

Vliv post-zrací úpravy přírodního sýra na obsah biogenních aminů

Kateřina Soukupová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina SOUKUPOVÁ**
Osobní číslo: **T10891**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin-specializace
Technologie mléka a mléčných výrobků**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv post-zrání úpravy přírodního sýra na obsah
biogenních aminů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **Charakteristika sýrů holandského typu a jejich výroba.**
2. **Charakteristika zracích procesů přírodních sýrů.**
3. **Stručná charakteristika biogenních aminů a jejich tvorba během zrání přírodních sýrů.**

II. Praktická část

1. **Skladovací pokus s vybranými produkty balených plátkových/blokových sýrů.**
2. **Stanovení obsahu biogenních aminů v jednotlivých vzorcích pomocí HPLC v závislosti na době skladování.**
3. **Vyhodnocení výsledků, diskutování s literaturou a vyvození závěrů.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] **FOX, P.F., P.L.H. McSWEENEY., T.M. COGAN., T.P. GUINEE.** Cheese: **Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 General Aspects.** 3rd edition. London: Elsevier Academia Press. 2004. ISBN0-1226-3652-X.
- [2] **FOX, P. F., T.P. GUINEE., T.M. COGAN., P.L.H. McSWEENEY.** Fundamentals of cheese science. Gaithersburg: 2000. 638 p. ISBN 0-83-42-1260-9.
- [3] **SHALABY A.R.** Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International.* 1996, 29, 675-690.
- [4] **LADERO, V., M. FERNÁNDEZ., M.A. ALVAREZ.** Effect of postripening processing on the histamine and histamine-producing bacteria contents of different cheese. *International Dairy Journal.* 2009, 19, 759-762.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

16. ledna 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

2. května 2013

Ve Zlině dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




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

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, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9. května 2013

Soukupová Kateřina

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 vzdělávacího 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

V rámci praktické části bakalářské práce byl založen skladovací pokus s vybranými plátkovými a blokovými sýry holandského typu. V jednotlivých vzorcích byl sledován vývoj celkového obsahu biogenních aminů v závislosti na době skladování a úpravě (balení) vzorků. Ve zvolených časových intervalech byly vzorky také podrobeny základní chemické analýze, kde byly stanoveny obsahy sušiny, NaCl a hodnoty pH. Obsahy biogenních aminů byly detekovány pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie. Sledováno bylo celkem 8 vybraných aminů. Během skladování byly detekovány pouze tyramin, phenylethylamin a putrescin. Z předložené práce vyplynulo, že doba zrání, balení a skladování má přirozený vliv na růst koncentrace biogenních aminů. Bylo prokázáno, že zejména způsob balení výrobků má vliv i na hodnoty pH, které v některých případech mohou ovlivnit celkový obsah biogenních aminů.

Klíčová slova: sýr holandského typu, biogenní aminy, chemické metody, doba zrání a skladování

ABSTRACT

In the practical part of the bachelor thesis there was founded a storage experiment with the selected sliced and block Dutch-type cheese. In each of the samples there was monitored the total content of biogenic amines development depending on the storage time and the samples processing (packaging). The samples were also subjected to a basic chemical analysis at selected time intervals where the dry matter content, NaCl and pH value were determined. Biogenic amines contents were detected by the high effective liquid chromatography. There were monitored eight of the selected amines in total. During the storage there were detected only tyramine, phenylethylamine and putrescine. From the presented work has emerged that the period of ripening, packaging and storage has a natural influence on the concentration of biogenic amines growth. It has been demonstrated that particularly the method of products packaging has an influence on the pH value which in some cases can affect the total content of biogenic amines.

Keywords: Dutch-type cheese, biogenic amines, chemical methods, ripening and storage period

Na tomto místě chci poděkovat Ing. Vendule Pachlové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a trpělivost při zpracování mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Zálešákové za pomoc při stanovení praktické části mé práce.

Zároveň bych chtěla poděkovat mému zaměstnavateli, za poskytnutí materiálu na realizaci praktické části mé bakalářské práce.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 SÝRY HOLANDSKÉHO TYPU A JEJICH VÝROBA	11
1.1 TECHNOLOGICKÉ OPERACE	11
1.2 PŘÍPRAVA MLÉKA.....	11
1.2.1 Požadavky na jakost syrového mléka	11
1.3 OŠETŘENÍ MLÉKA PŘED VÝROBOU SÝRŮ	12
1.4 ÚPRAVA MLÉKA PŘED ZASÝŘENÍM	13
1.5 VLASTNÍ SÝŘENÍ.....	14
1.6 ZPRACOVÁNÍ SÝŘENINY	15
1.7 TVAROVÁNÍ A LISOVÁNÍ SÝŘENINY	16
1.8 SOLENÍ SÝRŮ	16
2 ZRACÍ PROCESY PŘÍRODNÍHO SÝRA	18
2.1 PŘEMĚNA LAKTOSY NA LAKTÁT A JEHO REAKCE.....	18
2.2 LIPOLÝZA	18
2.3 PROTEOLÝZA.....	19
2.3.1 Katabolismus aminokyselin	19
2.4 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ZRÁNÍ	19
2.5 BALENÍ A ZRACÍ FOLIE.....	20
3 BIOGENNÍ AMINY	22
3.1 BIOGENNÍ AMINY V POTRAVINÁCH.....	22
3.2 BIOGENNÍ AMINY V SÝRECH	22
3.3 ÚČINKY BIOGENNÍCH AMINŮ NA LIDSKÝ ORGANISMUS	23
3.3.1 Biogenní aminy jako karcinogeny	24
II PRAKTICKÁ ČÁST	26
4 CÍL PRÁCE	27
5 METODIKA A MATERIÁL	28
5.1 ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ ANALÝZY	29
5.1.1 Stanovení sušiny.....	29
5.1.2 Stanovení pH.....	29
5.1.3 Stanovení obsahu NaCl	29
5.2 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	29
6 VÝSLEDKY A DISKUSE	31
6.1 ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ ANALÝZY	31
6.2 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	33
ZÁVĚR	39
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	40
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	45
SEZNAM OBRÁZKŮ	46
SEZNAM TABULEK	47

ÚVOD

Přírodní sýry z nízkodohřívané sýřeniny, tvoří velkou část produkce výroby sýrů. Do této komodity patří zejména eidamský blok a eidamská cihla. Jedná se o potraviny s vysokým obsahem proteinů, který tvoří základní pilíř lidské výživy. Kromě proteinů jsou zdrojem lipidů, vitamínů a minerálních látek.

Biogenní aminy se přirozeně nacházejí v mnoha potravinách, zejména pak v čerstvém ovoci, zelenině a ovocných šťávách. Velkou skupinu potravin spojené se vznikem biogenních aminů tvoří fermentované výrobky rostlinného a živočišného původu. Sýr tak představuje vhodné prostředí pro tvorbu biogenních aminů z důvodu dostupnosti volných aminokyselin a přítomnosti bakterií s dekarboxylázovou aktivitou. Tato aktivita se především přiřazuje čeledi *Enterobacteriaceae*, laktobacilům a mikrokokům. Vyskytují se v potravinách, které byly vystaveny mikrobiální kontaminaci, a proto se mohou používat jako ukazatele kontroly hygienické úrovně potravin. Biogenní aminy vždy nepředstavují potenciální riziko pro spotřebitele, na druhou stranu slouží příznivě jako prekurzory pro vznik hormonů, jsou zdrojem dusíku aj. Nebezpečí se objevuje zvláště u vnímaných osob spojené se zvýšením koncentrace biogenních aminů. Mohou pak způsobovat řadu toxických, karcinogenních a teratogenních onemocnění.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SÝRY HOLANDESKÉHO TYPU A JEJICH VÝROBA

Sýr je jedním z nejstarších druhů potravin vyráběných člověkem. První důkazy o sýrech se vyskytli z období kolem roku 3000 př. n. l. v sumerském rukopisu [1].

V České republice mezi nejoblíbenější sýry s nízkodohřívanou sýřeninou, patří sýry typu eidamská cihla a eidamský blok, které tvoří více než polovinu celkové výroby přírodních sýrů. Velká část této produkce však dosahuje krátké doby zrání. Minimální doba zrání se pohybuje okolo 3 týdnů, což se příznivě projevuje na ceně, ale na druhé straně nedojde k rozvinutí požadovaných organoleptických vlastností např. barvy, chuti a vůně [2].

1.1 Technologické operace

Sýr je mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny za působení syřidla popřípadě jiných koagulačních činidel, následným prokysáním a oddělením podílu syrovátky (v důsledku synereze) za vzniku hmoty zrnitého charakteru. Po vylisování, solení a určité době zrání vzniká výrobek s charakteristickou vůní, chutí a nutriční hodnotou [3,4].

1.2 Příprava mléka

1.2.1 Požadavky na jakost syrového mléka

Mléko používané k výrobě sýrů, se musí laboratorně vyšetřit. Důraz je kladen převážně na mikrobiální jakost, která ovlivňuje trvanlivost a technologické vlastnosti suroviny. Sledují se celkové počty mezofilních mikroorganismů, dále počty koliformních, termorezistentních a psychrotrofních mikroorganismů a sporotvorných anaerobních bakterií. Celkové počty mikroorganismů při 30 °C by neměly překročit 100 000 KTJ/ml [31]. Pokud by byly překročeny požadované limity, mohlo by dojít k rozvoji kontaminující mikroflóry a spotřebě růstových faktorů (vitaminů a jiných biogenních látek), což by mimo jiné v konečném důsledku způsobilo špatné pomnožení sýrařských kultur [5,6].

Další kritérium, které by mělo mléko splňovat, jsou počty somatických buněk. Jejich obsah by neměl být vyšší jak 400 000 buněk/ml [31]. Při vyšší počtu by se zhoršovala kvasnost mléka. Vyšší množství somatických buněk může být způsobeno horečnatým onemocněním nebo sekrečními poruchami mléčné žlázy [4,5,6].

Kvasnost udává, zdali jsou v prostředí mléka vhodné podmínky pro růst přidaných čistých mlékařských kultur. Syřitelnost a kvasnost vyjadřují vlastnosti mléka při výrobě sýrů. Zejména pak syřitelnost je ovlivněna špatným zdravotním stavem dojnice, což vede ke snížení obsahu vápníku, vytváří se mnoho submicel a tím jsou kaseinové micely malé. Mléko se pak hůře sráží [4,7,9].

Kyselost patří mezi nejdůležitější vlastnosti mléka. Koloidní stabilitu kaseinu ovlivňuje zejména obsah a formy vápníku v mléce, protože aktivita Ca^{2+} iontů má vliv na sladké srážení a vlastnosti syřeniny při výrobě. Rozlišujeme aktivní kyselost a titrační kyselost. V čerstvém mléce aktivní kyselost nemá velký význam, protože změny fermentace laktosy jsou tak malé, že měřením pH je nelze přesně rozpoznat, proto se používá titrační kyselost, která je přesnější [7,34].

Aktivní kyselost představuje pH mléka. U čerstvého mléka je pH v rozmezí 6,6-6,8. Přímou určuje vliv kyselosti na složky mléka. Ve slabě kyselé oblasti je málo citlivá na tvorbu kyselin mikroorganismy, protože mléko vykazuje proti změně pH pufrální vlastnosti, která je dána přítomností pufrů jedná se např. o kyselinu fosforečnou a citronovou nebo o mléčné bílkoviny. Hodnota pH se mění v průběhu laktace a patologických změnách mléčné žlázy (mastitidách) [6,34].

Titrační kyselost je spotřeba odměrného roztoku NaOH k neutralizaci kyselých reagujících látek ve 100 ml mléka na fenolftalein. Jedná se o obsah kyselých látek v mléce z tohoto důvodu je citlivá na zvyšující se obsah kyseliny mléčné mikrobiální činností. Ve střední Evropě se stanovují podle metody SH (Soxhlet Henkela). Mléko od zdravých a dobře krmených dojnic se pohybuje mezi 6,2-7,8 °SH [5,6,7,32].

