

Vliv použité kultury na vybrané parametry sýrů zrajících s kopolymerním nátěrem

Jana Smitalová

Bakalářská práce
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jana Smitalová**
Osobní číslo: **T17136**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Vliv použité kultury na vybrané parametry sýrů zrajících s kopolymerním nátěrem**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Charakterizujte biogenní aminy, popište jejich vliv na lidský organizmus.
2. Popište základní kroky výroby přírodních sýrů, zdůrazněte místa ve výrobě, která by mohla ovlivnit akumulaci biogenních aminů.
3. Charakterizujte kopolymerové nátěry, které se využívají pro balení sýrů.

II. Praktická část

1. Vytvořte modelové vzorky sýrů za použití vybraných kultur. Před zráním sýrů aplikujte kopolymerní nátěry.
2. Sledujte vývoj vybraných parametrů (základní chemické parametry a další vlastnosti) v modelových šaržích v průběhu zrání.
3. Vyhodnoťte výsledky, diskutujte je s literaturou a vyvoďte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] DONNELLY, Catherine W. Cheese and microbes. Washington, District of Columbia: ASM Press, 2014. ISBN 978-1-55581-859-3.
[2] FOX, P. F. Cheese: chemistry, physics, and microbiology. 3rd ed. London: Elsevier, 2004. ISBN 0122636538.
[3] LINARES, Daniel M., Beatriz DEL RÍO, Victor LADERO, Noelia MARTÍNEZ, María FERNÁNDEZ, María Cruz MARTÍN a Miguel A. ÁLVAREZ. Factors Influencing Biogenic Amines Accumulation in Dairy Products. *Frontiers in Microbiology*. 2012, 3.
[4] BARLOW, C. Y., MORGAN, D.C. (2013). Polymer film packaging for food: An environmental assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, 78. 74-80.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Cílem práce bylo sledovat změny vybraných parametrů sýrů zrajících pod kopolymerním nátěrem při využití různých kultur po dobu 84 dní. Jako vybrané kultury byly použity kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946 (biogenní aminy produkující kmen) a *Lactobacillus casei* CCDM 198 (biogenní aminy degradující kmen). V průběhu zrání se zvyšoval obsah sušiny (z cca 50 % na 77 %) a současně klesal obsah tuku v sušině (z cca 50 % na 33%), tvrdost modelových vzorků sýrů se v průběhu zrání zvyšovala (z cca 27 N na 236 N), přičemž u šarží P_n a D_n byl pozorován výrazně vyšší nárůst v 56. dni v porovnání s kontrolní šarží K_n.

Klíčová slova: biogenní aminy, kopolymerní nátěr, sýr

ABSTRACT

The aim of the study was to observe the changes of chosen parameters in cheese ripening under copolymer coating with different microbiological cultures. Two different microorganisms were chosen as selected microbiological cultures for study - *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946 (strain producing biogenic amine) and *Lactobacillus casei* CCDM 198 (strain degrading biogenic amine) and the batches of cheese were left for 84 days to ripen. During ripening, the dry matter content increased (from approximately 50 % to 77 %) and at the same time the fat content in the dry matter decreased (from approximately 50 % to 33 %). Also the hardness of cheese samples increased during ripening (from approximately 27 N to 236 N) with a significantly higher increase in P_n and D_n batches at day 56, compared to the control batch (K_n).

Keywords: biogenic amines, copolymer coating, cheese

Ráda bych upřímně poděkovala mé vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Vendule Pachlové, Ph.D. za odborné vedení mé práce, veškerou vynaloženou snahu a čas, který mi věnovala, a také trpělivost, ochotu a podporu, kterou mi během zpracovávání této práce projevovala.

Dále bych velmi ráda poděkovala také Mgr. Richardu Adámkovi a Ing. et Ing. Ludmile Zálešákové, kteří mi pomáhali při práci v laboratořích a při získávání údajů potřebných pro praktickou část mé bakalářské práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST.....	10
1 BIOGENNÍ AMINY.....	11
1.1 BIOGENNÍ AMINY	11
1.2 DĚLENÍ	11
1.3 TVORBA BIOGENNÍCH AMINŮ	12
1.4 DEGRADACE BIOGENNÍCH AMINŮ	13
1.5 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH	14
2 VLIV BIOGENNÍCH AMINŮ NA ORGANISMUS	15
2.1 FUNKCE V ORGANISMU	15
2.2 NEGATIVNÍ VLIV NA ORGANISMUS.....	15
3 ZÁKLADNÍ KROKY VÝROBY SÝRŮ	17
3.1.1 Tepelné ošetření mléka.....	18
3.1.2 Úprava mléka před zpracováním.....	19
3.1.3 Sýření.....	20
3.1.4 Zpracování a formování sýřeniny.....	20
3.1.5 Solení.....	21
3.1.6 Zrání	22
3.1.7 Balení.....	23
4 KOPOLYMERNÍ NÁTĚR.....	24
II PRAKTICKÁ ČÁST	26
6 METODIKA	28
6.1 MATERIÁL.....	29
6.2 POMŮCKY.....	29
6.3 POSTUP.....	29
7 CHEMICKÁ ANALÝZA VYBRANÝCH PARAMETRŮ V PRŮBĚHU ZRÁNÍ.....	32
7.1 STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY	32
7.2 STANOVENÍ OBSAHU TUKU	32
7.3 STANOVENÍ PH.....	33
7.4 STANOVENÍ OBSAHU SOLI.....	33
7.5 ANALÝZA TEXTURY VZORKU	33
8 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	34
8.1 CHEMICKÁ ANALÝZA VYBRANÝCH PARAMETRŮ V PRŮBĚHU ZRÁNÍ.....	34
8.1.1 Stanovení obsahu sušiny	34
8.1.2 Stanovení obsahu tuku	35
8.1.3 Stanovení pH.....	37

8.1.4	Stanovení obsahu soli.....	38
8.1.5	Vývoj texturních vlastností v průběhu zrání	39
ZÁVĚR		41
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		42
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		46
SEZNAM OBRÁZKŮ		47

ÚVOD

Přírodní sýry jsou vyráběny z mléka za pomoci bakterií, resp. jejich metabolismu a reakcí, které tento proces doprovázejí. Jedná se o velmi složitý proces zahrnující nespočet reakcí, na jejichž konci vzniká produkt, tak jak jej známe. Konečná podoba sýra se tedy odvíjí od přítomného druhu bakterií a prostředí, ve kterém sýr zraje. Díky tomuto faktu jsme schopni zvolenou mikrobiální kulturou a obalovým materiálem do velké míry určit konečnou podobu výrobku a také ovlivňovat dobu skladovatelnosti a údržnosti nejen sýra, ale i dalších potravin.

Jedním z novějších způsobů balení sýrů je použití polymerních látek pro výrobu obalu. Konkrétně kopolymerní obalový materiál se využívá v jedné nebo více vrstvách ve formě nátěru, filmu, nebo fólie a jeho výhodami jsou především mechanická odolnost, polopropustnost pro určité plyny a metabolity, teplotní izolace, cenová dostupnost a nízká hmotnost. Jeho největším benefitem je variabilita, neboť se nejedná o jednu látku, nýbrž o sloučeninu více látek, tedy lze snadno přizpůsobit konkrétní obalový materiál pro konkrétní druh potravin dle potřeb potravin v průběhu zrání (propustnost pro plyny, zabránění vysychání apod.). Naopak z hlediska ekologického je jejich zdokonalování nutností, neboť ve většině případů nejsou zcela biologicky odbouratelné.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOGENNÍ AMINY

1.1 BIOGENNÍ AMINY

Biogenní aminy jsou látky veřejnosti známé přes 100 let a dříve bychom je našli pod dnes již nepoužívaným výrazem „ptomainy“ tedy „jedovaté látky“. Jedná se o biologicky aktivní nízkomolekulární organické látky produkované v průběhu metabolismu živočichů a rostlin převážně bakteriemi mléčného kvašení, a které se vyskytují ve fermentovaných nápojích a potravinách. Jsou to bioaktivní sloučeniny odvozené dekarboxylací aminokyselin (odstraněním karboxylové skupiny $-\text{COOH}$ z aminokyseliny), kdy vzniká biogenní amin a CO_2 . V živých organismech zajišťují řadu důležitých funkcí, nicméně v nadměrném množství mohou mít nežádoucí až toxické účinky (18, 19, 43, 44).

1.2 DĚLENÍ

Podle chemické struktury můžeme biogenní aminy rozdělit na sloučeniny aromatické (tyramin, 2-fenylethylamin), alifatické (putrescin, kadaverin, spermin, spermidin) a heterocyklické (histamin, tryptamin), přičemž tyto formy jsou analogické přirozeně se vyskytujícím biogenním aminům, které běžně nacházíme v nízkých koncentracích v čerstvých potravinách a plní fyziologickou úlohu spojenou s růstem a proliferací buněk. (4,14) Také je lze rozdělit dle počtu amino skupin na monoaminy, diaminy nebo polyaminy nebo dle původu na endogenní (vznikají uvnitř organismu) a exogenní (vznikají vně organismu). Endogenní biogenní aminy jsou sloučeniny, které se běžně vytvářejí v lidském těle přirozenými pochody, kdežto exogenní vznikají jako následek mikrobiální aktivity. (44) Dále můžeme BA dělit dle reaktivnosti na těkavé aminy (např. fenylethylamin), které se tvoří aminací aldehydů a ketonů, tedy reakcí kdy je navázána amino skupina $-\text{NH}_2$ k aldehydu, nebo ketonu a na netěkavé aminy (např. histamin, putrescin, tyramin), které vznikají dekarboxylací aminokyselin, tedy odstraněním α -karboxylové skupiny z aminokyseliny.

1.3 TVORBA BIOGENNÍCH AMINŮ

K tvorbě BA dochází ve všech potravinách obsahujících bílkoviny, jestliže je v dané potravine vhodné prostředí pro mikrobiální aktivitu. Velmi silný vliv na tuto tvorbu pak má pH, vodní aktivita a složení potraviny.

Pro výraznou tvorbu BA je nutno, aby byly splněny tyto 3 základní předpoklady:

- Dostupnost volných aminokyselin v organismu či potravine
- Přítomnost mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou
- Vhodné podmínky a prostředí pro růst a množení mikroorganismů (18)

Tvorba BA závisí také na aktivitě mikrobiálních dekarboxylačních enzymů, kterou stejně jako samotné mikroorganismy ovlivňuje řada faktorů např. teplota, pH (vhodné je kyselé prostředí s pH mezi 2,5 a 6,5), přítomnost soli, kyslíku, optimální koncentrace substrátu, doba skladování potraviny, hygiena při výrobě, případně kontaminace výrobku. (18)

Mezi producenty biogenních aminů se řadí některé grampozitivní mikrobiální skupiny, např. stafylokoky a bakterie mléčného kvašení, které jsou považovány za nejefektivnější producenty tyraminu (2, 25) a mají schopnost také produkovat histamin, kadaverin a putrescin. (2, 20, 47) Konkrétně se pak jedná např. o rody *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Oenococcus* a *Pediococcus*. Z gramnegativních bakterií se považují za producenty, např. enterobakterie a pseudomonády, které mohou produkovat a hromadit histamin, putrescin a kadaverin (22, 23, 30, 37, 47) Dále pak např. *Escherichia coli*, *Hafnia* nebo *Proteus* (čeleď *Enterobacteriaceae*). Mezi další významné kmeny spojené s vysokou produkcí biogenních aminů v potravinách se řadí laktobacily, enterokoky, laktokoky, pedio-koky, streptokoky a leukonostoky (32), přičemž většina těchto kmenů obsahuje geny, nebo operony které kódují dekarboxylační enzymy či jiné dráhy, které se účastní syntézy těchto sloučenin. (20, 47) Z výše uvedených informací tedy logicky vyplývá, že se obsah a koncentrace BA v potravine bude lišit podle konkrétního druhu potraviny a použitého kmenu či kombinace mikroorganismů (v průmyslu jsou využívány tzv. startovací kultury – ty se využívají jako nejspolehlivější způsob kontroly fermentačního procesu a zároveň zlepšení kvality výsledného produktu vlivem kombinace vlastností různých druhů mikroorganismů).

