

Obsah biogenních aminů v ciderech na českém trhu

Bc. Marie Szczybrochová

Diplomová práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marie Szczybrochová**
Osobní číslo: **T16883**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Obsah biogenních aminů v ciderech na českém trhu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte cider jako výrokovou skupinu a stručně popište technologii výroby.
2. Stručně charakterizujte biogenní aminy.
3. Zabývejte se faktory, které ovlivňují výskyt biogenních aminů v ciderech.

II. Praktická část

1. Odeberte nejméně 50 vzorků ciderů z českého trhu a založte skladovací pokus.
2. Provedte stanovení obsahu BA ve vzorcích ciderů na počátku a konci skladování.
3. Výsledky vyhodnoťte a vyvodte závěry.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 110/2008 ze dne 15. ledna 2008 o definici, popisu, obchodní úpravě, označování a ochraně zeměpisných označení lihovin a o zrušení nařízení Rady (EHS) č. 1576/89 Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb., kterou se provádí Ů 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní lih, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí

[2] BUŇKA, František, Pavel BUDINSKÝ, Markéta ČECHOVÁ, Viliam DRIENOVSKÝ, Vendula PACHLOVÁ, Dagmar MATOULKOVÁ, Vlastimil KUBÁŇ a Leona BUŇKOVÁ. Content of biogenic amines and polyamines in beers from Czech Republic. *Journal of the Institute of Brewing* (online). 2012, 118(2), 213-216 (cit. 2016-12-02). DOI: 10.1002/jib.31. ISSN 00469750. Dostupné z : <http://doi.wiley.com/10.1002/jib.31>.

[3] JL ORDÓÑEZ, AM TRONCOSO, MDC GARCÍA-PARRILLA, RM CALLEJÓN. Recent trends in the determination of biogenic amines in fermented beverages A review. *Volume 939*(online). 5 October 2016, Pages 10-25. Dostupné z : www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267016308819

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. František Buňka, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Miček, 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

.....

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 nevydělčně 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). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

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

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

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá výskytem biogenních aminů v ciderech, které jsou dostupné na českém trhu. Biogenní aminy jsou nízkomolekulární dusíkaté látky, které vznikají dekarboxylací volných aminokyselin vlivem působení dekarboxylačních enzymů, které produkují některé druhy mikroorganismů.

V teoretické části byl charakterizován cider, legislativa vztahující se k ciderům a technologie výroby. Dále se teoretická část zaměřuje na základní vlastnosti biogenních aminů, jejich biologický význam, toxicitu, kontaminaci potravin a faktory ovlivňující jejich tvorbu.

V praktické části této práce byla pozornost věnována výskytu některým druhům biogenních aminů v ciderech během minimální doby trvanlivosti a následně po skončení této doby. Biogenní aminy byly v ciderech stanovovány pomocí derivatizační metody.

Přítomnost biogenních aminů byla detekována u všech analyzovaných vzorků s nejvyšším zjištěným množstvím $41 \text{ mg/l} \pm 2,2$. V průběhu skladování došlo ke zvýšení množství biogenních aminů téměř u všech vzorků, výjimkou byl putrescin, jehož obsah se u většiny hodnocených vzorků snižoval. Množství biogenních aminů zjištěných v závislosti na obsahu alkoholu u ciderů bylo nejvyšší u vzorků, které obsahovaly do 4,5 % (včetně). U pasterovaných vzorků bylo zjištěno vyšší množství biogenních aminů oproti nepasterovaným vzorkům. V případě sířených vzorků byl detekován vyšší obsah biogenních aminů než u vzorků nesířených.

Klíčová slova: biogenní aminy, dekarboxylace, cider, doba minimální trvanlivosti

ABSTRACT

This work deals with biogenic amines in ciders, which are available on czech market. Biogenic amines are low molecular nitrogenous substances that are created by decarboxylation of free amino acids under effect of decarboxylation enzymes, which are producing some kinds of /which are produced by some kinds of microorganisms.

In a theoretical part were characterized a cider, legislation and technology of producing. Furthermore, the theoretical part focuses on basic behaviours of biogenic amines, their

biological significance, toxicity, contamination of food and factors influencing their production.

In a practical part of this work was an attention paid to existence of some of biogenic amines in ciders throughout their expiration date and then after that. Biogenic amines in ciders were specified by a derivatization method.

Existence of biogenic amines was detected in all analyzed samples with the highest amount of $41 \text{ mg/l} \pm 2,2$. During storage there was a rise of amount of biogenic amines almost in every sample, the only exception was putrescine. Its content was decreasing in most of the samples. The amount of biogenic amines found in relation to content of alcohol in ciders was highest in samples containing $\leq 4,5\%$ of alcohol. As for pasteurized samples, there was found a higher number of biogenic amines against unpasteurized samples. In case of sulphurous samples was detected a higher content of biogenic amines than in non-sulphurous samples.

Keywords: biogenic amines, decarboxylation, cider, minimum durability

Tímto bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce panu prof. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D., za cenné rady, připomínky a nekonečnou dávku trpělivosti při psaní diplomové práce.

Ráda bych poděkovala všem pracovníkům Ústavu technologie potravin, kteří mi pomohli, zejména pak paní Ing. Ludmile Zálešákové za rady a pomoc v laboratoři.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině, která mě během celého studia podporovala, zejména pak při sepisování diplomové práce.

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

OBSAH

1	ÚVOD	11
I	TEORETICKÁ ČÁST	12
2	CIDER A JEHO CHARAKTERISTIKA	13
2.1	CIDER V ČR A EVROPĚ	13
2.2	CIDER V AMERICE A AUSTRÁLII	14
3	TECHNOLOGIE VÝROBY CIDERU	15
3.1	VÝBĚR ODRŮD JABLEK A JEJICH SBĚR	15
3.2	ZPRACOVÁNÍ JABLEK	18
3.3	ANALÝZA JABLEČNÉ ŠŤÁVY	19
3.4	ZPRACOVÁNÍ JABLEČNÉ ŠŤÁVY	20
3.5	FERMENTACE JABLEČNÉ ŠŤÁVY	22
3.6	FINÁLNÍ ÚPRAVY CIDERU	22
3.7	MIKROORGANISMY VYSKYTUJÍCÍ SE V CIDERU	24
4	BIOGENNÍ AMINY	26
4.1	VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ	27
4.2	BIOLOGICKÝ ÚČINEK BIOGENNÍCH AMINŮ	27
4.3	TOXICKÝ ÚČINEK BIOGENNÍCH AMINŮ	27
4.4	MIKROORGANISMY PRODUKUJÍCÍ BIOGENNÍ AMINY	29
4.5	FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ MNOŽSTVÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	29
4.6	BIOGENNÍ AMINY A SOUVISEJÍCÍ MIKROORGANISMY V CIDERECH	31
II	PRAKTICKÁ ČÁST	35
5	CÍL PRÁCE	36
6	MATERIÁL A METODIKA PRÁCE	37
6.1	CHARAKTERISTIKA VZORKŮ	37
6.2	ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ A STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	39

7	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	41
7.1	OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ U NEALKOHOLICKÝCH CIDERŮ	41
7.2	OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ U CIDERŮ S OBSAHEM ALKOHOLU DO 4,5%	43
7.3	OBSAH BIOGENNÍCH AMINU U CIDERŮ S OBSAHEM ALKOHOLU OD 4,6 – 7,7%.....	47
7.4	VLIV PASTERACE NA OBSAH BA U CIDERŮ	51
7.5	VLIV SÍŘENÍ NA OBSAH BA U CIDERŮ	58
7.6	DISKUSE	65
	ZÁVĚR	70
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	71
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	81
	SEZNAM OBRÁZKŮ	82
	SEZNAM TABULEK.....	83

1 ÚVOD

Diplomová práce na téma Biogenní aminy v ciderech na českém trhu se zabývá charakteristikou cideru jako potravinové komodity a jeho technologií výroby, výskytem biogenních aminů, biologickými účinky v organismu, mikroorganismy produkujícími biogenní aminy, faktory, které ovlivňují jejich tvorbu a vlastním stanovením biogenních aminů.

Cider neboli zkvašený jablečný nápoj může mít odlišný název podle místa původu. Ve Francii jej označují jako cidre [sidr], ve Španělsku „sidra“, v Americe „hard cider“. Cider lze přirovnat k ovocnému vínu, kde výchozí surovinou namísto vinné révy byla jablka. Cider se do podvědomí lidí dostával postupně a v posledních letech zažívá velký nástup na oblíbenosti. Tento nápoj má na českém trhu široké zastoupení jak průmyslově vyráběných ciderů, tak i ciderů, které vyrábějí drobní výrobci s různým zastoupením příchutí, obsahem alkoholu nebo podílem jablečné a hruškové šťávy.

Biogenní aminy (BA) lze charakterizovat jako nízkomolekulární dusíkaté organické látky se značnou biologickou aktivitou. V lidském těle, těle živočichů a rostlin mají fyziologické funkce, které jsou nepostradatelné pro život a správné fungování organismu. Slouží jako prekurzory pro syntézu hormonů, nukleových kyselin nebo proteinů.

Malé koncentrace biogenních aminů nemají na zdravého jedince významný vliv, ovšem při dlouhodobé a stálé konzumaci vyšších koncentrací biogenních aminů, může dojít ke zhoršení zdravotního stavu daného jedince. Předávkování biogenními aminy se může projevit několika způsoby, např. hypertenzí (zvýšení krevního tlaku), nucením na zvracení, tachykardií (zvýšení srdeční činnosti), bolestí hlavy aj.

Vyšší koncentrace biogenních aminů jsou pozorovány u potravin, u kterých je činností mikroorganismů s dekarboxylačním enzymem způsobena dekarboxylace aminokyselin. Mikroorganismy se schopností dekarboxylace jsou zpravidla kontaminující mikroflórou nebo startovací kulturou.

Obsah biogenních aminů v ciderech se odvíjí od kvality zpracovávané suroviny, technologií výroby (teplota, přístup kyslíku, přítomnost solí, pH, použití startovacích kultur s dekarboxylázovou aktivitou), hygienou výroby a dobou skladování.

Často používanou metodou pro stanovení biogenních aminů v potravinách je vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

I. TEORETICKÁ ČÁST

2 CIDER A JEHO CHARAKTERISTIKA

Cider se obecně považuje za nápoj vyrobený z jablek. V Evropě se pod pojmem cider označuje alkoholický nápoj získaný z jablek s obsahem alkoholu v rozmezí 1,2 – 8,5 % objemových (LEA and PIGGOTT, 2003). Celosvětově se druhy ciderů odlišují různým obsahem alkoholu. Nelze zcela říci, kdo se zasloužil o objevení tohoto nápoje (WATSON, 1999).

2.1 Cider v ČR a Evropě

Cider je v České republice definován vyhláškou č. 248/2018 jako nápoj, který vznikl částečným nebo úplným alkoholohovým kvašením čerstvé, sušené nebo zakonzentrované jablečné šťávy, ke které byla v průběhu výroby přidána voda. Přidání vody, cukru nebo hruškové šťávy může být maximálně 25% objemových, a to i před nebo po kvašení. Přídavek přírodních aromatických látek a regulátorů kyselosti je povoleno. Po kvašení lze přidat čerstvou nebo koncentrovanou jablečnou šťávu. Obsah oxidu uhličitého je možné upravit přidáním, částečným nebo úplným odstraněním.

Obsah alkoholu u cideru nebo perry je stanoven vyhláškou č. 248/2018 v příloze č. 5, kdy obsah alkoholu musí být minimálně 1,2 a maximálně 8,5 ethanolu objemových %. Obsah cukru není nijak stanoven. Koncentrace těkavých kyselin je povolena v maximálním množství 1,4 g/l. Podíl ovocné šťávy při výrobě 1000 l cidru musí být minimálně 600 l, v případě hruškové perry je toto množství 800 l na 1000 l perry (ANONYM, 2018a).

Mimo směs použitých jablek pro výrobu cideru se na jeho aroma podílí další faktory, včetně způsobu drcení a lisování, zralosti a kondici dané odrůdy jablek, přidání jablečného koncentrátu nebo rafinovaného cukru (LE QUERE et al. 2006).

Základní rozdělení ciderů je na sladká, suchá, šumivá, šampaňská nebo karbonizovaná. Francouzský cider je ve srovnání s produkcí anglického cideru vyráběn přirozenějším způsobem. Vzhledem k různým technologickým metodám má francouzský cider více ovocnější chuť oproti anglickému cideru, který má vyšší obsah alkoholu (DOWNING, 1989). Ovocné aroma francouzského cideru je často výsledkem použití metody „defecation“, kdy jsou pektiny a jiné substance odděleny od moštu přidáním malého množství soli, uhličitanu vápenatého nebo chloridu vápenatého (WATSON, 2013).

Podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 110/2008 v příloze č. 2, kde je definován destilát ze cidru nebo perry získaný destilací cidru nebo perry na méně než 86 % objemových. Obsah těkavých látek v množství nejméně 200 g na hektolitr ethanolu o koncentraci 100 % objemových. Množství methanolu je stanoveno na 1000 g na hektolitr ethanolu o koncentraci 100 % objemových. Přídavek alkoholu, i zředěného je zakázáno. Aromatizace destilátu ze cidru nebo perry není povolena. Pro úpravu zbarvení destilátu ze cidru nebo perry je povoleno použití karamelu (ANONYM, 2018b).

2.2 Cider v Americe a Austrálii

V Severní Americe a Austrálii se pojem cider používal pro nezkvašený jablečný mošt, zatímco označení „hard cider“ daleko více odpovídalo nápojům ze západní Evropy (LEA and PIGGOTT, 2003).

Během let 1870 až 1892 došlo k velkému nárůstu konzumace cideru. Velký úpadek cideru byl způsoben díky dvěma faktorům a to: nárůstem konzumace piva a prohibicí (HOLZ-CLAUDE, 2003). V roce 1919, kdy začala prohibice klesla produkce cideru na 13 miliónů galonů oproti roku 1899, kdy se vyrábělo kolem 55 miliónů galonů (WATSON, 1999). Dnes cider zažívá velký návrat ve většině zemí. Dochází k nárůstu výroby a konzumace (ROWLES, 2000). Pro svou velkou oblibu byl označován jako nápoj budoucnosti (MERWIN et al. 2008).

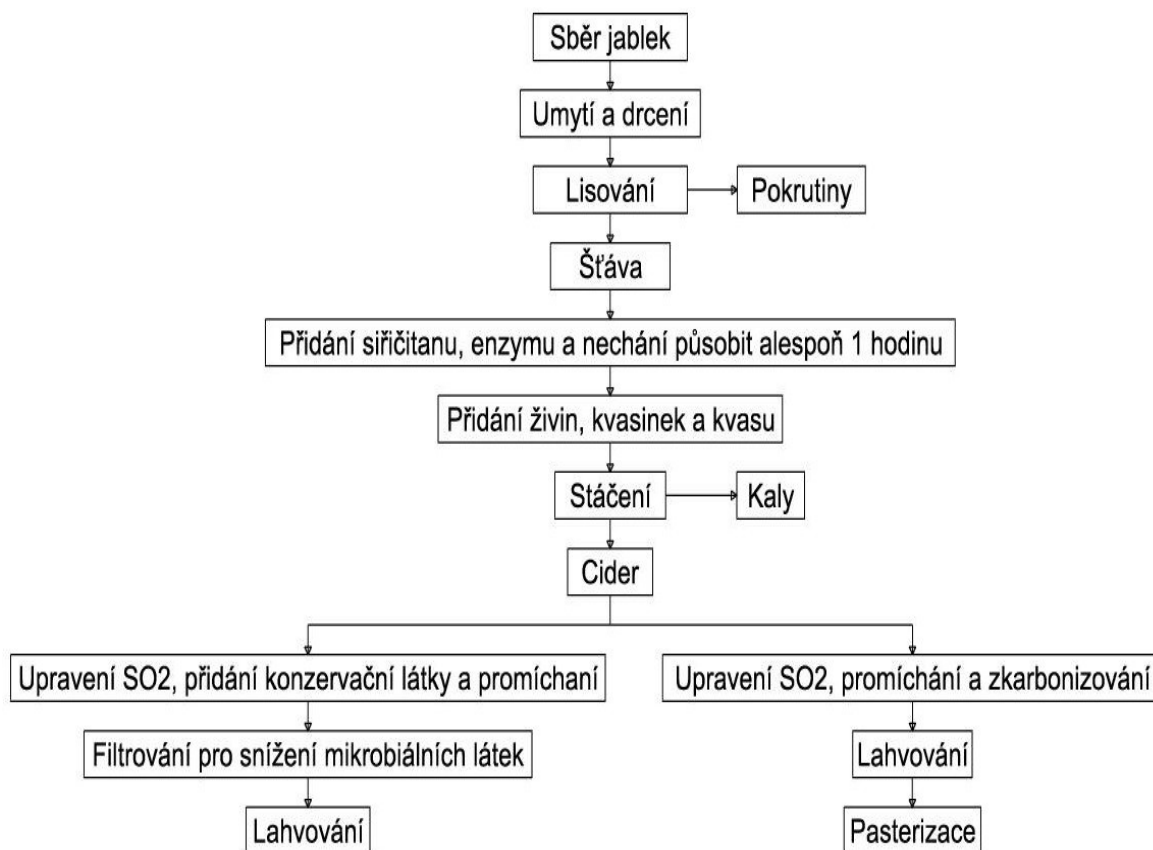
V Austrálii je jako cider nebo perry označován nápoj, který byl vyroben částečným nebo úplným zkvašením jablečné nebo hruškové šťávy, ke které během výroby nebyl přidán ethanol z žádného jiného zdroje, neobsahuje žádnou přidanou tekutinu (mimo vodu, jablečný či hruškový mošt) za účelem získání barvy nebo aroma (ANONYM, 2018c).

Cider nebo hrušková perry spadá do podskupiny ovocného vína, které musí splňovat určité parametry. Poměr jablečné a hruškové šťávy musí být 75:25 pro cider a naopak pro perry. Je povoleno přidávat jiné ovoce či zeleninu, cukr, med, alkohol, koření nebo obilí s tím, že musí být zachován minimální obsah 700 ml/l původně použité suroviny (ANONYM, 2018d).

V australské legislativě se pod pojmen cider rozumí ovocné víno, které bylo připraveno z jablečného džusu nebo moštu jablek, jablek nebo hrušek, kdy je povoleno 25% hruškové šťávy nebo hrušek (ANONYM, 2018d).

3 TECHNOLOGIE VÝROBY CIDERU

Samotná technologie výroby cideru zahrnuje jednotlivé kroky, které na sebe navazují. Je důležité dbát na to, aby jednotlivé úkony byly provedeny správně a tím byla zajištěna zdravotní nezávadnost a požadovaná kvalita cideru. Proces výroby cideru je uveden (viz. obrázek č.1).



Obrázek č. 1 Schéma procesu výroby cideru moderním způsobem (VALOIS, 2007).

3.1 Výběr odrůd jablek a jejich sběr

Správný výběr odrůdy jablek pro výrobu cideru přímo ovlivňuje výsledný produkt. V zemích, které jsou výrobou cideru proslulé, mají speciálně vyšlechtěné odrůdy jablek s vysokým obsahem kyselin a taninů oproti jiným odrůdám (DOWNING, 1989). Lze také používat druhy jablek, které jsou z různých důvodů nevhodná pro přímý prodej (JOSHI and SHARMA, 2009). Z velkosadů jsou produkována jablka s nižší cukernatostí a vyšším

obsahem dusíkatých látek. Sladší a chutnější plody jsou získávány ze starších stromů. Pro výrobu cideru lze také použít jablka se strupovitostí, díky které mají vyšší podíl cukru, ovšem lze z nich získat méně šťávy (JOLICOEUR, 2013). Jablka jsou ze stromů nejčastěji sklízena třesením, kdy zralá jablka padají do plachet nebo sítí, které jsou rozprostřeny pod stromy (BUGLASS, 2011).

Jablka pro výrobu cideru jsou rozdělena do 4 kategorií (CIDER ADVISORY COMMITTEE, 1956):

1. Hořkosladká (vysoký obsah taninů, nízký obsah kyselin)
2. Hořkoostrá (vysoký obsah taninů, vysoký obsah kyselin)
3. Ostrá (nízký obsah taninů, vysoký obsah kyselin)
4. Sladká (nízký obsah taninů, nízký obsah kyselin)

Z hořkosladkých a hořkoostrých odrůd jsou získávány tělnatější cidery. Plnost ciderů a krémový pocit v ústech je dán viskozitou, což je žádoucí. Méně viskózní cidery působí „tence“ a vodnatě. Chudé cidery mají méně výrazné aroma a proto jsou využívány pro výrobu šumivých ciderů (MORGAN and RICHARDS, 1993). Hořkosladké odrůdy mají vyšší obsah taninů. Hořkost je dána přítomností „tvrdých“ tříslovin. Svíravost je způsobena „měkkými“ tříslovinami (MERWIN ET AL, 2008). Cidery vyráběné v Anglii nejčastěji obsahují 40 % podíl jablek odrůd bittersweet, 30 % bittersharp a 10 % sweet (JOLICOEUR, 2013).

Hořkosladké odrůdy ciderů v Anglii obsahují více než 2 g/l tříslovin, ve Francii tyto odrůdy obsahují 2 – 3 g/l tříslovin a ve Španělsku mají hořkosladké odrůdy obsah tříslovin 1,45 – 2 g/l (viz. tab. č. 1, 2 a 3).

Tabulka č. 1 Kategorie cideru v Anglii (JOLICOEUR, 2013)

Kategorie	Obsah kyseliny jablečné (g/l)	Obsah tříslovin (g/l)
Sharp (Trpká)	více než 4,5	méně než 2
Bittersharp (hořkotrpká)	více než 4,5	více než 2
Bittersweet (hořkosladká)	méně než 4,5	více než 2
Sweet (sladká)	méně než 4,5	méně než 2

Rozdělení ciderů ve Francii je obdobné tomu anglickému, nicméně jsou zde další dvě kategorie a to nakyslá a hořkokyselá (viz. tabulka č. 2). Zastoupení jednotlivých odrůd se odvíjí od požadovaných vlastností vyrobeného cideru. Nejčastěji je francouzský cider složen 10 % amére, 40 % douce, 40 % douce amére a 10 % aigre nebo acidullée (viz. tab. č. 2 s českými ekvivalenty; JOLICOEUR, 2013).

Tabulka č. 2 Kategorie cideru ve Francii (JOLICOEUR, 2013)

Kategorie	Obsah kyseliny jablečné (g/l)	Obsah tříslovin (g/l)
Douce (sladká)	méně než 4	méně než 2
Douce amére (hořkosladká)	méně než 4	2 – 3
Amére (hořká)	méně než 4	více než 3
Acidullée (nakyslá)	4 – 6	méně než 2
Aigre (kyselá)	více než 6	méně než 2
Aigre amére (hořkokyselá)	více než 6	více než 3

Španělsko patří k největším evropským producentům cideru, ačkoliv za svými hranicemi příliš známý není. Standartní sidra de Asturias je složen přibližně ze 40 % jablek z kategorie acida, 25 % semiacida, 15 % dulce amarga (JOLICOEUR, 2013).

