Monitoring biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích

Bc. Monika Strašáková

Diplomová práce
2018

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Monika Strašáková**
Osobní číslo:	**T17531**
Studijní program:	**N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie potravin**
Forma studia:	**kombinovaná**
Téma práce:	**Monitoring obsahu biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **Popis výroby fermentovaných masných výrobků.**
2. **Výskyt biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích.**
3. **Faktory ovlivňující výskyt biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích.**

II. Praktická část

1. **Skladovací pokus s cca 100 vzorky fermentovaných masných výrobků.**
2. **Měření obsahu biogenních aminů metodou HPLC bezprostředně po zakoupení a následně na konci doby použitelnosti (krájené vakuované fermentované masné výrobky) a doby min. trvanlivosti (tyče salámů).**
3. **Vyhodnocení výsledků a formulace závěrů.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] SANTOS SILLA, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. International Journal of Food Microbiology, 1996, 29, 213231.
[2] VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 3. 2nd ed. Tábor: OSSIS, 2002. 343 s. ISBN 808665902X.
[3] SPANO, G. et al. Biogenic amines in fermented foods. European Journal of Cli nical Nutrition.2010, 64, 95 100.
[4] KALAČ, Pavel et al. Advances in Food Science and Technology. 2010. Chapter 6, The roles of dietary polyamines in human health and their occurrence in foods. 91 112. ISBN 978-1-61668-415-0.
[5] HALÁSZ, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in food science and technology. 1994, 5, 42 49.

Vedoucí diplomové práce: **doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **2. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce: **25. dubna 2018**

Ve Zlíně dne 2. února 2018

L.S.

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan

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

Příjmení a jméno: STRAŠÁKOVÁ MONIKA Obor: TECHNOLOGIE POTRAVIN

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 24.4.2018 .....

[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 nevýdělečně 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

Předmětem této práce bylo sledovat obsah biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích a v závislosti na jejich změnách během chladírenského skladování při 6 °C. Obsah biogenních aminů byl monitorován bezprostředně po zakoupení a na konci doby skladování. Vzorky byly připraveny derivatizací s dansylchloridem a ke stanovení biogenních aminů byla využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Ve všech vzorcích byl detekován tyramin. Nejvyšší obsah biogenních aminů byl zaznamenán v množství

961,1 mg/kg. Takové množství může znamenat zdravotní riziko pro konzumenty,

Klíčová slova: biogenní aminy, fermentované masné výrobky, vysokoúčinná kapalinoví chromatografie

ABSTRACT

The objective of this work was to monitor the content of biogenic amines in fermented meat products and to monitor their changes during storage at 6 °C. The content of biogenic amines was noted after the purchase and at the end of the shelf life. All samples were prepared by derivatization with dansylchloride and analyzed by high performance liquid chromatography. Tyramine was detected in most samples. The highest content of biogenic amines was 961.1 mg / kg. This amount may pose a health hazard to consumers.

Keywords: biogenic amines, fermented meat product, high performance liquid chromatography.

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. za odborné vedení, velkou trpělivost, podnětné připomínky a cenné rady, které mi poskytla během zpracování mé práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Ludmile Záleškové za pomoc při práci v laboratoři.

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

OBSAH

ÚVOD 10
TEORETICKÁ ČÁST 11
1 TECHNOLOGIE VÝROBY A ROZDĚLENÍ FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBKŮ 12
1.1 FERMENTOVANÉ MASNÉ VÝROBKY A JEJICH ROZDĚLENÍ 12
1.1.1 Rozdělení trvanlivých masných výrobků 13
1.2 TECHNOLOGIE VÝROBY FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBKŮ 17
1.2.1 Suroviny pro výrobu fermentovaných masných výrobků 17
1.3 NOVÉ SMĚRY V PRODUKCI TRVANLIVÝCH FERMENTOVANÝCH SALÁMŮ 25
2 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH 26
2.1 BIOGENNÍ AMINY A JEJICH ROZDĚLENÍ 26
2.2 PŮSOBENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ NA LIDSKÝ ORGANISMUS 28
2.3 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH 30
2.3.1 Mikroorganismy produkující biogenní aminy 30
2.3.2 Biogenní aminy ve fermentovaných masných výrobcích 31
2.3.3 Startovací kultury 32
3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH 33
PRAKTICKÁ ČÁST 35
4 CÍL PRÁCE 36
5 MATERIÁL A METODY PRÁCE 37
5.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ 37
5.2 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ 38
5.2.1 Příprava vzorků na chromatografické stanovení 39
5.2.2 Chromatografické stanovení 40
6 VÝSLEDKY 41
6.1 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH S PRŮMĚREM NIŽŠÍM NEŽ 3 CM 41
6.1.1 Neochucené fermentované masné výrobky 41
6.1.2 Ochucené fermentované masné výrobky 43
6.2 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBKŮ S PRŮMĚREM VYŠŠÍM NEŽ 3 CM 46
6.2.1 Neochucené fermentované masné výrobky 46
6.2.2 Ochucené fermentované masné výrobky 48