1.4 DEGRADACE BIOGENNÍCH AMINŮ

K degradaci fyziologicky aktivních BA v lidském organismu dochází v trávicím ústrojí, zejména pak ve střevním traktu a tento proces závisí na činnosti několika enzymů. (12, 18, 27, 41, 42, 46) Enzymy potřebné pro degradaci BA označujeme jako aminooxidázy a dělí se na monoaminooxidázy (MAO) a diaminooxidázy (DAO), přičemž MAO se vyskytuje ve 2 formách a deaminuje neurotransmitery:

- MAO – A: nachází se v centrálním nervovém systému (CNS) a střevních buňkách a deaminuje např. tyramin, serotonin, dopamin a monoaminy z potravin v gastrointestinálním (trávicím) traktu (GIT)
- MAO – B: nachází se ve svalech a játrech a deaminuje fenylathylamin a dopamin

Diaminooxidáza oproti tomu deaminuje fyziologicky aktivní BA z potravy ve střevě.

Proces odbourání neboli degradace BA je vysoce účinný pochod, nejedná-li se o jedince s vyšší citlivostí vůči BA jako jsou děti, alergici či jedinci se sníženou funkcí jater. Degradace BA může být zpomalena, nebo zastavena také přijetím inhibitorů aminooxidáz do organismu a to v podobě alkoholu (jeho degradací vzniká acetaldehyd, který inhibuje degradaci BA) či určitého druhu léčiv např. antidepresiv. V takovém případě nedochází k odbourávání BA, ale k jejich akumulaci v organismu. Neúčinné odbourávání nastává také v případě nadměrného příjmu BA z potravin. (12, 18, 27, 41, 42, 46)

1.5 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH

Mezi potraviny obsahující biogenní aminy se řadí ořechy, čokoláda, fermentované maso, zelenina, ryby a rybí produkty, ale také alkoholické nápoje a zrající sýry, kde jsou biogenní aminy produkovány hlavně během fermentace a zrání. U nefermentovaných potravin je přítomnost biogenních aminů převážně způsobena kontaminací. (44) Jak již bylo zmíněno výše, biogenní aminy jsou ve vyšších koncentracích pro člověka toxické, nicméně jejich přítomnosti ve fermentovaných potravinách se nelze vyhnout. V minimálních koncentracích (cca 20 mg/kg) se vyskytují v alkoholických i nealkoholických nápojích, fermentované zelenině a sóji a maxima dosahují až k několika stovkám mg/kg u některých uzenin a sýrů. (9) Obsah těchto sloučenin je odlišný nejen mezi rozličnými druhy potravin, ale také mezi různými částmi stejné potraviny (např. u zrajícího sýra). (31) Pro různé potraviny jsou také specifické různé druhy biogenních aminů např. ve fermentovaných masech se nachází hlavně tyramin, kadaverin, putrescin a v menších koncentracích i histamin. (16, 21, 37, 38) U alkoholických nápojů je to především histamin, tyramin a putrescin, které bývají do konečného výrobku zaneseny během výroby a skladování. (13, 34) Ve fermentované zelenině jako je kysané zelí nebo olivy, se vyskytuje převážně putrescin, kadaverin a tyramin (28, 36) a v rybích produktech bylo zjištěno značné množství histaminu. (35) V případě sýrů se pak jedná zejména o histamin, tyramin, putrescin, kadaverin či fenylethylamin. (41)

Obecně je přítomnost těchto sloučenin v potravinách do značné míry ovlivněna také podmínkami během zpracování, dodržování správných hygienických zásad výroby a skladování, které mohou podpořit kontaminaci výsledného produktu a zvýšit pravděpodobnost přítomnosti mikroorganismů schopných dekarboxylázy, tedy vzniku biogenních aminů.

2 VLIV BIOGENNÍCH AMINŮ NA ORGANISMUS

2.1 FUNKCE V ORGANISMU

Biogenní aminy mají mnoho fyziologických funkcí v organismu, jako například regulace tělesné teploty nebo hodnoty pH v těle. Jak již bylo zmíněno výše, plní také úlohu spojenou s růstem a proliferací buněk (polyaminy), podílejí se na alergických odpovědích organismu (histamin) či na kontrole krevního tlaku. Některé biogenní aminy (BA) jsou prekurzory pro syntézu lokálních hormonů tzv. autakoidů, což jsou endogenní látky, které se vyznačují tím, že působí s krátkodobým efektem pouze v okolí místa svého vzniku, jsou nezávislé na krevní cirkulaci a patří zde zejména histamin a serotonin. (24, 26) Dále se BA mohou podílet i na tvorbě alkaloidů či nukleových kyselin a bílkovin, hrají důležitou roli i jako neurotransmitery (histamin) v centrálním nervovém systému (24, 26) nebo mediátory v organismu a plní i další biologické funkce potřebné pro správné fungování organismu jako je např. úprava DNA, RNA či syntéza proteinů. Funkce BA v organismu jsou rozličné, nicméně pro správnou funkci organismu jsou potřebné pouze v malých množstvích, při větších množstvích často dochází k patologickým jevům a pochodům a proto jsou velmi rizikovým faktorem při výrobě určitých druhů potravin.

2.2 NEGATIVNÍ VLIV NA ORGANISMUS

Jak už bylo zmíněno výše, biogenní aminy jsou nezbytnou součástí pro některé funkce organismu jako je regulace tělesné teploty, hodnot pH, růst a proliferace buněk, prekurzory pro tvorbu hormonů apod.. Nicméně jejich negativní vliv na organismus je nezanedbatelný a proto je důležité sledovat jejich množství v potravinách a regulovat jejich příjem.

Dle jejich vlivu na lidský organismus bychom mohli BA rozdělit na aminy psychoaktivní a vazoaktivní, přičemž psychoaktivní biogenní aminy působí v CNS jako neurotransmitery a vazoaktivní BA ovlivňují stahování cév, čímž působí na krevní tlak. (27) Mezi psychoaktivní BA pak řadíme histamin, putrescin a kadaverin a mezi vazoaktivní BA fenylethylamin a tyramin. (27)

Biogenní aminy mají výrazně negativní dopad na organismus převážně za určitých konkrétních podmínek. Jako tyto obecné předpoklady pro negativní dopad BA na organismus považujeme zvýšený příjem BA v potravě, sníženou aktivitu detoxikačního enzymového systému například z důvodu genetické predispozice, onemocnění GIT či inhibující vlastnosti oxidázy vlivem požití alkoholu nebo dlouhodobého užívání léčiv. (12, 18, 27, 41, 42, 46)

Při vyšším příjmu BA v potravě se tyto látky uvolňují do krevního oběhu, kde mohou způsobovat uvolňování adrenalinu a noradrenalinu, sekreci trávicích kyselin, zvýšení srdečního tepu, migrénu, tachykardii, ale také zvýšení hladiny krevního cukru a krevního tlaku. Tento proces pak může kaskádově vyvolat další zdravotní potíže jako např. zvracení, potíže s dýcháním, bušení srdce, bolesti hlavy, závratě, návaly horka, přílišné pocení, pálení v ústech, vyrážku, pocit mravenčení až brnění v končetinách, hypotenzi či hypertenzi, průjem a v krajním případě až anafylaktický šok a smrt. (29)

Některé BA mají synergické účinky vůči sobě navzájem, tedy vzájemně podporují svou funkci. Mezi takovéto látky řadíme např. kadaverin a tyramin, které zvyšují toxicitu histaminu. Synergicky samozřejmě působí také alkohol a acetaldehyd jak už bylo několikrát zmíněno výše. Další problematickou vlastností BA, především putrescinu či kadaverinu je to, že často reagují s dusitany či oxidy dusíku a tím zapříčiňují vznik karcinogenních nitrosaminů, které mají další neblahé účinky na lidský organismus. (29)

3 ZÁKLADNÍ KROKY VÝROBY SÝRŮ

Výrobním procesem rozumíme postup výroby sýru od převzetí mléka z farmy (kravína) až po finální produkt směřující z mlékárny ke koncovému zákazníkovi a tento se liší dle různých druhů sýrů, nicméně obecně jej můžeme rozčlenit na základních 8 kroků a to na následující:

- 1) Tepelné ošetření mléka
- 2) Úprava mléka před zpracováním
- 3) Sýření
- 4) Zpracování sýřeniny
- 5) Formování sýřeniny
- 6) Solení
- 7) Zrání
- 8) Balení

Základní kroky výroby jsou pro většinu sýrů stejné, ovšem liší se například ve výchozích surovinách (různé druhy mléka – ovčí, kravské, kozí, atp.), v rozličných druzích startovacích mlékařských kultur (smetanová, sýrařská, mazová, plísňová, atp.), v teplotě pro tepelné ošetření (71 – 74°C) a dobu působení dané teploty (řádově sekundy), v obsahu tuku, na který se dané mléko standardizuje, což ovlivňuje konečnou tučnost výsledného sýru (např. 45 – 60 % tuku obsahuje plnotučný sýr, nebo 10 – 25 % nízkotučný), v obsahu soli a způsobu solení (např. čedar je solen do zrna a čerstvý sýr v solné lázni) a konečně také v době zrání, což ovlivňuje obsah vody v sýru a tím také jeho tvrdost a trvanlivost (čím nižší obsah vody, tím tvrdší a trvanlivější sýr - např. Eidam zraje 3 – 4 týdny a obsahuje 54 – 63 % vody v tukuprosté sušině, oproti tomu Parmazán zraje až 2 roky a jako extra tvrdý sýr dle vyhlášky 397/2016 Sb. v platném znění obsahuje nejvíce 51 % vody v tukuprosté sušině).