Tabulka č. 3 Kategorie cideru ve Španělsku (JOLICOEUR, 2013)

Kategorie	Obsah kyseliny jablečné (g/l)	Obsah tříslovin (g/l)
Acida (kyselá)	Více 6,6	méně než 1,45
Semiacida (nakyslá)	4,9 – 6,6	méně než 1,45
Dulce (sladká)	méně než 4,9	méně než 1,45

Dulce amarga (hořkosladká)	méně než 4,9	1,45 – 2
Amarga (hořká)	méně než 4,9	více než 2

Z tabulek č.1, 2 a 3 je zřejmé, že nejvyšší množství kyseliny jablečné (g/l) obsahují cidery pocházející ze Španělska. Porovnáme-li kategorie sharp ($> 4,5$ g/l), aigre (> 6 g/l) a acida ($> 6,6$ g/l), tak jednoznačně kategorie acida převyšuje další dvě kategorie svým množstvím kyseliny jablečné, které je větší než 6,6 g/l. Zatímco má kategorie acida nejvyšší množství kyseliny jablečné, v obsahu tříslovin je na posledním místě s množstvím tříslovin menším než 1,45 g/l, kdy má kategorie sharp (< 2 g/l) a kategorie aigre (< 2 g/l).

3.2 Zpracování jablek

Před procesem drcení je nutné jablka umýt a odstranit zbytky listů, větviček, hmyzu, nežádoucích bakterií a zbytky postřiků. Je nutné odstranit všechna shnilá a zaplísněná jablka (PROULX and NICHOLS, 2003). Mytí jablek je vhodné zahrnout do procesu výroby, byla-li jablka sklížena ze země, rostla v prašném prostředí nebo pokud byly použity některé sprejové přípravky. V případě, že jablka byla sklížena ze stromů, není nutné je omývat protože se předpokládá jejich relativní čistota (JOLICOEUR, 2013). Mytí jablek se nejčastěji provádí v bubnových nebo kartáčových pračkách s teplotou vody nad 30 °C. Po vyprání následuje oplach studenou pitnou vodou alespoň po dobu 15 vteřin. Omytá jablka se nechají okapat (UHROVÁ, 2005).

Základním principem extrakce jablečného moštu je dezintegrace jablek na hmotu připomínající kaši, ze které vytéká mošt (PROULX and NICHOLS, 2003). Při drcení plodů je dobré věnovat pozornost semenům, která by neměla být příliš rozdrcená a nedocházelo tak k extrakci nežádoucích látek, např. tříslovin, amygdalinu (JOLICOEUR, 2013). Pro dobrou propustnost by hmota neměla být příliš homogenní. Pro minimalizaci zhnědnutí drti je nejlepší lisovat ihned po drcení (HANOUSEK, 2006).

Cílem lisování je získání jablečné šťávy, která se dále zpracovává. Po extrakci šťávy vzniká odpad, který se nazývá pokrutiny. Výlisky je možné používat jako krmivo pro zvířata nebo je lze přidat do kompostu (LEA, 2008). Některé pokrutiny je možné použít při výrobě pektinu (BUGLASS, 2011). Pro získávání šťávy z jablek existuje řada mlýnů a lisů, které ovlivňují účinnost extrakce tříslovin ze semen, slupky a celkovou kvalitu cideru

(LEA and DRILLEAU, 2003). Lisovací zařízení se rozdělují na diskontinuální a kontinuální podle objemu vyráběného cideru (LEA, 2008).

3.3 Analýza jablečné šťávy

Před samotným procesem kvašení je nutné provést analýzu získané šťávy. Při analýze se zjišťují hodnoty pH, titrační kyselost (TA= titrable acidity) a obsah cukru. Každý z těchto parametrů má specifické hodnoty pro získání bezpečného, stabilního a vysoce kvalitního cideru (MICHTELL, 2009).

pH hodnota jablečného moštu bývá zpravidla v rozmezí hodnot 3,3 – 3,7. Čím nižší tato hodnota je, tím stabilnější vůči mikrobiálnímu napadení mošt je. Mošt s vyšší hodnotou pH než je 3,7 bývá kontaminován mikroorganismy. Měření pH se provádí pH metrem, kdy je měřena koncentrace vodíkových iontů. Hodnotu pH je možné upravovat. Nejčastěji se tato hodnota upravuje mícháním různých moštů. Z ostrých odrůd jsou získávány mošty s pH okolo 3,3 nebo méně, ze sladkých a hořkosladkých odrůd se získávají mošty s hodnotou pH nad 4. Druhou možností jak upravit hodnotu pH je přidání potravinářských aditiv. Pro zvýšení hodnoty pH se používá přídavek CaCO_3 , např. přidání 1,2 g/l CaCO_3 sníží titrační kyselost asi o 0,1 %. Kyselina jablečná hodnotu pH snižuje, přídavkem 1 g/l se titrační kyselost zvýší cca o 0,1 %. Po přídavku těchto látek k moštu je nutné do dalšího měření počkat alespoň 2 hodiny (MICHTELL, 2009). Konečné pH a titrační kyselost přímo ovlivňují stabilizaci a životnost lahvovaného cideru. Nízká kyselost (pH > 3,8) může vést k růstu škodlivých mikroorganismů a vzniku off-flavors (JAKSON, 2000).

Dalším analyzovaným parametrem získané šťávy je titrační kyselost (g/l). Titrační kyselostí se stanovuje množství organických kyselin v jablečném moštu. Tato laboratorní metoda spočívá v neutralizaci organických kyselin pomocí NaOH, na základě jeho spotřeby je vypočítán obsah kyselin (HANOUSEK, 2006). Hlavní organickou kyselinou, která je zastoupena v jablečném moštu je kyselina jablečná. Její množství se pohybuje v rozmezí 0,1 – 1,4 %, v průměru však jablečný mošt obsahuje kolem 0,5 % kyseliny jablečné. (BEECH and CARR, 1977). Obsah kyselin ze získaných jablek dává cideru jablečnost a lze jej různě upravovat, např. přídavkem kyselin (nejčastěji jablečné kyseliny), neutralizací uhličitanem vápenatým nebo přídavkem umělých (zpravidla nefermentovatelných) nebo přírodních sladidel (DOWNING, 1989). Konečná kyselost má

také velký vliv na chuťový profil cideru, příliš vysoká kyselost může způsobit, že bude cider chutnat trpce, obvykle se kyselost upravuje přidáním cukru (JAKSON, 2000).

V neposlední řadě je důležité stanovit obsah cukru v moštu, který je zásadním faktorem ovlivňujícím obsah alkoholu ve finálním produktu. Obsah cukru v moštu je možné zjistit za použití refraktometru ($^{\circ}\text{Bx}$) nebo hustoměru (HANOUSEK, 2006). Počáteční hodnoty rozpustných pevných látek (především cukru) lze měřit za použití refraktometru nebo hydrometru a jsou přímo úměrné množství etanolu, který vzniká během fermentace. Během anaerobní fermentace jsou 2 g cukry přeměněny na 1 g ethanolu a 1 g oxidu uhličitého (BERRY and SLAUGHTER, 2003). V USA je podmínkou, aby počáteční obsah cukrů v moštu byl méně než 14 % pro získání cideru s obsahem alkoholu 7 % a méně. Tento produkt musí být označen jako jablečné víno. V potravinářských limitech pro Anglii jsou stanovena limitní množství pro použití nefermentovaných sacharidů jako je sorbitol nebo umělá sladidla (aspartam, acesulfam, sacharin, aj; MITCHELL, 2006). Obecně je však tendence k minimalizování nebo úplnému zakázání používání těchto sladidel v Evropě. Ve Francii je konečný obsah ethanolu méně než 4 %, tento obsah je regulován nařízeními (cidery s regionálním označením) nebo požadavky spotřebitelů (LEA and DRILLEAU, 2003).

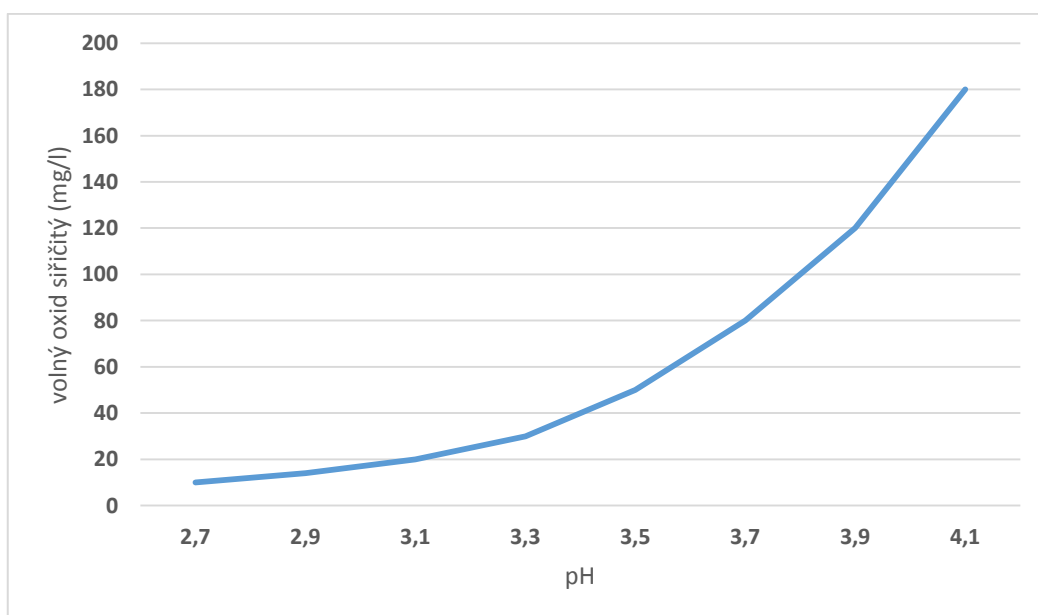
3.4 Zpracování jablečné šťávy

Pro skladování a následné zpracování jablečné šťávy je důležité zvolit správný materiál nádoby. Špatně zvolený materiál může způsobit znehodnocení celého objemu šťávy. Jablečná šťáva by neměla v žádném případě přijít do styku se železnými nebo měděnými nádobami protože dochází ke změně barvy a chuti (PROULX, NICHOLS, 2003). Odbarvení jablečných moštů (kromě normální zlato-oranžové barvy) je téměř vždy způsobeno přítomností kovů. Železo způsobuje černání a měď mění barvu na zelenější odstíny v důsledku reakcí mezi kovem, taninem v moštu a kyslíkem ve vzduchu. Dřevo bylo po mnoho let využíváným materiálem pro kvašení a skladovací kádě, nicméně dnes je dřevo považováno za těžce udržitelný materiál z hlediska čistoty a možné mikrobiální kontaminace, proto se dnes dává přednost modernějším alternativám (LEA, 2015). Skladovat a zpracovávat jablečnou šťávu je doporučeno v tancích z nerezové oceli, plastu a sklolaminátu. Fermentace nebo skladování je možné uskutečnit v tancích, ve kterých zrálá whiskey nebo rum, díky čemuž může cider získat typické aroma (PROULX, NICHOLS, 2003).

Před zahájením procesu kvašení je vhodné jablečný mošt upravit. Mošt je potřeba zbavit pektinových složek, které mohou během fermentace způsobovat vady cideru, např. tvorba gelu nebo vznik oparu. Pektiny jsou degradovány za působení pektolytických enzymů, které je potřeba přidat do moštu. Mezi nejčastěji používané enzymy patří, např. protopektinázy, pektin lyázy (PA), pektinesterázy (PE), které jsou nazývané také pektin methyl-esterázy (PME) (JOLICOEUR, 2013).

Pro mikrobiální stabilizaci jablečného moštu se používá přídavek oxidu siřičitého. Množství použitého oxidu siřičitého je dáno Nařízením Komise č. 1333/2008 a pro cider a perry je stanoveno na 200 mg/l (ANONYM, 2019b).

Siřičitany se vyskytují ve dvou formách a to ve formě vázané nebo volné. Vázané siřičitany se navazují na jiné chemické látky nebo na pevné součásti v jablečné dřeni, mikroorganismy nebo kaly, které obsahují živé i mrtvé kvasinky a bakterie. Volné siřičitany jsou nenavázané, proto mohou reagovat a podílet se na mikrobiální stabilizaci. Obsah volných siřičitanů před fermentací by měl být v rozmezí 50 – 150 mg/l v závislosti na pH a stavu ovoce. Důležité je sledovat obsah siřičitanů a nepřidávat jich příliš mnoho na počátku kvašení, protože by mohlo dojít k inhibici aktivity kvasinek a zpomalit tak celý průběh fermentace. Z obrázku č. 2 lze zjistit jaké množství volného oxidu siřičitého je zapotřebí při určité hodnotě pH jablečného moštu (MICHTELL, 2009).



Obrázek č. 2 Množství volného SO₂ při určité hodnotě pH (upraveno podle MICHTELL, 2009)

Z obrázku č. 2 je zřejmé, že se se zvyšujícím pH, tedy s klesající kyselostí jablečného moštu se zvyšuje množství přidaného volného siřičitanu pro zajištění mikrobiální stability. Naopak při nižších hodnotách pH, tedy se zvyšující se kyselostí klesá potřebný přírůstek volných siřičitanů, např. při hodnotě pH 3,1 se bude přírůstek volných siřičitanů pohybovat kolem 20 mg/l, naproti tomu při pH hodnotě kolem 4 bude přírůstek volných siřičitanů v množství kolem 150 mg/l.

3.5 Fermentace jablečné šťávy

Fermentace jablečného moštu může probíhat jako alkoholové kvašení, kdy je cukr přeměňován na ethanol za účinku kvasinek nebo jako malolaktická fermentace zajištěná bakteriemi mléčného kvašení během procesu zrání (JARVIS and LEA, 2000). Správný průběh fermentace bez vzniku různých vad chuti nebo jiných defektů, lze zajistit pomocí chemických či nutričních přísad, regulací teploty, snížením nežádoucí mikroflóry nebo inokulací čistou kulturní mikroflórou (BEECH and DAVENPORT, 1970; BEECH and CARR, 1977; LEA and DRILLEAU, 2003). Proces fermentace je zahájen za přítomnosti kyslíku zpravidla pár hodin po inokulaci kvasinkami (SINGH and SOOCH, 2009).

První fáze fermentace se projevuje intenzivním bubláním a pěněním na povrchu moštu. Jakmile je tato fáze ukončena je na víko sudu nainstalován uzávěr, díky kterému dojde k anaerobnímu průběhu fermentace a zajistí odvod vzniklého oxidu uhličitého. Rychlost fermentace závisí na mnoha faktorech, zejména však na použitém kmenu kvasinek, hustotě kvasinek, teplotě a koncentraci cukru (DOWNING, 1989). Optimální teplota fermentace závisí na použitém druhu kvasinek, zpravidla se pohybuje v rozmezí 12 – 18 °C (SINGH and SOOCH, 2009). Jakmile je hlavní fermentace u konce, zpravidla po 1 - 3 týdnech, začínají kvasinky sedimentovat na dně tanku a lze je lépe separovat přečerpáním do nového tanku (LEA, 1989). V průmyslové výrobě se využívá rychlejší a efektivnější odstranění biomasy za pomoci odstředivek (JOSHI and SHARMA, 2009).

3.6 Finální úpravy cideru

Po skončení fermentace musí být cider stočen, vyčištěn a filtrován pro odstranění kalů, kvasinek a dalších mikroorganismů předtím než bude lahvován (MITCHELL, 2006).

Během zrání dochází k pročištění cideru usazováním částic a k zintenzivnění chuti přírodními chemickými reakcemi, např. polymerací polyfenolů. Úspěšný průběh zrání lze zajistit pomocí několika kroků, kterými se dá předcházet kontaminaci a oxidaci. Cider je mnohem více náchylnější k oxidaci než víno. Oxidací může dojít ke tvorbě nežádoucích látek, např. acetaldehydu, ethyl-acetátu nebo kyseliny octové. Nejjednodušší prevencí proti oxidaci je udržování tanků se ciderem v plně naplněném stavu bez vzduchových prostorů. Malolaktická fermentace přeměňuje jablečnou kyselinu na kyselinu mléčnou. Může probíhat kontrolovaně nebo spontánně.

Vedení malolaktické fermentace výrobci používají pro snížení kyselosti, zlepšení pocitu v ústech a změně aroma cideru. Malolaktická fermentace může snižovat obsah organických kyselin až na nepřijatelnou úroveň a způsobovat vady chutě (ILLAND et. al., 1993; ZOECKLEIN et. al., 1995). Doporučuje se alespoň jednou měsíčně kontrolovat obsah volného SO₂, který by měl být v rozmezí 20 – 40 mg/l v závislosti na pH. Jakmile je cider čistý a bez vad chuti lze jej dále zpracovávat (MITCHELL, 2007).

Karbonizace může probíhat dvěma způsoby a to vnějším přidavkem CO₂ pod tlakem nebo přidavkem malého množství cukrů a kvasinek během lahvování (ALONSO-SALCES et. al., 2004). Přídavek cukru se pohybuje kolem 4 g/l. Zvýšenou pozornost je nutné věnovat výběru lahví do kterých bude cider stáčen, doporučují se láhve určené pro šampaňské, které mají větší odolnost vůči tlaku (MITCHELL, 2007). Vnější sycení cideru lze provést vstřikováním CO₂ do skladovací nádrže nebo do každé láhve před uzavřením. Aby byl produkt stabilní po celou dobu skladování, musí být cider se zbytkovým cukrem tepelně ošetřen nebo musí být přidány konzervační látky jako SO₂ nebo sorbát draselný, díky kterým se zabrání refermentaci nebo růstu mikroorganismů (LEA and DRILLEAU, 2003).

Filtrace se provádí za získáním čistého a jasného cideru a také aby se zabránilo usazování sedimentu na dně láhve. K filtraci menších objemů lze použít filtrační papír nebo hustou bavlněnou tkaninu a nálevku. Jinak se k filtraci používají naplavovací filtry, které se odlišují svou velikostí. Filtrační hmota je tvořena lisovanými celulozovými deskami, které jsou vloženy mezi vstupní a výstupní komory (UHROVÁ, 2002)

Pasterizace je proces, kdy dochází k zahřevu kapaliny za účelem zničení nežádoucí mikroflóry a neutralizaci nefermentovaného cukru, čímž se předchází případné refermentaci. Pasterizace se provádí dvěma způsoby a to: pasterizací v láhvi nebo bleskovou pasterizací. Pasterizace v láhvi je nejběžnější metodou tepelného ošetření cideru,

kteřá eliminuje problémy s případnou rekontaminací, díky tepelnému ošetření uzavřené láhve. Blesková pasterace se provádí velmi rychlým zahřevem cideru na pasterizační teplotu díky průchodu úzkým potrubím pastéru. Při bleskové pasteraci je důležité aseptické plnění cideru do lahví, kterým se zabrání rekontaminaci a následné fermentaci a případné explozi láhve (MITCHELL, 2009).

3.7 Mikroorganismy vyskytující se v cideru

Nízká hodnota pH limituje růst řady mikroorganismů. Obvykle se vyskytují kvasinky, plísně, bakterie mléčného kvašení a bakterie octového kvašení jsou schopné množit se při nízkých hodnotách pH cideru. Nejčastěji se vyskytujícími mikroorganismy v cideru jsou znehodnocující, patogenní mikroorganismy a organismy podílející se na fermentaci.

Při tradiční výrobě cideru dochází ke spontánní fermentaci díky přítomnosti přirozené mikroflóry na ovoci nebo zařízení. Na spontánním kvašení jablečného moštu se nejčastěji podílejí kvasinky rodů *Saccharomyces*, *Kloeckera*, *Candida* a *Pichia*. V přítomnosti nedostatečné koncentrace divokých kvasinek může docházet k rozvoji nežádoucí mikroflóry v cideru a často vznikají vady chuti nebo může být cider pro konzumenta nebezpečný. Pro standardizovanou fermentaci se proto dnes využívají kulturní kmeny kvasinek, které se vyznačují rychlostí fermentace bez produkce nežádoucích sloučenin, tolerancí k vysokému obsahu alkoholu, cukru, siřičitanu a nízkou úrovní mutace (DOWNING, 1989).

Za přeměnu cukrů na ethanol během procesu fermentace jsou zodpovědné kvasinky patřící do třídy *Saccharomycetes* (RAINIERI and ZAMBONELLI, 2009). Pro výrobu cideru se dnes běžně využívají kmeny kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisiae* (LEA, 1989). V případě, že je jablečný mošt ošetřen siřičitanem, se na fermentaci primárně podílejí kmeny *Saccharomyces* ssp., zejména pak *S. cerevisiae* (JARVIS, 1999).

Nežádoucí mikroorganismy mají nepříznivý vliv na kvalitu ovocných vín a mohou je úplně znehodnotit. Kontaminujícími kvasinkami jsou následující rody *Candida*, zejména pak druh *Candida mycoderma*, méně pak kvasinky rodu *Pichia*, *Hansenula* a *Torulopsis* se podílejí na křisovatění ovocného vína, což je způsobeno nízkým obsahem ethanolu a dostatečného přísunu vzduchu. *Candida mycoderma* může rozkládat ethanol na vodu a CO₂, přičemž může vznikat i kyselina mravenčí, kyselina máselná a acetaldehyd. Mezi původce máselného, mléčného či manitového kvašení patří heterofermentativní mléčné

bakterie druhu *Lactobacillus gracile* a *Lactobacillus buchneri*. Přítomnost těchto bakterií způsobuje vady chuti, např. chuť po kyselém zelí nebo mohou mít nepříjemně nasládlou chuť, způsobenou přítomností manitu (UHROVÁ, 2002).

4 BIOGENNÍ AMINY

Biogenní aminy jsou nízkomolekulární dusíkaté báze, které mohou způsobovat otravu jídlem, jsou-li přijímány ve větším množství nebo jsou katabolické mechanismy potlačeny nebo jsou geneticky nedostatečné (SILLA, 1996). Aminy obvykle v potravinách vznikají dekarboxylací aminokyselin. Dekarboxylační proces může být katalyzován dvěma biochemickými cestami. První z nich je katalyzována přirozeně se vyskytujícími endogenními aminokyselinovými dekarboxylásami přítomnými v živočišných nebo rostlinných buňkách a druhá z nich je způsobena exogenními enzymy produkovány různými mikroorganismy za příznivých podmínek (HALÁSZ et. al., 1994). Exogenní biogenní aminy pocházejí z dekarboxylás vylučovaných mikroorganismy, které se přirozeně vyskytují v potravinářských produktech, jsou způsobeny kontaminací, nebo jsou přidány jako startovací kultury. Enzymatický dekarboxylační proces závisí na několika faktorech, jako je dostupnost substrátu ve volné formě, přítomnost mikroorganismů produkujících dekarboxylázy a podmínky prostředí (pH, teplota, aerobní a anaerobní prostředí, atd.). Volné aminokyseliny se vyskytují přirozeně v potravě nebo vznikají proteolýzou jak endogenními proteázami v syrových produktech, tak mikrobiálními enzymy (DANQUAH et. al., 2012).

V surovinách pro výrobu potravin a v potravinách vznikají převážně působením hnilobných bakterií a některých bakterií mléčného kvašení, jejichž dekarboxylační enzymy odštěpují karboxyl z aminokyselin. Takto vzniká histamin z histidinu, tyramin z tyrosinu, 2-fenylethylamin z fenylalaninu, tryptamin z tryptofanu a kadaverin z lysinu (KALÁČ a KRÍŽEK, 2005).