1.3 Ošetření mléka před výrobou sýrů

Pro zajištění zdravotní nezávadnosti a trvanlivosti je nutné mléko vyčistit a pasterovat. Mléko se čistí na odstředivkách. K tomuto účelu mohou sloužit čistící odstředivky (produktem je vyčištěné mléko). Na druhou stranu také účinkem odsmetaňovacích odstředivek dochází k čištění mléka (produktem je zde však odstředěné mléko a smetana) [4]. Dále je možné mléko také baktofugovat pro snížení počtu přítomných spor [4,7].

Podmínky pasterace určuje teplota a doba její výdrže, aby byly co nejméně ovlivněny fyzikální, chemické a biologické vlastnosti mléka. Při pasteraci dochází k bezpečnému usmrcení veškerých choroboplodných zárodků a většiny vegetativní mikroflóry. Pasterace

vede ke zničení 99-99,5 % saprofytické mikroflóry. Pro výrobu sýrů se používá šetrná pasterace. Mléko se zahřívá na teplotu 72-75 °C po dobu 15-20 s [8,9].

Úprava tučnosti mléka je dalším nezbytným krokem před zahájením vlastní výroby přírodních sýrů. Pro určité typy sýrů jsou dány hodnoty tuku v sušině. Obsah tukuprosté sušiny (zejména bílkovin) je v průběhu roku nestabilní mimo jiné v závislosti na ročním období a krmné dávce. Proto se při standardizaci musí brát zřetel na poměr tuku a bílkovin. Je-li vyšší obsah bílkovin, je nutné upravit i obsah tuku respektive ho zvýšit a naopak [4,6].

1.4 Úprava mléka před zasyřením

Při pasteraci dochází ke změně poměru mezi koloidními a rozpustnými formami vápníku a tím ke zhoršení syřitelnosti mléka. K obnově syřitelnosti se proto do mléka přidává rozpustný vápník ve formě nasyceného chloridu vápenatého v dávce 5-20g/100kg mléka [6,9].

Dále je možný přídavek dusičnanu draselného zvláště při výrobě sýrů s nižší kyselostí, aby se zamezilo duření, způsobené např. koliformními mikroorganismy. Přidává se asi 10g na 100l mléka. V posledních letech se vedou různé diskuze o vhodnosti použití dusičnanu draselného a to z důvodu možného vzniku sekundárních aminů, protože po redukci na dusitany může dojít ke vzniku nitrosaminů a nebo k reakci s tyrozinem za vzniku barevných vad. Hledají se různé alternativy, jak omezit použití dusičnanu draselného, např. přídavkem některých rodů laktobacilů, kteří vytvářejí konkurenční prostředí pro koliformní mikroorganismy [5,6,7].

Pro zlepšení barvy sýrů se používají různá potravinářská barviva např. karoten nebo extrakt ze semene rostliny *Bixaorellana*. Přidávají se během technologického procesu buď přímo do mléka, nebo do sýřeniny [5,6].

Přídavek kyselých kultur slouží k úpravě kyselosti mléka před sýřením. Pro zlepšení sensorických vlastností zejména prostřednictvím tvorby kyseliny mléčné a dalších organických kyselin. Přídavek kultur se uplatňuje i v průběhu zrání především má vliv na proteolýzu a lipolýzu. Primární funkcí kyselých kultur je metabolizovat laktosu na kyselinu mléčnou, která napomáhá k uvolňování syrovátky během výroby. Jsou dodávány v různých formách např. jako koncentrované lyofilizované nebo hlubokozmrazené pro zaočkování provozního zákysu nebo pro přímé zaočkování mléka ve výrobníku. Pro výrobu sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou se používá zejména smetanový zákys neboli

mezofilní kultury, které jsou složeny z mezofilních koků rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*. Převažují zejména kyselinotvorné koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Druhou složku tvoří aromatické koky zastoupeny rodem *Lactococcus lactis* subsp. *biovar. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* [6,8,28].

1.5 Vlastní sýření

Pro optimální zasýření je nutné zajištění vhodné teploty sýření a to okolo 31 °C. Pokud by došlo ke zvýšení teploty, došlo by ke vzniku tuhé sýřeniny a na povrchu zrna by se vytvořila kožovitá blanka, což by způsobilo zhoršení odvodu syrovátky [4].

Vlastní sýření je založeno na přidavku syřidla, má tři fáze:

Primární fáze – princip spočívá v enzymatickém štěpení κ -kaseinu mezi 105. a 106. aminokyselinou, vzniká hydrofobní para- κ -kasein a hydrofilní glykomakropeptid (κ -kaseinmakropeptid). Dochází nejprve ke snížení viskozity mléka, způsobené špatným shlukováním micel. Micely s nízkou odpudivou silou se začínají znovu spojovat a polymerovat, což je chemická reakce, při které z jednoduchých molekul vznikají polymery, za současného dosahování rovnováhy hydrofobními vazbami [6,33].

Sekundární fáze – koagulační fáze, vzniká polotuhý koagulát neboli gel. Je nutné zajistit vhodnou teplotu (mírně nad 30 °C), při teplotách pod 10 °C by nedošlo ke koagulaci. Je nutná přítomnost volného vápníku, který snižuje negativní náboj micel a tím se urychluje spojování destabilizovaných micel [6,33].

Terciální fáze – se uplatňuje při proteolýze kaseinu v průběhu zrání. Dochází ke štěpení kaseinu zbytkovým obsahem syřidla [9,33].

Syřidlo se přidává ve formě roztoku, ve vypočítaném množství potřebného k zasýření upraveného mléka. Následuje důkladné promíchání a ponechání mléka v klidu. Doba koagulace je v průměru 30 minut [5,6,9].

Používají se živočišná syřidla ze slezu sajících telat. Hlavním enzymem je enzym chymosin, u starších zvířat převládá enzym pepsin. Uplatňují se i mikrobiální syřidla. Z mikroorganismů našly uplatnění např. *Rhizomucor miehei* a *Endothia parasitica*. Celosvětová produkce sýrů je natolik velká, že dochází k nedostatku chymosinu. Tento problém lze řešit použitím rekombinačního chymosinu, který se získává vnesením genu pro chymosin do produkčního mikroorganismu jde např. o *Aspergillus niger*,

Kluyveromyces marxianus var. lactis a *Escherichia coli*. Dříve se používala rostlinná syřidla z rostlin fíkovníku, moruše *Cynara Cardunculus* v současnosti se pro výrobu sýrů nehodí, protože způsobují rychlou proteolýzu bílkovin a negativně ovlivňují smyslové vlastnosti sýřeniny [16,17].

1.6 Zpracování sýřeniny

Sýřením mléka získáváme pevnou a porcelánovou sraženinu, která zadržuje veškerou vodu (volnou, kapilární a hydratační) po určitou dobu. Základem této operace je připravit sýřeninu o předepsané velikosti zrn (vlašský ořech, lískový ořech, hrách, obilka), vlastnostech a oddělení určitého množství syrovátky v závislosti na druhu sýra [5,6,9].

Zpracování sraženiny začíná krájením, je-li správná tuhost gelu. Krájení se provádí systémem vodorovných a svislých nožů a ocelových strun uložených do rámu – harfy. Proces krájení bývá plně automatizovaný [6].

Začátek krájení by měl být pomalý s následným přidáváním otáček, který vede ke zmenšování zrna za současného oddělení potřebného množství syrovátky. Čím menší je vzniklé sýrařské zrno, tím se oddělí větší podíl syrovátky. Tento proces trvá nejméně 15 minut [6,9].

Doba míchání zrna v syrovátce se pohybuje okolo 20 minut. Mělo by být opatrné, zrno je ještě křehké, může se rozbít na sýrařský prach, který odchází do syrovátky a následně se sníží výtěžnost. Dochází k vytužení, čím se zvýší pevnost pokožky. Zrno by mělo být důkladně promícháno, dochází tím k vytužování zrna a intenzivní synerezy, následně se zabrání jeho usazení na dno výrobníku [3,4,6].

U sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou dochází k odpuštění asi 20-30 % podílu syrovátky. Před vlastním dosoušením musí dojít k důkladnému vymíchání, protože odpouštění syrovátky se provádí bez míchání a mohlo by dojít ke slepování zrn. Doba vymíchání ovlivňuje konečný obsah sušiny a konzistenci výrobku [7,9].

Účelem dohřívání sýřeniny je odloučení zbytku kapilární vody čímž se zvyšuje sušina. U nízkodohřívaných sýrů s tukem v sušině 30 %, se zvyšuje teplota z počáteční sýřící na teplotu 36-37 °C. Dohřívání se uskutečňuje pomalým přímým přidavkem technologické vody o teplotě 60-90 °C. Dohřívání by mělo být v intervalu 2°C za 3 minuty, celková doba by měla trvat v průměru 10 minut v závislosti na teplotě technologické vody [6,7].

Při praní zrna dojde k dalšímu odvodu syrovátky spolu s laktosou. Laktosa zadržaná v sýřenině je přeměňována na kyselinu mléčnou prostřednictvím kvašení, které ovlivňuje chuť a vůni. Kvašení je převážně činností mikroorganismů. Pokud by se vyloučil proces praní, vznikalo by velké množství kyseliny (v důsledku vysoké počáteční koncentrace laktosy), což je pro výrobu eidamské cihly a eidamského bloku nevhodné, protože by docházelo neúměrnému překysání. Mohli by vznikat i jiné kvasné pochody kyseliny mléčné [5,6,9].

Dosoušení představuje poslední proces zpracování sýřeniny. Jedná se o udržení dosažené teploty za stálého míchání. Pokud by došlo k omezení míchání nebo až jeho zastavení vznikaly by slepence zrn. Doba dosoušení je rozdílná pro každý typ sýra, mělo by trvat tak dlouho až má zrno správnou kyselost. U nízkodohříváných sýrů se dosouší asi 20-60 minut [7,9].

Konec dosoušení se může určit stiskem zrna v dlani, tím se odlišuje zbytek volné vody, kdy vznikne podlouhlý válec a mírným tlakem se opět rozpadne na jednotlivá zrna [4,5].

1.7 Tvarování a lisování sýřeniny

Odpovídá typu a požadovanému tvaru. Zrno se musí šetrně vypustit v syrovátce do lisovací vany, buď samospádem do ocelových, nebo plastových tvořitek, které jsou perforované, ke snadnějšímu odchodu syrovátky. Nebo se zrno vypouští speciálními čerpadly [6].

Lisováním docházím k dalšímu a rychlejšímu odvodu syrovátky. Lisování by mělo být pomalé s postupným narůstajícím tlakem okolo 0,005-0,04 MPa. Celková doba lisování je 60 minut. Pokud by počáteční tlak byl vysoký, dojde k uzavření povrchu sýra a vytvoření kůry sýra a tím zabránění odtoku syrovátky. Naopak nedojde-li ke správnému uzavření povrchu, může být zdrojem kontaminující mikroflóry např. přežívající v solné lázni. Cílem lisování je vytvarovat sýrové zrno do požadovaného tvaru a po ukončení procesu lisování zajistit, aby sýr po vyjmutí z lisovací vany měl pH 5,5 [3,6,11,34].

1.8 Solení sýrů

Solení zajišťuje prostředí, které sýru dodá slanou chuť a zlepší konzistenci. Zvýšením osmotického tlaku dojde k dalšímu odvodu syrovátky. Během solení se zbrzdí nebo úplně

zastaví kysání a ovlivní se průběh zrání. Obsah soli závisí na době ponoření v solné lázni. Pohybuje se od několika hodin do několika dní v závislosti na velikosti sýrového bloku.