(49)

3.1.1 Tepelné ošetření mléka

Tepelné ošetření mléka před zpracování se nazývá pasterace a je to proces, kdy se mléko zahřeje v deskovém, trubkovém, nebo kotlovém (diskontinuálním) pastéru na určitou teplotu a tato se pak udržuje po určitou dobu. Obecně platí, že čím nižší teplotu použijeme, tím delší časový úsek musíme touto teplotou na mléko působit pro dosažení požadovaného efektu. Toto zajistí snížení obsahu mikroorganismů a zdravotní nezávadnost mléka pro další výrobu, potažmo konzumaci. Účinnost pasterace nám udává tzv. pasterační efekt, který lze definovat jako procentuální obsah usmrcených mikroorganismů vůči původnímu obsahu MO v neošetřeném mléku. Druhy pasteračí se dělí dle použité teploty a času působení na následující:

- **Dlouhodobá pasterace:** ošetření teplotou od 63 do 65 °C po dobu 30 minut, pasterační efekt je 95 – 99 %, nejčastěji pro diskontinuální procesy (malovýroba)
- **Šetrná pasterace:** ošetření teplotou 71 – 74°C po dobu 15 – 30s, pasterační efekt je 95,5 – 99,9%, nejčastější typ pasterace využívaný pro výrobu sýrů – mléko má nejvhodnější vlastnosti pro následné zpracování
- **Vysoká pasterace:** ošetření teplotou cca 85°C po dobu několik sekund, pasterační efekt je 99,9 – 99,99%, nejčastěji využívaný pro výrobu jogurtů

Tepelné ošetření je nutné z hlediska následných vlastností mléka pro další zpracování, jako je denaturace mléčných bílkovin (ovlivní pozdější kvalitu gelu a zadržování vody v prostorové struktuře), změna vápenatých iontů, ale zejména kvůli zabránění nežádoucí mikrobiální kontaminaci, pomnožení nežádoucích mikroorganismů a tím znesnadnění fermentační aktivity žádoucích mikroorganismů, které zde přidáváme v podobě mlékařských, resp. sýrařských kultur. Samozřejmostí je pak také zajištění zdravotní nezávadnosti a prodloužení trvanlivosti výsledného produktu, jak již bylo zmíněno výše. (5, 7)

Z hlediska vzniku biogenních aminů představuje tepelné ošetření velice důležitý krok ve výrobním procesu, neboť při nesprávně provedené pasteraci se v mléce mohou pomnožovat MO s dekarboxylázovou aktivitou, které ve výsledném výrobku budou tvořit BA, čímž mohou znehodnocovat výrobek a také ohrozit zdraví konečného spotřebitele. Bohužel neexistuje pasterace se 100% pasteračním efektem, tudíž je vždy možné, že tento proces přežijí i některé MO s dekarboxylázovou aktivitou a během zrání pak budou zvyšovat obsah BA, tím spíše je nutné provádět tepelné ošetření zodpovědně, vždy dosáhnout požadovaných teplot a nezkracovat dobu, po kterou má být daná teplota udržena, abychom tuto možnost minimalizovali. Také je nutné zabránit křížové kontaminaci, tedy styku tepelně neošetřeného mléka s již pasterovaným.

3.1.2 Úprava mléka před zpracováním

V této fázi výrobního procesu probíhá odstředění mírně zahřátého mléka o různé tučnosti, přičemž zde získáme 2 produkty – smetanu a odstředěné mléko. Součástí odstředění může být také baktofugace, čili mechanické zbavení mléka mikrobiálních spor a čisticí odstředění, kde se velmi efektivně mléko čistí od fyzikálních nečistot.

V dalším kroku – standardizaci – se smetana a odstředěné mléko smísí v daném poměru, abychom získali požadovanou tučnost pro další výrobu. Tento proces je nutný z toho důvodu, že tučnost syrového mléka se liší s každou dodávkou z farmy (závisí na plemeni krav, krmení, ročním období atd.), nicméně pro výrobu je nutno zajistit stabilní tučnost nezávisle na aktuální tučnosti syrového mléka z farmy.

Poslední fází úpravy mléka před zpracováním je homogenizace, nicméně ta se při výrobě většiny sýrů neprovádí, tudíž se ji v této práci zabývat nebudeme. (5, 43)

3.1.3 Sýření

V této fázi výrobního procesu přidáváme do předem upraveného mléka mlékařskou, resp. sýrařskou kulturu, syřidlo (rennin, chymosin) a chlorid vápenatý. Tyto přídatné látky jsou nezbytné pro výrobní proces a významně ovlivňují budoucí podobu výrobku. Nejprve se přidává čistá mlékařská (sýrařská) kultura (usnadní syřidlu štěpení a během zrání dodá konečnému výrobku jeho chuť a aroma) a to buď mezofilní, nebo termofilní podle druhu sýru. Následně přidáváme roztok chloridu vápenatého, který doplní v mléce chybějící Ca^{2+} ionty potřebné pro tvorbu gelu. Po důkladném rozmíchání je jako poslední přidáno syřidlo, které zajistí štěpení κ -kaseinu (tvoří ochranný koloid pro ostatní kaseiny) mezi vazbou 105Phe a 106Met, kdy vznikají 2 frakce (para- κ -kasein a κ -kasein makropeptid). Díky tomuto procesu už κ -kasein nemůže plnit roli ochranného koloidu, což znamená, že ostatní kaseinové bílkoviny se tímto zpřístupní Ca^{2+} iontům (urychlují agregaci a koagulaci) dodaným skrze roztok CaCl_2 a vznikají nerozpustné vápenaté soli kaseinů, následně dochází k zesíťování molekul a tvoří se gel. Sýření probíhá za optimální teploty pro aktivitu MO sýrařských kultur, aby došlo k nastartování jejich metabolismu, a trvá zhruba 20 – 40 minut. (5, 7, 8, 17)

Z hlediska tvorby BA je zde nutné použít čisté mlékařské kultury, bez přítomnosti kontaminujících MO s dekarboxylázovou aktivitou, dodržet všechny zásady aseptické práce, udržovat veškeré pomůcky, které přijdou do kontaktu s mlékem čisté a ideálně sterilní a samozřejmě nesmí docházet ke křížové kontaminaci (tepelně neošetřené mléko nesmí přijít do kontaktu s tepelně ošetřeným, sterilní s nesterilním apod.)

3.1.4 Zpracování a formování sýřeniny

Při zpracování sýřeniny dochází k jejímu prokrojení, následnému postupnému uvolňování syrovátky, ke vzniku a vytvrzování sýrařského zrna a vypuzování (synerezi) vody z gelu vlivem míchání a dohřívání. Sýrařské zrno se zde dohřívá (zvyšuje se teplota) a dosouší (míchání sýřeniny při dohřívací teplotě) a také klesá pH vlivem mikroorganismů, které svým metabolismem zpracovávají mléčný cukr, tedy laktózu a tvoří kyseliny (např. mléčnou). (5, 11, 17, 43)

Z hlediska tvorby biogenních aminů je zde riziko kontaminace nežádoucími MO nedostatečně čistou harfou při prokrojování sýřeniny, či nesterilním míchadlem při dohřívání a dosoušení sýrařského zrna. Pro zabránění kontaminace je nutno dodržovat správné hygienické zásady práce.

Během formování sýřeniny dochází k oddělení sýřeniny (sýrařských zrn) od syrovátky např. pomocí plachetky či jemného síta a slévání do forem. Sýr získává svůj tvar pomocí formy a zbavuje se přebytečné syrovátky (zvyšuje se tak obsah sušiny a současně tvrdost sýru). Lisování trvá řádově hodiny dle velikosti a druhu sýru a postupně se zvyšuje vyvíjený tlak, aby bylo možno co nejefektivněji odstranit potřebné množství syrovátky z matrice sýra. V této fázi sýr prokysává a zrna se vlivem tlaku v lisu spojují v kompaktní hmotu. (5)

Z hlediska tvorby biogenních aminů je zde riziko vnější kontaminace při nedostatečném očištění náčiní z předešlých výrob, nehygienickém zacházení se zařízením či výrobkem či nedostatečném lisování, což zvýší aktivitu vody a obsah syrovátky (vyšší obsah laktózy – metabolizovatelných cukrů) ve výrobku a tím vytvoří vhodné prostředí pro růst nežádoucích MO.

3.1.5 Solení

Nejběžnější způsob solení sýrů v České republice je ponoření vylisovaných výrobků do solné lázně, přičemž tímto procesem docílíme ošetření povrchu vylisovaných výrobků rovnoměrně a sůl se pak dále difúzními pochody dostává od povrchu sýru do jeho středu tak, aby byl sýr prosolen v celém objemu rovnoměrně. Solný roztok dodá výrobku nejen chuť, ale také ovlivní osmotický tlak v prostředí výrobku, čímž reguluje růst a metabolismus přítomných MO. Přestože je tento způsob solení nejpoužívanější, existují ještě dva způsoby a to solení do zrna a solení na sucho, přičemž způsob solení do zrna spočívá v tom, že se přidává tzv. suchá sůl přímo do rozemleté nebo rozkrájené sýřeniny ještě před formováním (např. při výrobě Čedaru nebo Nivy). Oproti tomu solení na sucho spočívá v roztírání tzv. suché soli po povrchu sýru až po formování a je nutné tento krok několikrát zopakovat, aby bylo dosaženo potřebné koncentrace soli ve hmotě sýra. Povrch nasolených výrobků se posléze může ošetřit roztokem antimykotika (Delvocid), které zajistí ochranu proti nežádoucím neušlechtilým plísním a případné kontaminaci nežádoucími MO z vnějšího prostředí. (5, 11, 17, 43)

Z hlediska tvorby biogenních aminů je solení velmi zásadní krok pro zabránění nejen vnější kontaminaci, ale deaktivaci případných přítomných dekarboxyláza aktivních MO. Správný obsah soli, resp. dostatečná koncentrace soli může být rozhodující pro obsah kontaminujících MO a tím i BA v konečném výrobku.

3.1.6 Zrání

Tento výrobní krok zahrnuje jak několika hodinové prokysání u čerstvých sýrů, tak několika týdenní zrací proces, kdy dochází k výrazným biochemickým změnám, které v důsledku významně ovlivní chuť a aroma výrobku. Zrání probíhá v tzv. zracích komorách nebo sklepech, kde jsou udržovány a regulovány optimální podmínky pro mikroorganismy a jejich metabolismus. Mezi faktory nejvíce ovlivňující zrání a jeho správný průběh řadíme zejména teplotu, vlhkost a přístup kyslíku, kterým je v průběhu procesu věnována největší pozornost. Z hlediska přístupu kyslíku pak zrání probíhá buď v celé hmotě (anaerobně), nebo od povrchu dovnitř (aerobně), přičemž anaerobní zrání převažuje nejvíce u tvrdých sýrů. Dle výše zmíněného pak můžeme sýry rozdělit na nezrající, zrající v celé hmotě nebo zrající od povrchu dovnitř. Další dělení sýrů je pak podle obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra a to na měkké, poloměkké, polotvrdé, tvrdé a extra tvrdé, přičemž extra tvrdé obsahují nejméně vody a zrají nejdéle (např. Parmazán) a poloměkké (např. Hermelín) či měkké (např. Romadúr) naopak.