Biogenní aminy se rozdělují podle chemické struktury na alifatické, kam patří kadaverin (CAD), spermidin (SPD), spermin (SPM), agmantin (AGM) a putrescin (PUT). Dále pak na aromatické, kam se řadí tyramin (TYR) a fenylethylamin (PEA). A dále se biogenní aminy rozdělují na heterocyklické, kde patří tryptamin (TR) a histamin (HIS; KOMPRDA, 2004).

Biogenní aminy a polyaminy (PA) byly dříve označovány jako jedna skupina látek, nyní jsou však rozdělovány do dvou skupin, které se liší vznikem a biologickým účinkem. Polyaminy jsou bazické sloučeniny s alifatickou strukturou, které se nacházejí ve všech živých organismech a uplatňují se při růstu buňek a proliferaci. Mezi polyaminy se řadí

putrescin, spermidin, spermin a agmantin (LARQUÉ, SABATER-MOLINA, ZAMORA, 2007).

4.1 Výskyt biogenních aminů

Přítomnost biogenních aminů v potravinách lze očekávat v případě, že potraviny obsahují aminokyseliny, mikroorganismy s dekarboxylační aktivitou a prostředí vhodné pro množení mikroorganismů (KOMPRDA, 2004). Biogenní aminy se vyskytují v mnoha typech potravin a nápojů s různou koncentrací. Nejčastěji se vyskytují v rybách, rybích výrobcích, mase, mléčných produktech, zelenině, víně, cideru nebo pivu (SUZZI and GARDINI, 2003; SPANO et. al., 2010). Vysoké hladiny biogenních aminů mohou obsahovat fermentované potraviny nebo potraviny, které byly vystaveny mikrobiální kontaminaci během procesu výroby či skladování (ALI, 1996).

4.2 Biologický účinek biogenních aminů

Biogenní aminy se podílejí na stabilizaci buněčné membrány, imunitních funkcích a prevencí chronických onemocnění protože se účastní syntézy nukleových kyselin a proteinů (BJELAKOVIC et. al., 2017). Mohou působit jako regulátory růstu (spermin, spermidin a kadaverin), mediátory zánětu (histamin a tyramin) nebo jako nervové přenašeče (serotonin) (JAIRATH et. al., 2015; SOLEAS et. al., 1999).

4.3 Toxický účinek biogenních aminů

Nařízením Komise (ES) č. 2073/2005 jsou stanoveny limity pro histamin u produktů rybolovu z druhů ryb spojovaných pro vysoké množství histidinu zejména z čeledí *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Scombridae*, *Corynefenidae*, *Scombrosidae* a *Pomatomidae*, které je 100 mg/kg a u dvou vzorků z 9 je povoleno množství 200 mg/kg a pro produkty z ryb ošetřené enzymatickým zráním v láku, získané z druhů ryb spojovaných s vysokým množstvím histidinu má 200 mg/kg a u dvou vzorků z 9 je povoleno množství 400 mg/kg (ANONYM, 2019a).

U ryb navrhla americká FDA stanovení orientačního množství histaminu na 50 mg/kg. Australský a novozélandský potravinový kodex stanovil množství histaminu pro ryby a rybí produkty v maximálním množství 200 mg/kg (BREMER et.al., 2003).

Někteří autoři navrhují jiné limity pro biogenní aminy. Pro některé biogenní aminy navrhli Ten Brink et. al. (1990) a Santos (1996) maximální přípustné koncentrace, konkrétně pak u histaminu stanovili koncentraci na 100 mg/kg, pro tyramin 100 – 800 mg/kg, β -fenylethylamin 30 mg/kg a celkovou koncentraci určili na 1000 mg/kg..

Podle předchozí studie Nout (1994) se domnívali, že biogenní aminy (tyramin, histamin a fenylethylamin) nemají stejný toxický účinek a proto navrhli limit pro fermentované potraviny a to v koncentracích 50 – 100, 100 – 800 a 30 mg/kg pro histamin, tyramin a fenylethylamin nebo v celkové koncentraci 100 – 200 mg/kg. Pro součet vybraných biogenních aminů (histamin, tyramin, kadaverin a putrescinu) navrhli Shalaby (1996) a Valsamaki et. al. (2000) obsah 900 mg/kg

Ačkoli jsou biogenní aminy potřebné pro řadu biologických funkcí, jejich konzumace ve vysokých dávkách může vyvolat zhoršení zdraví. Po konzumaci potravin s nízkým obsahem biogenních aminů jsou ve střevě metabolizovány na méně aktivní formy působením aminoxidá a diaminooxidáz (LEHANE and OLLEY, 2000). V případě vyšších koncentrací biogenních aminů může docházet ke vzniku zdravotních obtíží, které se mohou projevit bolestmi hlavy, zvýšeným či sníženým krevním tlakem, bušením srdce, dýchacími potížemi nebo alergickými poruchami (SILLA, 1996). Histamin a tyramin mohou mít vazomotorní a psychoaktivní vlastnosti. Další aminy jako je putrescin, kadaverin a fenylethylamin mohou zvyšovat nežádoucí účinky histaminu (STRATON et. al., 1991). V případě intoxikace histaminem hovoříme o tzv. scombroid poisoning a intoxikace tyraminem je označována jako tzv. cheese reaction, kdy se klinické příznaky otravy projeví během 30 minut až několika hodin a vymizí během 24 hodin (ATTARAN and PROBST, 2002). Otrava histaminem se projevuje bolestmi hlavy, závratěmi, nevolností, zvracením, návaly horka, kopřivkou, svěděním, průjmy aj. (AMON et. al., 1999). Histamin je nečastějším aminem způsobující otravy z potravin. Toxicita histaminu závisí na přijaté dávce z potraviny, přítomnosti jiných aminů, aktivitě aminooxidáz a stavu střeva (ADAMS and NOUT, 2001). V případě otravy tyraminem dochází k uvolnění katecholaminů ze sympatického nervového systému a nadledvin. Toto uvolnění katecholaminů může způsobit zvýšení krevního tlaku a srdeční frekvence (LADERO et. al., 2010).

4.4 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Enzym dekarboxyláza se vyskytuje u řady mikroorganismů, které mohou být přirozenou součástí potravin nebo mohou být do potravin zavlečeny před nebo během zpracování. Ve fermentovaných potravinách mohou bakterie mléčného kvašení, které jsou přítomny v potravinách nebo jsou součástí startovacích kultur, přispívat k produkci biogenních aminů. V tomto ohledu je produkce biogenních aminů považována za negativní vlastnost startovacích, sekundárních nebo doplňkových kultur používaných při výrobě (CROW et. al., 2001; LONVAUD-FUNEL, 2001). Mezi bakterie mléčného kvašení, které mohou dekarboxylovat aminokyseliny v některých potravinách jako je zelenina, sýr, nápoje nebo fermentované maso patří, např. *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Lactococcus*, *Pedicoccus* a *Leuconostoc* (SPANNO et. al., 2010). Ve skutečnosti jsou bakterie mléčného kvašení zodpovědné za produkci putrescinu (ANCÍN-AZPILICUETA et. al., 2008). Ačkoli byl rod *Oenococcus oeni* zpočátku považován zodpovědným za akumulaci histaminu ve víně, nedávné studie ukázaly, že bakterie rodu *Lb. hilgardii* a *Pedicoccus parvulus* mohou mít stejné vlastnosti (LUCAS et. al., 2005; MORRENO-ARRIBAS and POLOM, 2008).

Mikroorganismy z čeledi *Enterobacteraceae* vykazují vysokou dekarboxylační aktivitu spojenou s produkcí putrescinu a kadaverinu. Na produkci biogenních aminů, zejména tyraminu se mohou podílet také bakterie mléčného kvašení, např. *Lactobacillus buchneri*, *Lbc. alimentarius*, *Lbc. reuteri*, *Lbc. farciminis*, *Lbc. plantarum*, *Lbc. sakei*, *Lbc. homohiochii*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lbc. acidophilus*. Dekarboxylační aktivita histidinu byla pozorována u *Staphylococcus* a *Micrococcus*. *Staphylococcus piscifermentans* a *Staphylococcus carnosus* z čeledi *Micrococcaceae* mohou mít zvýšenou činnost aminokyselinových dekarboxylás, díky čemuž může vznikat histamin, putrescin, kadaverin a 2-fenylethylamin. Produkovat biogenní aminy ve fermentovaných potravinách jsou schopné i některé druhy kvasinek (SUZZI and GARDINI, 2003). Ve fermentovaných nápojích jako je pivo či víno se na tvorbě biogenních aminů mohou podílet kvasinky rodu *Pedicoccus* (KOMPRDA, 2004).

4.5 Faktory ovlivňující množství biogenních aminů

Biogenní aminy se v potravinách vytvářejí díky dekarboxylační aktivitě enzymů bakterií a enzymů obsažených v potravinách. Produkci biogenních aminů lze tedy ovlivnit omezením

růstu bakterií nebo potlačením aktivity enzymů (BOVER-CID and HOLZAPFEL, 1999). Hlavními faktory prostředí ovlivňujícími mikrobiální aktivitu v potravinách jsou teplota, koncentrace soli a pH.

Teplota pohybující se v optimálních hodnotách růstu, podporuje buněčný růst a proliferaci, čímž se obecně podporuje tvorba biogenních aminů (MARCOBAL et. al., 2006). Množství vytvořených biogenních aminů je zpravidla uváděno v závislosti na teplotě a čase (ZAMAN et. al., 2009). Obecně platí, že tvorba biogenních aminů narůstá se zvyšující se teplotou. Na druhou stranu akumulace biogenních aminů se snižuje v závislosti na nízké teplotě vlivem snižujícího růstu mikroorganismů a aktivitě enzymů. Jako optimální teplota pro produkci biogenních aminů mezofilními bakteriemi je uváděno rozmezí teplot 20 °C a 37 °C. V případě snížené produkce biogenních aminů se uvádí teploty nad 40 °C a pod 5 °C (PACHLOVÁ et. al., 2012).

Aktivita dekarboxylačních enzymů je silnější v prostředí s pH mezi 4,0 až 5,5 (MARCOBAL et. al., 2006). Současně působí dva systémy, které souvisejí s pH. První systém inhibuje růst mikroorganismů vzrůstající kyselostí (MAIJALA et. al., 1993). Druhý ovlivňuje produkci a aktivitu enzymu, protože v prostředí s nízkým pH jsou bakterie stimulovány k produkci dekarboxylás jako svých obranných mechanismů proti kyselosti (FERNÁNDEZ et. al., 2007).

Přístup kyslíku má také významný vliv na produkci biogenních aminů. Bakterie rodu *Enterobacter cloacae* produkují přibližně poloviční množství putrescinu v anaerobním prostředí ve srovnání s aerobními podmínkami a *Klebsiella pneumoniae* produkuje významně méně kadaverinu, ale získává schopnost produkovat putrescin v anaerobním prostředí (HALASZ et al., 1994). Některé z bakterií mléčného kvašení pro svou metabolickou aktivitu vyžadují v prostředí přítomnost kyslíku. Některé, zejména laktobacily jsou mikroaerofilní, což znamená, že rostou v přítomnosti nižších koncentrací kyslíku. Při aerobních fermentacích je množství přítomného kyslíku jedním z limitujících faktorů (BATTCOCK and AZAM-ALÍ, 1998). Podle Smetánkové et. al. (SMERÁNKOVÁ et. al., 2012), kteří ve své studii porovnávali rychlost růstu a produkci kyseliny mléčné druhem bakterií *Lactobacillus plantarum* v aerobním a anaerobním prostředí. Z jejich studie vyplývá, že růst *Lbc. plantarum* byl rychlejší v aerobním prostředí oproti anaerobnímu, naopak produkce kyseliny mléčné byla vyšší v prostředí anaerobním. Podobné výsledky vyplývají i ze studie Fu a Mathewse (FU and MATHEWSE, 1999), kteří také porovnávali rychlost růstu *Lbc. plantarum* v aerobním a anaerobním prostředí.

Potravinářsky přídatné látky používané při výrobě fermentovaných produktů jsou také důležitými faktory ovlivňujícími produkci biogenních aminů. Jejich účinek závisí na několika faktorech (koncentrace, podmínky zpracování a další).

NaCl hraje podstatnou roli při mikrobiálním růstu, čímž zároveň ovlivňuje aktivitu dekarboxylás. Je-li koncentrace NaCl 3,5% schopnost produkce biogenních aminů *Lb. buchneri* je omezena a při 5% koncentraci je produkce zastavena (MAIJALA et. al., 1994). Koncentrace NaCl významně ovlivňovala produkci tyraminu rodem bakterií *Enterococcus faecium* při koncentraci do 3% (w/v), kdy působila jako akcelerátor, zatímco koncentrace 6% (w/v) snižovala tvorbu biogenních aminů (PLEVA et., al., 2012). Některé druhy koření a bylinek mají antimikrobiální vlastnosti. Hřebíček a skořice jsou uváděny jako inhibitory růstu bakterií a produkce biogenních aminů bakteriemi s malým účinkem (ADAMS and NOUT, 2001).

4.6 Biogenní aminy a související mikroorganismy v ciderech

Keller et. al. (2004) sledoval vliv odrůdy použitého ovoce, způsobu sklizně, třídění dle jakosti a skladování na nativní mikroflóru nepasterizovaného cideru. Vzorky byly analyzovány na přítomnost aerobních bakterií, plísní a kvasinek, kdy z jeho výsledků vyplývá, že způsob sklizení má vliv na koncentraci aerobních bakterií. V případě sklizení jablek ze země byla koncentrace přítomných mikroorganismů 4,89 log CFU/ml, oproti sklizni přímo ze stromů, kdy bylo množství mikroorganismů 3,45 log CFU/ml. Roztřídění podle jakosti vykazovalo snížení množství mikroorganismů o 2,88 log CFU/ml. Odrůdy s vyšší cukernatostí a vyšší titrační kyselostí vykazovaly nižší koncentrace mikroorganismů.

Podle Vallese et. al. (2007), který popisuje vliv technologie výroby cideru (srovnává tradiční a pneumatické lisování) na kvasinky, ve které byly studovány kolonie kvasinek získané ze cideru před a po kvašení. Moštům, pneumaticky lisovaným dominovaly kvasinky non-*Saccharomyces* (rod *Hanseniaspora* a *Metschnikowia pulcherrima*), zatímco v tradičně lisovaných se vyskytovaly kvasinky rodu *Saccharomyces* spolu s non-*Saccharomyces*. Z rodu *Saccharomyces* byly zejména přítomny kmeny *S. cerevisiae* a *S. bayanus*. Kmen *S. bayanus* byl vyzolován zejména na začátku a v průběhu fermentace, kdežto kmen *S. cerevisiae* na konci fermentace.

U jablečného moštu, který neprošel mikrobiologickou stabilizací po malolaktické fermentaci jsou za tvorbu biogenních aminů zodpovědné původně přítomné

heterofermentativní bakterií mléčného kvašení (GARAI et. al., 2007; COTON et. al., 2010; GARAI-IBABE et. al., 2013).

Studie Ladera et. al. (2010) zkoumala výskyt biogenních aminů u komerčně dostupných ciderů ze Španělska a Francie, kdy byl sledován odlišný profil vyskytujících se biogenních aminů a jejich koncentrace v závislosti na původu cideru. Dále byla pozorována spojitost mezi obsahem biogenních aminů a přítomností mikroorganismů produkujících biogenní aminy. Na základě tohoto byly ze vzorků ciderů izolovány bakterie produkující BA, včetně zjištění nového potenciálního producenta histaminu a putrescinu, kterým je *Lactobacillus paracollinoides*. Analýzou byly pozorovány jisté odlišnosti v distribuci a koncentraci BA. Ve vzorcích španělských ciderů byl nejvíce zastoupeným BA putrescin s nejvyšší koncentrací 34 mg/l⁻¹, následovaný kadaverinem v koncentraci 34 mg/l⁻¹ a tyraminem v koncentraci 7 mg/l⁻¹. Histamin byl detekován pouze u dvou vzorků s maximální koncentrací 16 mg/l⁻¹. Oproti tomu ve francouzských ciderech byl putrescin detekován pouze u dvou vzorků s maximální koncentrací 1 mg/l⁻¹. Histamin byl detekován u 9 vzorků v nízkých koncentracích 1 mg/l⁻¹ ± 1,71 mg/l⁻¹ a v maximální koncentraci 5 mg/l⁻¹. Nejčastěji se vyskytujícím BA byl tyramin, kdy se jeho koncentrace pohybovala v rozmezí 1 – 14 mg/l⁻¹, s průměrnou koncentrací 4,55 mg/l⁻¹ ± 5,05 mg/l⁻¹. Tato studie ukazuje na možnou spojitost mezi vyskytujícími se BA, použitou odrůdou jablek, procesem zpracování a přítomnou mikroflórou u porovnávaných vzorků. Původ BA v jablečném moštu může být výsledkem již přítomných BA v použité surovině nebo může být syntetizován během procesu výroby. Ve španělských vzorcích byl putrescin jediným BA identifikovaným v syrové hmotě. Jeho koncentrace se během zpracování nijak nenavýšovala v žádném ze vzorků. V případě francouzských vzorků byl tyramin, putrescin a histamin zjištěn ve většině vzorků od počátku malolaktické fermentace a nebyl pozorován žádný účinek na akumulaci BA. Ke zvýšení koncentrace BA u španělských vzorků došlo během doby skladování. V případě francouzských vzorků nebyl tento rozdíl pozorován během procesu stabilizace, kdy byly vzorky filtrovány a ošetřovány siřičitany. Ze studie provedené Garai et. al. (2007) je zřejmé, že největším producentem histaminu byly bakterie rodu *Lactobacillus diolivorans*, u kterého spolu s *Lactobacillus collinoides* a byla pozorována tvorba tyraminu. *Lbc. diolivorans* byla nejčastěji izolovaným druhem z jablečného moštu. Tento druh významně přispívá k akumulaci BA v procesu výroby cideru. Nebyla vypořádána schopnost produkce tyraminu, histaminu a putrescinu u rodu bakterií *Pedicoccus parvulus*. Ze studie také vyplývá, že bakterie mléčného kvašení

vyskytující se v cideru mají schopnost tvorby biogenních aminů, zejména pak tyraminu a histaminu. Dále poukazuje na fakt, že schopnost tvorby biogenních aminů je závislá spíše na kmeni bakterií než na druhu. Výsledky získané touto studií se ztotožňují s myšlenkou, že dekarboxylázová aktivita je závislá na kmeni bakterií a je také pravděpodobně ovlivněna jinými faktory, které ovlivňují produkci biogenních aminů, např. růstové podmínky, pH, obsah ethanolu, přítomnost substrátu. U bakterií rodu *Oenococcus oeni* nebyla pozorována schopnost vytvářet histamin, což je opakem studie, kterou provedl Del Campo et. al. (2000), ve které byl rod bakterií *Oenococcus oeni* (izolovaných ze španělských ciderů) producentem histaminu. Z výsledků studie vyplývá, že producenti BA jsou navzdory nízkému pH cideru (kolem hodnoty 4) schopní syntetizovat histamin a tyramin. Bover-Cid a Holzapfel (BOVER-CID and HOLZAPFEL, 1999) uvádějí pH pro zvýšenou tvorbu BA a aktivitu dekarboxylačních enzymů v rozmezí 5 – 5,2 .

Ve studii Garai et. al. (2006) jejíž cílem bylo zjištění obsahu BA v běžně konzumovaných ciderech, byly také popsány určité vztahy mezi jednotlivými faktory (pH, celková kyselost, SO₂, obsah ethanolu, glycerol, 1,3 – propandiol, mannitol) a akumulací BA v ciderech. Obsah BA byl stanoven u 24 vzorků cideru zakoupených z komerčních zdrojů pomocí vysokoúčinné chromatografie. Koncentrace BA byla různá v rozmezí od nedetekovatelných až po 23 mg/l. Průměrná koncentrace BA byla 5,94 mg/l ± 8,42 mg/l. Putrescin spolu s histaminem a tyraminem byly převážně se vyskytující BA, jejich četnost byla 50 %, 37,5 % a 33,3 % z celkového množství hodnocených vzorků. U vzorků byly pozorovány velmi malé koncentrace ethylaminu a fenylethylaminu. Vzorky, které vykazovaly nižší hodnoty glycerolu a vyšší koncentraci 1,3 - propandiolu obsahovaly mnohem více histaminu, tyraminu a putrescinu, což může svědčit o vysoké aktivitě bakterií mléčného kvašení během výroby cideru a o potřebě kontroly výskytu bakterií mléčného kvašení. Glycerol, který je během fermentace produkovaný kvasinkami, přispívá k jemnosti cideru. Jeho degradace může mít negativní vliv na sensorické vnímání (PICCINELLI et. al., 2000). Nízké hladiny glycerolu ve vzorcích mohou souviset s přítomností heterofermentativních bakterií mléčného kvašení, které glycerol degradují na 1,3 – propandiol nebo kyselinu mléčnou (LONVAUD-FUNEL, 2002). Putrescin byl identifikován u 12 vzorků, jeho průměrný obsah byl 3,56 mg/l ± 4,15 mg/l, s nejvyšší koncentrací 12,25 mg/l. Tyto hodnoty putrescinu jsou daleko vyšší než u studie Zee et. al. (1983), kdy byly koncentrace putrescinu 0,2 mg/l. Tyto malé koncentrace byly vysvětlovány skutečností, že cidery byly pasterizovány, čímž pravděpodobně došlo

k redukci mikroorganismů s dekarboxylační aktivitou. Grande et. al. (2006) zkoumali účinnost bakteriocinu *E. faecalis* proti *B. licheniformis*, které se podílejí na tvorbě slizu v jablečném moštu. Jejich výsledky poukazují na fakt, že enterocin AS-48 je účinný proti kmenu produkujícímu EPS, a to jak v kultivačním médiu, tak i v jablečném moštu, což naznačuje možné použití tohoto enterocinu k prevenci táhlovitosti. Výsledky jsou velmi zajímavé z hlediska kontrolovatelnosti možných nežádoucích vad cideru.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem této diplomové práce bylo zjištění výskytu biogenních aminů v ciderech dostupných na českém trhu bezprostředně po zakoupení a po uplynutí doby minimální trvanlivosti.

Cíle teoretické části práce byly:

- Charakterizovat cider, technologii výroby a legislativu vztahující se k ciderům
- Definovat biogenní aminy, legislativu vztahující se k biogenním aminům a faktory ovlivňujícími produkci biogenních aminů

Cíle praktické části práce byly:

- Zajistit vzorky a založit skladovací experiment
- Příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů derivatizační metodou
- Stanovení biogenních aminů ve vzorcích ciderů na počátku a konci skladování pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC)
- Vyhodnocení výsledků

6 MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

6.1 Charakteristika vzorků

U 74 vzorků ciderů s obsahem alkoholu 0 – 7,7 % byl stanovován obsah osmi biogenních aminů (histamin, tyramin, tryptamin, fenylethylamin, spermin, spermidin, kadaverin a putrescin) před uplynutím a po uplynutí doby minimální trvanlivosti. Vzorky byly skladovány při teplotě $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Pro možnost porovnání obsahu biogenních aminů byly od každého vzorku zakoupeny dvě láhve, kdy jedna láhev byla zpracována hned po zakoupení a druhá láhev po ukončení doby trvanlivosti. U vzorků č. 74, 65 a 30 byla provedena filtrace. Vzorky č. 27, 31, 51, 60, 63, 67, 68, 69 a 70 nebyly filtrovány (viz. tab. č 4).