DISKUZE **50**
ZÁVĚR **53**
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY **54**
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK **59**
SEZNAM OBRÁZKŮ **61**
SEZNAM TABULEK **62**

ÚVOD

Biogenní aminy jsou důležité dusíkaté látky biologického významu v rostlinných, živočišných a mikrobiálních buňkách. Lze je detekovat v syrových, ale i zpracovaných surovinách a potravinách. V potravinářské mikrobiologii se často spojují s fermentačními procesy a procesem kažení potravin. Sekundární aminy mohou vytvářet nitrosaminy, a proto nezbytná znalost biogenních aminů je důležitá pro zlepšení kvality a bezpečnosti potravin (Santos Silla, 1996).

V České republice jsou stanoveny maximální povolené limity biogenních aminů pouze v rybách a produktů z ryb. Biogenní aminy jsou předmětem mnoha vědeckých studií hlavně kvůli jejich toxickému účinku na lidský organizmus. Je důležité ovšem říci, že některé biogenní aminy jsou v nízkých koncentracích pro lidský organizmus prospěšné. Hrají významnou roli v mnoha fyziologických funkcích. Jako příklad lze zmínit regulaci tělesné teploty, pH žaludku, mozkové činnosti anebo plní funkci prekurzorů dalších molekul (Stratton, 1991).

Fermentované masné výrobky se nacházejí ve většině částí světa, ale Evropa zůstává hlavním výrobcem a spotřebitelem těchto výrobků. Poptávka po těchto výrobcích neustále roste, a proto byly také vyvinuty rychlejší a efektivnější technologie Quick-Dry-Slice (QDS). Nejdůležitějším technologickým procesem při výrobě fermentovaných masných výrobků je fermentace, díky této skutečnosti lze očekávat vyšší výskyt biogenních aminů v těchto výrobcích. Cílem této diplomové práce je proto detekovat obsah biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích a sledovat jejich změny během chladírenského skladování.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TECHNOLOGIE VÝROBY A ROZDĚLENÍ FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBKŮ

Maso a masné výrobky jsou důležitou součástí lidské stravy. Původ výroby masných výrobků je pravděpodobně datován do babylonských časů, kdy byly již používány metody jako sušení, solení nebo fermentace masa. Fermentované masné výrobky jsou produkovány ve většině částí světa, ale Evropa zůstává hlavním výrobcem a spotřebitelem těchto výrobků (Fanco, 2002).

Masné výrobky jsou získány zpracováním masa nebo dalším zpracováním hotových masných výrobků. Z řezné plochy u masných výrobků by mělo být zřejmé, že pozbyly charakteristické znaky pro čerstvé maso. Během výroby masných výrobků nesmí být použity pohlavní a močové orgány, chrupavky hrtanu a průdušnice, oči, oční víčka, zvukovody, rohovina a drůbeží hlava. Při výrobě masných výrobků jsou k masu nebo strojně oddělenému masu přimíchány další přísady a pomocné látky. Mezi tyto látky patří zejména pitná voda, koření, solicí směsi, mouka, škrob a bílkovinné přísady (Katina, 2010).

1.1 Fermentované masné výrobky a jejich rozdělení

Fermentovaný masný výrobek je takový výrobek, u kterého během fermentace, sušení, zrání nebo uzení došlo ke snížení aktivity vody s hodnotou a_w (max.) = 0,93, s minimální dobou trvanlivosti 21 dní při teplotě 20 °C (Kameník, 2012). Přesnou definici fermentovaného masného výrobku popisuje Vyhláška ministerstva zemědělství č. 69/2016 Sb.

Příkladem výrobků na českém trhu jsou tyto salámy Herkules, Poličan, Uherský a Lovecký salám, z klobás to je např. Dunajská nebo Čabajská klobása (Kameník a kol., 2014)

Fermentované masné výrobky nejsou během výroby ani před vlastní konzumací podrobeny tepelnému zákroku a tím si zachovávají typickou chutnost. Tepelným zákrokem (pasterace, sterilace) se nedosahuje jejich údržnosti, a proto musí být zajištěna jinými zákroky (Kameník, 2009).

U fermentovaných masných výrobků se uplatňuje významně překážkový efekt, u kterého musí být dodržen sled daných překážek. Mezi nejdůležitější překážky patří snížení pH a aktivity vody. Mezní limity vodní aktivity u různých mikroorganizmů jsou zobrazeny v tabulce č. 1. Díky tomu lze trvanlivé masné výrobky uchovávat i při teplotách prostředí

(pokojová teplota), aniž by nastalo jejich mikrobiální kažení (Kameník, 2012). Mezi další překážkové efekty patří konzervační prostředky (dusitan sodný a sorban draselný), redoxní potenciál, kompetitivní bakteriální flóra a teplota (Kovářová, 2006). Správné technologické postupy prodlužují trvanlivost a kvalitu výrobků (Kameník, 2012).