Během zrání probíhá v sýrech řada biologických, biochemických a chemických pochodů jako jsou například proteolýza a lipolýza, při kterých dochází ke štěpení a rozkladu bílkovin a triacylglycerolů na volné aminokyseliny a mastné kyseliny, které dále ovlivňují chuť a aroma výsledných sýrů. Na zrání některých druhů sýrů se podílí také například bakterie propionového kvašení, díky kterým získává sýr nasládlou chuť a charakteristická oka (např. Ementál). (5, 17)

Z hlediska tvorby biogenních aminů je tato fáze výroby asi nejrizikovější, neboť zde již mohou za vhodných podmínek vznikat přímo BA ve velké míře. Pokud během výroby v některé fázi došlo ke kontaminaci dekarboxyláza aktivními MO, během zrání budou mít tyto MO vhodné prostředí a podmínky pro svou aktivitu a znehodnocení výrobku. Samozřejmě i zde může docházet ke kontaminaci z vnějšího prostředí, zvláště pokud je povrch výrobku nedostatečně ošetřen solným roztokem, není dostatečně zabalen v polopropustném obalu či kopolymerním nátěru a pokud nejsou ve zrací komoře dostatečně dobře hlídány podmínky pro zrání, např. je zde kolísavá teplota a vlhkost vzduchu, vzduch neproudí, aby odváděl vlhkost, která se v průběhu zrání uvolňuje z výrobků, výrobky jsou příliš blízko sebe apod.

3.1.7 Balení

Způsob balení hotových výrobků může do značné míry ovlivnit výsledné vlastnosti výrobku a to především strukturu a obsah vody ve hmotě sýru. Těchto způsobů je hned několik a to balení do polopropustných smršťovacích fólií, do ochranných plastových nátěrů (kopolymerních) nebo do vosku. Krájené sýry se pak balí do plastových obalů s ochrannou atmosférou.

Smršťovací fólie jsou nejběžněji používané a využívají se např. při balení sýru Eidam, který v této fólii zraje ve formě tzv. cihly několik týdnů. Plastový ochranný nátěr (kopolymerní) se aplikuje po prokysání přímo na tvarovaný sýr v několika vrstvách a výsledný produkt je velmi tvrdý a má nízký obsah vody, je tedy vhodný a hojně využívaný u tvrdých a extra tvrdých sýrů, jejichž zrací proces je velmi dlouhý. Naopak sýr balený ve vosku má výsledný obsah vody vyšší, neboť vosk drží veškerou vlhkost uvnitř, je tedy vhodnější pro polotvrdé sýry. Některé sýry zrají bez obalu a balí se do různých spotřebitelsky přívětivých obalů až před expedicí do tržní sítě, v tomto případě tedy obal nijak neovlivňuje výsledný produkt. Výrobky se uchovávají při teplotě 2 – 10°C a je nutné je správně označit, uvést řádně složení výrobku a další náležitosti dle vyhlášky 397/2016 Sb. (5, 17, 49)

4 KOPOLYMERNÍ NÁTĚR

V dnešní době je kladen velký důraz na dlouhodobou udržitelnost a skladovatelnost potravin, aniž by došlo k jejich znehodnocení nebo kontaminaci a z tohoto důvodu jsou vyvíjeny stále další nové obalové materiály poskytující lepší vlastnosti nejen pro údržnost potravin, ale i pro jejich lepší sensorické vlastnosti i přes delší dobu skladovatelnosti.

U kopolymerního nátěru se tedy obecně jedná se o bariérové (obalové) vrstvy izolující obsah balení od okolního prostředí, které bývají většinou polopropustné pro různé druhy plynů (např. CO₂, O₂), zadržují vodu uvnitř balení, aby nedocházelo k vysychání potravin, a odvádějí další nepotřebné metabolity vzniklé během zrání sýrů z prostředí (např. kyseliny propionovou u sýru ementálského typu). Navíc jsou snadno dostupné, cenově přijatelné a mají velmi dobré fyzikální vlastnosti jako je tepelná izolace, strukturální pevnost a nepropustnost pro těkavé sloučeniny. Moderní obalové materiály jsou založeny na bázi monomerů či polymerů, přičemž různé polymery mají různou propustnost a dle této jejich vlastnosti se využívají různé kombinace materiálu a tloušťky filmu pro daný druh potravin, což je jejich nezanedbatelná výhoda. (3, 33)

Mezi nejběžněji využívané polymery patří ethylen vinyl alkohol (EVOH), polyvinyliden dichlorid (PVDC) nebo polyamid (PA). V kombinaci s metalizovanou vrstvou hliníku (tloušťka vrstvy 30nm) nebo hliníkovou fólií (tloušťka 12 μm) se využívá také PP, nebo PET, které dodávají obalovému materiálu mechanickou odolnost. Z hlediska ekologie a recyklace ovšem polymerní materiály tak výhodné nejsou, neboť vícevrstevné obalové filmy jsou, v lepším případě, obtížně recyklovatelné, obvykle ovšem nerecyklovatelné. (3)

Jako biologicky odbouratelný obalový materiál na polymerové bázi tzv. biopolymer, se využívá polymer z přírodních zdrojů jako je bavlna, dřevo, nebo pšenice na bázi celofánu, tedy regenerované celulózy. Výhoda tohoto druhu obalu je kromě biologické odbouratelnosti také průhlednost, dobrá tepelná odolnost nebo pevnost. Na druhou stranu tento druh obalového materiálu neumožňuje dlouhodobé skladování potravin, právě díky své průhlednosti. Využívá se při balení sýrů a to v kombinaci s modifikovanou atmosférou. (3, 33)

Jako další obalové materiály využívané pro balení sýrů se běžně používají tzv. smršťovací fólie neboli cryovac, což je nejběžnější způsob balení sýrů v České republice (např. Eidamská cihla), případně balení do vosku (Babybel). (5)

Za konkrétní příklad kopolymerní disperze považujeme tzv. Plasticoat, tedy disperzi nanášenou na sýr v podobě nátěru v několika vrstvách (před nebo i během zrání dle potřeby), která slouží k povrchovému ošetření tvrdých a polotvrdých sýrů a po zaschnutí na vzduchu vytvoří na sýru ochrannou vrstvu, nejčastěji sytě žlutou nebo průsvitnou. Tento obalový materiál je propustný pro vodní páru a plyny a výsledný sýr je velmi tvrdý a má nízký obsah vody. Tento nátěr může obsahovat také malý podíl Natamycinu, což je přírodní látka, která inhibuje růst a množení kvasinek a plísní, takže lépe chrání výrobek před mikrobiální kontaminací.

Při použití se doba zaschnutí jedné vrstvy nátěru pohybuje v rozmezí 6 až 12 hodin v závislosti na vlhkosti sýru a prostředí (vyžadována vysoká vlhkost prostředí, min. 80 % RV) a na teplotě prostředí. Kopolymerní nátěr tvoří obal na sýru, který nelze konzumovat se sýrem, nýbrž je před konzumací nutno vrstvu sloupat. (48)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo posoudit vliv použitých kmenů na vybrané parametry sýrů zabalených v kopolymerním nátěru. Pro naplnění hlavního cíle byly vytyčeny následující dílčí cíle

- Založit skladovací experiment s modelovými šaržemi sýrů, které byly vyrobeny za použití různých kultur.
- V předem stanovených odběrových dnech provést analýzy sýrů z jednotlivých šarží.
- Získané výsledky porovnat a vyvodit závěry.

6 METODIKA

Pro účely bakalářské práce byly vyrobeny 3 šarže přírodních sýrů holandského typu s nízkodohřivanou sýřeninou, které byly zabaleny do nátěru Plasticoat. Šarže se lišily využitím různých doplňkových kultur za účelem sledování jejich vlivu na vybrané vlastnosti sýrů. Původním záměrem bylo pozorovat také vývoj obsahu biogenních aminů. Od tohoto záměru však bylo upuštěno z důvodu omezeného přístupu do laboratoří v době šíření onemocnění covid-19. Obsahy biogenních aminů proto nemohly být včas změřeny a vyhodnoceny pro účely této bakalářské práce.

Modelové šarže byly označeny následovně:

- K_n – kontrolní šarže (základní smetanová kultura)
- P_n – šarže s producentem BA (základní smetanová kultura a BA produkující kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946)
- D_n – šarže s producentem BA a degradérem BA (základní smetanová kultura a BA produkující kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946 a doplňková kultura se schopností degradace BA *Lactobacillus casei* CCDM 198)

Po prosolení byl aplikován zvolený obalový materiál (Plasticoat) a sýry byly uloženy ke zrání do zrací komory po dobu 3 měsíců, přičemž byly odebrány pro analýzu vzorky v pěti odběrových dnech a to v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání. V průběhu zrání byly sledovány parametry:

- stanovení obsahu sušiny dle ISO 5534:2004
- stanovení tuku
- stanovení pH
- stanovení obsahu soli
- analýza texturních vlastností

6.1 Materiál

- Syrové mléko ze dvora
- Smetanová kultura mezofilní, lyofilizovaná (Lactoflora, Milcom a. s., ČR)
- Roztok CaCl_2 (Mlékárna Polná spol. s.r.o., ČR)
- Syřidlo Chymax 200 (Chr. Hansen, Dánsko)
- Sůl pro potravinářské použití (kuchyňská sůl - NaCl)
- Antimykotický přípravek Delvocid
- 8 % kyselina peroctová (pro sterilaci sýrařských forem a plachetek)
- Pitná voda

6.2 Pomůcky

- Laboratorní odstředivka
- Výrobník sýrů
- Lisovací vana
- Lisovací formy
- Sýrařské plachetky
- Sýrařský lis se závažími
- Průmyslová váha a analytické váhy
- Germicidní UV lampa
- Vyvíječ vodní páry
- Plastové zkumavky
- Automatická pipeta
- Odměrný válec
- Teploměr se sondou
- Naběračka a síto
- Struhadlo
- Lžice, hrnce, kbelíky pro výrobu, nůž, prkénko
- Vyvíječ páry

6.3 Postup

Prostory laboratoře, kde výroba probíhala, byly nejprve vysvíceny germicidní UV lampou kvůli eliminaci rizika sekundární kontaminace a to noc před výrobou samotnou (4 hodiny vysvícení s ukončením 1 hodinu před začátkem práce). Formy na sýr byly desinfikovány spolu se sýrařskými plachetkami v kyselině peroctové a následně důkladně opláchnuty pitnou vodou. Všechny přístroje a použité nádoby včetně špatně dostupných částí, kterým je věnována zvláštní pozornost, byly před použitím ještě ošetřeny horkou parou z vyvíječe vodní páry, z důvodu zabránění případné mikrobiální kontaminaci.