Tabulka č. 4 Specifikace analyzovaných vzorků ciderů

Číslo vzorku	Země původu	Příchuť	Obsah alkoholu (%)	Počet dnů skladování	Pasterace	Síření	Obsah CO ₂ /Sycení CO ₂
1	ČR	ano	4,5	128	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
2	ČR	ano	4,5	127	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
3	ČR	ne	5,0	140	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
4	ČR	ne	4,5	140	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
5	UK	ano	4,0	155	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
6	UK	ano	4,0	140	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
7	ČR	ano	0,0	113	ano	ano	obsahuje CO ₂
8	ČR	ano	0,0	114	ano	ano	obsahuje CO ₂
9	ČR	ano	0,0	109	ano	ano	obsahuje CO ₂
10	EST	ano	4,5	322	ano	ano	obsahuje CO ₂
11	EST	ano	4,5	38	ano	ano	obsahuje CO ₂
12	EST	ano	4,5	38	ano	ano	obsahuje CO ₂
13	ČR	ano	4,5	176	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
14	ČR	ano	4,5	300	ano	ano	obsahuje CO ₂
15	ČR	ano	4,5	322	ano	ano	obsahuje CO ₂
16	ČR	ano	4,5	322	ano	ano	obsahuje CO ₂
17	ČR	ano	4,5	299	ano	ano	obsahuje CO ₂
18	ČR	ano	4,5	122	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
19	ČR	ne	4,5	168	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
20	SWE	ano	4,0	272	ano	ano	Neuveďeno
21	SWE	ano	4,5	314	ano	ano	Neuveďeno
22	SWE	ne	4,5	638	ano	neuveďeno	Neuveďeno
23	SK	ne	4,3	159	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂

24	ČR	ano	5,0	77	ano	ano	obsahuje CO ₂
25	ČR	ano	5,2	72	neuveďeno	ano	Neuveďeno
26	ČR	ano	5,0	216	ano	ano	obsahuje CO ₂
27	ČR	ne	4,3	365	ne	ano	neobsahuje CO ₂
28	ČR	ne	4,9	99	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
29	ČR	ne	5,0	104	ano	neuveďeno	obsahuje CO ₂
30	ČR	ne	7,5	302	ano	ano	obsahuje CO ₂
31	ČR	ne	5,0	121	ano	ano	obsahuje CO ₂
32	SK	ne	3,1	38	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
33	ČR	ne	6,0	82	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
34	ČR	ne	4,5	231	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
35	ČR	ne	3,5	72	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
36	ČR	ne	4,9	14	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
37	DK	ano	4,5	90	neuveďeno	neuveďeno	obsahuje CO ₂
38	IRL	ne	4,5	223	neuveďeno	ano	Neuveďeno
39	ČR	ano	4,5	322	ano	ne	obsahuje CO ₂
40	ČR	ano	4,5	322	ano	ne	obsahuje CO ₂
41	ČR	ano	4,5	322	ano	ne	obsahuje CO ₂
42	ČR	ne	4,5	106	ano	ano	obsahuje CO ₂
43	ČR	ano	4,5	322	ano	ne	obsahuje CO ₂
44	FR	ano	4,5	179	neuveďeno	ano	Neuveďeno
45	FR	ano	4,5	179	neuveďeno	ano	Neuveďeno
46	FR	ne	4,5	575	neuveďeno	ano	Neuveďeno
47	ČR	ne	4,5	88	ne	ano	obsahuje CO ₂
48	ČR	ne	4,5	209	ano	ano	obsahuje CO ₂
49	ČR	ano	4,5	209	ano	ano	obsahuje CO ₂
50	ČR	ano	4,5	209	ano	ano	obsahuje CO ₂
51	ČR	ne	6,4	217	ne	ano	obsahuje CO ₂
52	ČR	ne	5,0	109	neuveďeno	ano	obsahuje CO ₂
53	ČR	ano	4,0	109	neuveďeno	ano	obsahuje CO ₂
54	UK	ano	4,0	217	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
55	UK	ne	7,0	217	neuveďeno	ano	obsahuje CO ₂
56	UK	ne	5,5	217	neuveďeno	ano	obsahuje CO ₂
57	UK	ne	4,6	217	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
58	ČR	ano	5,0	39	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
59	ČR	ne	7,0	36	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
60	ČR	ano	6,0	179	Ne	neuveďeno	Neuveďeno
61	UK	ne	7,5	40	neuveďeno	neuveďeno	Neuveďeno
62	UK	ne	7,5	46	neuveďeno	ano	syceno CO ₂
63	ČR	ne	6,0	217	Ne	ne	Ne
64	ČR	ne	4,0	175	neuveďeno	ano	syceno CO ₂
65	ČR	ne	5,0	196	Ano	možný obsah siřičitanů	Ne
66	ČR	ne	7,0	204	Ne	ne	Neuveďeno

67	ČR	ne	6,5	179	Ne	neuvedeno	syceno CO ₂
68	ČR	ano	5,5	181	Ne	ne	ne
69	ČR	ano	6,0	179	Ne	ne	Ne
70	ČR	ano	5,5	183	Ne	ne	Ne
71	ČR	ano	4,8	217	Ne	neuvedeno	Ne
72	ČR	ano	4,8	139	Ne	ne	Ne
73	ČR	ne	4,8	144	Ne	ne	Ne
74	ČR	ne	7,7	217	Ano	ano	syceno CO ₂

ČR – Česká republika; UK – Velká Británie; EST – Estonsko; SWE – Švédsko; SK – Slovensko; DK – Dánsko; IRL – Irsko; FR - Francie

6.2 Zpracování vzorků a stanovení biogenních aminů

Kapalné vzorky byly zpracovány derivatizační metodou pro stanovení biogenních aminů na RP-HPLC podle Dadákové et. al. (2009). Každý vzorek byl stanovován v 5 paralelních stanoveních.

Vzorky ciderů byly označeny a následně přelity do Erlenmayerovy baňky a vloženy na třepačku, kde po dobu 30 minutového třepání došlo k odpěnění. Následně bylo u každého vzorku změřeno pH potravinářským pH-metrem (PhSpear, Eutech Instrument, USA). Bylo odebráno 5 ml vzorku, které bylo zředěno kyselinou chloristou o koncentraci 1,2 mol/l v poměru 1:1. Do derivatizační nádoby (16 ml) bylo odpipetováno 100 µl 1,7-heptandiaminu (Sigma-Aldrich) o koncentraci 500 mg/l, ke kterému byl napipetován 1 ml vzorku a 1,5 ml karbonátového pufru. Uhličitanový pufr o pH hodnotě 9,2 byl připraven smícháním roztoku NaHCO₂ (hydrogenuhlčitanu sodného) a roztoku Na₂CO₃ (uhlčitanu sodného). Po smíchání těchto dvou roztoků a ustanovení pH na 9,2 byl přidán K₂CO₃ (uhlčitan draselný) za stálého míchání až do úplného rozpuštění. Poté byly ke směsi přidány 2 ml čerstvého roztoku dansylchloridu (Sigma-Aldrich) v acetonu o koncentraci 5 g/l. Vzorky byly uzavřeny a uloženy na třepačce, kde se 20 hodin v temnu třepaly.

Po 20 hodinovém třepání byly otevřeny a bylo k nim přidáno 200 µl roztoku prolinu (200 mg v 2 ml H₂O, Sigma-Aldrich). Po uzavření následovalo další třepání na třepačce po dobu 1 hodiny. Následovalo přidání 3 ml heptanu (Sigma-Aldrich), uzavření a 3 minutové ruční třepání. Do označené vialky byla odpipetována heptanová vrstva o objemu 1 ml, která byla při teplotě 60 °C odpařena pod proudem dusíku. Suchý odparek byl naředěn 1,5 ml acetonitrilu. Do doby analýzy byl vzorek skladován v mrazícím zařízení při teplotě – 18 °C. Těsně před stanovením byly vzorky přefiltrovány stříkačkovým filtrem o porozitě 0,22 µm a následovalo

dávkování do chromatografického zařízení. K analýze byl použit německý chromatograf Dionex HPLC UltiMate 3000 s UV/VIS DAD detektorem. Dále byla použita analytická kolona s předkolonou ZORBAC RRHD Eclipse Plus C18 (3 x 50 mm, 1,8 μm), Agilent Technologies, USA. Pro citlivost přístroje byla minimální mez detekce stanovena na min 1 mg/l (DADÁKOVÁ et. al., 2009). Výsledné chromatogramy byly zpracovávány za použití programu Clarity Chromatography Station a dále za použití programu Microsoft Office Excel. Tento postup pro stanovení obsahu biogenních aminů byl použit ve studii Buňka et. al. (2012) a Pleva et. al. (2012).

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

V této diplomové práci byl monitorován výskyt osmi biogenních aminů u 74 vzorků ciderů zakoupených na území České republiky. 20 vzorků pochází mimo Českou republiku (viz. tabulka č. 4). Jednotlivé biogenní aminy a jejich množství bylo zjišťováno vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. Pro možnost porovnání byly vzorky zakoupeny ve dvou kusech a byly měřeny bezprostředně po zakoupení a po skončení doby minimální trvanlivosti. Jeden ze vzorků byl vždy zpracován ihned po zakoupení a druhý ze vzorku, jakmile mu skončila doba minimální trvanlivosti. Doba skladování všech vzorků byla v rozmezí 14 – 365 dní.

7.1 Obsah biogenních aminů u nealkoholických ciderů

Koncentrace biogenních aminů byla měřena u 3 odlišných vzorků. Vzorky se odlišovaly přidanou příchutí. U všech zpracovávaných vzorků byl zjištěn obsah biogenních aminů, kdy se jejich množství pohybovalo v rozmezí od 0,2 mg/l do 2,6 mg/l (viz. tab. č. 5). U vzorku č. 7 byla zjištěna vyšší koncentrace u některých biogenních aminů (fenylethylaminu, putrescinu, kadaverinu, tyraminu a sperminu) na konci skladovacího experimentu (po skončení minimální doby trvanlivosti).

Bezprostředně po zakoupení se množství BA u vzorků pohybovalo v rozmezí od 0,2 mg/l do 0,9 mg/l. Po skončení minimální doby trvanlivosti byl zjištěn obsah BA v rozsahu od 0,6 mg/l do 2,6 mg/l.

Při skladování se obsah BA u všech 3 vzorků zvýšil jen nepatrně, např. u vzorku č. 9 se obsah tyraminu zvýšil o cca 0,2 mg/l. K nejrazantnějšímu nárůstu množství BA došlo u vzorku č. 8, kdy se koncentrace sperminu z nedetekovaných hodnot zvýšila na 2,6 mg/l, což je více než 2,5-ti násobné zvýšení.

Přítomnost histaminu, spermidinu a tryptaminu nebyla u žádného ze vzorků zjištěna. Fenylethylamin byl zjištěn pouze u vzorku č. 7 v množství $2,2 \text{ mg/l} \pm 0,1$ a to na konci minimální doby trvanlivosti (viz. tab. č. 5). Putrescin byl detekován u všech tří vzorků a to bezprostředně po zakoupení, u vzorku č. 7 byla zjištěna koncentrace $2,2 \text{ mg/l} \pm 0,1$ po uplynutí minimální doby trvanlivosti. Kadaverin se vyskytoval u všech vzorků s koncentrací od 0,7 mg/l do 0,8 mg/l na začátku skladování a jeho koncentrace se během

skladování zvýšila, přibližně asi o 0,8 mg/l. Tyramin byl zjištěn u každého vzorku. Jeho nejnižší množství bylo zjištěno u vzorku č. 7 a 8, kdy tato hodnota byla 0,2 mg/l, na druhou stranu se u vzorku č. 7 nejvíce zvýšila koncentrace tyraminu a to konkrétně na 1,6 mg/l (viz. tab. č. 5). Spermin nebyl na počátku skladování zjištěn u žádného ze tří vzorků. Na konci minimální doby trvanlivosti byl však zjištěn u všech. Nejvyšší množství sperminu obsahoval vzorek č. 8 a to 2,6 mg/l.

Tabulka č. 5 Obsah BA (mg/l) v nealkoholických ciderech

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
7	ND**	ND**	ND**	2,2 ± 0,1	0,9 ± 0,0	2,2 ± 0,1	0,8 ± 0,0	1,5 ± 0,1
8	ND**	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,7 ± 0,0	1,2 ± 0,1
9	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	ND**	0,7 ± 0,0	1,1 ± 0,1
	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
Číslo vzorku	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
7	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
8	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	0,7 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	2,6 ± 0,1
9	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Mimo obsah biogenních aminů byla u vzorků zjišťována hodnota pH. Hodnoty pH jsou uvedeny v tabulce č. 6. Z tabulky č. 6 je zřejmé, že během skladování došlo u všech tří nealkoholických ciderů k nepatrnému snížení hodnoty pH. Rozmezí hodnot pH se po zakoupení pohybovalo od 3,11 – 3,54. Po skončení minimální doby trvanlivosti byly pH hodnoty v rozmezí od 2,91 – 3,38. U vzorku číslo 9 došlo během skladování k největší změně ze všech tří nealkoholických ciderů, hodnota na počátku skladování byla 3,11 a po uplynutí doby minimální trvanlivosti byla 2,91 (viz. tab. č. 6).

Tabulka č. 6 Změna pH u nealkoholických ciderů během skladování

Číslo vzorku	pH	
	počátek	Konec
7	3,35	3,16
8	3,54	3,38
9	3,11	2,91

7.2 Obsah biogenních aminů u ciderů s obsahem alkoholu do 4,5%

Množství biogenních aminů bylo hodnoceno u 40 vzorků s různým obsahem alkoholu, kdy se obsah alkoholu pohyboval od 3,1 % do 4,5% včetně (viz. tab. č. 4). U každého vzorku byla zjištěna přítomnost alespoň jednoho biogenního aminu. Množství biogenních aminů se pohybovalo v rozmezí od 0,01 mg/l \pm 0,00 do 41 mg/l \pm 2,2. Na počátku skladování se množství biogenních aminů pohybovalo v rozmezí od 0,1 mg/l do 41 mg/l. Nejvyšší naměřená koncentrace biogenních aminů, konkrétně putrescinu v množství 41 mg/l, byla na počátku skladování zjištěna u vzorku č. 44. Po uplynutí doby minimální trvanlivosti se koncentrace biogenních aminů pohybovala od 0,1 mg/l do 40,3 mg/l. U 14 ciderů byl obsah biogenních aminů na počátku skladování vyšší než 10 mg/l. Na konci skladování se množství biogenních aminů vyšší než 10 mg/l vyskytovalo u 10 vzorků. U většiny vzorků došlo během skladování ke zvýšení obsahu biogenních aminů.

Přítomnost tryptaminu na počátku skladování nebyla zjištěna u žádného z analyzovaných vzorků. Pouze u vzorku č. 34 byla zjištěna přítomnost tryptaminu na konci skladování a to v množství 0,33 mg/l.

Fenylethylamin byl bezprostředně po nákupu zjištěn pouze u jednoho vzorku, kterým byl vzorek č. 45, kdy jeho zjištěné množství bylo 3,3 mg/l \pm 0,2. Po uplynutí doby minimální trvanlivosti byl fenylethylamin zjištěn u 9 vzorků (2, 23, 34, 39, 40, 42, 45, 50 a 64). Obsah fenylethylaminu se pohyboval v rozmezí 0,1 mg/l – 7,7 mg/l.

Putrescin byl zjištěn téměř u všech vzorků. Jeho přítomnost na počátku skladování nebyla zjištěna u vzorků č. 1, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 a 48. Na začátku skladování se jeho množství pohybovalo od 0,3 mg/l do 41 mg/l. Po uplynutí doby minimální trvanlivosti byla koncentrace putrescinu v rozmezí od 0,1 mg/l do 7,7 mg/l. Téměř u všech vzorků, s výjimkou vzorků č. 1, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 a 48 došlo ke snížení množství putrescinu během skladování (viz. tab. č. 7).

Kadaverin se na začátku skladování vyskytoval u všech vzorků s výjimkou 11 vzorků (1, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 47 a 49). Množství kadaverinu bylo od 0,2 mg/l do 32,5 mg/l. Nejvyšší obsah kadaverinu na počátku skladování byl zjištěn u vzorku č. 50, kdy toto množství bylo 22,8 mg/l \pm 1,2. Na konci skladování se jeho koncentrace pohybovaly od 0,2 mg/l do 32,5 mg/l. U 9 vzorků byla zjištěna koncentrace biogenních aminů vyšší než 10 mg/l. Stejně jako u putrescinu a kadaverinu došlo u některých vzorků ke snížení množství na konci skladování (viz. tab. č. 7).

Histamin se na počátku skladování vyskytoval pouze u 3 vzorků (45, 48 a 50), kdy jeho nejvyšší množství bylo $13,4 \text{ mg/l} \pm 0,6$ u vzorku č. 50, naopak nejnižší koncentrace byla $7,4 \text{ mg/l} \pm 0,4$ u vzorku č. 45. Na konci skladování se histamin vyskytoval v množstvích od $0,1 \text{ mg/l}$ do 9 mg/l . U 8 vzorků (34, 41, 42, 43, 45, 48, 53 a 64) došlo během skladování ke zvýšení obsahu histaminu.

Obsah tyraminu byl zjištěn na počátku skladování v množství $0,1 \text{ mg/l}$ do $38,5 \text{ mg/l}$. Po uplynutí doby minimální trvanlivosti se jeho množství pohybovalo od $0,2 \text{ mg/l}$ do $40,3 \text{ mg/l}$. Nejvyšší koncentrace na začátku skladování byla zjištěna u vzorku č. 50, kdy jeho množství bylo $38,5 \text{ mg/l} \pm 1,8$. Tyramin se vyskytoval u všech analyzovaných vzorků s výjimkou vzorků č. 47, 49 a 53, kdy na počátku skladování nebyla zjištěná žádná koncentrace tyraminu. U tří vzorků (11, 27 a 32) došlo ke snížení obsahu tyraminu během skladování.

Spermidin se bezprostředně po zakoupení vyskytoval u 2 vzorků (viz. tab. č. 7) a to v nejvyšším množství $0,2 \text{ mg/l} \pm 0,0$. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se jeho četnost výskytu nepatrně zvýšila. Množství spermidinu se pohybovalo ve velmi malých koncentracích, které nepřekročily 2 mg/l . Jeho nejvyšší koncentrace byla zjištěna u vzorku č. 45, kdy jeho obsah byl $1,6 \text{ mg/l} \pm 0,1$.

Spermin se na začátku skladování vyskytoval u 21 vzorků. Hodnoty sperminu se pohybovaly od $0,8 \text{ mg/l}$ do $2,7 \text{ mg/l}$. Nejvyšší obsah sperminu byl zjištěn u vzorku č. 46, kdy bylo naměřeno množství $2,7 \text{ mg/l} \pm 0,1$. U většiny vzorků došlo během skladovacího experimentu ke zvýšení koncentrací sperminu. Vzorek č. 34 vykazoval snížení obsahu sperminu, kdy byl jeho obsah na počátku skladování $1,4 \text{ mg/l} \pm 0,1$ a po uplynutí doby minimální trvanlivosti jeho obsah nebyl zjištěn.

Tabulka č. 7 Obsah BA (mg/l) u ciderů s obsahem alkoholu od 3,1 – 4,5 %

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
1	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,2 \pm 0,0$
2	ND**	ND**	ND**	$0,0 \pm 0,0$	$1,3 \pm 0,1$	$0,0 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$
4	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,6 \pm 0,0$	ND**	$0,7 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$
5	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,1 \pm 0,1$	ND**	$0,9 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$
6	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,6 \pm 0,0$	ND**	$1,6 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$
10	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,1 \pm 0,1$	ND**	$0,8 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,0$

11	ND**	ND**	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0
12	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,9 ± 0,0	1,2 ± 0,1
13	ND**	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	ND**	1,6 ± 0,1	3,0 ± 0,2
14	ND**	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,1	ND**	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1
15	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	ND**	1,7 ± 0,1	2,7 ± 0,1
16	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	ND**	1,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1
17	ND**	ND**	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	ND**	0,6 ± 0,0	1,6 ± 0,1
18	ND**	ND**	ND**	ND**	5,9 ± 0,3	ND**	0,9 ± 0,0	1,3 ± 0,1
19	ND**	ND**	ND**	ND**	1,4 ± 0,1	ND**	1,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1
20	ND**	ND**	ND**	ND**	1,8 ± 0,1	ND**	6,6 ± 0,3	11,5 ± 0,5
21	ND**	ND**	ND**	ND**	1,9 ± 0,1	ND**	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,2
22	ND**	ND**	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1
23	ND**	ND**	ND**	6,1 ± 0,3	7,1 ± 0,4	6,1 ± 0,3	2,1 ± 0,1	ND**
27	ND**	ND**	ND**	ND**	2,7 ± 0,2	ND**	2,8 ± 0,1	4,8 ± 0,3
32	ND**	ND**	ND**	ND**	2,9 ± 0,1	ND**	0,8 ± 0,0	ND**
34	ND**	0,3 ± 0,0	ND**	0,8 ± 0,0	3,7 ± 0,2	0,8 ± 0,0	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1
35	ND**	ND**	ND**	ND**	4,4 ± 0,2	ND**	1,9 ± 0,1	ND**
37	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,8 ± 0,0
38	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0
39	ND**	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,8 ± 0,0
40	ND**	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,5 ± 0,0
41	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
42	ND**	ND**	ND**	3,0 ± 0,1	ND	3,0 ± 0,1	ND**	7,0 ± 0,3
43	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
44	ND**	ND**	ND**	ND**	41,0 ± 2,2	ND**	ND**	3,1 ± 0,2
45	ND**	ND**	3,3 ± 0,2	7,7 ± 0,4	31,9 ± 1,7	7,7 ± 0,4	12,4 ± 0,5	14,5 ± 0,7
46	ND**	ND**	ND**	ND**	35,4 ± 1,8	ND**	10,7 ± 0,5	13,1 ± 0,6
47	ND**	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0	ND**	ND**	1,7 ± 0,1
48	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	21,3 ± 0,9	30,4 ± 1,5
49	ND**	ND**	ND**	ND**	15,3 ± 0,6	ND**	ND**	0,4 ± 0,0
50	ND**	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	20,2 ± 1,2	0,1 ± 0,0	22,8 ± 1,2	32,5 ± 1,7
53	ND**	ND**	ND**	ND**	3,3 ± 0,2	ND**	0,3 ± 0,0	2,2 ± 0,1
54	ND**	ND**	ND**	ND**	2,2 ± 0,1	ND**	1,3 ± 0,1	4,0 ± 0,2
64	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	5,7 ± 0,4	0,2 ± 0,0	2,7 ± 0,1	3,5 ± 0,2

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tab. č. 7: Pokračování – Obsah BA (mg/l) u ciderů s obsahem alkoholu od 3,1 – 4,5 %

Číslo vzorku	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
1	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,1
2	ND**	ND**	1,1 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0
4	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	3,1 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,0
5	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
6	ND**	ND**	0,8 ± 0,0	2,7 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	1,3 ± 0,1
10	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1
11	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	ND**	2,0 ± 0,1
12	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,8 ± 0,0
13	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	2,4 ± 0,1
14	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	2,1 ± 0,1
15	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1
16	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,9 ± 0,0
17	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,3 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	ND**
18	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
19	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,8 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,8 ± 0,0
20	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0
21	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	ND**
22	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	2,2 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0
23	ND**	ND**	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1
27	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1
32	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1
34	ND**	0,9 ± 0,0	0,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	ND**	ND**	1,4 ± 0,1	ND**
35	ND**	ND**	2,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1	ND**	ND**	2,2 ± 0,1	2,9 ± 0,1
37	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	1,7 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	0,8 ± 0,0	2,1 ± 0,1
38	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	2,4 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,1
39	ND**	ND	1,5 ± 0,1	3,8 ± 0,2	ND**	0,2 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
40	ND**	ND**	0,8 ± 0,0	4,5 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
41	ND**	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	2,3 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
42	ND**	5,3 ± 0,3	1,0 ± 0,0	11,6 ± 0,7	ND**	0,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	4,7 ± 0,2
43	ND**	1,7 ± 0,1	3,1 ± 0,2	4,7 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,1 ± 0,1
44	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	4,2 ± 0,2	ND**	0,4 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1
45	7,4 ± 0,4	9,0 ± 0,5	10,5 ± 0,6	11,9 ± 0,6	ND**	1,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1
46	ND**	ND**	14,4 ± 0,8	21,2 ± 1,0	ND**	0,8 ± 0,0	2,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1
47	ND**	ND**	ND**	3,2 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1
48	9,4 ± 0,5	ND**	20,7 ± 0,9	28,4 ± 1,2	ND**	0,2 ± 0,0	1,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1
49	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,0
50	13,4 ± 0,6	ND**	38,5 ± 1,8	40,3 ± 2,1	ND**	0,3 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
53	ND**	2,7 ± 0,1	ND**	2,4 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,8 ± 0,1
54	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	5,2 ± 0,3	0,2 ± 0,0	0,6 ± 0,0	1,5 ± 0,1	5,9 ± 0,3
64	ND**	0,3 ± 0,0	2,9 ± 0,2	3,6 ± 0,2	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

U vzorků byla také před každým zpracováním měřena hodnota pH. Hodnoty pH jsou uvedeny v tabulce č. 8. Z tabulky č. 8 vyplývá, že se hodnoty pH během skladování u většiny ciderů nepatrně snižovaly. Vyjímkou jsou vzorky č. 34, 37, 38, 39, 40, 54 a 64, kdy se hodnota pH u těchto vzorků lehce zvýšila. Hodnoty pH se ihned po zakoupení pohybovaly v rozmezí 2,61 – 4,95. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti byly pH hodnoty v rozmezí od 2,43 – 4,55 (viz.tab. č. 6).