V dnešní době se solení provádí v solných lázních. Je nutné sledovat parametry solné lázně:

- Koncentrace – 16-22 % NaCl
- Teplota – 10-22 °C
- Kyselost – pH 4,8-5,4 dle druhu sýra

Sůl prostupuje od povrchu sýra až k jeho středu. Nejvyšší obsah soli je v pokožce sýra, která prostupuje pod povrch za vzniku solného prstence. Vyrovnání obsahu soli v celé hmotě sýra dochází v průběhu zrání. Jestliže by obsah soli v sušíně, byl větší v krajové části než uvnitř, došlo by v průběhu zrání k ovlhnutí povrchu sýra pod zracím obalem [6,9,11].

2 ZRACÍ PROCESY PŘÍRODNÍHO SÝRA

Změny, které nastanou v průběhu zrání, jsou zodpovědné za charakteristické aroma a texturu sýra. Nejběžnější doba zrání u holandských typů sýra se pohybuje od 3 týdnů do několika měsíců. Míra zralosti je přímo úměrná vlhkosti sýra a nepřímo se vztahuje k obsahu soli. Změny nastávající během zrání jsou vizuálně znatelné a pro spotřebitele mají značný význam [10].

Při zrání dochází k biochemickým, mikrobiálním, strukturálním, fyzikálním a smyslovým změnám, které se vyskytují během výroby a skladování. Skladování může ovlivňovat kvalitu v závislosti na vlhkosti a balení [10,17].

Zrání je katalyzováno metabolickou aktivitou živých mikroorganismů a jejich enzymů, dále aktivitou koagulátu, tedy enzymem chymozinem. Enzymy mléka mají značný vliv na zrání zejména pak plasmin, lipázy, kyselé fosfatázy a xantinoxidáza. Většina původních enzymů je termostabilních, odolávají pasteraci [17].

2.1 Přeměna laktosy na laktát a jeho reakce

Přeměna laktosy na laktát se uskutečňuje asi do týdne po výrobě. Přeměna je způsobena zákyslovými kulturami. Asi 96 % laktosy v mléce je odstraněno v syrovátce jako laktosa nebo laktát. Holandský typ sýra obsahuje asi 3 % laktosy, v průběhu zrání se obsah snižuje až na nedetekované hladiny. Laktosa přímo ovlivňuje chuť a pH sýra. Metabolismus laktosy je nezbytný pro výrobu kvalitního sýra, protože přítomnost zkvasitelných sacharidů může vést k rozvoji nežádoucí mikroflóry. Laktát v sýrech může být oxidován na acetát dále na kyselinu propionovou, octovou, oxid uhličitý, vodu případně může být přeměněn na jiné sloučeniny. Oxidace závisí na dostupnosti O₂, velikosti bloku a kyslíku propuštěného přes obalový materiál. Rozkladem laktosy na laktát dochází k odkyselení, které prostupuje od povrchu sýra až do centra bloku a působící laktát brání růstu nežádoucích mikroorganismů [10,17].

2.2 Lipolýza

Tuk je jednou z hlavních složek ve většině sýrů, s výjimkou nízkotučných sýrů. Přispívá přímo i nepřímo na reologické vlastnosti, texturu a chuť výrobků. Během zrání může docházet k uvolňování mastných kyselin z triacylglycerolů. Vysoké hladiny volných mastných kyselin mohou způsobit žluknutí tuků. Rovněž působí jako prekurzory pro řadu

těkavých látek např. methylketonů, sekundárních alkoholů, laktonů, esterů a thioesterů [17].

2.3 Proteolýza

Proteolýza zahrnuje hydrolyzu kaseinu vedoucí k rozkladu peptidů až na volné aminokyseliny. Vývoj sýrové chuti je ovlivněn uvolňováním aminokyseliny, které jsou prekurzory pro vznik sensoricky aktivních látek ve všech tvrdých typech sýra. Nadměrnou akumulací hydróbních peptidů vzniká hořká příchut' sýra. Proteolýza se uplatňuje asi za 10-16 dnů po přeměně laktosy na laktát [17,18,34].

2.3.1 Katabolismus aminokyselin

Katabolismus volných aminokyselin hraje určitou úlohu ve všech typech sýra, zejména mají hlavní vliv na rozvoj chuti. Katabolismus zahrnuje deaminaci, transaminaci, dekarboxylaci, desulforaci a hydrolyzu aminových řetězců kyselin. Deaminace je proces, ve kterém dochází ke ztrátě NH_3 a vznikají karbonylové kyseliny, estery a alkoholy. Transaminace je děj, kdy vznikají z oxokyselin aldehydy za současné ztráty CO_2 . Dekarboxylace zahrnuje přeměnu aminokyselin na odpovídající amin a ztrátu CO_2 . Desulforací vznikají různé produkty, jedná se o sloučeniny obsahující síru. Amoniak jako výsledný produkt z mnoha těchto reakcí, přispívá k ovlivnění pH během zrání. Změna pH má vliv na strukturu sýrů, stabilitu a činnost mnoha enzymů. Přítomnost primárních aminů v sýrech může odpovídat podmínkám jednoduché dekarboxylace, ačkoli vznik sekundárních a terciárních aminů je obtížné vysvětlit. Hlavním zástupcem aminů v sýrech je tyramin. Aminy přítomné v sýrech se chovají jako biologicky aktivní látky [12,17,22].

2.4 Faktory ovlivňující zrání

Prostřednictvím znalosti chemie, biochemie, mikrobiologie je možné vyrábět sýry s přijatelnou kvalitou, i když požadované kvality nemusí být vždy dosaženo, z důvodu selhání některých klíčových parametrů při výrobě, které mají vliv na složení a zrání sýrů. Změny probíhající během zrání sýrů jsou výrazně ovlivněny skladovacími podmínkami (zejména dobou, druhem obalového materiálu, teplotou zrání). Intenzita změn závisí na používaných procesech (distribuce soli, zadržení syřidla), mikrobiologii a složení sýrů. Zvýšení teploty zrání urychluje všechny zrací změny a reakce. Může dojít k žádoucím

projevům (vývoj typické chuti), ale také k nežádoucím (fyzikální změny – pevnost, roztažnost) [10,17].

Zrání sýrů je pomalý a velmi nákladný proces spojený s nutnou kontrolou teploty a relativní vlhkosti. Mohou se používat některé postupy k urychlení zrání např. přidavek startérových kultur, geneticky modifikovaných startérových kultur, směsi enzymů, které mají velkou výhodu pro urychlení zrání (proteinázy, peptidázy, lipázy) [18,20].

Textura přispívá k pocitu sýra v ústech a ovlivňuje tak chuťové vnímání. Rozsah textury je do značné míry ovlivňován kolísáním vlhkosti, tuku, obsahem soli, pH a kaseinovou degradací. Všechny tyto parametry jsou řízeny při výrobě [24].

Textura polotvrdých sýrů se hodnotí kompresí válcového nebo krychlového vzorku sýra mezi dvěma rovnoběžnými deskami analyzátoru. Umožňuje stanovení řady reologických parametrů, může se jednat o stresovou zlomeninu, zlomeninu napětí, pevnosti a pružnosti, které se týkají smyslových a texturních vlastností jako je křehkost, tvrdost, žvýkatelnost a přilnavost. Reologií se rozumí složení sýra a strukturní uspořádání jeho složek tj. mikrostruktura. Makrostruktura má za následek různorodost složek. Můžou se tvořit uzlíčky zrn, praskliny a trhliny. Na reologické vlastnosti má vliv manipulace, porcování a balení. Reologické vlastnosti sýrů jsou jakostní znaky, které jsou důležité pro výrobce, distributory a prodejce [10,17].

2.5 Balení a zrací folie

Balením sýrů se rozumí zlepšení kvality konkrétního výrobku a jeho ochrana před nebezpečím, které by měly negativní vliv během skladování a distribuce. Jedná se o ochranu suroviny nebo zpracovávaného produktu, tak aby se zabránilo výměně nežádoucích látek s ohledem na přenos vlhkosti, tepla, světla, plynů a těkavých látek vedoucí ke zhoršení výrobku. Postupně se zvyšují nároky na bezpečnost potravin, prodloužení trvanlivosti, ale také na pohodlí spotřebitele. Jsou kladeny nároky zejména na omezení mechanického poškození během manipulace a dopravy. V dnešní době se využívají dřevěné boxy, aby se zabránilo poškození výrobku. Dále se bere ohled na vliv propustnosti vodních par, plynů (např. O₂, N₂, CO₂, H₂) nebo těkavých látek. Nutnost poskytnout určitou bariéru proti teplotě, světlu a mikroorganismům. A zajistit chemickou rovnováhu obalového materiálu [17].

Výběr obalového materiálu pro balení vyžaduje znalosti o skutečných vlastnostech sýrů, mající rozhodující význam pro procesy balení (např. tvar a velikost). Polotvrdé sýry mají vysokou vodní aktivitu. Vodní aktivita ovlivňuje mikrobiologický a psychochemický vývoj sýrů v závislosti na čase. Kontrola vodní aktivity a vlhkosti jsou velmi důležité pro zachování kvality a bezpečnosti potravin. Obsah vody může být také spojen s obsahem soli. V balených sýrech ztráta vody závisí nejen na skladovacích podmínkách, ale také propustnosti obalového materiálu [17,22].

Bloky se po vysolení a následném oschnutí v chladicím zařízení balí do teplem smrštitelných kryovakových obalů ve středním vakuu při 50-70 kPa, uzavřou se pomocí horkého těsnění nebo kovových spon. Smrštění obalového materiálu se uskutečňuje ve vodní lázni o teplotě 85-92 °C. Po zabalení se zajistí těsný kontakt mezi povrchem sýra a obalovým materiálem [17,34].

Kvalita obalového materiálu během zrání je závislá převážně na obsahu CO₂. Který se v sýrech může vyskytovat možnou produkcí laktobacilů nebo kyseliny propionové. Proto přestup CO₂ přes obalové materiály je nutné zabránit, aby nedošlo k vyboulení neboli vyfukování obalů. Obalový materiál používaný pro zrání musí být vybrán s ohledem na specifické vlastnosti jednotlivých druhů sýra [16,17].

Po určité době zrání se bloky porcují na finální výrobky o požadované gramáži. Takto naporcované výrobky se následně balí do vhodného sáčku, který je pak uložen na svařovací lištu uvnitř vakuové komory. V komoře dojde k vytlačení kyslíku ze sáčku a následné plnění CO₂. Obvykle jsou baleny buď přímo do CO₂ nebo směsi oxidu a dusíku. Oxid ve směsi má silné antibakteriální účinky. Tento způsob umožňuje dobré zachování tvaru a minimalizuje ztráty vlhkosti [35,36].

3 BIOGENNÍ AMINY

Aminy jsou základní dusíkaté sloučeniny, ve kterých je jeden nebo více atomů vodíku v amoniaku nahrazeny alkylovými a arylovými skupinami. Jednoduché alifatické monoaminy jsou velmi rozšířené [13].

Biogenní aminy (BA) jsou přírodní antinutriční faktory. Biogenní jsou označovány proto, že jsou tvořeny působením živých organismů. Vysoké množství BA v lidské stravě přispívá ke vzniku toxických účinků. Byla zjištěna i toxicita na mláďata, která vedla ke snížení hmotnosti až k jejich smrti. BA mohou být považovány za karcinogeny, protože mají schopnost reagovat s dusitany za vzniku karcinogenních nitrosaminů. BA můžeme rozdělit na (i) monoaminy, do této skupiny patří tyramin a phenylethylamin, (ii) diaminy, sem patří histamin, putrescin a kadaverin, (iii) polyaminy, kde se řadí spermin, spermidin a putrescin [13,25,26].