Pro výrobu samotnou bylo použito syrové mléko ze dvora, které bylo nejprve předeřáno na teplotu 37°C a následně odstředěno na odstředivce, čímž bylo získáno odstředěné mléko a smetana, jejíž tučnost se následně musela analyticky zjistit. Následně bylo smíseno odstředěné mléko a smetana o zjištěné tučnosti v daném poměru tak, aby bylo získáno standardizované mléko o tučnosti 3 % pro další výrobu (z takto tučného mléka následně získáme sýr o 45 % tvs.). Takto získané mléko o objemu 35 litrů bylo následně pasterováno při teplotě 72°C po dobu 30 sekund a zchlazeno na teplotu 32 ±1°C, tedy na sýřicí teplotu. Ošetřené mléko bylo následně ve výrobníku sýrů inokulováno předem připraveným zákyssem (celkový objem zákysu byl 160 ml a byl připraven do 4 zkumavek po 40 ml. Pro jednotlivé šarže byly využity zákysy:

- Kontrolní šarže – 160 ml smetanového zákysu
- Šarže s producentem BA – 120 ml smetanového zákysu a 40 ml zákysu s producentem BA
- Šarže s producentem a degradérem – 80 ml smetanového zákysu, 40 ml zákysu s producentem BA a 40 ml zákysu s degradérem BA

V případě smetanové kultury bylo použito 0,15 g kultury na 40 ml sterilního mléka. Pro zhotovení zákysu s doplňkovým kmenem bylo vždy použito 5 ml živného média s kmenem do 40 ml sterilního mléka. Všechny zákysy byly připraveny den před výrobou (doba inkubace 16 hodin při 20 °C).

Po inokulaci byl přidán roztok chloridu vápenatého. Mléko bylo důkladně promícháno a ponecháno cca 20 minut v klidu prokysat. Následně bylo přidáno syřidlo (5400 µl) rozředěné v desetinásobku pitné vody, opět bylo mléko ve výrobníku promícháno a ponecháno v klidu po dobu 30 minut. Vzniklá sýřenina byla prokrojena sýrařskou harfou příčně i podélně a 10 minut ponechána v klidu, aby se uvolnila syrovátka. Sýřenina byla rozdrobena pomocí sýrařské harfy na jednotlivá sýrařská zrna, která byla následně míchadlem po dobu 30 minut vytužována. Přes síto byl poté odebrán pomocí sterilní naběračky objem 10,5 litrů syrovátky a nahrazen 7 litry vody o teplotě 60°C tak, že celková teplota ve výrobníku stoupla na 37°C (dohřívání sýrařského zrna). Nakonec bylo sýrařské zrno dosoušeno za stálého míchání po dobu 30 minut. Vzniklá sýřenina byla slita do vany vyložené sýrařskou plachtou a předlisována po dobu 20 minut. Následně byla rozkrojena a vložena do dvanácti forem vyložených sýrařskými plachetkami, ve kterých byla lisována do podoby konečného tvaru sýru ve třech fázích postupně navyšujících závaží – 30 minut se zátěží 5 kg, 30 minut

se zátěží 15 kg a nakonec 30 minut se zátěží 25 kg. Po těchto 90 minutách byly sýry ve formách otočeny a dalších 60 minut lisovány při zátěži 25 kg. Takto vylisované sýry byly uloženy do lednice na prokysání přes noc. Po prokysání byly sýry ošetřeny solným roztokem po dobu 3 hodin a poté i protiplísňovým roztokem Delvacid. Takto připravené sýry byly ponechány k zaschnutí protiplísňového přípravku na vzduchu několik minut a následně byl rovnoměrně nanesen kopolymerní obalový nátěr v celkovém počtu 3 vrstev. Další vrstva byla vždy nanášena až po důkladném zaschnutí předešlé vrstvy. Sýry byly následně uloženy do zrací komory ke zrání po dobu 3 měsíců. Ve zrací komoře byla udržována zvýšená vlhkost ($\geq 80\%$ RV) a teplota 12 °C.

7 CHEMICKÁ ANALÝZA VYBRANÝCH PARAMETRŮ V PRŮBĚHU ZRÁNÍ

7.1 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení sušiny bylo provedeno vážkovou metodou, tedy byl sledován úbytek hmotnosti vzorku po vysušení za daných definovaných podmínek, v tomto případě byly vzorky sušeny při teplotě 105°C po dobu 5 hodin. Pro sušení bylo použito hliníkových misek s křemičitým pískem, do kterých bylo na předvážkách naváženo zhruba 3g strouhaného sýru, přičemž obsah sušiny se vypočítal dle tohoto vzorce:

$$\text{obsah sušiny [hm. \%]} = \frac{(m_3 - m_1)}{m_2} * 100$$

m_1hmotnost misky s pískem [g]

m_2hmotnost misky před sušením [g]

m_3hmotnost misky s pískem a vzorkem po vysušení [g]

7.2 Stanovení obsahu tuku

Pro stanovení obsahu tuku ve vzorku byla použita rychlá provozní butyrometrická metoda, kdy byly naváženy na analytických vahách 3 g strouhaného sýru na filtrační papír, převedeny do butyrometru určeného pro mléčné výrobky a následně bylo přidáno 14 ml kyseliny sírové, čímž došlo k rozpuštění bílkovin v obalu tukových kuliček. Poté byl vzorek v butyrometru vložen do vodní lázně o teplotě 65°C a promícháván do rozpuštění. Poté byl přidán amylalkohol a vzorek byl odstředěn pro lepší oddělení tuku. Odečet obsahu tuku byl proveden v kalibrované části butyrometru a vypočítán dle vztahu:

$$\text{obsah tuku v sušině [\%]} = \frac{100 * t}{s}$$

t.....tučnost [%]

s.....sušina [%]

7.3 Stanovení pH

Stanovení pH bylo provedeno pomocí vpichového pH metru a to tak, že bylo provedeno 5 vpichů do modelového vzorku sýru v různých místech a hloubkách a výsledná hodnota byla stanovena jako průměrná.

7.4 Stanovení obsahu soli

Stanovení obsahu soli ve vzorku bylo provedeno potenciometrickou titrací vzorku dusičnanem stříbrným a to tak, že byl navážen na analytických vahách 1 g vzorku, ten byl následně rozmělněn ve třecí misce s teplou destilovanou vodou a kvantitativně převeden do kádinky, přičemž k němu byly přidány 2 ml HNO_3 a vzorek v kádince byl doplněn destilovanou vodou tak, aby byly elektrody ponořené. Vzorek sýru byl titrován odměrným roztokem dusičnanu stříbrného a postupně byly zaznamenávány hodnoty napětí po každém přidavku 0,5 ml odměrného roztoku. Obsah soli byl získán z druhé derivace.

7.5 Analýza textury vzorku

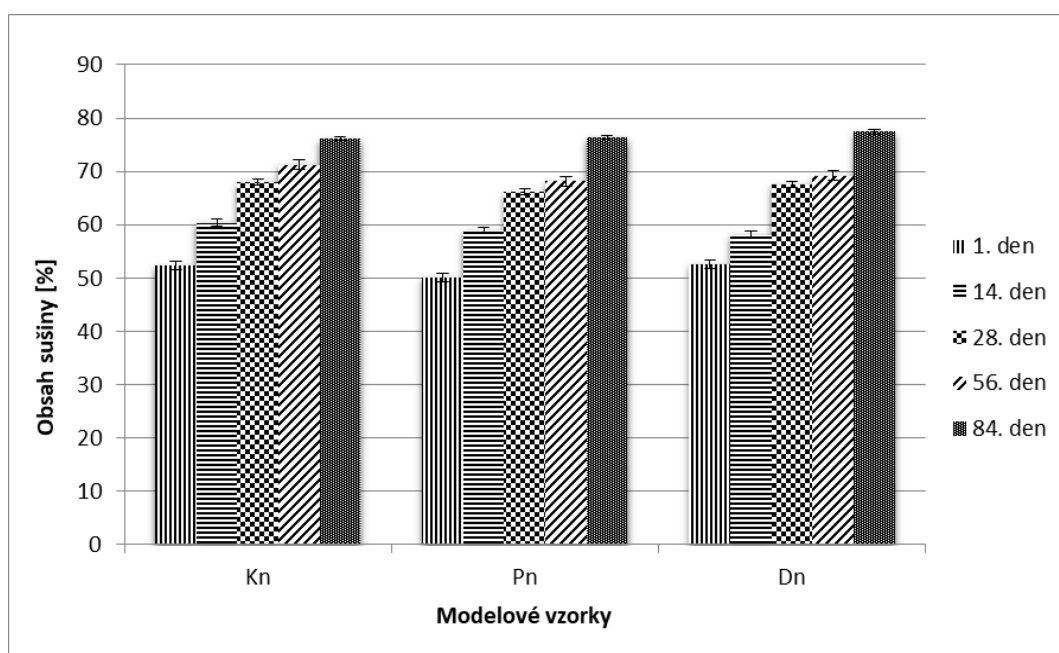
Pro analýzu byly z modelového vzorku sýru vykrojeny 3 válce o průměru 35 mm a výšce 20 mm. Pro měření byl použit kompresní test cylindrickou sondou o průměru 100 mm a měření probíhalo ve dvou cyklech, přičemž při měření docházelo ke stlačení vzorku o 25 % původní výšky a to rychlostí 2 mm/s. Z měření vznikla jako výstup zátěžová křivka, ze které se odečetla hodnota tvrdosti jako max. síla získaná měřením v průběhu testu. Kohezivnost byla vypočítána jako podíl ploch píků druhého a prvního kompresního cyklu.

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Chemická analýza vybraných parametrů v průběhu zrání

8.1.1 Stanovení obsahu sušiny

U modelových vzorků sýrů byl sledován vývoj obsahu sušiny v průběhu zrání a výsledky jsou zobrazeny na Obrázku 1.

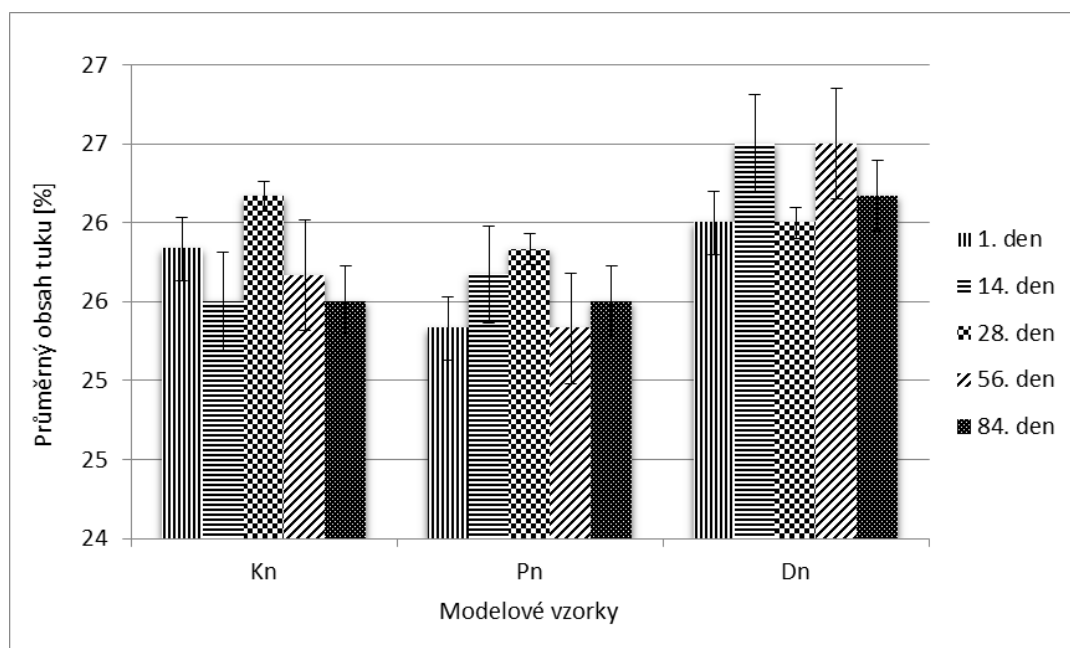


Obrázek 1: Vývoj obsahu sušiny v modelových vzorcích sýra v průběhu zrání

Z grafu je patrné, že obsah sušiny v modelových vzorcích v průběhu zrání rovnoměrně narůstá v rozmezí 50 – 77 % s mírným kolísáním, což lze očekávat vzhledem k obalovému materiálu, který byl použit (kopolymerní nátěr). U vzorků tedy dochází k úniku části vody z důvodu prostupu vodní páry přes obalový materiál a tím i vysušování hmoty, přestože byla v průběhu zrání udržována ve zrací komoře zvýšená vlhkost. Důkazem tohoto je i výrazné zvyšování sušiny ve vzorcích. Nejrovnoměrnější nárůst obsahu sušiny byl sledován u modelového vzorku s kontrolní kulturou (K_n - základní smetanový zákys), u vzorku P_n byl nejvýraznější skokový nárůst mezi 56. a 84. dnem a u vzorku D_n (degradér BA) byl nejvýraznější skokový nárůst mezi 14. a 28. dnem zrání. Nejvyšší obsah sušiny byl zaznamenán u vzorku D_n , tedy degradéra a to 75,51 %.