Tabulka č. 8 Změna pH u ciderů s obsahem alkoholu do 4,5%

Číslo vzorku	pH		Číslo vzorku	pH	
	počátek	konec		počátek	Konec
1	3,15	2,93	32	4,51	3,90
2	3,07	2,86	34	3,90	4,55
4	3,12	2,86	35	3,92	3,87
5	3,07	2,73	37	2,72	3,79
6	3,11	2,84	38	3,34	3,39
10	3,11	2,43	39	3,01	3,07
11	3,18	3,01	40	2,61	2,69
12	3,14	2,95	41	2,70	2,69
13	3,52	3,41	42	3,00	2,90
14	3,14	2,63	43	2,63	2,59
15	3,19	2,67	44	3,85	3,54
16	3,35	2,93	45	4,29	3,50
17	3,28	2,87	46	4,39	3,60
18	3,16	2,97	47	4,95	3,90
19	3,04	2,90	48	4,52	3,38
20	3,20	2,95	49	4,55	3,35
21	3,34	2,97	50	4,60	3,50
22	3,63	2,92	53	5,11	4,14
23	3,86	3,43	54	3,19	3,40
27	3,90	3,25	64	3,65	3,93

7.3 Obsah biogenních aminů u ciderů s obsahem alkoholu od 4,6 – 7,7%

Množství biogenních aminů bylo hodnoceno u 31 vzorků s různým obsahem alkoholu. Obsah alkoholu se v těchto vzorcích pohyboval od 4,6 – 7,7% (viz. tab. č. 4). Bezprostředně po zakoupení se množství biogenních aminů pohybovalo od 0,1 – 20,2 mg/l. Ve vzorku č. 51 bylo zjištěno množství vyšší než 10 mg/l u putrescinu a tyraminu. Po

uplynutí minimální doby trvanlivosti se obsah biogenních aminů pohyboval v rozmezí od 0,1 – 24,4 mg/l. U 8 vzorků byla zjištěna koncentrace přesahující 10 mg/l. Ve většině vzorků došlo během skladování ke zvýšení obsahu biogenních aminů.

Přítomnost tryptaminu nebyla zjištěna u žádného ze vzorků bezprostředně po zakoupení, stejně jako po uplynutí doby minimální trvanlivosti (viz. tab. č. 9).

Fenylethylamin se na počátku skladování vyskytoval u 15 vzorků, kdy se jeho obsah pohyboval od 0,2 mg/l do 5,1 mg/l. Nejvyšší naměřené množství fenylethylaminu na začátku skladování bylo u vzorku č. 51 5,1 mg/l \pm 0,3. Po uplynutí doby minimální trvanlivosti se četnost výskytu fenylethylaminu jen nepatrně zvýšila. Nejvyšší obsah byl 7,7 mg/l 0,4 byl u vzorku č. 51. Během skladování se obsah vzorku zvýšil o 2,6 mg/l.

Putrescin byl bezprostředně po zakoupení zjištěn ve všech vzorcích. Jeho množství se pohybovalo od 0,7 mg/l do 20,2 mg/l. Koncentrace putrescinu byla téměř u všech vzorků vyšší než 1 mg/l. Nejvyšší obsah 20,2 mg/l vykazoval vzorek č. 51. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se ve většině vzorků množství putrescinu snižovalo, např. u výše zmiňovaného vzorku č. 51 se koncentrace putrescinu z 20,2 mg/l snížila na 7,7 mg/l \pm 0,4. Zvýšené množství putrescinu měly jen vzorky č. 70, 71, 72 a 73 (viz. tab. č. 9).

Kadaverin byl bezprostředně po nákupu zjištěn mimo 3 cidery ve všech analyzovaných vzorcích. Jeho množství se na počátku skladování pohybovalo od 0,2 mg/l do 9,3 mg/l. Během skladování se u většiny vzorků obsah kadaverinu zvýšil. Množství přesahující 10 mg/l bylo zjištěno ve 3 ciderech. K největšímu nárůstu kadaverinu došlo u vzorku č. 71, kdy se jeho počáteční naměřené množství 1,4 mg/l zvýšilo na 17,1 mg/l.

Výskyt histaminu byl zjištěn na počátku skladování u 6 vzorků. Jeho množství se pohybovalo od 0,3 mg/l do 8,4 mg/l. Po skončení minimální doby trvanlivosti se přítomnost histaminu jen nepatrně zvýšila. Jeho nejvyšší množství 18,3 mg/l \pm 0,8 bylo zjištěno ve vzorku č. 51.

Tyramin byl identifikován mimo 3 vzorky u každého cideru. Jeho množství na počátku skladování bylo od 0,1 mg/l do 12,1 mg/l. Po skončení minimální doby trvanlivosti se jeho koncentrace zvyšovaly, avšak žádná ze zjištěných množství nepřesáhla 25 mg/l. Nejvyšším zjištěným množstvím bylo 24,4 mg/l \pm 1,3 u vzorku č. 51.

Ihned po zakoupení se spermidin vyskytoval u 13 vzorků (viz. tab. 9), kdy jeho množství nepřesáhlo hodnotu 1 mg/l. Nejvyšším zjištěným množstvím bylo 0,5 mg/l u vzorku č. 63.

Po uplynutí doby minimální trvanlivosti se obsah spermidinu snížil ve 4 vzorcích (55, 56, 68 a 72) oproti zjištěným hodnotám na počátku skladování. Obsah spermidinu vyšší než 1 mg/l nebyl zjištěn u žádného ze vzorků.

Obsah sperminu ihned po zakoupení byl zjištěn u každého ze zpracovávaných vzorků. Jeho množství nepřesahovalo hodnotu 10 mg/l. Nejvyšším zjištěným množstvím bylo 6,5 mg/l u vzorku č. 56. Vlivem skladování se množství sperminu u většiny vzorků zvýšila. U tří vzorků (55, 61 a 63) se obsah sperminu nijak neměnil. V případě jednoho vzorku, kterým byl vzorek č. 56 došlo ke snížení množství sperminu z 6,5 mg/l na 0,8 mg/l.

Tabulka č. 9 Množství biogenních aminů (mg/l) u ciderů s obsahem alkoholu od 4,6 – 7,7%

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
3	ND**	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	1,8 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0	2,3 ± 0,1
24	ND**	ND**	ND**	ND**	3,1 ± 0,2	ND**	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1
25	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	2,9 ± 0,2	ND**	0,6 ± 0,0	ND**
26	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	3,1 ± 0,2	0,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1	2,6 ± 0,2
28	ND**	ND**	ND**	ND**	3,8 ± 0,2	ND**	2,8 ± 0,1	3,9 ± 0,2
29	ND**	ND**	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	ND**	0,9 ± 0,1	2,8 ± 0,1
30	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,5 ± 0,1
31	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	6,4 ± 0,4	ND**	2,2 ± 0,1	ND**
33	ND**	ND**	ND**	ND**	3,2 ± 0,2	ND**	1,0 ± 0,1	ND**
36	ND**	ND**	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	1,9 ± 0,1	ND**
51	ND**	ND**	5,1 ± 0,3	7,7 ± 0,4	20,2 ± 0,9	7,7 ± 0,4	9,3 ± 0,5	12,7 ± 0,7
52	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0	2,7 ± 0,1	1,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,8 ± 0,0
55	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1	3,9 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,0 ± 0,1
56	ND**	ND**	ND**	ND**	6,9 ± 0,3	ND**	3,3 ± 0,2	0,5 ± 0,0
57	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,4 ± 0,0	2,8 ± 0,1
58	ND**	ND**	0,9 ± 0,1	2,7 ± 0,1	7,0 ± 0,4	2,7 ± 0,1	ND**	ND**
59	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1	8,0 ± 0,4
60	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,8 ± 0,0	2,3 ± 0,1
61	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1	3,2 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,0 ± 0,1	3,3 ± 0,2
62	ND**	ND**	ND**	ND**	8,5 ± 0,4	ND**	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,2
63	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1	5,6 ± 0,3	1,4 ± 0,1	ND**	ND**
65	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0	4,7 ± 0,2	0,7 ± 0,0	1,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1
66	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1	0,3 ± 0,0	4,0 ± 0,2
67	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	1,0 ± 0,0	3,8 ± 0,2	1,0 ± 0,0	ND**	1,9 ± 0,1
68	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,3 ± 0,0	1,5 ± 0,1
69	ND**	ND**	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	ND**	0,6 ± 0,0	1,5 ± 0,1
70	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,2 ± 0,1	0,7 ± 0,0	2,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	2,9 ± 0,2

71	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	3,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	3,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	17,1 ± 0,9
72	ND**	ND**	2,1 ± 0,1	4,4 ± 0,2	2,7 ± 0,1	4,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	10,3 ± 0,5
73	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,1 ± 0,0	6,2 ± 0,3
74	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	7,2 ± 0,3

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tab. č. 9: Pokračování – Obsah BA (mg/l) u ciderů s obsahem alkoholu od 4,6 – 7,7 %

Číslo vzorku	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
3	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	ND**	1,0 ± 0,0
24	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,2 ± 0,1
25	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,8 ± 0,2
26	ND**	1,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	2,5 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	2,0 ± 0,1	3,4 ± 0,2
28	ND**	ND**	1,0 ± 0,1	3,4 ± 0,2	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	2,9 ± 0,1
29	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	1,7 ± 0,1
30	ND**	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	ND**	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1
31	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1
33	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	2,4 ± 0,1	3,9 ± 0,2
36	ND**	ND**	1,0 ± 0,0	1,8 ± 0,1	ND**	ND**	2,2 ± 0,1	2,8 ± 0,1
51	8,4 ± 0,4	18,3 ± 0,8	12,1 ± 0,6	24,4 ± 1,3	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1
52	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	1,3 ± 0,1	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	5,8 ± 0,2
55	ND**	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,0	2,5 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
56	ND**	ND**	4,3 ± 0,3	ND**	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	6,5 ± 0,3	0,8 ± 0,0
57	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	3,4 ± 0,1	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	3,9 ± 0,2
58	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	3,8 ± 0,2	ND**	ND**	1,3 ± 0,1	1,9 ± 0,1
59	ND**	ND**	4,4 ± 0,2	11,2 ± 0,7	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1
60	0,6 ± 0,0	0,8 ± 0,0	1,4 ± 0,1	3,9 ± 0,2	0,1 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1
61	ND**	0,9 ± 0,0	ND**	4,7 ± 0,3	0,2 ± 0,0	0,6 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1
62	ND**	ND**	3,9 ± 0,2	7,3 ± 0,4	ND**	ND**	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1
63	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1
65	ND**	ND**	2,4 ± 0,1	3,2 ± 0,2	ND**	ND**	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1
66	0,3 ± 0,0	3,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0	6,5 ± 0,3	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	2,2 ± 0,1
67	0,5 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	3,6 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1
68	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	2,7 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	3,4 ± 0,2
69	ND**	ND**	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	1,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1
70	ND**	1,9 ± 0,1	0,1 ± 0,0	4,8 ± 0,3	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1
71	ND**	ND**	1,0 ± 0,1	12,1 ± 0,6	ND**	ND**	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,1
72	ND**	7,3 ± 0,4	3,1 ± 0,2	12,8 ± 0,5	0,1 ± 0,0	ND**	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1
73	1,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1	8,7 ± 0,5	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1
74	0,9 ± 0,0	3,0 ± 0,2	0,2 ± 0,0	6,6 ± 0,3	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	1,3 ± 0,1

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tabulka č. 10 Změna pH u ciderů s obsahem alkoholu od 4,6 – 7,7 %

Číslo vzorku	pH		Číslo vzorku	pH	
	počátek	Konec		počátek	konec
3	3,05	2,78	59	3,72	3,43
24	3,91	3,94	60	3,31	3,61
25	3,65	3,89	61	3,90	3,79
26	3,39	3,92	62	3,22	3,67
28	3,57	3,90	63	3,78	4,03
29	3,91	3,92	65	3,62	3,88
30	3,88	3,65	66	3,61	3,90
31	3,80	3,56	67	3,71	3,98
33	4,65	3,18	68	3,41	3,66
36	3,92	3,92	69	3,30	3,57
51	5,04	3,75	70	3,39	3,66
52	5,14	4,11	71	3,51	3,79
55	3,35	3,59	72	3,91	3,97
56	3,18	3,41	73	3,62	3,89
57	3,16	3,43	74	3,64	3,89
58	3,66	3,37			

Z tabulky č. 10 je zřejmé, že ve většině měřených vzorků došlo ke zvýšení pH. V 10 vzorcích se během skladování hodnota pH snížila. Ihned po zakoupení se hodnoty pH u ciderů pohybovaly v rozmezí od 3,05 do 5,14. Naměřené hodnoty po uplynutí doby minimální trvanlivosti byly od 2,78 do 4,11.

7.4 Vliv pasterace na obsah BA u ciderů

Obsah biogenních aminů (mg/l) byl hodnocen v závislosti na použití pasterace či nikoliv. Ze 74 analyzovaných vzorků bylo 38 vzorků, které byly během procesu výroby ošetřeny pasterací. 13 vzorků nebylo pasterováno a u 23 vzorků informace o použití pasterace nebyla uvedena (viz. tab. č. 4). Bezprostředně po zakoupení se obsah biogenních aminů u pasterovaných ciderů pohyboval v rozmezí od 0,1 mg/l do 38,5 mg/l. Množství biogenních aminů vyšší než 10 mg/l bylo zjištěno v 7 vzorcích (viz. tab. 11). Po uplynutí minimální

doby trvanlivosti ciderů se množství zjištěných biogenních aminů pohybovalo od 0,1 mg/l do 40,3 mg/l. Obsah vyšší než 10 mg/l se vyskytoval u 5 vzorků.

Tryptamin spolu se spermidinem nebyl detekován v žádném z analyzovaných vzorků na počátku skladování. Tryptamin se nevyskytoval u vzorků ani po uplynutí minimální doby trvanlivosti.

Fenylethylamin byl bezprostředně po zakoupení detekován u 3 vzorků (30, 31 a 65), kdy se jeho koncentrace pohybovaly v rozmezí od 0,6 mg/l do 1,5 mg/l. Během skladování se četnost výskytu fenylethylaminu zvýšila jen nepatrně. Nejvyšší zjištěné množství vykazoval vzorek č. 23 s obsahem $6,1 \text{ mg/l} \pm 0,3$. Dva vzorky (30 a 31) měly snížené až nedetekovatelné množství.

Putrescin se s výjimkou 7 vzorků vyskytoval u všech měřených vzorků. Počáteční zjištěné hodnoty se pohybovaly od 0,2 mg/l do 20,2 mg/l. Obsah putrescinu se během skladování snížil, např. u vzorku č. 50 se počáteční hodnota z $20,2 \text{ mg/l} \pm 1,2$ snížila na 0,1 mg/l.

Kadaverin se bezprostředně po zakoupení vyskytoval téměř v každém vzorku. Jeho minimální zjištěné množství bylo u vzorku č. 0,2 mg/l a maximální detekované množství kadaverinu měl cider č. 50 s hodnotou $22,8 \text{ mg/l} \pm 1,2$. Během skladování se jeho obsah zvýšil, výjimkou byly vzorky č. 10 a 23. Obsah kadaverinu se po uplynutí doby minimální trvanlivosti pohyboval od 0,2 mg/l do 32,5 mg/l.

Histamin se na počátku skladování vyskytoval pouze u 3 vzorků (48, 50 a 74) s množstvím nepřekračujícím 15 mg/l. Na konci skladování se výskyt histaminu lehce zvýšil, avšak jeho množství nepřekračilo 10 mg/l. Nejvyšší zjištěné množství histaminu měl vzorek č. 42, které bylo $5,3 \text{ mg/l} \pm 0,3$.

Tyramin byl ihned po zakoupení zjištěn téměř u všech vzorků. Výjimkou byl cider č. 49, ve kterém nebylo detekováno žádné množství tyraminu. Obsah tyraminu se na počátku skladování pohyboval v rozmezí od 0,1 mg/l do 38,5 mg/l. Ve většině hodnocených vzorků se množství tyraminu zvyšovalo během skladování, výjimkou byly vzorky č. 29, 30 a 31.

Obsah spermidinu byl zjištěn u 13 vzorků a to pouze po uplynutí minimální doby trvanlivosti. Jeho nejvyšší zjištěné množství bylo 0,3 mg/l u vzorku č. 50.

Spermin se ihned po zakoupení vyskytoval v 15 vzorcích (viz. tab. č. 11). Zjištěné množství nepřesahovalo 3 mg/l. Nejvyšší detekovaná koncentrace $2 \text{ mg/l} \pm 0,1$ bylo u

vzorku č. 23. V průběhu skladování se četnost výskytu sperminu zvýšila. Obsah sperminu se pohyboval od 0,5 mg/l do 4,7 mg/l.

Tabulka č. 11 Množství BA (mg/l) u pasterovaných ciderů

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
1	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0
2	ND**	ND**	ND**	0,0 ± 0,0	1,3 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,2 ± 0,1
3	ND**	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	1,8 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0	2,3 ± 0,1
4	ND**	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	ND**	0,7 ± 0,0	1,2 ± 0,1
5	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,9 ± 0,0	1,5 ± 0,1
6	ND**	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	ND**	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1
7	ND**	ND**	ND**	2,2 ± 0,1	0,9 ± 0,0	2,2 ± 0,1	0,8 ± 0,0	1,5 ± 0,1
8	ND**	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,7 ± 0,0	1,2 ± 0,1
9	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	ND**	0,7 ± 0,0	1,1 ± 0,1
10	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,8 ± 0,0	0,7 ± 0,0
11	ND**	ND**	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0
12	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,9 ± 0,0	1,2 ± 0,1
13	ND**	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	ND**	1,6 ± 0,1	3,0 ± 0,2
14	ND**	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,1	ND**	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1
15	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	ND**	1,7 ± 0,1	2,7 ± 0,1
16	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	ND**	1,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1
17	ND**	ND**	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	ND**	0,6 ± 0,0	1,6 ± 0,1
18	ND**	ND**	ND**	ND**	5,9 ± 0,3	ND**	0,9 ± 0,0	1,3 ± 0,1
19	ND**	ND**	ND**	ND**	1,4 ± 0,1	ND**	1,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1
20	ND**	ND**	ND**	ND**	1,8 ± 0,1	ND**	6,6 ± 0,3	11,5 ± 0,5
21	ND**	ND**	ND**	ND**	1,9 ± 0,1	ND**	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,2
22	ND**	ND**	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1
23	ND**	ND**	ND**	6,1 ± 0,3	7,1 ± 0,4	6,1 ± 0,3	2,1 ± 0,1	ND**
24	ND**	ND**	ND**	ND**	3,1 ± 0,2	ND**	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1
26	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	3,1 ± 0,2	0,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1	2,6 ± 0,2
29	ND**	ND**	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	ND**	0,9 ± 0,1	2,8 ± 0,1
30	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,5 ± 0,1
31	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	6,4 ± 0,4	ND**	2,2 ± 0,1	ND**
39	ND**	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,8 ± 0,0
40	ND**	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,5 ± 0,0
41	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
42	ND**	ND**	ND**	3,0 ± 0,1	ND	3,0 ± 0,1	ND**	7,0 ± 0,3
43	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
48	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	21,3 ± 0,9	30,4 ± 1,5
49	ND**	ND**	ND**	ND**	15,3 ± 0,6	ND**	ND**	0,4 ± 0,0
50	ND**	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	20,2 ± 1,2	0,1 ± 0,0	22,8 ± 1,2	32,5 ± 1,7

65	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0	4,7 ± 0,2	0,7 ± 0,0	1,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1
74	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	7,2 ± 0,3

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tab. č. 11: Pokračování – Obsah BA (mg/l) u pasterovaných ciderů

Číslo vzorku	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
	počátek	Konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
1	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,1
2	ND**	ND**	1,1 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0
3	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	ND**	1,0 ± 0,0
4	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	3,1 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,0
5	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
6	ND**	ND**	0,8 ± 0,0	2,7 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	1,3 ± 0,1
7	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
8	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	0,7 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	2,6 ± 0,1
9	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0
10	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1
11	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	ND**	2,0 ± 0,1
12	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,8 ± 0,0
13	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	2,4 ± 0,1
14	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	2,1 ± 0,1
15	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1
16	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,9 ± 0,0
17	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,3 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	ND**
18	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
19	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,8 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,8 ± 0,0
20	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0
21	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	ND**
22	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	2,2 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0
23	ND**	ND**	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	ND**	ND**	2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1
24	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,2 ± 0,1
26	ND**	1,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	2,5 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	2,0 ± 0,1	3,4 ± 0,2
29	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	1,7 ± 0,1
30	ND**	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	ND**	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1
31	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1
39	ND**	ND	1,5 ± 0,1	3,8 ± 0,2	ND**	0,2 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
40	ND**	ND**	0,8 ± 0,0	4,5 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
41	ND**	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	2,3 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
42	ND**	5,3 ± 0,3	1,0 ± 0,0	11,6 ± 0,7	ND**	0,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	4,7 ± 0,2
43	ND**	1,7 ± 0,1	3,1 ± 0,2	4,7 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,1 ± 0,1

48	9,4 ± 0,5	ND**	20,7 ± 0,9	28,4 ± 1,2	ND**	0,2 ± 0,0	1,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1
49	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,0
50	13,4 ± 0,6	ND**	38,5 ± 1,8	40,3 ± 2,1	ND**	0,3 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
65	ND**	ND**	2,4 ± 0,1	3,2 ± 0,2	ND**	ND**	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1
74	0,9 ± 0,0	3,0 ± 0,2	0,2 ± 0,0	6,6 ± 0,3	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	1,3 ± 0,1

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Množství biogenních aminů v nepasterovaných ciderech se ihned po zakoupení pohybovalo v rozmezí od 0,1 mg/l do 5,6 mg/l. Po skončení skladování bylo množství biogenních aminů od 0,1 mg/l do 17,1 mg/l. Obsah vyšší než 10 mg/l byl zjištěn u 4 vzorků (viz. tab. č. 12).