3.1 Biogenní aminy v potravinách

BA byly nalezeny v různých potravinách. Zejména pak v sýrech, rybích a masných výrobkách, vejcích a houbách. Přirozeně se mohou nacházet v ovocných šťávách, čerstvém ovoci, zelenině včetně kakaových bobů. Dále také ve fermentovaných výrobcích jak rostlinného tak živočišného původu (např. v kysaném zelí nebo v mléčných výrobcích). Také se mohou vyskytovat v alkoholických nápojích např. pivu. Dalo by se říci, že se vyskytují v potravinách, které byly vystaveny mikrobiální kontaminaci během zrání a skladování. BA mikrobiálního původu mohou v potravinách sloužit jako užiteční ukazatelé kvality a hygienické úrovně surovin používaných při výrobě [25,27,38].

3.2 Biogenní aminy v sýrech

Mléko a mléčné výrobky jsou důležité ve výživě člověka. Sýr je jedním z fermentovaných výrobků spojených s kontaminací BA. Patří mezi potraviny s vysokým obsahem proteinů, vitamínů a minerálních látek, ve kterých probíhá enzymatická a mikrobiální aktivita a tím může docházet ke vzniku BA [23,26,29].

Hlavní biogenní aminy detekované v sýrech jsou histamin, tyramin, tryptamin, putrescin, kadaverin a fenylethylamin. Typicky vznikají v potravinách dekarboxylací volných aminokyselin během zrání. Podmínka tvorby BA v sýrech je proteolýza kaseinu během zrání, která vede ke zvýšení koncentrace volných aminokyselin. Sýr představuje vhodné

prostředí pro vznik BA a to z důvodu dostupnosti volných aminokyselin a přítomnosti bakterií s dekarboxylázovou aktivitou. Dekarboxylázová aktivita byla popsána zejména u bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, laktobacilů, mikrokoků a *Enterococcus* spp. Ke tvorbě BA může přispívat řada faktorů jako je mikrobiologická jakost, typ syrového mléka, použití startérových kultur, podmínky a doba procesu zrání. Dále pokud se sýr bude skladovat delší dobu při vyšších teplotách, bude obsahovat více BA. Hodnota pH a nízká koncentrace solí může přispívat ke schopnosti mikrobů produkovat BA ve vyšších koncentracích. Obsahy BA se liší v závislosti na jednotlivých druzích sýra, ale i v rámci jednoho druhu. Obvykle se vyskytují v jednotkách až stovkách mg/kg, výjimečně mohou dosahovat až gramová množství na kg sýra [12,19,25,34].

Přítomnost biogenních aminů v holandských sýrech se může pohybovat v rozmezí: [19].

- Histamin 1-500 mg/kg
- Tyramin 0-900 mg/kg
- Putrescin 1-190 mg/kg
- Kadarevin 4-190 mg/kg

3.3 Účinky biogenních aminů na lidský organismus

BA jsou zdrojem dusíku, ale také mohou sloužit jako prekurzory pro vznik hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a bílkovin. Mohou tak ovlivňovat procesy v organismu zejména mají vliv na tělesnou hmotnost, příjem výživy, snížení nebo zvýšení krevního tlaku. Přítomnost BA může způsobit mnoho potíží pro vnímavé spotřebitele [37].

Histamin je nejtoxičtější amin zjištěný v potravinách, může vyvolat mnoho odpovědí v těle, ačkoli je obsažen v žirných buňkách, jako speciální granula (bazofily krve). Účinkuje vazbou na receptory buněčných membrán, které se nacházejí v kardiovaskulárním systému a sekrečních žlázách. Histamin stimuluje srdce v důsledku účinku adrenalinu a noradrenalinu, tak i smyslové a motorické neurony. Otravy se projevují celou řadou příznaků (kopřivka, edém, lokalizované záněty, nevolností, zvracení, průjemy, bolesti hlavy, bušení srdce a dýchací potíže) [13,29].

Scombrototoxin se považuje za alimentární toxin spojený s konzumací ryb, jako jsou tuňák a makrela, většina těchto druhů ryb obsahuje volný histidin (prekurzor pro vznik histaminu). Scombrototoxin je také známý jako histaminová otrava z ryb, protože histamin je považován za toxický prvek scombrototoxinu. Histamin může vzniknout během zpracování

a skladování ryb a v některých potravinách činností mikroorganismů způsobující kažení. Jedná se o druh otravy jídlem s příznaky a léčbou podobné alergii na mořské plody. Dochází k rychlému propuknutí otravy po požití infikované potraviny, první příznaky se rozvíjejí od 10 minut do 2 hodin. Rozsah příznaků je poměrně široký od pálení v ústech, brnění jazyka až po bolesti hlavy, návaly, hypotenzi a v některých případech až zvracení a průjemy. Zřídka jsou pozorovány srdeční a respirační komplikace. Příznaky obvykle odeznívají samy do 24hodin, ve výjimečných případech můžou trvat i několik dní. Ačkoli se histamin přirozeně vyskytuje v lidském organismu ve velkých dávkách, může rychle produkovat toxiny [38,40].

Histamin je extrémně stabilní. Neovlivňuje ho konzervování ani procesy autoklávu. Kromě toho vysoké hladiny histaminu nejsou doprovázeny známkami kažení a proto je nelze zjistit jinak než za pomoci chemické analýzy. Přípustné limity histaminu v rybách a rybích výrobcích, nesmějí podle vyhlášky ministerstva zdravotnictví, překročit 100 mg/kg [38,41].

Tyramin, tryptamin a fenyletylamin patří do skupiny vazoaktivních aminů způsobující napětí cév. Tyramin uvolňuje noradrenalin z nervového systému. Způsobuje tak zvýšení krevního tlaku, tím bolesti hlavy, vede až ke krvácení mozku nebo srdečnímu selhání. Bylo zjištěno, že tyramin spolu s určitými léky, zejména s antidepresivy na bázi monoaminoxidáz, způsobí blokaci tohoto enzymu a tyramin se začne hromadit v krevním řečišti. To umožňuje tyraminu lepší průnik do oběhového systému a zvyšuje se tak riziko vzniku vysokého krevního tlaku. Doporučuje se pacientům užívající tyto léky, vyhnout se potravinám s možným obsahem tyraminu, zejména omezit příjem sýrů a ryb [13,27,38,39].

3.3.1 Biogenní aminy jako karcinogeny

Aminy byly zkoumány jako možní mutagenní původci, protože některé aminy mohou být nitroderiváty nebo sloužit jako prekurzory pro jiné sloučeniny schopné tvořit nitrosaminy. N-nitrosaminy vykazují karcinogenní, mutagenní, ale i teratogenní účinky pro různé druhy zvířat a tím jsou potenciálním rizikem pro zdraví lidí. Domácí zvířata krmena konzervami ze sledů, které obsahovaly známky dusitanů, vyvolaly závažné poruchy jater, které byly připsány přítomnosti N-nitrosaminům v důsledku reakce endogenních aminů v rybí moučce spolu s dusitany. Stopové množství nitrosaminů byly také hlášeny v mnoha potravinách, zejména ve smaženém jídle. Proto technologický postup výroby potravin např. solením nebo uzením mohou vyvolat vznik nitrosaminů. Zatímco vaření nebo

smažení přímo zvyšují jejich koncentrace, protože suroviny byly na nitrosaminy prosté [17,43].

Polyaminy (PA) putrescin, spermidin, a spermin jsou tradičně zařazeny do skupiny BA. Přesto se od roku 1990 se začali posuzovat v oddělené skupině, protože jejich úloha spočívá v růstu a funkci buněk. Putrescin se strukturálně řadí mezi diaminy, ale je také klasifikován jako polyamin. Jeho množství se zvyšuje s bakteriální aktivitou během nesprávného skladování a zpracování potravin živočišného původu. Zatímco spermin a spermidin jsou typické zejména pro potraviny rostlinného původu např. v brokolici, květáku a v luštěninách. Nejvyšší obsah PA byl stanoven v sýrech [42,44].

Jeden ze směrů výzkumu léčby rakoviny je omezení příjmu PA. Každý orgán v těle vyžaduje PA pro růst, regeneraci a metabolismus buněk v závislosti na fyziologickém a patologickém stavu jedince. PA se účastní buněčného bujení a jsou tedy velmi zajímavé v oblasti výzkumu růstu nádorů, nicméně mohou být účinné při hojení ran a pro růst a regeneraci střevní sliznice. Požadavky na PA, jsou vyšší v období intenzivního růstu zejména u dětí, ale také v průběhu stárnutí vlivem klesající aktivity enzymů účastnících se biosyntézy PA [42].

Byly zjištěny tři zdroje PA:

- Přímé požití ze stravy
- Biosyntéza argininu přes ornithin s dekarboxylázou ornithinu
- Syntéza a uvolňování do bakteriální mikroflóry zažívacího ústrojí

Bylo prokázáno, že opakované přijímání PA ze stravy, je důležitým zdrojem částečné poptávky PA potřebného pro správné fungování metabolismu. Denní požadavky pro příjem PA nebyly dosud stanoveny [42].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cíle praktické části bakalářské práce lze shrnout do následujících bodů:

- založit skladovací pokus s vybranými plátkovými a blokovými sýry eidamského typu,
- sledovat vliv úpravy a balení sýrů na parametry biogenních aminů v závislosti na době skladování

5 METODIKA A MATERIÁL

Bylo vyrobeno 10 blokových sýrů eidamského typu s obsahem tuku v sušině 30 % [w/w] o hmotnosti 11-12 kg. Postup výroby eidamských bloků byl v souladu s výrobou českého maloproducenta sídlícího ve východních Čechách. Po vylisování a následném prokysání byly bloky sýrů vloženy do solné lázně o koncentraci 16-20 % NaCl a teplotě 20 °C. Hodnoty pH solných lázní se pohybovaly v rozmezí 4,95-5,25. Po 24 hodinách byly bloky vyjmuty ze solné lázně. Následně se bloky nechali jeden den okapat v chladícím sklepě o teplotě 8-12 °C. U každého bloku bylo změřeno pH a odebrány vzorky pro stanovení sušiny a biogenních aminů a poté byly zabaleny do cryovakových obalů a přemístěny do zracího sklepa. První týden zrání byl značen kódem 1Z a třetí týden 3Z. Po 21 dnech zrání bylo opět změřeno pH a odebrány vzorky pro stanovení sušiny a biogenních aminů. Bloky se poté naporcovaly na požadované výrobky (viz. Tabulka 1). Pro každý výrobek byly použity dvě šarže blokových sýrů. Šarže se značily čísly 1 a 2 (např. A1, A2 až E1, E2). Takto naporcované výrobky se skladovaly v chladícím sklepě o teplotě 6-8°C. Každý týden skladování se odebíraly vzorky ke stanovení obsahu biogenních aminů a bylo měřeno pH (v rozmezí 1-8 týdnů skladování, které se značily 1S-8S). U vybraných vzorků se stanovila koncentrace NaCl a obsah sušiny. Tabulka 1 znázorňuje kódování vzorků. Některé vybrané výrobky jsou prezentovány na obrázku 1.