8.1.2 Stanovení obsahu tuku

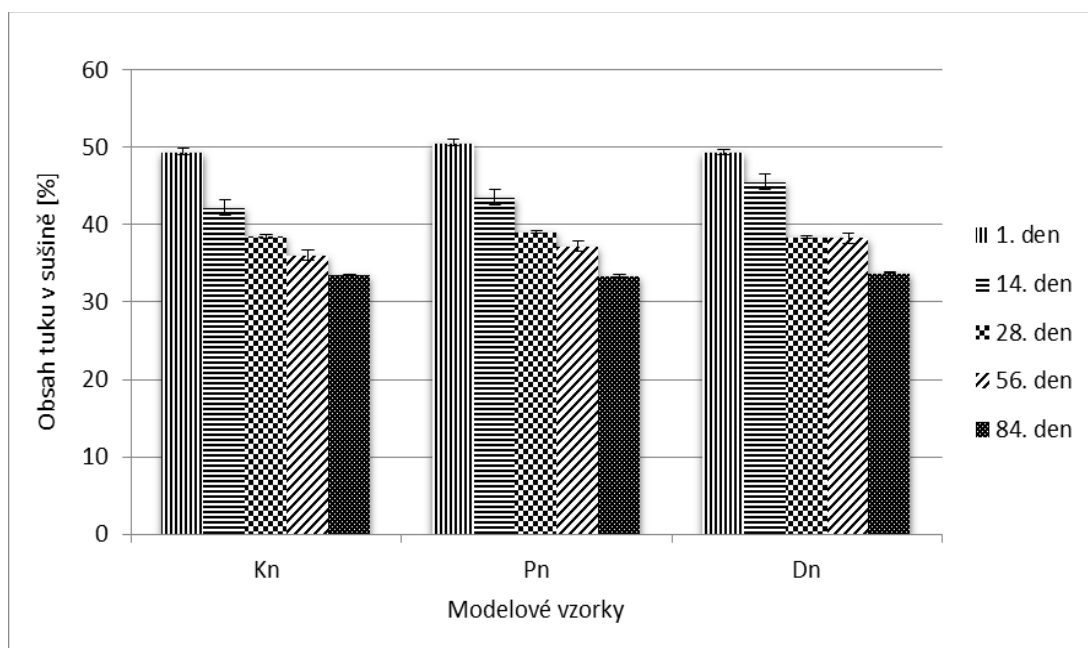
U stanovení tuku byly sledovány dva parametry a to průměrný obsah tuku a obsah tuku v sušině v modelových vzorcích sýrů. Na Obrázku 2 je znázorněn vývoj průměrného obsahu tuku ve vzorcích v průběhu zrání.



Obrázek 2: Vývoj obsahu tuku ve hmotě modelových vzorků sýra v průběhu zrání

Měření bylo zjištěno, že průměrný obsah tuku se v průběhu zrání pohyboval mezi 25,33 % a 26,50 % tuku, nicméně obsah tuku velmi nerovnoměrně kolísal u všech vzorků v průběhu celého procesu zrání. Za nejrovnoměrnější vývoj obsahu tuku by mohlo být považováno měření u vzorku P_n , kde tuk do 28. dne relativně rovnoměrně vzrůstal, poté mezi 28. a 56. dnem klesl na původní hodnotu 25,33 % a pak zase rovnoměrně vzrůstal. Celkově největší nárůst tuku byl zaznamenán u vzorku D_n (degradéra) ve 14. a 56. dnu a největší skokový nárůst obsahu tuku u vzorku K_n mezi 14. a 28. dnem. Celkově je dle grafu patrné, že tuk má snahu klesat v průběhu zrání u vzorků K_n a D_n .

Zajímavější trend vývoje obsahu tuku je patrný na Obrázku 3, který znázorňuje hodnoty obsahu tuku v sušině sýru v průběhu zrání.

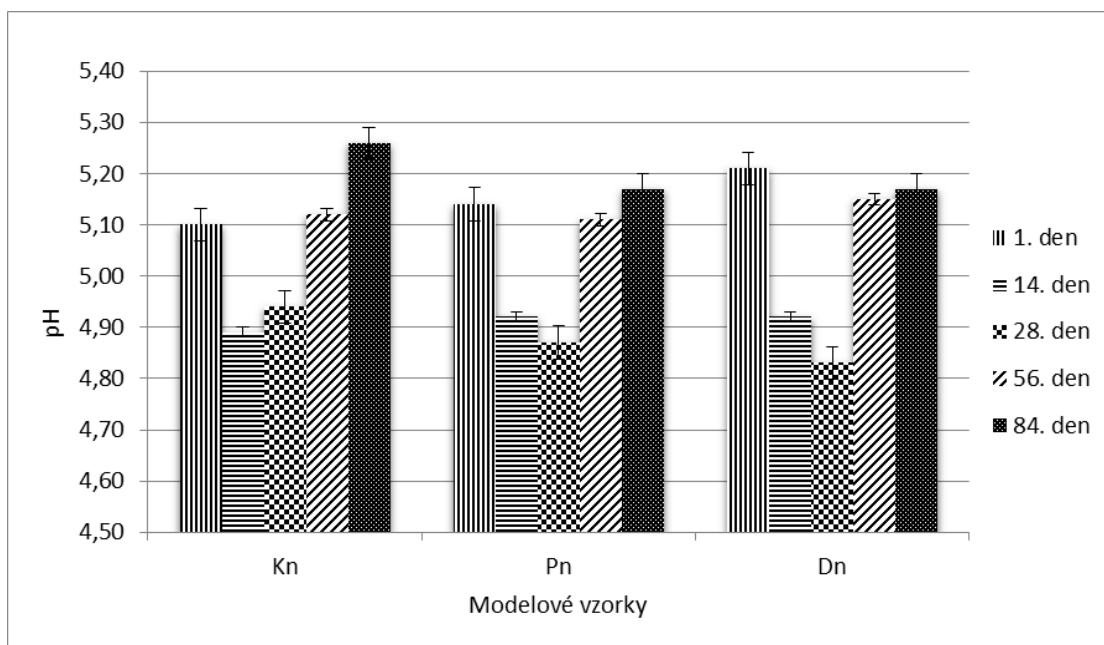


Obrázek 3: Vývoj obsahu tuku v sušině ve hmotě modelových vzorků sýrů v průběhu zrání

Z tohoto znázornění je patrné, že tuk v sušině se v průběhu zrání chová jinak ve srovnání se znázorněním absolutního obsahu tuku, tedy zde dochází k rovnoměrnému poklesu tuku v sušině sýra v průběhu celé doby zrání. Z Obrázku 3 je také patrné, že vzorky jsou si z hlediska obsahu tuku v sušině hodnotově velmi blízké, z čehož lze vyvodit, že bylo správně postupováno v průběhu výroby a standardizace, tedy že vzorky jsou mezi sebou srovnatelné nejen z hlediska tuku, ale také v dalších hodnocených parametrech. Nejvýraznější pokles tuku v sušině nastal mezi prvním a 14. dnem zrání u vzorků K_n a P_n , u vzorku D_n mezi 14. a 28. dnem. Dále byl pozorován rovnoměrný pokles tuku v sušině u vzorků K_n a to mezi 14. a 84. dnem a u vzorku P_n mezi 28. a 56. dnem, přičemž u tohoto vzorku byly pozorovány také skokové úbytky mezi dny 14 a 28 a také 56 a 84. U vzorku D_n nedocházelo k rovnoměrnému poklesu, ale spíše ke skokovému a to mezi 1. a 14. dnem a také 56. a 84. dnem. Hodnoty obsahu tuku v sušině byly u vzorku D_n mezi dny 28 a 56 téměř shodné. Klesající trend obsahu tuku v sušině evidentně souvisí také s nárůstem celkové sušiny ve vzorcích, což je důsledek odparu vody z modelových vzorků v průběhu zrání.

8.1.3 Stanovení pH

Pozorování vývoje pH v průběhu zrání modelových vzorků je zaznamenáno na následujícím Obrázku 4.