Tryptamin nebyl zjištěn u žádného ze vzorku ihned po zakoupení, stejně tak i po uplynutí minimální doby trvanlivosti.

Fenylethylamin se na počátku skladování vyskytoval téměř u všech vzorků, výjimkou byly vzorky č. 68 a 69. Jeho množství se pohybovalo od 0,2 mg/l do 2,1 mg/l ihned po zakoupení. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se jeho koncentrace zvyšovaly. Nejvyšší zjištěné množství bylo 4,4 mg/l ± 0,2 u vzorku č. 72.

Putrescin byl detekován na počátku skladování v každém vzorku, kdy jeho minimální koncentrace byla 0,7 mg/l a nejvyšší zjištěné množství bylo 5,6 mg/l. Během skladování došlo u 5 vzorků ke snížení hodnot putrescinu. Ve 4 vzorcích došlo ke zvýšení množství putrescinu během skladování (viz. tab. č. 12).

Kadaverin se bezprostředně po zakoupení vyskytoval u téměř každého vzorku, výjimkou byly vzorky č. 63 a 67. Jeho množství se pohybovalo od 0,2 mg/l do 1,4 mg/l. V průběhu skladování došlo ke zvýšení obsahu kadaverinu v každém vzorku. Maximální detekované množství 17,1 mg/l ± 0,9 bylo u vzorku č. 71.

Histamin se na počátku skladování vyskytoval pouze ve 3 vzorcích (66, 67 a 73) s koncentracemi nepřekračujícími 2 mg/l. Nejvyšší zjištěné množství bylo u cideru č. 73, které bylo 1,3 mg/l ± 0,1. Na konci skladování se četnost výskytu histaminu u vzorků jen nepatrně zvýšila. Obsah histaminu se pohyboval od 1mg/l do 7,3 mg/l. Maximální zjištěné množství bylo 7,3 mg/l ± 0,4 ve vzorku č. 72.

Tyramin se bezprostředně po zakoupení mimo jeden vzorek (vzorek č. 63) vyskytoval u všech hodnocených ciderů. Obsah tyraminu se na počátku skladování pohybovalo od 0,1 mg/l do 3,1 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se koncentrace tyraminu zvyšovaly. Jeho nejnižší detekované množství bylo $1,9 \text{ mg/l} \pm 0,1$ a nejvyšší zjištěnou koncentrací bylo $12,8 \text{ mg/l} \pm 0,5$.

Spermidin se na počátku skladování vyskytoval ve všech analyzovaných vzorcích v rozmezí od 0,1 mg/l do 0,5 mg/l. Během skladování se koncentrace spermidinu jen lehce zvyšovaly. Zvýšení se pohybovalo od 0,1 – 0,2 mg/l. U 2 vzorků (68 a 72) došlo během skladování ke snížení množství spermidinu, snížení se pohybovalo do 0,1 mg/l.

Přítomnost sperminu ihned po zakoupení byla zjištěna v každém nepasterovaném cideru. Množství sperminu se pohybovalo od 0,9 mg/l do 1,9 mg/l. Vlivem skladování se jeho koncentrace nepatrně zvyšovaly. Nejvyšším zjištěným množstvím bylo $3,4 \text{ mg/l} \pm 0,2$ u vzorku č. 68 (viz. tab. č. 12).

Tabulka č. 12 Obsah BA (mg/l) u nepasterovaných ciderů

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	Konec	Počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
63	ND**	ND**	$0,9 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,1$	$5,6 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,1$	ND**	ND**
66	ND**	ND**	$0,7 \pm 0,0$	$1,8 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,0$	$4,0 \pm 0,2$
67	ND**	ND**	$0,5 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,0$	ND**	$1,9 \pm 0,1$
68	ND**	ND**	ND**	$0,7 \pm 0,0$	$0,9 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$
69	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,7 \pm 0,1$	ND**	$0,6 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$
70	ND**	ND**	$0,2 \pm 0,0$	$2,2 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,0$	$2,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,0$	$2,9 \pm 0,2$
71	ND**	ND**	$0,2 \pm 0,0$	$3,4 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$17,1 \pm 0,9$
72	ND**	ND**	$2,1 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,1$	$10,3 \pm 0,5$
73	ND**	ND**	$1,1 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,0$	$6,2 \pm 0,3$
Číslo vzorku	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
	počátek	Konec	Počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
63	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,5 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$	$1,7 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$
66	$0,3 \pm 0,0$	$3,0 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,0$	$6,5 \pm 0,3$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$1,6 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,1$
67	$0,5 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,0$	$1,1 \pm 0,0$	$3,6 \pm 0,2$	ND**	$0,1 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$
68	ND**	ND**	$0,5 \pm 0,0$	$2,7 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,2$
69	ND**	ND**	$1,2 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,1$
70	ND**	$1,9 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,0$	$4,8 \pm 0,3$	$0,1 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,9 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,1$
71	ND**	ND**	$1,0 \pm 0,1$	$12,1 \pm 0,6$	ND**	ND**	$1,8 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,1$
72	ND**	$7,3 \pm 0,4$	$3,1 \pm 0,2$	$12,8 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,0$	ND**	$1,9 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$
73	$1,3 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,1$	$8,7 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tabulka č. 13 Změna pH u pasterovaných a nepasterovaných ciderů

Číslo vzorku	pH		Číslo vzorku	pH	
	počátek	Konec		počátek	Konec
1*	3,15	2,93	26*	3,39	3,92
2*	3,07	2,86	29*	3,91	3,92
3*	3,05	2,78	30*	3,88	3,65
4*	3,12	2,86	31*	3,80	3,56
5*	3,07	2,73	39*	3,01	3,07
6*	3,11	2,84	40*	2,61	2,69
7*	3,35	3,16	41*	2,70	2,69
8*	3,54	3,38	42*	3,00	2,90
9*	3,11	2,91	43*	2,63	2,59
10*	3,11	2,43	48*	4,52	3,38
11*	3,18	3,01	49*	4,55	3,35
12*	3,14	2,95	50*	4,60	3,50
13*	3,52	3,41	63	3,78	4,03
14*	3,14	2,63	65*	3,62	3,88
15*	3,19	2,67	66	3,61	3,90
16*	3,35	2,93	67	3,71	3,98
17*	3,28	2,87	68	3,41	3,66
18*	3,16	2,97	69	3,30	3,57
19*	3,04	2,90	70	3,39	3,66
20*	3,20	2,95	71	3,51	3,79
21*	3,34	2,97	72	3,91	3,97
22*	3,63	2,92	73	3,62	3,89
23*	3,86	3,43	74*	3,64	3,89
24*	3,91	3,94			

* - pasterované vzorky

pH hodnota se během skladování u pasterovaných a nepasterovaných vzorků měnila. Na počátku skladování se hodnoty pH v pasterovaných ciderech pohybovaly od 2,61 do 4,6 a v nepasterovaných vzorcích byly zjištěny hodnoty pH od 3,3 do 3,91. Po skončení skladovacího experimentu se hodnoty pH ve většině pasterovaných vzorků snižovaly, výjimkou byly cidery č. 24, 26, 29, 39, 40, 65 a 74, kde se hodnota pH jen nepatrně

zvýšila. pH se u pasterovaných vzorků po uplynutí minimální doby trvanlivosti pohybovalo od 2,43 – 3,94. V nepasterovaných vzorcích byly zjištěny hodnoty pH od 3,57 – 4,03 po skončení skladování. U všech nepasterovaných ciderů došlo během skladování ke zvýšení hodnot pH (viz. tab. č. 13).

7.5 Vliv síření na obsah BA u ciderů

Množství biogenních aminů (mg/l) bylo monitorováno v závislosti na použití síření při výrobě ciderů nebo ne. Síření bylo provedeno u 36 vzorků. V 11 monitorovaných ciderů nebylo síření provedeno. U 27 vzorků informace o použití síření nebyla uvedena (viz. tab. č. 4). Obsah biogenních aminů se v sířených ciderech na počátku skladování pohyboval v rozmezí od 0,1 mg/l do 38,5 mg/l. Množství biogenních aminů vyšší než 10 mg/l se ihned po zakoupení vyskytovalo v 16 vzorcích. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti byla koncentrace biogenních aminů od 0,1 mg/l do 40,3 mg/l. Obsah biogenních aminů vyšší než 10 mg/l byl detekován ve 13 ciderech (viz. tab. č. 13).

Přítomnost tryptaminu u analyzovaných vzorků nebyla prokázána ihned po zakoupení, stejně tak po uplynutí minimální doby trvanlivosti.

Fenylethylamin se u vzorků na počátku skladování vyskytoval pouze u 5 vzorků (25, 30, 31, 45 a 51) s koncentracemi od 0,4 mg/l do 5,1 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se výskyt fenylethylaminu jen nepatrně zvýšil. Obsah fenylethylaminu byl detekován v rozmezí od 0,1 mg/l do 7,7 mg/l. U vzorků č. 25, 30 a 31 došlo během skladování ke snížení zjištěných množství fenylethylaminu.

Putrescin se mimo 3 vzorky (38, 42 a 48) na počátku skladování vyskytoval u všech vzorků. Jeho nejnižším zjištěným množstvím bylo 0,2 mg/l u vzorku č. 8, naopak nejvyšší koncentraci vykazoval vzorek č. 44, u kterého bylo zjištěno množství 41 mg/l \pm 2,2. Koncentrace putrescinu vyšší než 10 mg/l byly zjištěny v 6 vzorcích (viz. tab. č. 13). Během skladování došlo ke snížení hodnot putrescinu téměř u všech vzorků, výjimkou byly vzorky č. 7 a 42, u kterých se obsah putrescinu zvýšil.

Přítomnost kadaverinu byla zjištěna u většiny vzorků. Jeho zjištěné množství se na počátku skladování pohybovalo od 0,2 mg/l do 22,8 mg/l. Po skončení doby minimální trvanlivosti se u většiny vzorků koncentrace kadaverinu zvyšovaly. U 4 vzorků (10, 25, 31 a 56) se obsah kadaverinu během skladování snížil. Detekované koncentrace byly od 0,4 mg/l do 32,5 mg/l.

Histamin se bezprostředně po zakoupení vyskytoval u 5 vzorků s koncentracemi od 0,9 mg/ do 13,4 mg/l. Četnost výskytu histaminu po uplynutí minimální doby trvanlivosti se zdvojnásobila. Nejnižší zjištěné množství 0,2 mg/l se vyskytovalo ve 2 vzorcích (30 a 52). Nejvyšší detekované množství histaminu $18,3 \text{ mg/l} \pm 0,8$ bylo ve vzorku č. 51.

Tyramin se ihned po zakoupení vyskytoval ve většině vzorků, žádné detekované množství nebylo zjištěno v ciderech č. 47, 49, 52 a 53. Koncentrace tyraminu se na počátku skladování pohybovala od 0,1 mg/l do 38,5 mg/l. Obsah tyraminu se během skladování u většiny vzorků zvyšoval. V 5 vzorcích (11, 27, 30, 31 a 56) došlo během skladování ke snížení zjištěných koncentrací tyraminu. Detekované množství tyraminu po uplynutí minimální doby trvanlivosti se pohybovalo od 0,1 mg/l do 40,3 mg/l.

Spermidin se ihned po zakoupení vyskytoval u 4 vzorků (51, 53, 55 a 56) v množství od 0,1 mg/l do 0,3 mg/l. Koncentrace spermidinu během skladování se jen nepatrně zvýšila. Obsah spermidinu se po uplynutí minimální doby trvanlivosti pohyboval od 0,1 mg/l do 1,6 mg/l. U vzorků č. 55 a 56 došlo v průběhu skladování ke snížení detekovaných množství spermidinu, snížení obsahu se pohybovalo do 0,1 mg/l.

Spermin se bezprostředně po zakoupení vyskytoval u většiny vzorků. Ve 13 vzorcích jeho obsah nebyl zjištěn. Koncentrace sperminu se pohybovala od 0,9 mg/l do 6,5 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti byl spermin zjištěn téměř v každém vzorku, výjimkou byly vzorky č. 17 a 21, u kterých nebylo detekováno žádné množství. Obsah sperminu se na konci skladování pohyboval od 0,6 mg/l do 5,8 mg/l. U vzorku č. 56 se během skladování snížilo zjištěné množství, kdy se počáteční detekované množství $6,5 \text{ mg/l} \pm 0,3$ snížilo na 0,8 mg/l (viz. tab. č. 13).

Tabulka č. 14 Obsah BA (mg/l) u sířených ciderů

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	Konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
7	ND**	ND**	ND**	$2,2 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,0$	$2,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,1$
8	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,2 \pm 0,0$	ND**	$0,7 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$
9	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,5 \pm 0,0$	ND**	$0,7 \pm 0,0$	$1,1 \pm 0,1$
10	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,1 \pm 0,1$	ND**	$0,8 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,0$
11	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,5 \pm 0,1$	ND**	$1,0 \pm 0,0$	$1,1 \pm 0,0$
12	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,1 \pm 0,1$	ND**	$0,9 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,1$
14	ND**	ND**	ND**	ND**	$1,0 \pm 0,1$	ND**	$1,2 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$
15	ND**	ND**	ND**	ND**	$0,5 \pm 0,0$	ND**	$1,7 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$

16	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	ND**	1,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1
17	ND**	ND**	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	ND**	0,6 ± 0,0	1,6 ± 0,1
20	ND**	ND**	ND**	ND**	1,8 ± 0,1	ND**	6,6 ± 0,3	11,5 ± 0,5
21	ND**	ND**	ND**	ND**	1,9 ± 0,1	ND**	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,2
24	ND**	ND**	ND**	ND**	3,1 ± 0,2	ND**	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1
25	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	2,9 ± 0,2	ND**	0,6 ± 0,0	ND**
26	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	3,1 ± 0,2	0,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1	2,6 ± 0,2
27	ND**	ND**	ND**	ND**	2,7 ± 0,2	ND**	2,8 ± 0,1	4,8 ± 0,3
30	ND**	ND**	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,5 ± 0,1
31	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	ND**	6,4 ± 0,4	ND**	2,2 ± 0,1	ND**
38	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0
42	ND**	ND**	ND**	3,0 ± 0,1	ND	3,0 ± 0,1	ND**	7,0 ± 0,3
44	ND**	ND**	ND**	ND**	41,0 ± 2,2	ND**	ND**	3,1 ± 0,2
45	ND**	ND**	3,3 ± 0,2	7,7 ± 0,4	31,9 ± 1,7	7,7 ± 0,4	12,4 ± 0,5	14,5 ± 0,7
46	ND**	ND**	ND**	ND**	35,4 ± 1,8	ND**	10,7 ± 0,5	13,1 ± 0,6
47	ND**	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0	ND**	ND**	1,7 ± 0,1
48	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	21,3 ± 0,9	30,4 ± 1,5
49	ND**	ND**	ND**	ND**	15,3 ± 0,6	ND**	ND**	0,4 ± 0,0
50	ND**	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	20,2 ± 1,2	0,1 ± 0,0	22,8 ± 1,2	32,5 ± 1,7
51	ND**	ND**	5,1 ± 0,3	7,7 ± 0,4	20,2 ± 0,9	7,7 ± 0,4	9,3 ± 0,5	12,7 ± 0,7
52	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0	2,7 ± 0,1	1,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,8 ± 0,0
53	ND**	ND**	ND**	ND**	3,3 ± 0,2	ND**	0,3 ± 0,0	2,2 ± 0,1
55	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1	3,9 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,0 ± 0,1
56	ND**	ND**	ND**	ND**	6,9 ± 0,3	ND**	3,3 ± 0,2	0,5 ± 0,0
62	ND**	ND**	ND**	ND**	8,5 ± 0,4	ND**	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,2
64	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	5,7 ± 0,4	0,2 ± 0,0	2,7 ± 0,1	3,5 ± 0,2
74	ND**	ND**	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	7,2 ± 0,3

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tab. č. 14: Pokračování – Obsah BA (mg/l) u šířených ciderů

Číslo vzorku	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
7	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
8	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	0,7 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	2,6 ± 0,1
9	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,6 ± 0,0
10	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1
11	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	ND**	2,0 ± 0,1
12	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	0,8 ± 0,0
14	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	2,1 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	2,1 ± 0,1
15	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,6 ± 0,1

16	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	0,9 ± 0,0
17	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	1,3 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	ND**
20	ND**	ND**	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,0 ± 0,0
21	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	ND**	ND**	ND**
24	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	1,2 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,2 ± 0,1
25	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,8 ± 0,2
26	ND**	1,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	2,5 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	2,0 ± 0,1	3,4 ± 0,2
27	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1
30	ND**	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	ND**	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1
31	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1
38	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	2,4 ± 0,1	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,1
42	ND**	5,3 ± 0,3	1,0 ± 0,0	11,6 ± 0,7	ND**	0,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	4,7 ± 0,2
44	ND**	ND**	0,3 ± 0,0	4,2 ± 0,2	ND**	0,4 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1
45	7,4 ± 0,4	9,0 ± 0,5	10,5 ± 0,6	11,9 ± 0,6	ND**	1,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1
46	ND**	ND**	14,4 ± 0,8	21,2 ± 1,0	ND**	0,8 ± 0,0	2,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1
47	ND**	ND**	ND**	3,2 ± 0,1	ND**	0,2 ± 0,0	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1
48	9,4 ± 0,5	ND**	20,7 ± 0,9	28,4 ± 1,2	ND**	0,2 ± 0,0	1,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1
49	ND**	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	0,9 ± 0,0
50	13,4 ± 0,6	ND**	38,5 ± 1,8	40,3 ± 2,1	ND**	0,3 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
51	8,4 ± 0,4	18,3 ± 0,8	12,1 ± 0,6	24,4 ± 1,3	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1
52	ND**	0,2 ± 0,0	ND**	1,3 ± 0,1	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	5,8 ± 0,2
53	ND**	2,7 ± 0,1	ND**	2,4 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,8 ± 0,1
55	ND**	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,0	2,5 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
56	ND**	ND**	4,3 ± 0,3	ND**	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	6,5 ± 0,3	0,8 ± 0,0
62	ND**	ND**	3,9 ± 0,2	7,3 ± 0,4	ND**	ND**	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1
64	ND**	0,3 ± 0,0	2,9 ± 0,2	3,6 ± 0,2	ND**	ND**	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1
74	0,9 ± 0,0	3,0 ± 0,2	0,2 ± 0,0	6,6 ± 0,3	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	1,3 ± 0,1

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Obsah biogenních aminů na počátku skladování se ve všech nesířených ciderech pohyboval v množství od 0,1 mg/l do 5,6 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti byl obsah biogenních aminů v rozmezí od 0,1 mg/l do 12,8 mg/l. Koncentrace vyšší než 10 mg/l byly detekovány u vzorku č. 72, kdy bylo zjištěno množství 10,3 mg/l ± 0,5 putrescinu na konci skladování a obsah tyraminu 12,8 mg/l ± 0,5. Tryptamin nebyl ani v jednom z analyzovaných vzorků zjištěn.

Fenylethylamin se na počátku skladování vyskytoval u 5 vzorků (63, 66, 70, 72 a 73), kdy se jeho koncentrace pohybovala od 0,2 mg/l do 2,1 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti došlo ke zvýšení četnosti výskytu fenylethylaminu. Jeho koncentrace se

v průběhu skladování zvyšovaly. Obsah fenylethylaminu byl v rozmezí od 0,4 mg/l do 4,4 mg/l.

Putrescin byl ihned po zakoupení detekován v 7 vzorcích (63, 66, 68, 69, 70, 72 a 73). Nejnižší zjištěná koncentrace 0,7 mg/l byla u vzorku č. 70. Nejvyšší detekovaný obsah 5,6 mg/l \pm 0,3 byl v cideru č. 63. Po skončení skladování došlo ke zvýšení koncentrací putrescinu u 5 vzorků (39, 40, 66, 70 a 72) o 0,4 – 1,7 mg/l. Vzorky č. 63, 68, 69 a 73 vykazovaly snížené hodnoty putrescinu o 0,1 – 4,2 mg/l.

Přítomnost kadaverinu na počátku skladování byla zjištěna u 6 vzorků (66, 68, 69, 70, 72 a 73) v množství od 0,3 mg/l do 1,4 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se kadaverin vyskytoval ve všech analyzovaných ciderech s výjimkou vzorku č. 63, kde nebylo detekováno žádné množství kadaverinu. Kadaverin byl zjištěn v množství od 0,5 mg/l do 10,3 mg/l.

Histamin se bezprostředně po zakoupení vyskytoval ve vzorku č. 66 s obsahem histaminu 0,3 mg/l a u vzorku č. 73 s množstvím histaminu 1,3 mg/l \pm 0,1. Četnost výskytu spolu s koncentrací se během skladování zvýšila. Nejvyšším zjištěným množstvím histaminu bylo 7,3 mg/l \pm 0,4 v cideru č. 72.

Tyramin se na počátku skladování vyskytoval u každého analyzovaného vzorku s výjimkou vzorku č. 63. Koncentrace tyraminu se pohybovala od 0,1 mg/l do 3,1 mg/l. V průběhu skladování se zvýšila koncentrace tyraminu u každého vzorku. Nejvyšší nárůst koncentrace byl zjištěn ve vzorku č. 72, kdy se jeho obsah zvýšil o 9,7 mg/l.

Spermidin se ihned po zakoupení vyskytoval mimo 4 vzorky (39, 40, 41 a 43) ve všech ciderech v rozmezí od 0,1 mg/l do 0,5 mg/l. Během skladování se obsah spermidinu u většiny vzorků zvýšil o 0,1 – 0,2 mg/l. Ve vzorku č. 72 se v průběhu skladování obsah spermidinu snížil z počáteční hodnoty 0,1 mg/l na nedetekovatelné množství.

Spermin se na začátku skladování vyskytoval u všech vzorků s obsahem od 0,9 mg/l do 1,9 mg/l. Během skladování se obsah sperminu u všech vzorků zvyšoval. Obsah sperminu se na konci skladování pohyboval od 1,4 mg/l do 3,4 mg/l. Množství sperminu se v průběhu skladování zvyšovalo o 0,2 – 2,2 mg/l (viz. tab. č. 14).