Tabulka 1: Vybrané šarže plátkových a blokových sýrů

Druh	Označení
100g tenké plátky	A
300g bloček	B
200g bloček	C
400g bloček	D
2 plátky cca 100g	E

Obrázek 1: Fotografie vybraných vzorků v obalech – 300g bloček, 100g plátek, 2 plátky cca 100g



5.1 Základní chemické analýzy

5.1.1 Stanovení sušiny

Sušina je zbytek po odpaření vody a těkavých látek při teplotě 105 °C. Principem této metody je sušení vzorku při 105 °C. Použité zkušební pomůcky jsou vysoušecí misky, tyčinka na promíchání, exsikátor, analytické váhy typu ABS 80-4 (výrobce KERN & SOHN GmbH, GE, Balingen), sušárna typu UNB 300 (výrobce Memmert GmbH + Co. KG, GE, Schwabach) křemičitý písek a vzorek sýra. Vysoušecí miska, tyčinka a písek se předem předsoušely. Do vysoušecí misky se navážilo asi 70 g písku a 3 g vzorku sýra. Takto připravený vzorek byl promísen tyčinkou a nechal se vysoušet 4 h při teplotě 105 °C. Vzorky byly uchovávány v exsikátoru. Výsledky se stanovovaly zvážením misek před a po sušení. Výsledek byl vyjádřen v %. Sušina se stanovovala u vybraných vzorků sýra, stanovení se opakovalo třikrát. Toto stanovení sušiny odpovídá normě ČSN ISO 5534 2005 [30].

5.1.2 Stanovení pH

Principem této metody je určení kyselosti nebo zásaditosti vzorku pomocí příručního pH metru typu 3110 (výrobce Verkon s.r.o., ČR, Stará Boleslav). Ke stanovení byl použit mikroprocesorový pH/mV metr. Měření se provádělo vpichem do vzorku sýra. pH se stanovovalo během celé doby zrání u každého vzorku. Měření bylo zopakováno 3 krát.

5.1.3 Stanovení obsahu NaCl

Jedná se o rychlou provozní metodu ke stanovení chloridu sodného. Využívá se argonometrické titrace za použití indikátoru chromanu draselného. Do titrační baňky bylo odváženo 5 g vzorku. Vzorek se převedl do potřebného množství horké destilované vody, aby došlo k uvolnění přítomných solí, poté se nechal asi 10 minut stát. Takto vzniklý výluh se ochladil na teplotu 50 °C a přidal se indikátor. Titrovalo se odměrným roztokem dusičnanu stříbrného, do oranžového zbarvení, které zůstávalo 30 s. U vybraných vzorků se toto stanovení provádělo třikrát.

5.2 Stanovení biogenních aminů

Za pomoci chromatografického stanovení BA bylo sledováno 8 základních aminů (His, Kad, Phe, Put, Trp, Tyr, Spd, Spn). K samotnému stanovení byly použity, standardy Histamine, approx. 99%, 2-phenylethylamine, tyramine 99% (T), putrescin

dihydrochloride, cadaverine, spermidine, spermine, tryptamine (Sigma – Aldrich). Před samotnou analýzou vzorků byla provedena lyofilizace. Jde o princip sušení vymrazováním. Přesně navážený vzorek byl zamrazen na teplotu -80 °C. Takto zamražené vzorky byly druhý den umístěny do lyofilizátoru Christ alpha 1- 4 (prodejce LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc) a po lyofilizaci byly zváženy. Ze získaných pevných lyofilizátů byla provedena extrakce pomocí 0,6M kyseliny chloristé (Reag. Ph Eur – MERCK).

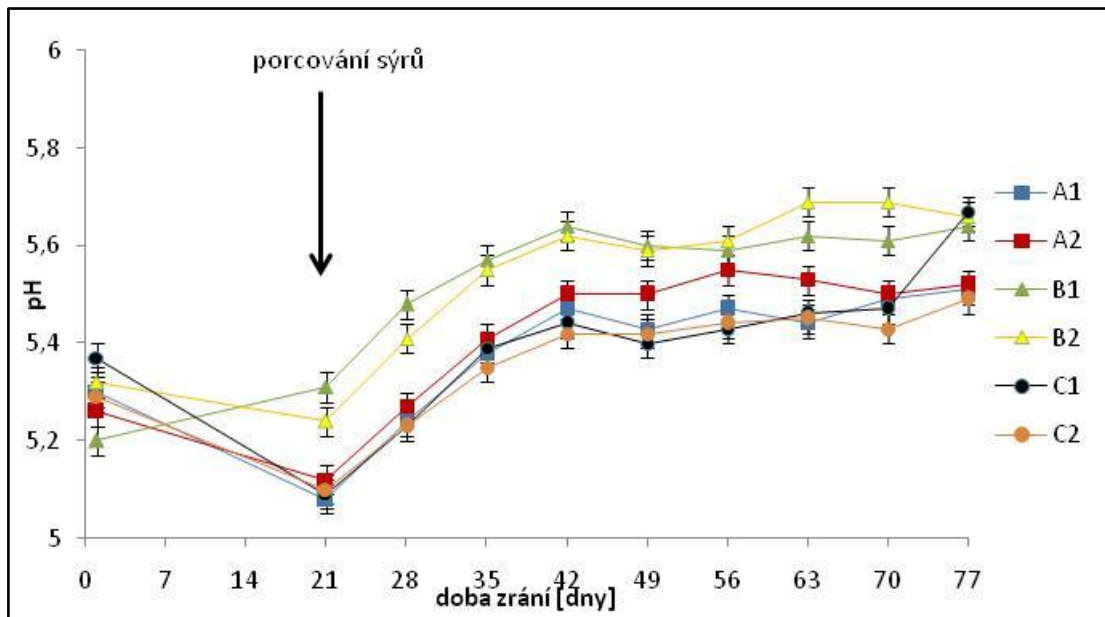
Příprava vzorku pro HPLC, kdy bylo odpipetováno 1 ml vzorku do derivatizační nádoby, přidalo se 100 µl vnitřního standardu 1,7-heptadiaminu (Sigma – Aldrich) v koncentraci 500mg/l. Byl připraven karbonátový pufr s pH 11,1 – 11,2 a přidán 1,5 ml tohoto pufru ke vzorku. Dále bylo přidáno 2 ml čerstvě připraveného dansylchloridu (BioReagent, HPLC - Sigma – Aldrich). Derivatizační zkumavka byla dobře uzavřena a nechala se třepat v temnu v laboratorní třepačce LT2 20 hodin. Poté bylo přidáno 200 µl roztoku prolinu (Merck). Zkumavka byla uzavřena a byla třepána další hodinu. Ke vzorku bylo přidáno 3 ml heptanu (CHROMASOLV®, for HPLC, SIGMA – ALDRICH) a 3 minuty se třepalo. Ze vzniklé heptanové vrstvy se odpipetovalo 1 ml této vrstvy do vialky a nechalo se odpařit při 60 °C do sucha pod proudem dusíku v termobloku (Evaterm). Suchý odparek byl zředěn 1,5 ml acetonitrilu (CHROMASOLV® plus, for HPLC, ≥99% - SIGMA – ALDRICH). Tyto vzorky byly uchovávány v mrazícím zařízení, kde byla zajištěna teplota -18 °C, zamrazení bylo provedeno v hlubokomrazícím boxu MDF-U3286S, SANYO (prodejce Schoeller instruments, ČR, Praha). Před analýzou byla provedena filtrace přes stříkačkový filtr s porozitou 0.22 µm. Vzniklý filtrát byl dávkován do chromatografického systému HPLC (binární pumpa LabAlliance, USA, auto sampler Lab Alliance, USA, kolona (Agilent Eclipse Plus C18 RRHD a rozměry 3,0 x 50 mm) s termostatem; UV/VIS DAD detektor ($\lambda = 254$ nm); a degaser 1260 Infinity, Agilent Technologies).

6 VÝSLEDKY A DISKUSE

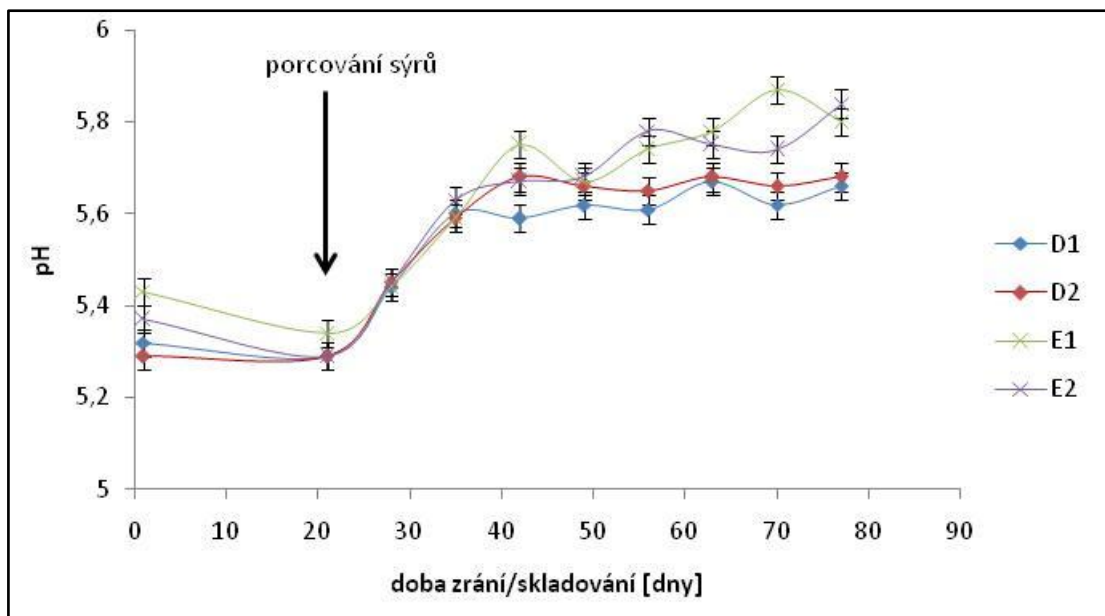
Blokové sýry zrály 21 dní ve zracím sklepě při teplotě 6-10 °C. Po naporcování byly vybrané druhy sýrů (viz. tabulka1) skladovány 56 dní v chladicím sklepě při teplotě 6-8°C. U vybraných druhů se stanovoval obsah sušiny a koncentrace NaCl. Každý odběrový den bylo dále měřeno pH a stanovena koncentrace biogenních aminů

6.1 Základní chemické analýzy

U vybraných vzorků se výsledný obsah sušiny pohyboval v rozmezí 50-52 %, což odpovídá údajům deklarovaných výrobcem. Stanovení NaCl se provádělo v průběhu skladování, protože v prvních dnech zrání je obsah NaCl v hmotě sýra nerovnoměrný. K vyrovnání obsahu NaCl dochází až v průběhu zrání po rozložení do celé hmoty sýra [10]. Obsah se pohyboval od 1,2-1,5 % NaCl v době 5S. Dále se sledoval vývoj pH v odběrových dnech, tyto hodnoty byly zaneseny do obrázku 2 a 3. Hodnoty měření první odběrový den zrání se pohybovaly od pH 5,20-5,43. Druhé měření se provádělo třetí týden zrání, kde došlo k poklesu hodnot pH na 5,08-5,34 u všech vybraných výrobků, kromě vzorku B1, kde se pH mírně zvýšilo z hodnoty 5,31 na hodnotu 5,41. Po třech týdnech zrání se bloky naporcovaly na požadované výrobky. V rámci skladování se začalo pH postupně zvyšovat, během 49-56. dne došlo opět k mírnému poklesu pH. Podle Buňkové et al. (2011) toto mohlo být způsobeno vyšší koncentrací laktosy. Další vysvětlení je možné hledat v aktivitě enzymatického aparátu startérových kultur, jak uvádí Yazici et al. (2010). U vzorku E2, ale došlo ke zvýšení hodnot pH, zatímco u vzorků A2 a C2 zůstalo na stejné hodnotě. Mezi 63. – 77. dnem došlo ke zvýšení hodnot pH ve vzorcích A1, B1, C1, C2, E1 a E2. Obecně by se dalo říci že pH u plátkových sýrů A1, A2 bylo nejnižší 5,51 v poslední den odběru tedy 77. den. U ostatních vzorků pH dosahovalo hodnot 5,49 – 5,68 v závěru skladování. Největší nárůst pH byl u vzorku E1, E2 jedná se o 2 plátky po 100 g, kde pH bylo až 5,80 v týdnu 8S. Zvýšení pH by mohlo být způsobeno zvýšením vazby mezi proteiny, vzhledem k nižšímu rozpuštění vápníku. A tím také pravděpodobně došlo k úpravě texturních vlastností. Pokles pH v týdnu 3Z byl způsoben rozkladem laktosy bakteriemi mléčného kvašení za vzniku kyseliny mléčné. Naopak mírný nárůst hodnot pH byl způsoben rozkladem kyseliny mléčné na další produkty metabolismu např. kyselinu propionovou, kyselinu máselnou, CO₂, H₂O a další aromatické sloučeniny. Obecně by se dalo říci, že naměřené hodnoty odpovídají obvyklému vývoji pH v polotvrdých sýrech [10,27,33,45].