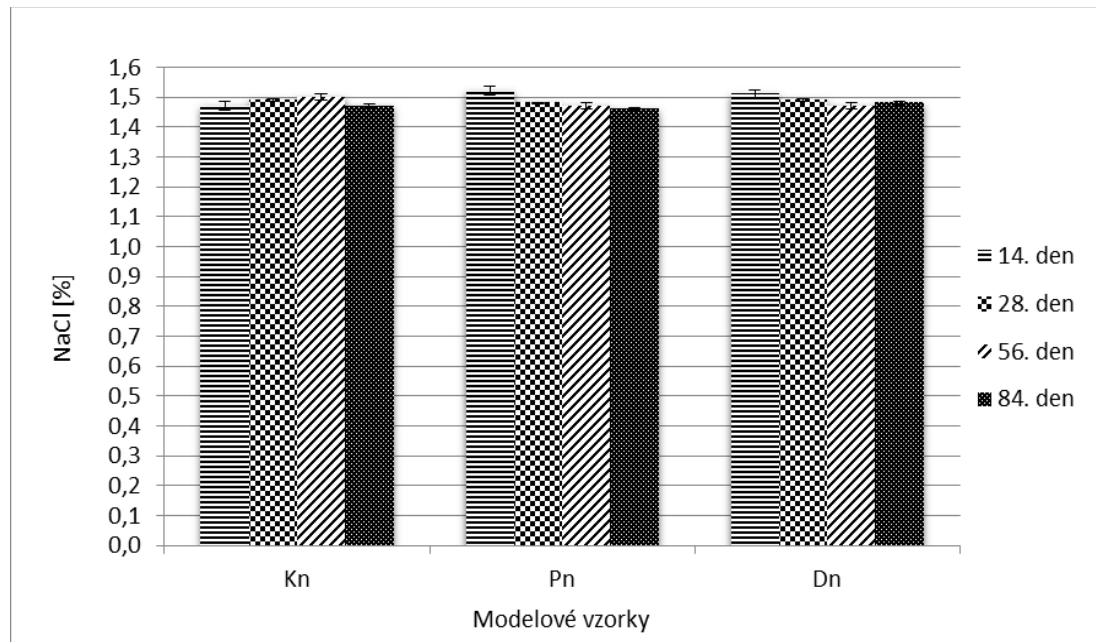


Obrázek 4: Vývoj pH u modelových vzorků sýru v průběhu zrání

Z výše uvedeného grafu je patrné, že hodnoty pH v průběhu zrání kolísaly u všech modelových vzorků. U vzorku K_n bylo pozorován prudký pokles pH mezi prvním a 14. dnem, následován rostoucím trendem pH až do svého maxima v 84. dni zrání. U modelového vzorku P_n byla pozorována klesající tendence do 28. dne se skokovou změnou mezi prvním a 14. dnem, následně hodnoty pH vzrůstaly až do 84. dne, kdy dosáhly svého maxima. U vzorku D_n byl pozorován prudký pokles mezi prvním a 14. dnem, následovaný postupným poklesem až do 28. dne, kdy hodnoty naopak prudce vzrostly a mezi 56. a 84. dnem již nedošlo k výraznému nárůstu (hodnoty byly přibližně stejné). Prudké nárůsty pH mohly být způsobeny proteolýzou aminokyselin, kdy je uvolněn NH_3 , který má značně zásaditý charakter. Naopak prudký pokles pH mohl být způsoben náhlým zvýšením metabolismu bakterií a rychlejší produkcí kyseliny mléčné (kyselý charakter, snižuje pH). (10)

8.1.4 Stanovení obsahu soli

Vývoj obsahu soli v průběhu zrání modelových vzorků je zaznamenán na Obrázek 5.

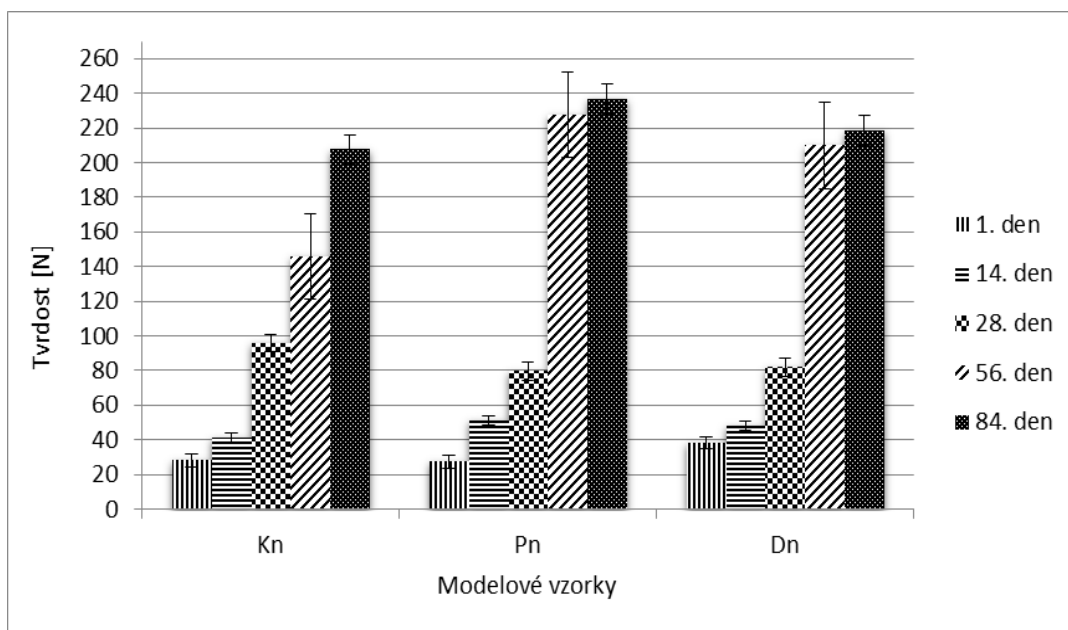


Obrázek 5: Vývoj obsahu soli ve hmotě modelových vzorků sýra v průběhu zrání

První odběr vzorků byl prováděn ještě před solením, tudíž zde jsou znázorněny hodnoty vzorků až od 14. dne zrání, tedy druhého odběrového dne. Dle Obrázku 5 je patrné, že z hlediska obsahu soli se každý vzorek choval jinak, ovšem nejednalo se o výrazné rozdíly. Obsah soli se v průběhu celého procesu zrání pohyboval v rozpětí od 1,46 do 1,52 % soli, tedy modelové vzorky byly srovnatelné. U vzorku K_n obsah soli vzrůstal do 56. dne, kdy došlo k prudkému poklesu a ustálení na hodnotě 1,47 %. Oproti tomu u vzorku P_n byl počáteční obsah soli vyšší (1,52 %) a v průběhu zrání docházelo k postupnému poklesu až na hodnotu 1,46 %. U vzorku D_n docházelo k poklesu obsahu soli do 56. dne a následně mezi 56. a 84. dnem vzrostl na hodnotu 1,48 %.

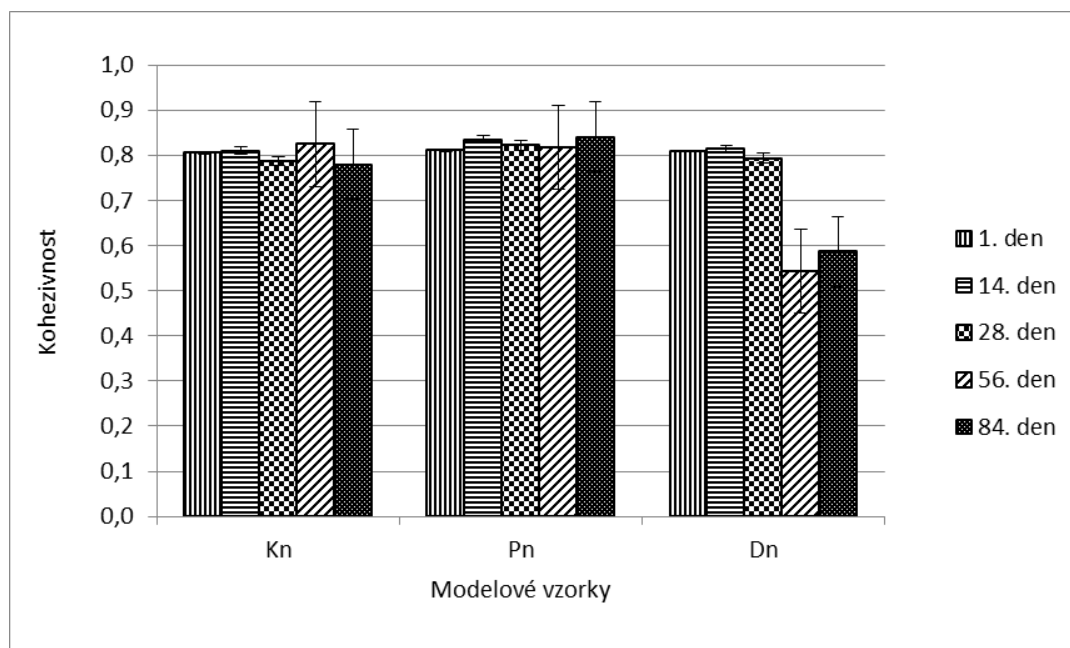
8.1.5 Vývoj texturních vlastností v průběhu zrání

Z texturních vlastností sýrů byla sledována tvrdost, jejíž vývoj v průběhu zrání je znázorněn na Obrázku 6.



Obrázek 6: Vývoj tvrdosti modelových vzorků sýra v průběhu zrání

Z Obrázku 6 je patrné, že se tvrdost v průběhu zrání výrazně zvyšovala. Toto mohlo být ovlivněno druhem obalu, tedy kopolymerním nátěrem, který propouští vodu ve formě plynu ven a tím se snižuje obsah vody a zvyšuje obsah sušiny ve hmotě, což způsobuje zvyšující se tvrdost sýra. (3) Výsledky obsahu sušiny, znázorněné na Obrázku 1, tuto hypotézu potvrzují. Největší skokový rozdíl v tvrdosti z dostupných dat byl u vzorku K_n mezi 56. a 84. dnem, u vzorků P_n a D_n to pak bylo mezi 28. a 56. dnem.



Obrázek 7: Vývoj kohezivnosti modelových vzorků sýra v průběhu zrání

Na obrázku 7 můžeme pozorovat trend kohezivnosti vzorků, přičemž nejméně kolísala u vzorku P_n a nejvíce u vzorku D_n . Kohezivnost by měla v průběhu zrání nejprve povolna a následně výrazněji klesat (42). U K_n dosáhla svého maxima 56. den a minima poté 84. dne, přičemž 14. a 56. den vždy došlo k nárůstu, jinak lze pozorovat relativně klesající tendenci. U vzorku P_n bylo dosaženo maxima 84. dne, přičemž výchozí hodnota byla zároveň minimum. Tady lze pozorovat mírně klesající tendenci mezi 14. a 56. dnem. U vzorku D_n bylo pozorováno maximum 14. den a minimum 56. den, přičemž lze také pozorovat klesající tendenci s výrazným skokem mezi 28. a 56. dnem.

ZÁVĚR

Bakalářská práce byla zaměřena na sledování změn vývoje vybraných parametrů sýrů holandského typu zrajících s kopolymerním nátěrem po dobu 84 dnů ve zrací komoře v závislosti na použité mikrobiální kultuře. V teoretické části byly popsány biogenní aminy a jejich vliv na lidský organismus, stručně byla vysvětlena technologie výroby přírodních sýrů, přičemž byla zdůrazněna místa, kde by mohlo docházet k akumulaci biogenních aminů a toto bylo také zdůvodněno. Také byly charakterizovány kopolymerní nátěry, které se využívají pro zrání některých skupin sýrů.

V praktické části byly vyrobeny šarže modelových vzorků sýrů s různými mikrobiálními kulturami s cílem posoudit vliv použitého kmenu na vývoj vybraných vlastností v průběhu zrání. Všechny modelové vzorky byly ošetřeny kopolymerním nátěrem a ponechány k procesu zrání po dobu 84 dnů ve zrací komoře. Následně byla u všech vzorků provedena základní chemická analýza, tedy stanovení obsahu sušiny, tuku, soli, stanovení pH a základní texturní analýza, tedy stanovení tvrdosti a kohezivnosti v průběhu zrání.