Tabulka č. 15 Obsah biogenních aminů (mg/l) u nesířených ciderů

Číslo vzorku	Tryptamin*		Fenylethylamin*		Putrescin*		Kadaverin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	Konec
39	ND**	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,8 ± 0,0
40	ND**	ND**	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,4 ± 0,0	ND**	0,5 ± 0,0
41	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
43	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0
63	ND**	ND**	0,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1	5,6 ± 0,3	1,4 ± 0,1	ND**	ND**
66	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1	0,3 ± 0,0	4,0 ± 0,2
68	ND**	ND**	ND**	0,7 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,3 ± 0,0	1,5 ± 0,1
69	ND**	ND**	ND**	ND**	1,7 ± 0,1	ND**	0,6 ± 0,0	1,5 ± 0,1
70	ND**	ND**	0,2 ± 0,0	2,2 ± 0,1	0,7 ± 0,0	2,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	2,9 ± 0,2
72	ND**	ND**	2,1 ± 0,1	4,4 ± 0,2	2,7 ± 0,1	4,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	10,3 ± 0,5
73	ND**	ND**	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,1 ± 0,0	6,2 ± 0,3

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tab. č. 15: Pokračování – Obsah BA (mg/l) u nesířených ciderů

Číslo vzorku	Histamin*		Tyramin*		Spermidin*		Spermin*	
	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec	počátek	konec
39	ND**	ND	1,5 ± 0,1	3,8 ± 0,2	ND**	0,2 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
40	ND**	ND**	0,8 ± 0,0	4,5 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
41	ND**	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	2,3 ± 0,1	ND**	0,1 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
43	ND**	1,7 ± 0,1	3,1 ± 0,2	4,7 ± 0,2	ND**	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,1 ± 0,1
63	ND**	ND**	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1
66	0,3 ± 0,0	3,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0	6,5 ± 0,3	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	2,2 ± 0,1
68	ND**	ND**	0,5 ± 0,0	2,7 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	3,4 ± 0,2
69	ND**	ND**	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	1,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1
70	ND**	1,9 ± 0,1	0,1 ± 0,0	4,8 ± 0,3	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1
72	ND**	7,3 ± 0,4	3,1 ± 0,2	12,8 ± 0,5	0,1 ± 0,0	ND**	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1
73	1,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1	8,7 ± 0,5	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1

* - koncentrace biogenních aminů vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 5)

ND** - biogenní amin nebyl detekován

Tabulka č. 16 Změna pH u sířených a nesířených ciderů

Číslo vzorku	pH		Číslo vzorku	pH	
	počátek	konec		počátek	Konec
7	3,35	3,16	44	3,85	3,54
8	3,54	3,38	45	4,29	3,50
9	3,11	2,91	46	4,39	3,60
10	3,11	2,43	47	4,95	3,90
11	3,18	3,01	48	4,52	3,38
12	3,14	2,95	49	4,55	3,35
14	3,14	2,63	50	4,60	3,50
15	3,19	2,67	51	5,04	3,75
16	3,35	2,93	52	5,14	4,11
17	3,28	2,87	53	5,11	4,14
20	3,20	2,95	55	3,35	3,59
21	3,34	2,97	56	3,18	3,41
24	3,91	3,94	62	3,22	3,67
25	3,65	3,89	63*	3,78	4,03
26	3,39	3,92	64	3,65	3,93
27	3,90	3,25	65	3,62	3,88
30	3,88	3,65	66*	3,61	3,90
31	3,80	3,56	68*	3,41	3,66
38	3,34	3,39	69*	3,30	3,57
39*	3,01	3,07	70*	3,39	3,66
40*	2,61	2,69	72*	3,91	3,97
41*	2,70	2,69	73*	3,62	3,89
42	3,00	2,90	74	3,64	3,89
43*	2,63	2,59			

* nesířené vzorky

Bezprostředně po zakoupení se naměřené hodnoty pH u sířených vzorků pohybovaly od 3,0 – 5,14. v nesířených vzorcích tyto hodnoty byly od 2,61 – 3,91. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti byly u sířených ciderů hodnoty pH od 2,43 – 4,14 a u nesířených vzorků byly v rozmezí od 2,59 – 4,03. V průběhu skladování se u většiny sířených vzorků hodnoty pH snižovaly. U vzorků č. 24, 25, 26, 38, 55, 56, 62, 64, 65 a 74 se pH zvyšovalo. V nesířených ciderech se naopak pH nepatrně zvyšovalo v průběhu skladování. Pouze u vzorku č. 43 došlo během skladování ke snížení, které bylo 0,04 (viz. tab. č. 16).

7.6 Diskuse

Ačkoliv je problematika biogenních aminů dnes velmi diskutovaným tématem. Jsou limity pro biogenní aminy legislativně dány pouze pro histamin (100 – 200 mg/l pro ryby a 200 – 400 mg/l pro rybí produkty zrající v láku) a to navíc jen u ryb a rybích produktů (ANONYM, 2019a). Monitorování biogenních aminů u nápojů s obsahem alkoholu není dnes legislativou ošetřeno, nicméně se někteří autoři domnívají, že i velmi malé dávky biogenních aminů mohou působit pro vnímavější jedince nebezpečně. Proto navrhuji limity pro histamin u nápojů s alkoholem do 2 mg/l a součet některých biogenních aminů (tyraminu a fenylethylaminu) do 100 mg/l (SILLA-SANTOS, 1996). Snížené limity pro nápoje s obsahem alkoholu jsou doporučovány z důvodu, že přítomnost alkoholu zpomaluje až inhibuje detoxikační enzymy pro biogenní aminy (SHALABY, 1996; SILLA-SANTOS, 1996).

V současné době je velmi málo prací, které by spojovaly výskyt biogenních aminů v ciderech. Studie se zabývají výskytem biogenních aminů především u španělských (GARAI et. al., 2006) a francouzských ciderů (COTON et. al., 2010). Hlavní myšlenkou této diplomové práce bylo monitorování výskytu biogenních aminů u ciderů dostupných na českém trhu také z důvodu velmi málo publikací, které by spojovaly výskyt biogenních aminů a ciderů.

V diplomové práci bylo zpracovááno 74 vzorků ciderů s různým obsahem alkoholu. Obsah alkoholu se pohyboval od 0,0 % do 7,7 %. Nejvíce zastoupenými vzorky byly cidery s obsahem alkoholu 4,5 %, kterých bylo 30. Mezi vzorky bylo 39 ciderů, které byly ochuceny. Vzorky pocházely od 33 různých výrobců. Všechny získané vzorky ciderů byly koupeny v české obchodní síti, nejčastěji v supermarketech nebo s využitím e-shopů.

Hlavním cílem diplomové práce bylo monitorování výskytu biogenních aminů u ciderů a pro možnost sledování změn způsobených během skladování, byly od každého vzorku zakoupeny dvě láhve. Jeden kus cideru byl zpracováván ihned po zakoupení a druhý kus ze zakoupeného vzorku byl uskladněn do doby uplynutí jeho minimální trvanlivosti. Skladování ciderů probíhalo za teploty $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Délka skladování vzorků se pohybovala od 14 - 365 dní.

U 74 hodnocených ciderů byl výskyt alespoň jednoho biogenního aminu zjištěn u každého ze vzorků. Nejméně detekovaným biogenním aminem byl tryptamin. Tryptamin se bezprostředně po zakoupení nevyskytoval u žádného z analyzovaných ciderů. Po uplynutí

minimální doby trvanlivosti byl zjištěn pouze u vzorku č. 34 s obsahem alkoholu 4,5 % a délkou skladování 231 dní, kdy byl jeho obsah 0,3 mg/l.

Z hlediska potencionálních zdravotních komplikací je možné mezi nejvýznamnější BA v nápojích a potravinách zařadit histamin (SHALABY, 1996; SILLA-SANTOS, 1996).

Histamin se na počátku skladování vyskytoval u 9 vzorků s obsahem od 0,3 mg/l do 13,4 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se jeho četnost výskytu zvýšila. Přítomnost histaminu po skončení skladování byla zjištěna u 20 vzorků s množstvím od 0,1 – 18,3 mg/l. Nízké množství histaminu zjistili i Garai et. al. (2006). Obsah histaminu zjištěný jejich studií se pohyboval od 0,0 – 6,93 mg/l \pm 1,08 – 1,92. Námi zjištěné množství je vyšší, nicméně detekovaná množství histaminu nepřesahují limit 20 mg/l, jež je schopný vyvolávat zdravotní komplikace (BAUZA et. al., 1995; SOUFLEROS et. al., 1998). Podobné množství histaminu u španělských a francouzských ciderů zjistili ve studii Ladero et. al. (2010). Kdy jimi bylo detekováno množství histaminu do 16 mg/l \pm 1,28.

Fenylethylamin byl zjištěn ihned po zakoupení u 16 vzorků s množstvím od 0,2 – 5,1 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se fenylethylamin vyskytoval u 29 vzorků s obsahem od 0,1 – 7,7 mg/l. Shalaby (1996) uvádí doporučené množství do 3 mg/l fenylethylaminu v nápojích s obsahem alkoholu. Námi zjištěný obsah fenylethylaminu je dvakrát vyšší, což by mohlo vyvolávat zdravotní komplikace nejen u citlivějších osob.

Kadaverin spolu s putrescinem mohou zvyšovat toxické účinky jiných biogenních aminů (např. tyraminu, histaminu a fenylethylaminu). Sami o sobě nemusí působit toxicky. Z tohoto důvodu je velmi obtížné určit množství těchto biogenních aminů vyskytujících se v potravinách (HALÁSZ et. al., 1994; ANCÍN et. al., 2008; SHALABY, 1996).

Přítomnost putrescinu se bezprostředně po zakoupení prokázala téměř u všech vzorků. Jeho množství se pohybovalo od 0,2 – 41 mg/l. Podobné výsledky byly zjištěny i ze studie Ladera et. al. (2010). Jejichž nejvyšší zjištěná koncentrace putrescinu byla 34 mg/l. Naopak námi zjištěná množství putrescinu byla více než 3 krát vyšší než množství zjištěné ve studii Garai et. al. (2006). Jimi detekované množství putrescinu bylo maximálně 12,25 mg/l, v průměru se jejich zjištěné hodnoty pohybovaly kolem 3,56 mg/l \pm 4,15. Hodnoty zjištěné naší prací spolu s výsledky studie Garai et. al. (2006) jsou mnohonásobně vyšší než výsledky zjištěné ve studii Zee et. al. (1983), jejichž zjištěné množství putrescinu se pohybovalo kolem 0,2 mg/l. Putrescin byl nejčastěji detekovaným biogenním aminem v analyzovaných vzorcích. V průběhu skladování se obsah putrescinu u většiny vzorků

ciderů snižoval. Množství putrescinu po skončení doby použitelnosti bylo v rozmezí od 0,0 – 7,7 mg/l, např. u vzorku č. 44 došlo během skladování ke snížení z počáteční hodnoty 41 mg/l \pm 2,2 až na nedetekovatelnou hodnotu. Tento jev byl zaznamenán u většiny vzorků. K podobným výsledkům, avšak u skladování světlých a tmavých piv v průběhu 6 týdnů při 6 °C, dospěli i Kalač et. al. (1997).

Kadaverin byl dalším detekovaným biogenním aminem u ciderů. Podobně jako putrescin byl detekován u většiny analyzovaných vzorků. Jeho množství se na počátku skladování pohybovalo od 0,2 – 22,8 mg/l. Námi zjištěná množství kadaverinu byla o něco nižší než k jakým se dopravovali ve studii Ladera et. al. (2010), kdy se jejich zjištěné koncentrace kadaverinu u španělských ciderů pohybovaly od 28 – 34 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se obsah kadaverinu u většiny vzorků zvyšoval. Pouze u vzorků č. 10, 25, 31, 33, 36 a 56 se během skladování koncentrace kadaverinu snižovaly.

Tyramin spolu s histaminem jsou považovány za nejvíce toxické biogenní aminy a zvláště důležité z hlediska bezpečnosti potravin. V přítomnosti kadaverinu a putrescinu mohou být jejich účinky zvyšovány (ALVAREZ et. al., 2014). Množství tyraminu se na počátku skladování pohybovalo od 0,1 – 38,5 mg/l. Tyramin byl ihned po zakoupení detekován u téměř všech vzorků, výjimkou byly vzorky č. 47, 49, 52, 53, 61 a 63. Množství tyraminu vyšší než 10 mg/l bylo zjištěno u vzorků č. 45, 46, 48, 50 a 51. Nejvyšším zjištěným množstvím tyraminu na počátku skladování bylo 38,5 mg/l \pm 1,8. Ladero et. al. (LADERO et. al., 2010) ve své studii uvádí, že tyramin byl nejčastěji detekovaným BA u všech hodnocených vzorků s obsahem 14 mg/l \pm 4,63. Garai et. al. (2006) u svých vzorků zjistili množství tyraminu do 5,03 mg/l \pm 1,95. Porovnáme-li maximální zjištěná množství tyraminu u námi hodnocených vzorků spolu s výsledky studií Ladera et. al. (2010) a Garai et. al. (2006), jsou námi zjištěná množství tyraminu daleko vyšší. Je tedy možné říci, že námi hodnocené vzorky měly 2,75 – 7,7 vyšší obsah tyraminu. Po skončení skladování se koncentrace tyraminu zvyšovaly téměř u všech vzorků, výjimkou však byly vzorky č. 11, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 56 a 63.

Výskyt spermidinu nebyl zjištěn u nealkoholických ciderů. Četnost výskytu spermidinu u alkoholických ciderů byla poměrně malá. Ze 74 vzorků byl spermidin na počátku skladování detekován u 15 vzorků (51, 53, 54, 55, 56, 59, 60, 61, 63, 66, 68, 69, 70, 72 a 73) v množství nepřekračující 1 mg/l. Jeho nejvyšším zjištěným obsahem bylo 0,5 mg/l. Po skončení minimální doby trvanlivosti u ciderů došlo k malému zvýšení detekovaných

koncentrací, které však nepřekročily 2 mg/l. Nejvyšším zjištěným obsahem bylo 1,5 mg/l \pm 0,1.

Přítomnost sperminu byla na počátku skladování zjištěna u většiny vzorků. Spermin se bezprostředně po nákupu nevyskytoval u nealkoholických ciderů. Jeho množství se pohybovalo od 0,9 – 6,5 mg/l. V průběhu skladování docházelo ke zvyšování množství sperminu, avšak u žádného ze vzorků množství sperminu nepřekročilo 10 mg/l. Spermin spolu se spermidinem tvoří přirozenou součást buněk (SHALABY, 1996).

Srovnáme-li množství biogenních aminů v závislosti na obsahu alkoholu u analyzovaných vzorků, tak u nealkoholických ciderů se biogenní aminy pohybovaly v nejnižších množstvích. U žádného z nealkoholických vzorků nebyl zjištěn obsah BA překračující 5 mg/l, nejvyšší zjištěnou koncentrací bylo 2,6 mg/l \pm 0,1 v případě sperminu. V případě skupiny ciderů s obsahem alkoholu do 4,5 % (včetně) byl zjištěn obsah biogenních aminů od 0,1 - 41 mg/l. Množství biogenních aminů přesahující 10 mg/l bylo zjištěno u 24 vzorků. U skupiny ciderů s obsahem alkoholu nad 4,5 % byl zjištěn obsah biogenních aminů v rozmezí od 0,1 – 24,4 mg/l. Množství biogenních aminů přesahující hodnoty 10 mg/l byly detekovány u 10 vzorků. Výsledky poukazují na fakt, že i zvýšený obsah alkoholu nemusí zabraňovat možné kontaminaci mikroorganismy a tedy i případné tvorbě biogenních aminů. Ke stejným závěrům došli i Buňka et. al. (2012) když hodnotili závislost obsahu alkoholu a množství biogenních aminů u pív.

Budeme-li porovnávat obsah biogenních aminů u pasterovaných a nepasterovaných ciderů, zjistíme, že množství BA u pasterovaných ciderů se na počátku skladování pohybovalo od 0,1 – 38,5 mg/l. Množství překračující 10 mg/l bylo zjištěno u 7 vzorků (20, 42, 48, 49 a 50). U nepasterovaných ciderů bylo detekované množství na počátku skladování od 0,1 – 5,6 mg/l. U nepasterovaných ciderů šlo předpokládat, že budou mít vyšší hodnoty oproti pasterovaným ciderům. Toto se však nepotvrdilo. Ze studie Zee et. al. (1983) bylo zjištěno nižší množství biogenních aminů u ciderů, které byly před fermentací ošetřeny pasterací, což je opakem námi zjištěnými výsledky. Je možné se tedy domnívat, že u nepasterovaných ciderů byla použita jiná metoda pro snížení případné mikrobiální kontaminace, např. vyšší koncentrace SO₂ nebo použití filtrace.

Obsah biogenních aminů u ciderů, které byly ošetřeny sířením se pohyboval v rozmezí od 0,1 – 41 mg/l. Koncentrace biogenních aminů u sířených ciderů vyšší než 10 mg/l byly zjištěny u 29 vzorků. Množství biogenních aminů u nesířených ciderů bylo od 0,1 – 10,3

mg/l. Pouze u vzorku č. 72 přesahovalo zjištěné množství $10,3 \text{ mg/l} \pm 0,5$ obsah 10 mg/l . Námi zjištěná množství histaminu a tyraminu se u sířených ciderů pohybovalo v rozmezí $0,9 - 18,3 \text{ mg/l}$ pro histamin a $0,1 - 40,3 \text{ mg/l}$ pro tyramin. Studie provedená Vidal-Carou et. al. (1990), z jejichž výsledků vyplývá, že nejvyšší zjištěné hodnoty histaminu a tyraminu byly u vzorků červených vín s nízkými koncentracemi celkového obsahu oxidu siřičitého a jsou tak opakem našich výsledků. Podobně jako u obsahu BA u pasterovaných či nepasterovaných ciderů se lze domnívat, že nesířené cidery, jejichž zjištěná množství biogenních aminů byla nižší, může souviset s použitím jiné konzervační metody, např. pasterace či filtrace k zajištění stability cideru.

Množství biogenních aminů je možné porovnat i podle délky skladování. Po dobu $14 - 100$ dní bylo skladováno 15 vzorků bylo zjištěno množství od $0,1 \text{ mg/l}$ do $8,5 \text{ mg/l}$, u 29 vzorků skladovaných po dobu $101 - 200$ dní se obsah biogenních aminů pohyboval v rozmezí $0,1 - 41 \text{ mg/l}$. Ve 30 vzorcích byla délka skladování od 201 do 365 dní a detekované množství biogenních aminů se pohybovalo od $0,1 \text{ mg/l}$ do $38,5 \text{ mg/l}$. S prodlužující se délkou skladování se zvyšovalo i množství biogenních aminů u ciderů. Množství biogenních aminů lze porovnat s výsledky studie Buňky et. al. (2012), ve které srovnávali obsah biogenních aminů u piv skladovaných od $22 - 244$ dní. V pivech skladovaných po dobu $22 - 60$ dnů zjistili koncentrace biogenních aminů v rozmezí $21 - 132 \text{ mg/l}$, u piv skladovaných $61 - 100$ dní detekovali množství BA od $5 - 252,4 \text{ mg/l}$ a v pivech skladovaných $101 - 244$ dní naměřili hodnoty biogenních aminů v rozpětí $20 - 316 \text{ mg/l}$. Budeme-li porovnávat zjištěné hodnoty obou studií, tak je možné říci, že námi naměřené koncentrace biogenních aminů nejvíce odpovídají BA detekovaným u piv, která byla skladována během $22 - 60$ dní.

ZÁVĚR

Hlavním cílem diplomové práce bylo sledování výskytu 8 biogenních aminů v ciderech dostupných na českém trhu. Pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie byly pozorovány změny v množstvích biogenních aminů u 74 vzorků.

Výskyt biogenních aminů byl zjištěn u všech hodnocených vzorků. Nejvyšší zjištěné množství bylo $41 \text{ mg/l} \pm 2,2$. Tryptamin byl zjištěn pouze u jediného vzorku (vzorek č. 34) s množstvím $0,3 \text{ mg/l}$ po uplynutí minimální doby trvanlivosti. Histamin se vyskytoval jen u 21 vzorků s množstvím nepřekračujícím 20 mg/l . Nejvyšším zjištěným množstvím histaminu bylo $18,3 \text{ mg/l} \pm 0,8$. Nejčastěji se vyskytujícími biogenními aminy byly tyramin (vyskytoval se u 68 vzorků ihned po zakoupení), putrescin (zjištěn u 65 vzorků na počátku skladování), kadaverin (detekován u 60 vzorků bezprostředně po zakoupení), spermin (deteková u 51 vzorků ihned po zakoupení) a spermidin (vyskytoval se u 14 vzorků na počátku skladování).

Tryptamin byl detekován s nejvyšším obsahem $0,3 \text{ mg/l}$, fenylethylamin $7,7 \text{ mg/l}$, putrescin 41 mg/l , kadaverin $32,5 \text{ mg/l}$, histamin $18,3 \text{ mg/l}$, tyramin $40,3 \text{ mg/l}$, spermidin $1,6 \text{ mg/l}$ a spermin $6,5 \text{ mg/l}$.

Během skladování došlo u většiny vzorků ke zvýšení obsahu biogenních aminů. Vyjímkou byl putrescin, jehož množství se téměř u všech vzorků během skladování snižovalo. U ciderů s obsahem alkoholu do $4,5 \%$ (včetně) bylo zjištěno vyšší množství biogenních aminů oproti nealkoholickým ciderům a ciderům s obsahem alkoholu vyšším než $4,5 \%$. Obsah biogenních aminů u pasterovaných ciderů byl vyšší oproti vzorkům, které nebyly pasterací ošetřeny. Množství BA u sířených ciderů bylo vyšší než u vzorků, které sířeny nebyly.

Závěrem je možné říci, že námi zjištěná množství biogenních aminů by neměla pro zdravého člověka představovat zdravotní riziko, avšak u citlivějších jedinců by mohlo dojít k vyvolání zdravotních komplikací.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. LEA, A. G. H. and PIGGOT, J. R. (2003). Cidermaking. In A. G. H. LEA and J. F. DRILLEU (Eds.). *Fermented beverage production* (2nd ed.), pp. 59-87). US: Kluwer Academic/Plenum Publishers, Springer.
Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-0187-9>.
2. WATSON, B. (1999). *Cider, hard and sweet: History, traditions, and making your own*. Woodstock, VT: The Countryman Press
3. ANONYM 2018a, Vyhláška č. 248/2018 o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí; dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248>.
4. ANONYM 2018b, Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 110/2008 o definici, popisu, obchodních úpravě, označování a ochraně zeměpisných označení lihovin a o zrušení nařízení Rady (EHS) č. 1576/89; dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32008R0110>.
5. LE QUERE, J.- M., F. HUSSON, C. RENARD, and J. PRIMAULT. (2006). *French cider characterization by sensory, technical and chemical evaluations*. *LWT-Food Sci. Technol.* 39:1033–1044.
6. DOWNING, D. (1989). *Apple cider*,. In D. Downing (ed.), *Processed apple products*. AVI, New York. pp. 169–188
7. HOLZ-CLAUSE, M. (2003). *Hard cider industry profile*. Iowa State University, Agricultural Marketing Resource Center [online]. , [cit. 2016-02-22].
8. ROWLES, K., (2000). *Processed apple product marketing analysis: Hard cider and apple wine*. Cornell University, SP 2000-06.
9. MERWIN, I, S. VALOIS, and O. PADILLA - ZAKOUR. (2008). *Cider apples and cider-making techniques in Europe and North America*. *HortReviews* 34:365-415.
10. ANONYM 2018c, A new Tax System (Wine Equalisation Tax) Act 1999 dostupné z: <https://www.legislation.gov.au/Details/C2017C00327>
11. ANONYM 2018d, Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 2.7.3 – Fruit wine, vegetable wine and mead. Dostupné z: <https://www.legislation.gov.au/Details/F2015L00388>
12. VALOIS, S., I.A. MERWIN, and O.I. PADILLA-ZAKOUR. (2006). *Characterization of fermented cider apple cultivars grown in upstate New York*. *J. Amer. Pomol. Soc.* 60(3):113–128.

