M. Biogenní aminy a polyaminy ve vybraných fermentovaných výrobcích. Brno: Mendlova univerzita v Brně, 2011. [diplomová práce]

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BA	Biogenní aminy
BMK	Bakterie mléčného kvašení
EA	Endův Agar
HPLC	Vysocě účinná kapalinová chromatografie
MRS	De Man, Rogosa a Sharpe Agar
PCA	Plate Count Agar
SBA	Slanetz – Bartley Agar

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Voda v tukuprosté hmotě sýra [36].	13
Obrázek 2. Přehled biochemických procesů v průběhu zrání sýrů [12].	20
Obrázek 3. Přehled proteolýzy a katabolizmu aminokyselin v průběhu zrání sýrů [12].	21
Obrázek 4. Metabolické cesty tvorby a degradace biogenních aminů [2].	27
Obrázek 5. Hlavní reakce biogenních aminů [12].	30

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Rozdělení sýrů dle obsahu vody v sušině [36].	12
Tabulka 2. Přehled sýrů zrajících v solném nálevu [1].....	13
Tabulka 3. Biogenní aminy a jejich prekurzory [1].....	26
Tabulka 4. Významné mikroorganismy produkující biogenní aminy [11].	28
Tabulka 5. Počty jednotlivých vzorků zrajících v solném nálevu	33
Tabulka 6. Seznam vzorků.....	37
Tabulka 7. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích Balkánského sýra (A-L)	38
Tabulka 8. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýrů Feta (M-O).....	39
Tabulka 9. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýrů Jadel (P-S).....	39
Tabulka 10. Počty mikroorganismů stanovených ve vzorcích sýru Akawi (U-EE).....	40
Tabulka 11. Stanovení biogenních aminů (tyraminu a sperminu) ve vzorcích Balkánského sýra.....	40
Tabulka 12. Stanovení biogenních aminů (putrescinu a kadaverinu) ve vzorcích sýra Feta	41
Tabulka 13. Stanovení biogenních aminů (histaminu, tyraminu a sperminu) ve vzorcích sýra Feta.....	41
Tabulka 14. Stanovení biogenních aminů (tyraminu, sperminu a kadaverinu) ve vzorcích sýra Jadel	42
Tabulka 15. Stanovení biogenních aminů (kadaverinu, tyraminu a sperminu) ve vzorcích sýra Akawi	42
Tabulka 16. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda PCA).....	43
Tabulka 17. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda PCA).....	43
Tabulka 18. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda PCA)	44
Tabulka 19. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků ze vzorků sýrů Feta (živná půda PCA)	45
Tabulka 20. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Jadel (živná půda PCA).....	45
Tabulka 21. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků ze vzorků sýrů Jadel (živná půda PCA)	46

Tabulka 22. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda PCA)	46
Tabulka 23. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda PCA)	47
Tabulka 24. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda M17).....	48
Tabulka 25. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda M17).....	48
Tabulka 26. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda M17)	49
Tabulka 27. Produkce histaminu, tryptaminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda M17)	49
Tabulka 28. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda M17).....	49
Tabulka 29. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Akawi (živná půda M17)	50
Tabulka 30. Produkce tryptaminu, fenylethyleaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda MRS).....	50
Tabulka 31. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Balkánského sýra (živná půda MRS).....	51
Tabulka 32. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Feta (živná půda MRS)	51
Tabulka 33. Produkce histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Jadel (živná půda MRS).....	52
Tabulka 34. Produkce tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků sýrů Akawi (živná půda MRS).....	52
Tabulka 35. Produkce tyraminu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků Akawi (živná půda MRS)	52
Tabulka 36. Produkce fenyletylaminu, putrescinu a kadaverinu u bakterií izolovaných ze vzorků Akawi (živná půda SBA)	53
Tabulka 37. Produkce tyraminu a sperminu u bakterií izolovaných ze vzorků sýra Akawi (živná půda SBA)	53

Tabulka 38. Stanovení histaminu, tyraminu, spermidinu a sperminu u bakterií izolovaných z živné půdy SBA ze vzorků sýrů EE.....	54
---	----

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Živné půdy

PŘÍLOHA P I: ŽIVNÉ PŮDY

Plate Count Agar

Enzymatický hydrolyzát kaseinu	5,00 g
Kvasničný extrakt	2,50 g
Glukosa	1,00 g
Agar	15,00 g
Voda	1000,00 ml

M17 agar

M17 (Oxid)	67,25 g
Glukóza (Lach-Ner)	5,00 g
Laktóza (Lach-Ner)	5,00 g
Agar	14,25 g
Voda	1000,00 ml

MRS agar dle DeMana, Rogosiho a Sharpeho

Masový pepton	10,00 g
Hovězí extrakt	8,00 g
Kvasničný extrakt	5,00 g
Glukosa	20,00 g
Polysorbát 80	1,00 g
Citran amonný	2,00 g
Octan sodný	5,00 g
Heptahydrát síranu hořečnatého	0,20 g
Tetrahydrát síranu manganatého	0,05 g
Hydrogenfosforečnan (di)draselný ...	2,00 g
Agar	12,00 g
Voda	1000,00 ml

Slanetz & Bartley Medium

Tryptosa	20,00 g
Kvasničný extrakt	5,00 g
Dextrosa	2,00 g
Hydrogenuhlícitan (di)draselný	4,00 g
Azid sodný	0,40 g
Trifenyltetrazolium chlorid	0,10 g
Agar	15,00 g
Voda	1000,00 ml

Endův agar

Peptic digest of animal tissue	10,00 g
Lactosa	10,00 g
Dipotassium phosphate	3,50 g
Sodium sulphite	2,50 g
Basic fuchsin	0,50 g
Agar	15,00 g
Voda	1000,00 ml