Obrázek 2: Vývoj pH, ve vzorcích (A-C) v době 1Z-8S, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S



Obrázek 3: Vývoj pH ve vzorcích (D-E), v době 1Z-8S, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S

6.2 Stanovení biogenních aminů

Stanovením bylo sledováno 8 základních BA (Tyr, Trp, Phe, Put, Spd, Spn, Kad, His). Ve vzorcích byly detekovány Tyr, Phe, Put. Naměřené hodnoty BA v týdnu 3Z před porcováním na vybrané produkty a nejvyšší koncentrace BA ve finálních výrobcích v průběhu skladování jsou znázorněny v tabulce 2. Zjištěné hodnoty jsou obsahy BA v čerstvé hmotě sýra. Vývoj hodnot BA v průběhu zrání a skladování jsou prezentovány na obrázcích 4-8.

Tabulka 2: Srovnání obsahů biogenních aminů po třech týdnech zrání s nejvyššími detekovanými hodnotami (mg/kg)

Vzorky	Obsah BA v týdnu 3Z(mg/kg)	Nejvyšší dosažené hodnoty BA v průběhu skladování (mg/kg)
A1	10,39	509,23 v týdnu 7S
A2	13,93	667,61 v týdnu 4S
B1	9,23	779,88 v týdnu 7S
B2	10,97	744,01 v týdnu 7S
C1	10,26	447,76 v týdnu 6S
C2	11,81	586,76 v týdnu 4S
D1	11,06	555,72 v týdnu 7S
D2	10,28	546,16 v týdnu 7S
E1	13,19	775,09 v týdnu 7S
E2	14,45	787,18 v týdnu 7S

V týdnu 3Z byly detekovány nejnižší hodnoty BA ve všech blocích a po naporcování na finální výrobky docházelo k výraznému rozvoji BA v průběhu skladování (prezentováno v tabulce 2). Docházelo ke zvyšování koncentrace BA z desítek mg/kg až na několik stovek mg/kg. Ve 100g plátcích (vzorky s označením A) a ve 2 plátcích po 100g (vzorky označené E) došlo k výraznému rozvoji BA. U vzorku A2 byly nejvyšší hodnoty v týdnu 4S. Ve vzorku E docházelo k postupnému zvyšování BA po celou dobu skladování. Což by se dalo přisoudit, že v menší styčné ploše sýrů proběhne rychlejší proteolýza během zrání a

skladování. Podle Komprdy et al. (2007) to může být způsobeno zvýšením počtu aerobních mikroorganismů ve vnějších částech. Na druhou stranu vzorky byly uchovávány v ochranné atmosféře (směs oxidu uhličitého a dusíku). Aktivaci mikroorganismů mohlo pravděpodobně dojít během prodlevy mezi porcováním vzorků a zabalením v ochranné atmosféře. Největší nárůst biogenních aminů byl, zaznamenanám ve vzorcích B, jedná se o 300g bloček Na druhou stranu vzorky D (400g bloček), oproti tomu dosahovaly nejmenších koncentrací BA. Vzorek D dosahoval ze všech výrobků nejvyšších rozměrů. Mohlo tedy dojít k pomalejší proteolýze v porovnání s výrobky, které byly naporcovány na plátky. Podle Komprdy et al. (2008) vnější části sýrů obsahují vyšší množství BA než středové části, tomuto tvrzení by odpovídaly vzorky A i E. Naproti tomu se staví tvrzení Novelley-Rodriguez et al. (2003), kteří zaznamenali ve středových částech vyšší obsahy BA než v okrajových částech. V souladu s tvrzením Novelley-Rodriguez et al. (2003) jsou výsledky zjištěné u vzorku B, kde byl největší nárůst BA. 200g bloček (vzorek s označením C) s porovnáním se vzorkem A dosahoval podobných výsledků. I když je jeho styčná plocha větší. Obecně lze říci, že velikost finálních výrobků nemá zásadní vliv na distribuci BA. Hlavním rozdílem v obsahu BA v jednotlivých výrobcích je potřeba hledat v různých podmínkách prostředí podle Buňkové et al. (2010) např. v různé vodní aktivitě, dostupnosti kyslíku a proteolytické aktivitě. Lze však tvrdit, že samotné porcování sýrů na menší kusy má významný vliv na produkci BA, jak je vidět na níže prezentovaných grafech.

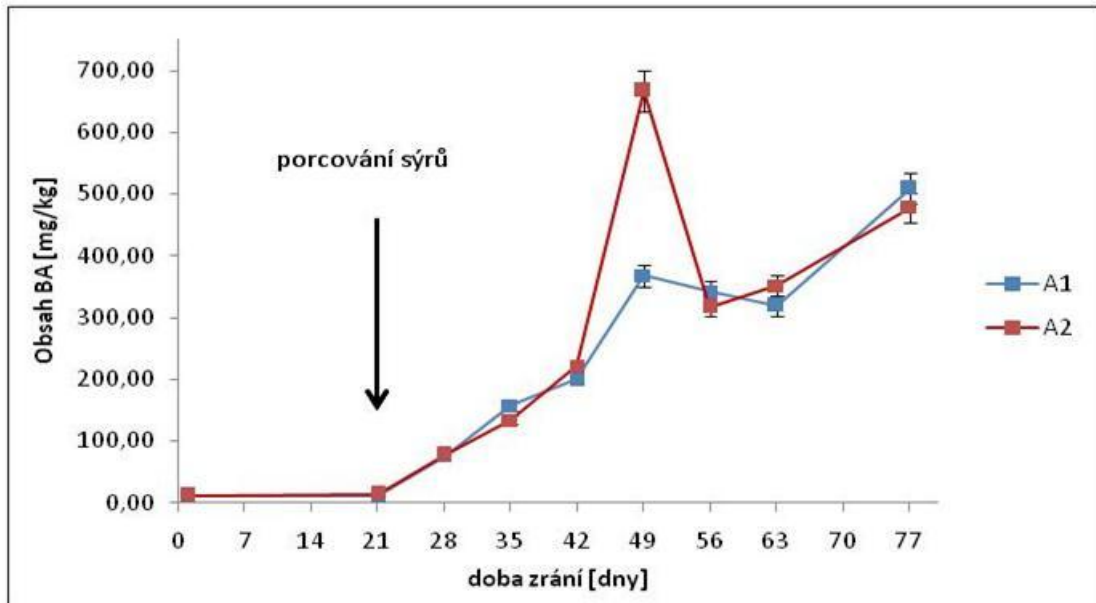
Vývoj obsahu BA ve vzorcích A je znázorněno na obrázku 4, kdy v týdnu 4S došlo k prudkému nárůstu BA zejména u vzorku A2. Obdobně se choval vývoj BA také v případě vzorku C2, který je zobrazen na obrázku 6. Což může být zapříčiněno dekarboxylázovou aktivitou, která může být ovlivněna pH prostředím. Jestliže se prostředí okyselí vyšší výrobou kyseliny mléčné, může se dekarboxyláza zvyšovat a tím i obsahy BA [49].

pH je jeden z klíčových faktorů ovlivňujících tuto dekarboxylázovou činnost (vznik aminů z aminokyselin) způsobenou bakteriemi. Mezi bakterie s dekarboxylázovou aktivitou se řadí zejména rody *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonela* a bakterie mléčného kvašení *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* a další. Produkce BA je vyšší v kyselém prostředí. Bakterie v kyselém prostředí intenzivněji produkují enzymy jako součást svých obranných mechanismů proti kyselosti, které vzniklo zvýšenou produkcí kyseliny mléčné [53]. U vzorku A2 došlo k nepatrnému snížení obsahu BA

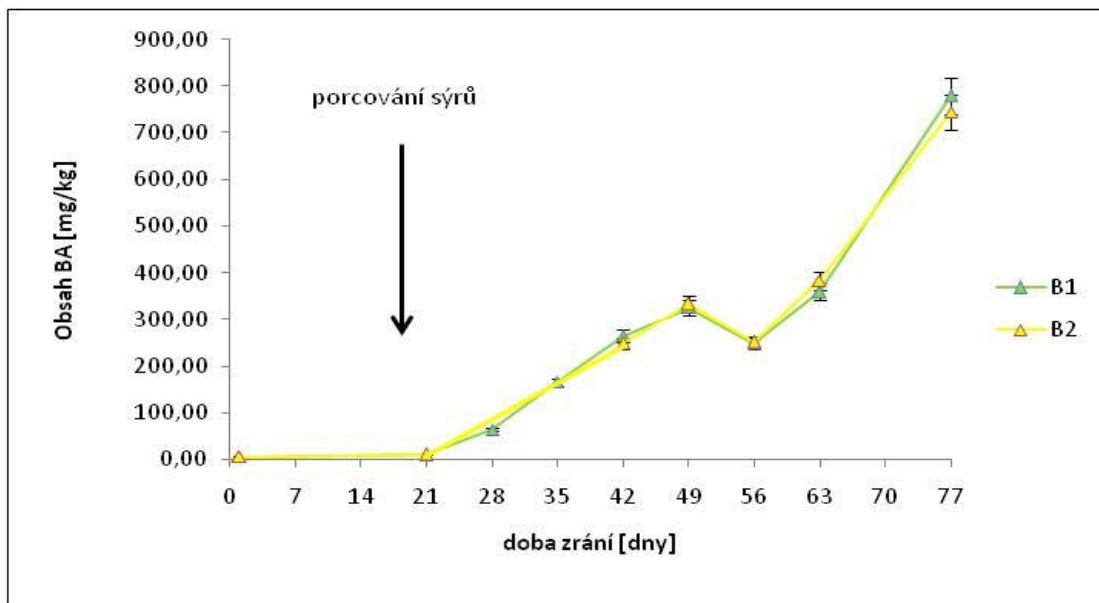
v týdnu 6S s porovnáním pH v této době došlo ke zvýšení z hodnot 5,44 na 5,45 což je však zanedbatelné. Taktéž u vzorku B1 a B2 v týdnu 5S došlo ke snížení hodnot BA, to může být způsobeno konzumací mikroorganismů např. enterococců pro svůj zdroj dusíku [51]. Podle Leuschnera et al. (1999), může pokles BA během skladování nastat činností bakteriální amino oxidázy. Ve vzorcích D1 a D2 vývoj BA postupně rostl jen s nepatrnými odchylkami u vzorku D1 v týdnu 1S. Taktéž ve vzorcích E1 a E2 v týdnu 2S došlo jen k nepatrnému zvýšení.