Byly vyvozeny tyto závěry:

- Obsah sušiny byl v průběhu zrání navýšen vlivem odpařování vody v podobě plynu přes kopolymerní obalový materiál
- Obsah tuku v průběhu zrání se pohyboval velmi kolísavě a to mezi 25,33 % a 26,50 %, nejvyšší obsah tuku byl ve vzorku obsahujícím kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946 a *Lactobacillus casei* CCDM 198
- Naproti tomu obsah tuku v sušině v průběhu zrání rovnoměrně klesal u všech vzorků. V průměru hodnoty obsahu tuku v sušině klesly z hodnoty 50,58 % na 33,39 %
- Během zrání hodnoty pH velmi kolísaly, u všech vzorků se pohybovaly v rozmezí 4,69 – 5,26. V druhé polovině zrání však byl pozorován u všech vzorků rostoucí trend.
- Průměrný obsah soli ve vzorcích byl $1,48 \pm 0,02$ %
- V průběhu zrání docházelo k výraznému zvýšení tvrdosti vzorků sýru, což bylo způsobeno značným úbytkem vody. Významný nárůst byl zaznamenán zejména v 56. dni zrání u šarží P_n a D_n.
- Kohezivnost v průběhu zrání vykazovala mírně klesající charakter

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) ALVARÉZ, M. A.; MORENO-ARRIBAS, M. V. *The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution*. Trends Food Sci. Technol. 2014, 39, 146–155.
- (2) ARENA, M. E.; MANCA DE NADRA, M. C. *Biogenic amine production by Lactobacillus*. J. Appl. Microbiol. 2001, 90, 158–162.
- (3) BARLOW, C. Y.; MORGAN, D. C. *Polymer film packaging for food: An environmental assessment*. Resources, Conservation and Recycling, 2013, vol. 78, p. 74 - 80.
- (4) BOVER-CID, S.; LATORRE - MORATALLA, M. L.; VECIANA - NOGUÉS, M. T.; VIDAL - CAROU, M. C. *Biogenic amines*. In *Encyclopedia of Food Safety*; Motarjemi, Y., Moy, G., Todd, E., Eds.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2014; pp. 381–391. ISBN 978-0-12-378613-5.
- (5) BUŇKA, F., PACHLOVÁ, V. *Přednáškové materiály k výrobě sýrů*, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin
- (6) BUŇKOVÁ, L.; BUŇKA, F.; HLOBILOVÁ, M.; VAKÁTKOVÁ, Z.; NOVÁKOVÁ, D.; DRÁB, V. *Tyramine production of technological important strains of Lactobacillus, Lactococcus and Streptococcus*. Eur. Food Res. Technol. 2009, 229, 533–538.
- (7) CALLEC, C. *Encyklopedie sýrů*. 1. vyd. Překlad Petra Martínková. Čestlice: Rebo Productions, 2002, 256 s. ISBN 80-7234-225-8.
- (8) CARROLL, R. *Home cheese making: recipes for 75 homemade cheeses*. 3rd edition. North Adams, MA: Storey Books, 2002, 278 p. ISBN 15-801-7464-7.
- (9) EFSA. *Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods*. EFSA J. 2011, 9, 2393–2486.
- (10) FOX, P.; MCSWEENEY, P.; COGAN, T.; a GUINEE, T. *Cheese: chemistry, physics, and microbiology*. London: Elsevier, 2004, 3rd ed., ISBN 978-0122636523.
- (11) GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998, 135 s. ISBN 80-7157-342-6.
- (12) GRAPPER, S. S. *The Biochemistry of Human nutrition*, 2. edit., Auburn University, 2000.
- (13) GUO, Y. Y.; YANG, Y. P.; PENG, Q.; HAN, Y. *Biogenic amines in wine: A review*. Int. J. Food Sci. Technol. 2015, 50, 1523–1532.

- (14) HALÁSZ, A.; BARÁTH, Á.; SIMON - SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. *Biogenic amines and their production by microorganisms in food*. Trends Food Sci. Technol. 1994, 5, 42–49.
- (15) HUNGERFORD, J. M. *Scombroid poisoning: A review*. Toxicon 2010, 56, 231–243.
- (16) JAIRATH, G.; SINGH, P. K.; DABUR, R. S.; RANI, M.; CHAUDHARI, M. *Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: A review*. J. Food Sci. Technol. 2015, 52, 6835–6846.
- (17) KADLEC, P.; MELZOCH, K.; VOLDŘICH, M. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2013, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.
- (18) KOMPRDA, T. *Obecná hygiena potravin*. Brno: MZLU, 2004, 145 s. ISBN 978-80-7157-757-7.
- (19) KRÍŽEK, M. *Biogenní aminy v potravinách*. Přednáška pořádaná Ústavem technologie potravin v rámci „Ingrových dnů“, 2. - 5. března 2010.
- (20) LADERO, V.; SÁNCHEZ - LLANA, E.; FERNÁNDEZ, M.; ALVAREZ, M. A. *Survival of biogenic amine-producing dairy LAB strains at pasteurisation conditions*. Int. J. Food Sci. Technol. 2011, 46, 516–521.
- (21) LATORRE - MORATALLA, M. L.; BOVER -CID, S.; BOSCH - FUSTÉ, J.; VIDAL -CAROU, M. C. *Influence of technological conditions of sausage fermentation on the aminogenic activity of L. curvatus CTC273*. Food Microbiol. 2012, 29, 43–48.
- (22) LINARES, D. M.; MARTIN, M. C.; LADERO, V.; ALVAREZ, M. A.; FERNÁNDEZ, M. *Biogenic amines in dairy products*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2011, 51, 691–703.
- (23) LORENZO, J. M.; CACHALDORA, A.; FONSECA, S.; GÓMEZ, M.; FRANCO, I.; CARBALLO, J. *Production of biogenic amines “in vitro” in relation to the growth phase by Enterobacteriaceae species isolated from traditional sausages*. Meat Sci. 2010, 86, 684–691.
- (24) LULLMANN, H., MOHR, K., HEIN, L. *Barevný atlas farmakologie*. 3. vyd., Praha: Grada Publishing, a.s., 2007, 384 s. ISBN 978-80-247-1672-5.

- (25) MARCOBAL, A.; DE LAS RIVAS, B.; LANDETE, J. M.; TABERA, L.; MUNOZ, R. *Tyramine and phenylethylamine biosynthesis by food bacteria*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2012, 52, 448–467.
- (26) MARTÍNKOVÁ, J. a kol. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing, a.s., 2007. 380 s. ISBN 978-80-247-1356-4.
- (27) McCABE-SELLERS, B. J., STAGGS, C. G., BOGLE, M. L. *Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge*. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, Vol. 19, p. 58–65.
- (28) MEDINA - PRADAS, E.; ARROYO - LOPÉZ, F. N. *Presence of toxic microbial metabolites in table olives*. Front. Microbiol. 2015, 6, 873.
- (29) MÍŠKOVÁ, Z. *Přednáškové materiály k předmětu Řízení a bezpečnost potravin – přednáška Chemické nebezpečí v potravinách*, 2019, s. 2-13
- (30) MORII, H.; KASAMA, K. *Activity of two histidine decarboxylases from Photobacterium phosphoreum at different temperatures, pHs, and NaCl concentrations*. J. Food Prot. 2004, 67, 1736–1742.
- (31) NOVELLA - RODRÍGEZ, S.; VECIANA - NOGUÉS, M. T.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VIDAL - CAROU, M. C. *Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese*. J. Food Sci. 2003, 68, 750–755.
- (32) ÖZOGUL, F.; HAMED, I. *The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2018, 58, 1660–1670.
- (33) PISCOPO, A.; ZAPPIA, A.; DE BRUNO, A.; POZZO, S.; LIMBO, S.; PIERGIOVANNI, L.; POIANA, M. *Use of biodegradable materials as alternative packaging of typical Calabrian Provola cheese*. Food Packaging and Shelf Life, 2019, vol. 21
- (34) POVEDA, J. M.; RUIZ, P.; SESEÑA, S.; PALOP, M. L. *Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria during a craft brewing process*. LWT-Food Sci. Technol. 2017, 85, 129–136.
- (35) PRESTER, L. *Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: A review*. Food Addit. Contam. 2011, 28, 1547–1560.

- (36) RABIE, M. A.; SILIHA, H.; EL - SAIDY, S.; EL - BADAWY, A. A.; MALCATA, F. X. *Reduced biogenic amine contents in sauerkraut via addition of selected lactic acid bacteria*. Food Chem. 2011, 129, 1778–1782.
- (37) RUIZ - CAPILLAS, C.; JIMÉNEZ - COLMENERO, F. *Biogenic amines in meat and meat products*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2004, 44, 489–499.
- (38) RUIZ - CAPILLAS, C.; PINTADO, T.; JIMENÉZ - COLMENERO, F. *Biogenic amine formation in refrigerated fresh sausage “chorizo” keeps in modified atmosphere*. J. Food Biochem. 2011, 36, 449–457.
- (39) SHALABY, A.R. *Significance of biogenic amines to food safety and human health*. Food Res. Int. 1996, 29, 675–690.
- (40) SKIBSTED, L. H.; RISBO, J.; ANDERSEN, M. L. *Chemical deterioration and physical instability of food and beverages*, Woodhead Publishing in food science, technology, and nutrition, 2010, no. 186., p. 824, ISBN 18-456-9926-2.
- (41) STANDAROVÁ, E., BORKOVCOVÁ, I., VORLOVÁ, L. *Obsah biogenních aminů v sýrech z české obchodní sítě*. Veterinářství, 2008, č. 58, s. 735-739.
- (42) STANDAROVÁ, E., BORKOVCOVÁ, I., VORLOVÁ, L. *Zastoupení vybraných biogenních aminů v sýrech s bílou plísní na povrchu*. Acta fytotechnica et zootechnica - Mimoriadne číslo, 2009, s. 610-617.
- (43) ŠUSTOVÁ, K., SÝKORA, V. *Mlékárenské technologie*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova univerzita, 2013, 223 s. ISBN 978-80-7375-704-5.
- (44) VELÍŠEK, J., CEJPEK, K., DAVÍDEK, D., MÍKOVÁ, K., PÁNEK, J., POKORNÝ, J. *Chemie potravin 3*. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-02-3.
- (45) VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ J. *Chemie potravin II*. OSSIS, Tábor 2009, ISBN 978-80-86659-16-9.
- (46) WOHL, S. et al. *Histamine Intolerance-Like Symptoms in Healthy Volunteers after Oral Provocation with Liquid Histamine*. Allergy and Asthma Proceedings, 2004, Vol. 25, No. 5, p. 305-31.
- (47) WUNDERLICOVÁ, L.; BUŇKOVÁ, L.; KOUTNÝ, M.; JANČOVÁ, P.; BUŇKA, F. *Formation, degradation, and detoxification of putrescine by foodborne bacteria: A review*. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2014, 13, 1012–1033.
- (48) www.dobrykolonial.cz/natery/nater-na-syry-plasticoat-zluty-1kg/
- (49) www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BA	Biogenní amin/aminy
MO	Mikroorganismus
BMK	Bakterie mléčného kvašení
MAO	Monoaminoxidáza
DAO	Diaminoxidáza
CNS	Centrální nervový systém
GIT	Gastrointestinální trakt
PET	Polyethylentereftalát
PP	Polypropylen
EVOH	Ethylen vinyl alkohol
PVDC	Polyvinyliden dichlorid
PA	Polyamid

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1.....	34
Obrázek 2.....	35
Obrázek 3.....	36
Obrázek 4.....	37
Obrázek 5.....	38
Obrázek 6.....	39
Obrázek 7.....	40