13. JOSHI, V.K., SHARMA, S. (2009). Cider Vinegar: microbiology, technology and quality. In: Solieri, L., Giudici, P. (Ed.) *Vinegars of the World*. Italy: Springer-Verlag. 197–207
14. JOLICOEUR, C. (2013). *The new cider maker's handbook: a comprehensive guide for craft producers*. First printing. White River Junction, Vermont: Chelsea Green Publishing, 337 stran. ISBN 978-1-60358-473-9.
15. BUGLASS, A., J. (2011). *Handbook of alcoholic beverages: technical, analytical and nutritional aspects*. Chichester, West Sussex, England: John Wiley, 2. Vyd. 1167s. ISBN 978-047-0512-029.
16. Cider Advisory Committee. (1956). *Revised list of recommended varieties of cider apples*. In: Cider Advisory Committee Report. Long Ashton Research Station, Bristol, England.
17. MORGAN, J. and A. RICHARDS. (1993). *The book of apples*. London, England: Ebury Press.
18. PROULX, A., NICHOLS, L. (2003). *Cider, making, using & enjoying sweet & hard cider*. 3rd edition. North Adams: Storey Publishing.
19. UHROVÁ, H. (2005). *Jak se dělá cidre, calvados, pommeau*. Praha: Víkend, 87 s. ISBN 80-7222-367-4.
20. HANOUSEK, M. (2006). *Domácí výroba moštů*. 1.vyd. Praha: Grada, 75 s. ISBN 80-247-1445-0.
21. LEA, A. (2008). *Craft cider making*. Preston, England: The Good Life Press.
22. LEA, A.G.H., and J.-F. DRILLEAU. (2003). *Cidermaking*, pp. 66–96. In: A.G.H. Lea and J.R. Piggot (eds.). *Fermented beverage production*. Blackie Academic, London.
23. MITCHELL, P. (2009). *Cider making: Principles and practice*. Course manual. Pershore, UK: Mitchell F&D Limited.
24. BEECH, F.W., and J.G. CARR. (1977). *Cider and perry*, pp. 139–313. In A.H. Rose (ed.), *Alcoholic beverages*. Academic Press, London.
25. JACKSON, R.S. (2000). *Wine Science: Principles, practice, perception*. Academic Press, San Diego.
26. BERRY, D.R., and J.C. SLAUGHTER. (2003). *Alcoholic beverage fermentations*, p. 423. In A.G.H. Lea and J.R. Piggot (eds.), *Fermented beverage production*. Kluwer Academic/Plenum Publ., New York.

27. MITCHELL, P. (2006). *Out of the orchard, into the glass: An appreciation of cider and perry*. National Assoc. Cider Makers, London.
28. BEECH, F.W., and R. DAVENPORT. (1970). *The role of yeasts in cidermaking*. In: A.H. Rose and J.S. Harrison (eds.), *The yeasts*, Vol. 3. Academic Press, London. pp. 73–146
29. SINGH, R.S., SOOCH, B.S. (2009). High cell density reactors in production of fruits wine with special reference to cider- an overview. *Natural Product Radiance*, 8:323–333.
30. LEA, A.G.H. (1989). Cider vinegar. In: Downing, D.L. (Ed.) *Processed apple products*. New York: Van Nostrand Reinhold. 279–301.
31. MITCHELL, P. (2006). *Out of the orchard, into the glass: An appreciation of cider and perry*. National Assoc. Cider Makers, London.
32. ILAND, P., A. EWART, and J. SITTERS. (1993). *Techniques for chemical analysis and stability tests of grape juice and wine*. Patrick Iland Wine Promotions, Campbelltown, South Australia.
33. ZOECKLEIN, B.W., K.C. FUGELSANG, B.H. GUMP, and F.S. NURY. (1995). *Wine analysis and production*. New York: Chapman & Hall.
34. MITCHELL, P. (2007). *Cider and perry: Adding value*. Course manual. Pershore, UK: Mitchell F&D Limited.
35. ALONSO-SALCES, R.M., S. GUYOT, C. HERRERO, L.A. BERRUETA, J.-F. DRILLEAU, B. GALLO, and F.VICENTE. (2004). *Chemometric characterization of Basque and French ciders according to their polyphenolic profiles*. *Anal. Bioanal. Chem.* 379:464–475.
36. UHROVÁ, H. (2002). *Děláme si sami víno rybízové, jahodové, šípkové, trnkové, révové a jiná ovocná vína, šťávy a mošty*. Praha: Víkend, 93 s. ISBN 80-7222-234-1.
37. RAINIERI, S., ZAMBONELLI, C. (2009). Organisms associated with acetic acid bacteria in vinegar production. In: Solieri, L., Giudici, P. (Ed.) *Vinegars of the World*. Italy: Springer-Verlag. 73–95.
38. SILLA SANTOS, M. H. (1996). Biogenic amines: their importance in food. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 213-231.
39. HALÁSZ, A., BARÁTH, A., SIMON-SARKADI, L., HOLZAPFEL, W., (1994). *Biogenic amines and their production by microorganism in food*. *Trends in Food Science and Technology* 5, 42-48.

40. BREMER, P.J., FLETCHER, G.C., and OSBORNE, C. (2003). *Scombrototoxin in sea-food*. New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, A Crown Research Institute, Christchurch, New Zealand. Retrieved On March 16, 2011 at: www.crop.cri.nz/home/research/marine/pathogens/Scombrototoxin.pdf.
41. TEN BRINK, B., DAMINK, C., JOOSTEN, H.M.L.J., and HUISIN'T VELD, J.H.J. (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology* 11: 73–84.
42. NOUT, M.J.R. (1994). Fermented foods and food safety. *Food Research International* 27: 291–298.
43. KALACĚ, P., KRĚŽEK, M., (2005). Biogenní aminy a polyaminy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví, *Czech Journal of Food Science*. 16, 151-159.
44. ANONYM 2019a, Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32005R2073>
45. ANONYM 2019b, Nařízení Komise (EU) č. 1169/2011, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 vytvořením seznamu potravinářských přídatných látek; dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32011R1129>
46. KOMPRDA, T., (2004). *Obecná hygiena potravin*. 1st ed. Brno: MZLU, 148p. ISBN 978-80-7157-757-7.
47. LARQUÉ, E., SABATER-MOLINA, M., ZAMORA, S., (2007)., *Biological significance of dietary polyamines*. Volume 23, Issue 1, Pages 87-95
48. SUZZI, G., GARDINI, F. (2003). *Biogenic amines in dry fermented sausages: a review*. *Int. J. Food Microbiol.* 88, 41-54
49. SPANO G., RUSSO P., LONVAUD-FUNEL, A., LUCAS P., ALEXANDRE H., GRANDVALET, C., COTON, E., COTON, M., BARNAVON, L., BACH, B., RATTRAY, F., BUNTE, A., MAGNI, C., LADERO, V., ALVAREZ, M., FERNÁNDEZ, M., LOPEZ P., DE PALENCIA, P. F., CORBI, A., TRIP, H., LOLKEMA, J. S. (2010). Risk assesment of biogenic amines in fermented foods. *Eur. J. Clin. Nutr.* 64, 10.1038/ejcn.2010.21895–100
50. ALI, R. S., (1996). *Significance of biogenic amines to food safety and human health*. *Food Res. Int.* 29, 675-690.

51. BJELAKOVIC, G., STOJANOVIC, I., STOIMENNOV, TJ., PAVLOVIC, D., KOCIC, G., BJELAKOVIC, GB., et al. (2017). *Polyamines, folic acid supplementation and cancerogenesis*. Pteridines. 2017;28:115-131. DOI: 10.1515/pterid-2017-0012
52. JAIRATH, G., SINGH, PK., DABUR, RS., RAMI, M., CHAUDHARI, M. (2015) *Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: A review*. Journal of Food Science and Technology.2015;52:6835-6846. DOI: 10.1007/s13197-015-1860-x
53. SOLEAS, GJ., CAREY, M., GOLDBERG, DM. (1999). *Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines*. Food Chemistry. 1999;64:49-58. DOI:10.1016/S0308-8146(98)00092-2
54. LEHANE, L., OLLEY, J. (2000), *Histamine fish poisoning revisited*. Int J Food Microbiol. 58:1–37. doi: 10.1016/S0168-1605(00)00296-8
55. STRATTON, JE., HUTKINS, RW., TAYLOR, SL. (1991). *Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review*. J Food Protect. 54:460–470.
56. ATTARAN, R. R. and PROBST, F., (2002). *Histamine fish poisoning: A common but frequently misdiagnosed condition*. Emergency Medicine Journal 19:474-475.
57. AMON, U., BANGHA, E., KUSTER, T., MENNE, A., VOLLRATH, I.B., and GIBBS, B.F. (1999). *Enteral histaminosis: Clinical implications*. Inflammation Research 47: 291–295.
58. ADAMS, R.,M., NOUT, R., J., M., (2001). *Fermentation and food safety*. An Aspen publication, 291 s.
59. LADERO, V., CALLES, M., FERNÁNDEZ, M., and ALVAREZ, M.A. (2010). *Toxicological effects of dietary biogenic amines*. Current Nutrition & Food Science 6: 145–156.
60. VALSAMAKI, K., MICHAELIDOU, A., and POLYCHRONIADOU, A. (2000). *Biogenic amine production in Feta cheese*. Food Chemistry 71: 259–266.
61. CROW, V., CURRY, B., and HAYES, M. (2001). *The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their uses as adjuncts in New Zealand Cheddar*. International Dairy Journal 11: 275–283.
62. LONVAUD-FUNEL, A. (2001). *Biogenic amines in wines: Role of lactic acid bacteria*. FEMS Microbiology Letters 199: 9–13.

63. ANCÍN-AZPILICUETA, C., GONZÁLEZ-MARCO, A., and JIMÉNEZ-MORENO, N. (2008). Current knowledge about the presence of amines in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48: 257–275.
64. LUCAS, P.M., WOLKEN, W.A.M., CLAISSE, O., LOLKEMA, J.S., and LONVAUD-FUNEL, A. (2005). Histamine producing pathway encoded on an unstable plasmid in *Lactobacillus hilgardii* 0006. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 1417–1424.
65. MORENO-ARRIBAS, M.V. and POLOM, M.C. (2008). Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines. *Food Microbiology* 25: 875–881.
66. BOVER-CID, S., HOLZAPFEL, H., W. (1999). : Improved screening procedur for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Intenartional Journal of Food Microbiology* 53, 33-41
67. MARCOBAL, A., MARTIN-ALVAREZ, P.J., MORENO-ARRIBAS, M.V., and MUÑOZ, R. (2006). *A multifactorial design for studying factors influencing growth and tyramine production of the lactic acid bacteria Lactobacillus brevis CECT 4669 and Enterococcus faecium BIFI-58. Research in Microbiology* 157: 417–424.
68. MAIJALA, R.L., EEROLA, S.H., AHO, M.A., and HIRN, J.A. (1993). *The effects of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. Journal of Food Protection* 56: 125–129.
69. FERNÁNDEZ, M., LINARES, D.M., RODRÍGUEZ, A., and ALVAREZ, M.A. (2007). *Factors affecting tyramine production in Enterococcus durans IPLA 655. Applied Microbiology and Biotechnology* 73: 1400–1406.
70. HALÁSZ, A., BARÁTH, A., SIMON-SARKADI, L., and HOLZAPFEL, W. (1994). *Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in Food Science & Technology* 5: 42–49.
71. MAIJALA, R.L. (1994). *Histamine and tyramine production by a Lactobacillus strain subjected to external Ph decrease. Journal of Food Protection* 57: 259–262.
72. NISHIMURA, K., SHIINA, R., KASHIWAGI, K., IGARASHI, K. (2006). *Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink. J Biochem* 139: 81–90
73. SCALABRIN, G., FERIOLI, ME., (1984) *Polyamines in mammalian ageing: an oncological problem, too? A review. Mech Ageing Dev* 26: 149–164
74. CHILDS, AC., MEHTA, DJ., GERNER, EW., (2003) *Polyamine-dependent gene expression. Cell Mol Life Sci* 60: 1394–1406.

75. HALÁSZ, A., BARÁTH, A., SIMON-SARKADI, L., and HOLZAPFEL, W., (1994). Trends Food Sci. Technol. 5, 49
76. FERNANDES, CH. and GLORIA, M., B., A. (2015). *Bioactive Amines*. Handbook of Food Analysis. CRC Press, Vyd. 3., ISBN 978-4665-5654-6. s. 301-328
77. JARVIS, B., and LEA, A., G., A., *Sulphite binding in ciders*. Int. J. Food Sci. Technol. 35, 113-127.
78. JARVIS, B. (2014). *Cider (Cyder; Hard Cider)*. 10.1016/B978-0-12-384730-0.00066-5.
79. WATSON, B. (2013). *Cider, Hard and Sweet: History, Traditions, and Making Your Own*. 3rd ed. The Countryman Press; Woodstock, Vermont: Cider Styles and Traditions; pp. 95–108.
80. ANDREW, L., (2015). *Craft cider making (3rd)*. ISBN 9781785000157, pp. 14
81. PACHLOVÁ, V., BUŇKA, F., FLASAROVÁ, R., VÁLKOVÁ, P., and BUŇKOVÁ, L., (2012). The effect of elevated temperature on ripening of Dutch type cheese. *Food Chemistry* 132.1846 -1854.
82. ZAMAN, M. Z., ABDULAMIR, A.S., ABU BAKAR, F., SELAMAT, J. (2009). A review: Microbiological, physiological and health impact of high level of biogenic amines in fish sauce. *American Journal of Applied Sciences* 6: 1199 – 1211.
83. PLEVA, P., BUŇKOVÁ, L., LAUKOVÁ, A., LORENCOVÁ, E., KUBÁŇ, V., BUŇKA, F., (2012). Factors affected decarboxylation activity of *Enterococcus faecium* isolated from rabbit. *Potravinarstvo*, vol. 6, no. 2, p. 46-49.
84. KELLER, S.E., CHIRTEL, S.J., MERKER, C.I., TAYLOR, K.T., TAN, H.L., MILLER, A.J. (2004). Influence of fruit variety, harvest technique, quality sorting, and storage on the native microflora of unpasteurized apple cider. *J Food Prot.* 2004 Oct; 67(10): 2240–2247.
85. SUAREZ VALLES, B., BEDRINANA, R.P., TASCÓN, N.F., SIMÓN, A.Q., MADRERA, R.R. (2007), Yeast species associated with the spontaneous fermentation of cider. *Food Microbiol.* 24, 25–31.
86. GARAI, G., DUEÑAS, M.T., IRASTORZA, A., MORENO-ARRIBAS, M.V. (2007). Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider. *Lett. Appl. Microbiol.* 45, 473–478.
87. COTON, M., ROMANO, A., SPANO, G., ZIEGLER, K., VETRANA, C., DESMAIRAS, C., LONVAUD-FUNEL, A., LUCAS, P., COTON, E. (2010), Occur-

- rence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. *Food Microbiol.* 27, 1078–1085.
88. GARAI-IBABE, G., IRASTORZA, A., DUEÑAS, M.T., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., MORENO-ARRIBAS, V.M. (2013), Evolution of amino acids and biogenic amines in natural ciders as a function of the year and the manufacture steps. *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 375–381.
89. LADERO, V., COTON, M., FERNÁNDEZ, M., BURON, N., MARTÍN, M.C., GUICHARD, H., COTON, E., ALVAREZ, M.A. (2010), Biogenic amines content in Spanish and French natural ciders: Application of qPCR for quantitative detection of biogenic amine-producers. *Food Microbiol.* 28, 554–561.
90. DEL CAMPO, G., LAVADO, I., DUEÑAS, M., IRASTOZA, M. (2000), Histamine production by some lactic acid bacteria isolated from ciders. *Food Sci. Technol. Int.* 6, 117–121.
91. DUEÑAS, M., IRASTORZA, A., FERNÁNDEZ, K., BILBAO, A. (1995), Heterofermentative Lactobacilli causing ropiness in Basque country ciders. *J. Food Prot.* 58, 76–80.
92. DUEÑAS-CHASCO, M.T., RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M.A., TEJERO Mateo, P., FRANCO-RODRÍGUEZ, G., ESPARTERO, J.L., IRASTORZA-IRIBAS, A., GIL-SERRANO, A.M. (1997), Structural analysis of the exopolysaccharide produced by *Pediococcus damnosus* 2.6. *Carbohydr. Res.* 303, 453–458.
93. DUEÑAS-CHASCO, M.T., RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M.A., TEJERO-MATEO, P., ESPARTERO, J.L., IRASTORZA-IRIBAS, A., GIL-SERRANO, A.M. (1998), Structural analysis of the exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* spp. G-77. *Carbohydr. Res.* 307, 125–133.
94. IBARBURU, I., SORIA-DÍAZ, M.E., RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M.A., VELASCO, S.E., TEJERO-MATEO, P., GIL-SERRANO, A.M., IRASTORZA, A., DUEÑAS, M.T. (2007), Growth and exopolysaccharide (EPS) production by *Oenococcus oeni* I4 and structural characterization of their EPSs. *J. Appl. Microbiol.* 103, 477–486.
95. LARPIN, S., SAUVAGEOT, N., PICHEREAU, V., LAPLACE, J.-M., AUFFRAY, Y. (2002), Biosynthesis of exopolysaccharide by a *Bacillus licheniformis* strain isolated from ropy cider. *Int. J. Food Microbiol.* 77, 1–9.
96. GRANDE, M.J., LUCAS, R., ABRIOUEL, H., VALDIVIA, E., BEN OMAR, N., MAQUEDA, M., MARTÍNEZ-CAÑAMERO, M., GÁLVEZ, A. (2006), Inhibition of

- Bacillus licheniformis* LMG 19409 from ropy cider by enterocin AS-48. *J. Appl. Microbiol.* 101, 422–428.
97. BATTCKOCK, M., AZAM-ALI, S., (1998). Fermented fruits and vegetables. A global perspective. FAO AGRICULTURAL SERVICES BULLETIN No. 134, M-17 ISBN 92-5-104226-8, dostupné z: <http://www.fao.org/3/x0560e/x0560e10.htm>
98. SMETÁNKOVÁ, J., HLADÍKOVÁ, Z., VALACH, F., ZIMANOVÁ, M., KOHAJDOVÁ, Z., GREIF, G., GREIFOVÁ, M., (2012). Influence of aerobic and anaerobic conditions on the growth and metabolism of selected strains of *Lactobacillus plantarum*, Volume 5, Acta Chim. Slov., pp. 204-210.
99. FU, W., MATHEWS, A. P. (1999) Biochemical engineering journal 3: 163-170.
100. LONVAUD-FUNEL, A. (2002). Lactic acid bacteria in winemaking: influence on sensorial and hygienic quality, p. 231–262. In V. P. Singh and R. D. Stapleton (ed.), Biotransformations: bioremediation technology for health and environmental protection. *Progress in Industrial Microbiology* 36. Elsevier, New York.
101. PICCINELLI, A., SUAREZ, B., MORENO, J., RODRIGUE, R., CASO- GARCIA, L. M. and MANGAS, J. J. (2000). Chemical characterization of Asturian cider. *J. Agric. Food Chem.* 48:3997–4002.
102. ZEE, J. A., SIMARD, R. E., HEUREUX, L. and TREMBLAY, J. (1983). Biogenic amines in wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 34:6–9.
103. GARAI, G., DUEÑAS, M. T., IRASTORZA, A., MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J., and MORENO-ARRIBAS, M. V. (2006). Biogenic amines in natural cider. *Journal of Food Protection, Vol. 69, No. 12*, pp. 3006-3012.
104. ALVAREZ, M. A., MORRENO-ARRIBAS, M. V., (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganism as a solution. *Trends Food Sci. Technol*, 39, 146-155.
105. VIDAL-CAROU, M.C., CODONY-SALCEDO, R., MARINÉ-FONT, A., (1990). Histamine and tyramine in spanish wines: Relationships with total sulfur dioxide level, volatile acidity and malo-lactic fermentation. *Volume 35, Issue 3*, pp. 217-227.
106. BUŇKA, F., BUDINSKÝ, P., ČECHOVÁ, M., DRIENOVSKÝ, V., PACHLOVÁ, V., MATOULKOVÁ, D., KUBÁŇ, V. a BUŇKOVÁ, L. (2012). Content of biogenic amines and polyamines in beers from the Czech Republic, *J. Inst. Brew.*, 118, pp. 213-216.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BA	Biogenní aminy
TA	Titration acidity = Titrační kyselost
PA	Pektinlyáza
PE	Pektinesteráza
PME	Pektinmethylesteráza
CAD	Kadaverin
SPD	Spermidin
SPM	Spermin
AGM	Agmantin
PUT	Putrescin
TYR	Tyramin
PEA	Fenylethylamin
TRY	Tryptamin
HIS	Histamin
PA	Polyaminy
EPS	Exopolysacharid
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
CFU/ml	Colony forming unit = počet životaschopných buněk na mililitr

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. č. 1 Schéma procesu výroby cideru moderním způsobem str. 15
- Obr. č. 2 Množství volného SO₂ při určitém pH str. 21

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1 Kategorie cideru v Anglii	str. 16
Tabulka č. 2 Kategorie cideru ve Francii	str. 17
Tabulka č. 3 Kategorie cideru ve Španělsku	str. 17
Tabulka č. 4 Specifikace analyzovaných vzorků	str. 37
Tabulka č. 5 Obsah BA (mg/l) v nealkoholických ciderů	str. 42
Tabulka č. 6 Změna pH u nealkoholických ciderů	str. 42
Tabulka č. 7 Obsah BA (mg/l) u ciderů s obsahem alkoholu od 3,1 – 4,5 %	bstr. 44
Tabulka č. 8 Změna pH u ciderů s obsahem alkoholu do 4,5 %	str. 47
Tabulka č. 9 Množství biogenních aminů (mg/l) u ciderů s obsahem alkoholu od 4,6 – 7,7 %	str. 49
Tabulka č. 10 Změna pH u ciderů s obsahem alkoholu od 4,6 – 7,7 %	str. 51
Tabulka č. 11 Množství BA (mg/l) u pasterovaných ciderů	str. 53
Tabulka č. 12 Obsah BA (mg/l) u nepasterovaných ciderů	str. 56
Tabulka č. 13 Změna pH u pasterovaných a nepasterovaných ciderů	str. 57
Tabulka č. 14 Obsah BA (mg/l) u sířených ciderů	str. 59
Tabulka č. 15 Obsah biogenních aminů (mg/l) u nesířených ciderů	str. 63
Tabulka č. 16 Změna pH u sířených a nesířených ciderů	str. 64