V České republice nejsou stanoveny limity pro celkový obsah BA v sýrech, jen pouze pro histamin jak je uvedeno výše [41]. Z hygienického hlediska podle Spajnera et al. (1991) je přípustné množství 900 mg/kg v čerstvé hmotě, které je součtem His, Tyr, Put a Kad [46]. Detekované obsahy BA nepřekročily stanovené kritické limity podle Spajnera et al. (1991) v průběhu skladovacího experimentu, ale musíme zohlednit, že naše vzorky nebyly sledovány, až do ukončení doby spotřeby. Proto můžeme předpokládat, že stanovení v posledním dnu spotřeby by celkové koncentrace BA přesahovaly kritické limity. Bylo by proto vhodné sledovat celkové obsahy BA, až do ukončení doby spotřeby. Nejdůležitější faktor ovlivňující tvorbu BA, je přítomnost prekurzorů volných aminokyselin, které vznikají při proteolýze. Proteolýza vytváří komplexní směs velkých, středních a malých peptidů i aminokyselin. Rozsáhlá proteolýza v průběhu zrání a skladování má výrazný vliv na vývoj obsahů BA. Mléko má nízký obsah volných aminokyselin naproti tomu sýr tyto látky obsahuje, poměrně ve vysokém množství. Tato akumulace může být přisuzována zejména hydrolytické aktivitě několika enzymů, jako jsou proteinázy pocházejících z mléka a proteolytickým enzymům ze startérových kultur [48].

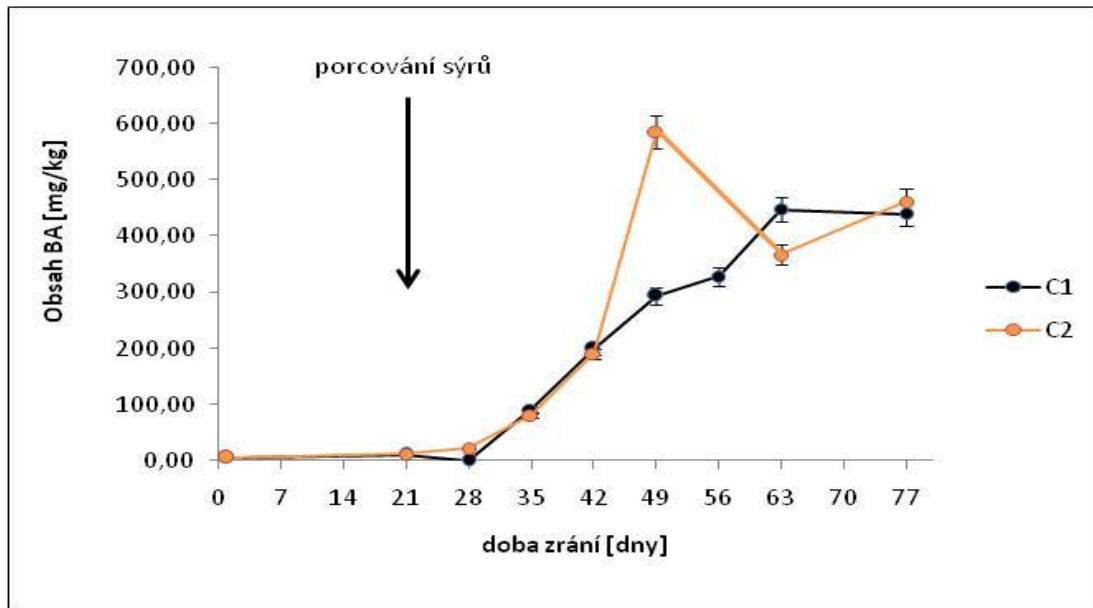
Podle Gardiniho et al. (2001) má nízká koncentrace NaCl vliv na vyšší produkci BA, ale podle studie Buňkové et al. (2011) byla zaznamenána vyšší produkce BA i při vyšší koncentraci NaCl a to do 2% (tato hodnota odpovídá sýrům holandského typu).



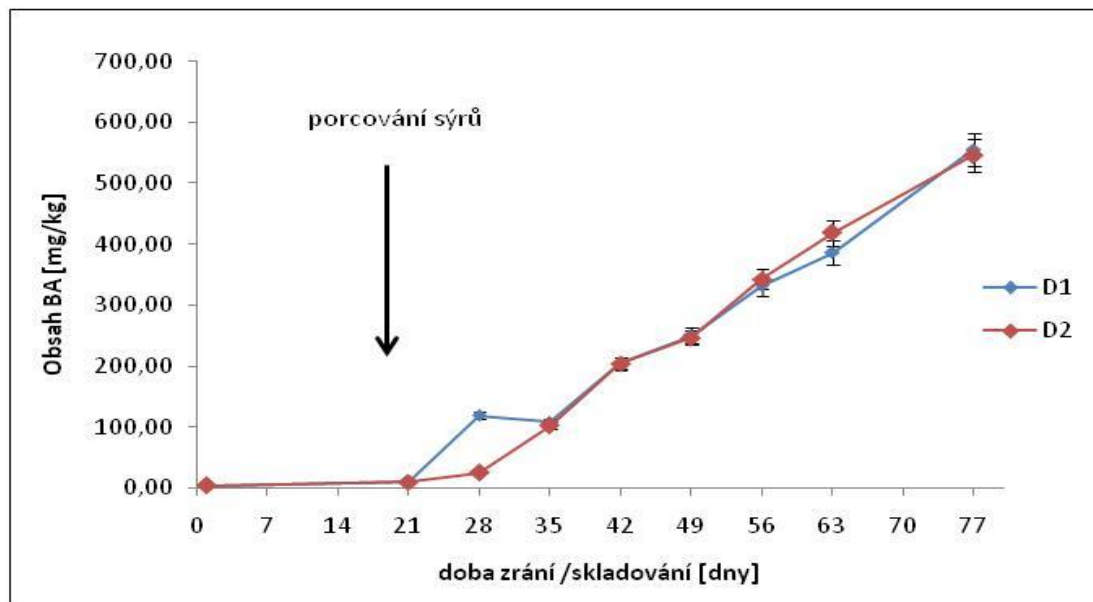
Obrázek 4: Znáznorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích A, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S



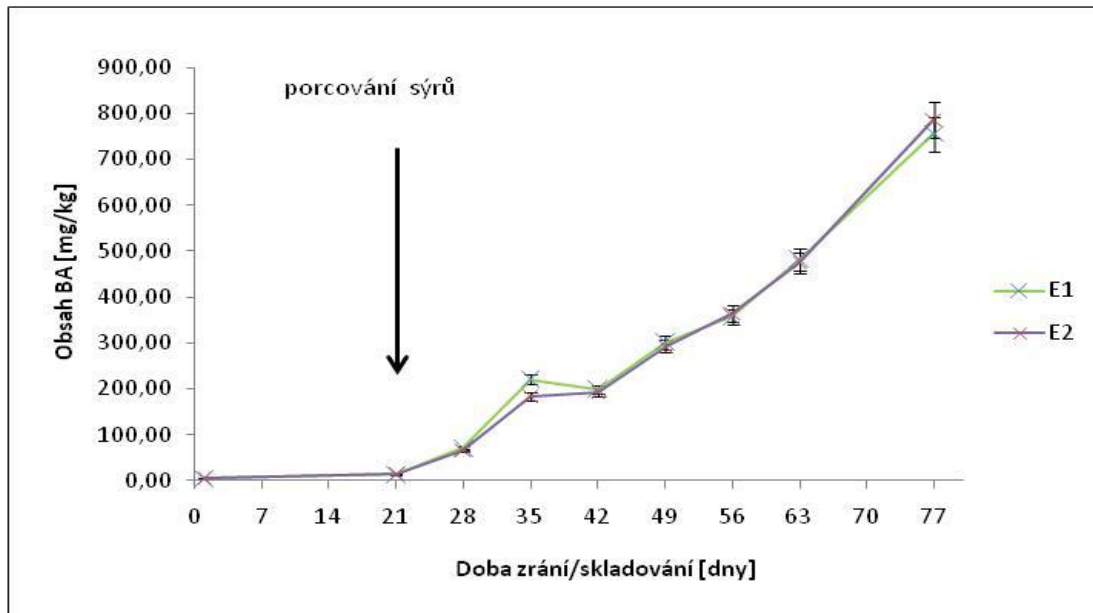
Obrázek 5: Znáznorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích B, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S



Obrázek 6: Znárodnuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích C, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S



Obrázek 7: Znárodnuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích D, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S



Obrázek 8: Znázorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích E, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S

ZÁVĚR

Předmětem bakalářské práce bylo založit skladovací pokus s vybranými plátkovými a blokovými sýry. Celé bloky zrály při teplotě 6-10°C, kdy se po 3 týdnech zrání naporcovaly na vybrané druhy sýrů, které se skladovaly 8 týdnů při teplotě 6-8°C. Principem bylo sledovat vývoj biogenních aminů spolu se základními chemickými parametry (pH, obsahy NaCl a sušiny) v závislosti na průběhu zrání a skladování. Chromatografickou metodou byly detekovány tyramin, putrescin a phenylethylamin. Práce se zabývala celkovými obsahy BA tedy součtem Tyr, Put, Phe. Za nejtoxičtější BA je považován histamin, který však v rámci této práce nebyl detekován.

V práci bylo zjištěno, že celkové obsahy BA rostly v průběhu zrání a skladování. V prvních 3 týdnech zrání byly koncentrace BA minimální, k jejich rozvoji docházelo až v průběhu skladování po naporcování na finální produkty. Distribuce BA v porovnání s plátkovými a blokovými výrobky, nejsou závislé na velikosti výrobků.

Na rostoucí koncentrace BA má pravděpodobně vliv i změna pH během skladování vzorků. S rostoucí dobou skladování roste pH rozkladem kyseliny mléčné, a tím docházelo také k růstu obsahů biogenních aminů. Vliv proteolýzy má výrazný vliv na průběh BA, a to zejména vzhledem k přítomnosti volných aminokyselin, které vznikají při proteolýze, jako prekurzory pro BA.

BA mají pozitivní vliv na lidský organismus, mohou sloužit jako prekurzory pro vznik hormonů, nukleových kyselin a dalších. Při překročení kritických limitů, však mohou způsobovat celou řadu nežádoucích účinků na lidský organismus. Především se jedná o toxické a karcinogenní onemocnění, některé BA mohou působit teratogenně. Za povolené limity se z hygienického a zdravotnického hlediska považuje hranice do 900 mg/kg v čerstvé hmotě [46]. V České republice nejsou doposud stanovené limity pro obsahy BA v sýrech ani v jiných potravinách (s výjimkou ryb a rybích výrobků), přestože jejich příjem ve vyšším množství může způsobit zdravotní riziko pro konzumenta.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KAZUKO, M. *Francouzské sýry*, 1. vyd. Slovart, 2007 ISBN 978-80-7209-994-8
- [2] CALLEC, CH. *Encyklopedie sýrů*. 1.vyd. Praha – Čestlice nakladatelství Rebo Productions CZ, 2002 107s ISBN 80-7234-225-8
- [3] HRABĚ, J., F. BUŇKA., I. HOZA., P. BŘEZINA. *Technologie potravin živočišného původu* 1. vyd. UTB Zlín 2007 ISBN 978-80-7318-521-3
- [4] ZIMÁK, E. *Technologie pro 4. ročník SPŠ*. Praha: STNL 1988
- [5] TEPLÝ, M., a kolektiv *Výroba sýrů, kaseinů a kaseinátů*. 1. vyd. Praha: STNL 1985
- [6] KADLEC, P., K. MELZUCH, M. VOLDŘICH a kolektiv. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?* 1. vyd. Ostrava: nakladatelství KEY Publishing s.r.o., 2009. 536 s ISBN 978-80-7418-051-4
- [7] KADLEC, P. *Technologie potravin II*. 1. vyd. VŠCHT Praha 2002. 236s ISBN 80-7080-510-2
- [8] BŘEZINA, P., J. JELÍNEK. *Chemie a technologie mléka*. 1. vyd. VŠCHT Praha 1990. 325s ISBN 80-7080-075-5
- [9] GAJDUŠEK, S., V. KLIMČÍK. *Mlékařství*. 1. vyd. VŠZ Brno 1985
- [10] FOX, P. F., T. P. GUINEE, T. M. COGAN, P. L. H. McSWEENEY. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: 2000. 638 p. ISBN 0-83-42-1260-9.
- [11] SUKOVÁ, I. Modernizace technologických procesů výroby dohřívaných sýrů. Dostupný z: <<http://www.agroporadenstvi.cz/service.asp?act=email&val=31615>>
- [12] FOX, P. F., P. L. H. McSWEENEY., T. M. COGAN., T. P. GUINEE. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Volume 1 General Aspects. 3rd edition. London: Elsevier Academia Press. 2004. ISBN0-1226-3652-X
- [13] SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*. roč. 29, č. 7. ISSN 09639969
- [14] LADERO, V., M. FERNÁNDEZ, M. A. ALVAREZ. Effect of post ripening processing on the histamine and histamine-producing bacteria content of different cheese. *International Dairy Journal*. 2009, 19, 759-762. ISSN 09586946.

- [15] KADLEC, P., K. MELZOCH, M. VOLDŘICH a kolektiv. *Procesy zařízení potravinářských a biotechnologických výroby* 1. vyd. Ostrava: nakladatelství KEY Publishing s.r.o., 2012 ISBN 978-80-7418-086-6
- [16] CHANDAN, RAMESH C., A. KILARA, P. SHAH, NAGEDRA. *Processing and Quality Assurance* John Wiley & sons. 2008. 613p. ISBN 978-1-61583-452-5
- [17] LAW, Barry A., A. TAMIME. *Technology of cheesemaking*. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell, 2010, xxv, 482 p. ISBN 978-140-5182-980.
- [18] WEIMER, Ed. by Bart C. *Improving the flavor of cheese*. Boca Raton: CRC Press, 2007. ISBN 978-084-9391-583
- [19] STADLER, Richard H., D. R. LINEBACK. *Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks*. Wiley: Hoboken, N. J., 2009, 723 p. ISBN 978-047-0074-756
- [20] HUI, Y. *Dairy science and technology handbook*. New York, N. Y. : VCH, 1993, 3 v. ISBN 35-272-8162-2
- [21] BOURDAT-DESCHAMPS, M., D. LE BARS, M. YVON, M.-P. CHAPOT-CHARTIER. Autolysis of *Lactococcus lactis* AM2 stimulates the formation of certain aroma compounds from amino acids in a cheese model. *International Dairy Journal*. roč. 14, č. 9, s. 791-800. ISSN 09586946.
- [22] PANTALEAO, I., M. PINTADO, M. POCAS. Evaluation of two packaging systems for regional cheese. *Food Chemistry*. roč. 102, č. 2, s. 481-487. ISSN 03088146.
- [23] DADÁKOVÁ, Eva, M. KŘÍŽEK, T. PELIKÁŇOVÁ. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*. 2009, roč. 116, č. 1, s. 365-370. ISSN 03088146.
- [24] FLOURY, J., B. CAMIER, F. ROUSSEAU, Ch. LOPEZ, J.-P. TISSIER, M.-H. FAMELART. Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure texture relationships. *LWT - Food Science and Technology*. 2009, roč. 42, č. 10, s. 1611-1620. ISSN 00236438.
- [25] STADLER, R. H., D. R. LINEBACK. *Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks*. Wiley: Hoboken, N. J., c2009, 723 p. ISBN 978-047-0074-756.

- [26] INNOCENTE, N., M. BIASUTTI, M. PADOVESE, S. MORET. Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. *Food Chemistry*. 2007, roč. 101, č. 3, s. 1285-1289. ISSN 03088146.
- [27] NOVELLA-RODRIGUEZ, S., M. T. VECIANA-NOGUES, A. X. ROIG-SAGUES, A. J. TRUJILLO-MESA, M. C. VIDAL-CAROU. Influence of Starter and Nonstarter on the Formation of Biogenic Amine in Goat Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Science*. 2002, roč. 85, č. 10, s. 2471-2478. ISSN 00220302.
- [28] SEIFU, E., E. M. BUYS, E. F. DONKIN. Effect of the lactoperoxidase system on the activity of mesophilic cheese starter cultures in goat milk. *International Dairy Journal*. 2003, roč. 13, č. 12, s. 953-959. ISSN 09586946.
- [29] LOIZZO, M. R., F. MENICHINI, N. PICCI, F. PUOCI, U. G. SPIZZIRRI, RESTUCCIA. Technological aspects and analytical determination of biogenic amines in cheese: A review. *Trends in Food Science*. 2013, roč. 30, č. 1, s. 231-243. ISSN 09242244.
- [30] ČSN ISO 5534 2005: Sýry a tavené sýry - Stanovení obsahu celkové sušiny (Cheese and processed cheese – Determination of total solids content Reference method), Český normalizační institut, Praha, 12 p
- [31] Nařízení EP a rady ES 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, v platném znění
- [32] ČSN 57 0529: Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. Český normalizační institut, Praha
- [33] JANŠTOVÁ, BOHUMÍRA a kol., *Technologie mléka a mléčných výrobků*. 1.vyd. VFU Brno 2012. 141s. ISBN 978-80-7305-637-7
- [34] NAVRÁTILOVÁ PAVLÍNA a kol., *Hygiena produkce mléka*. 1.vyd. VFU Brno 2012. 129 s. ISBN 978-80-7305-625-4
- [35] Top in packaging [online]. [cit.2013-3-18]. Dostupné z:<<http://www.vc999.ch/Molkereiprodukte.174+M550dac6216.0.html>>
- [36] Freshline™ MAP- cheese [online]. 2004 [cit. 2013-3-18] Dostupné z:<http://www.airproducts.co.uk/expert/PDF/literature/MAP_cheese_EN.pdf>
- [37] KAROVIČOVÁ J., Z. KOHAJDOVÁ. Biogenic amines in food. *Chemical papers*. 2005 ISSN 1336-9075.

- [38]LAWLEY , R., L. CURTIS, J. DAVIS. *The food safety hazard guidebook*. 2nd ed. Cambridge, UK: RSC Pub., 2012, 533 p. ISBN 978-184-9733-816.
- [39]SANTOS, M. H. S. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1996, roč. 29, 2-3, s. 213-231. ISSN 01681605.
- [40]HUNGERFORD, J. M. Scombroid poisoning: A review. *Toxicon*. 2010, roč. 56, č. 2, s. 231-243. ISSN 00410101.
- [41]Vyhláška č. 305/2004 sb. (platné znění) ze dne 6. května, kterou stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách.
- [42]KALAČ, P., P. KRAUSOVÁ, T. PELIKÁŇOVÁ. Biologically active polyamines in beef, pork, meat products: A review. *Meat Science*. 2006, roč. 73, č. 1 s. 1-11. ISSN 03091740
- [43]VELÍŠEK, JAN. *Chemie potravin 3*, 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8
- [44]KALAČ, P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*. 2005, roč. 90, 1-2, s. 219-230. ISSN 03088146.
- [45]FLOURY, J., B. CAMIER, F. ROUSSEAU, Ch. LOPEZ, J.-P. TISSIER a M.-H. FAMELART. Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure-texture relationships. *LWT –Food Science and Technology*, 2009, 42, 1611-1620. ISSN 00236438
- [46]SPANJER, M. C., B. A. S. W van RODE, (1991): Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese and sauerkraut. *De ware(n)-Chemicus* 21
- [47]KOMPRDA, T., D. SMĚLÁ, K. NOVICKÁ, L. KALHOTKA, K. ŠUSTOVÁ a P. PECHOVÁ. Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food Chemistry*. roč. 102, č. 1, s. 129-137. ISSN 03088146.
- [48]GARDINI, F., M. MARTUSCELLI, M. C. CARUSO, F. GALGANO, M. A. CRUDELE, F. FAVATI, M. E. GUERZONI, G. SUZZI. Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*. roč. 64, 2001. 1-2, s. 105-117. ISSN 01681605.

- [49]BUŇKOVÁ, L., F. BUŇKA, E. POLLAKOVÁ, T. PODEŠVOVÁ, V. DRÁB. The effect of lactose, NaCl and an aero/anaerobic environment on the tyrosine decarboxylase activity of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *International Journal of Food Microbiology*. 2011. roč. 147, č. 2, s. 112-119. ISSN 01681605.
- [50]YAZICI, F., M. DERVISOGLU, A. AKGUN, O. AYDEMIR. Effect of whey pH at drainage on physicochemical, biochemical, microbiological, and sensory properties of Mozzarella cheese made from buffalo milk during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*. roč. 93, 2010 č. 11. ISSN 00220302.
- [51]ANDIÁČ, S., Y. TUNCTURK, H. GENCCLEP. The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese. *Journal of Dairy Science*. roč. 94, 2011 č. 4, s. 1668-1678. ISSN 00220302.
- [52]LEUSCHNER, R. C. K., KURIHARA, W. P. HAMMES. Formation of biogenic amines by proteolytic enterococci during cheese ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, roč. 79, 1999, s. 1141-1144. ISSN 00225142.
- [53]HALÁSZ, A., Á. BARÁTH, L. SIMON-SARKADI, W. HOLZAPFEL. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science*. 1994, vol. 5, issue 2, s. 42-49.
- [54]KOMPRDA, T., R. BURDYCHOVÁ, V. DOHNAL, O. CWIKOVÁ, P. SLÁDKOVÁ a H. DVOŘÁČKOVÁ. Tyramine production in Dutch-type semi-hard cheese from two different producers. *Food Microbiology*. 2008, vol. 25, issue 2, s. 219-227
- [55]NOVELLA-RODRIGUEZ, S., M. T. VECIANA-NOGUES, M. IZQUIERDO-PULIDO, M.C. VIDAL-CAROU. Distribution of Biogenic Amines and Polyamines in Cheese. *Journal of Food Science*. 2003, vol. 68, issue 3, s. 750-756.
- [56]BUŇKOVÁ, L., F. BUŇKA, G. MANTLOVÁ, A. ČABLOVÁ, I. SEDLÁČEK, P. ŠVEC, V. PACHLOVÁ a S. KRÁČMAR. The effect of ripening and storage conditions on the distribution of tyramine, putrescine and cadaverine in Eidam cheese. *Food Microbiology*. 2010, vol. 27, issue 7, s. 880-888

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

SH	Soxhlet Henkela
BA	Biogenní aminy
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
PA	Polyaminy
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie
NaCl	Chlorid sodný
His	Histamin
Trp	Tryptamin
Tyr	Tyramin
Put	Putrescin
Kad	Kadarevin
Phe	Phenylethylamin
Spd	Spermidin
Spn	Spermin

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Fotografie vybraných vzorků v obalech – 300g bloček, 100g plátek, 2 plátky cca 100g.....	28
Obrázek 2: Vývoj pH, ve vzorcích (A-C) v době 1Z-8S, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	32
Obrázek 3: Vývoj pH ve vzorcích (D-E), v době 1Z-8S, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	32
Obrázek 4: Znázorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích A, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	36
Obrázek 5: Znázorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích B, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	36
Obrázek 6: Znázorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích C, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	37
Obrázek 7: Znázorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích D, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	37
Obrázek 8: Znázorňuje vývoj celkového obsahu BA (Tyr, Phe, Put) ve vzorcích E, kdy bloky zrály při teplotě 6-10°C v týdnu 1Z-3Z, naporcované výrobky byly skladovány při teplotě 6-8 °C v týdnu 1S-8S.....	38

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Vybrané šarže plátkových a blokových sýrů	28
Tabulka 2: Srovnání obsahů biogenních aminů po třech týdnech zrání s nejvyššími detekovanými hodnotami (mg/kg)	33