Tabulka č. 1 Mezní limity vodní aktivity a_w pro různé skupiny mikroorganismů (Keim, Franke, 2007).

Hodnota a_w	**Skupiny mikroorganismů**
0,95	původci kažení masa, enterobakterie, původci alimentárních onemocnění
0,91	bakterie mléčného kvašení
0,90	nekulturní vinné kvasinky
0,87	kvasinky přítomné v díle fermentovaných salámů
0,86	původci bakteriálních hnisavých zánětů
0,84	mnohé druhy plísní
0,75	halofilní bakterie
0,65	xerofilní plísně
0,60	mikroby obecně

1.1.1 Rozdělení trvanlivých masných výrobků

Dle rozdílné technologie výroby, struktury a údržnosti lze fermentované masné výrobky rozdělit do několika skupin:

- syrové šunky,
- trvanlivé fermentované salámy,
- krájitelné fermentované salámy,
- roztíratelné fermentované salámy (Pipek, 1998).

1.1.1.1 Syrové šunky

Syrové šunky (viz. obrázek č. 1) jsou konzervovány předně snížením vodní aktivity a v počáteční fázi jsou přechovány v nízkých teplotách. Zrají a schnou dlouhou dobu (až 2 roky). Převážně jsou vyráběny bez dusitanů, které vzhledem k dlouhé době výroby nemají význam. Jako nejznámější je uvedena parmská šunka (Prosciutto di Parma, německé a španělské syrové šunky a náš pršut (Kameník, 2009). Světoznámá je Parmská a Švarcvaldská šunka (Pipek, 1998). Trvanlivá fermentovaná masa ("pršuty") jsou připravovány

z jednotlivých částí masa (svaloviny), konzervovány jsou solením a sušením. Typické aroma výrobku se vyvíjí v průběhu zrání a patří k historicky nejstarším masným výrobkům (Kameník, 2011).

Finální sušené šunky se konzumují s nebo bez předchozí tepelné úpravy a jsou skladovány mimo chladírenské teploty (Toldrá, 2010).

Obrázek č. 1: Syrová šunka – Prosciutto crudo (Dostupné na: http://www.italianfood.cz/www-italianfood-cz/eshop/6-1-Sunky-Salamy-Syry/0/5/872-Prosciutto-crudo-krajene-100g).

1.1.1.2 Trvanlivé fermentované salámy

Trvanlivé fermentované salámy (dry sausage, Salami), (dále jen TFS) jsou konzervovány hlavně vysušením, tj. snížením aktivity vody (a_w = 0,9 – 0,65) a při pH, které není příliš nízké (5,3 – 6,0), Výroba trvá nejméně 3 týdny, ale častěji i déle jak 2 měsíce. Jsou aromatičtější oproti rychle zrajícím salámům a kromě sacharidů jsou u nich odbourávány i tuky a bílkoviny (Pipek, 1998). Typickou nažluklou chuť a vůni dodává výrobkům přítomnost specifických senzoricky aktivních látek, jako jsou např. aldehydy a ketony. Výrobky se liší tvarem, složením surovin, způsobem zrání, zrněním a sušením. Některé jsou uzené a jiné jsou jen sušené. Z výrobků dostupných na našem trhu sem patří např. Poličan, Paprikáš, Smíchovský salám, Perun aj., z cizích převážně Uherský salám (Herz, Pick), salám rumunský (Sibiu, Carpati) či Pur porc (Francie), Lukana (Bulharsko), Salami (Itálie) aj. Trvanlivé fermentované salámy se rozdělují podle krájitelnosti na Herkules, Lovecký salám, Dunajská a Gombasecká klobása, kdy jeden z příkladů je zobrazen na obrázku č. 2. Další dělení se uvádí dle kyselosti (Kameník, 2009).

Obrázek č. 2: Lovecký salám (Dostupné na: https://www.krahulik.cz/sortiment/trvanlive-fermentovane-uzeniny/lovecky-salam/).

Požadavky na vybrané trvanlivé fermentované výrobky

Vyhláška č. 69/2016 Sb. ve znění pozdějších platných předpisů vymezuje kvalitativní požadavky pro tradiční trvanlivé fermentované masné výrobky (Poličan, Herkules, Paprikáš, Lovecký salám, Dunajská klobása).

Následující tabulka č. 2 k uvedené vyhlášce určuje požadavky na jakost a složení masných výrobků a dále uvádí, že pro výrobu fermentovaných masných výrobků je možné použít jen hovězí a vepřové maso, nepřipouští se použití vlákniny, strojně odděleného masa, rostlinných a živočišných bílkovin.

Tabulka č. 2 Požadavky na vybrané trvanlivé fermentované masné výrobky

Výrobek	Základní suroviny pro výrobu	Smyslové požadavky
poličan	hovězí maso, vepřové maso použití vlákniny, masa zvířat jiných živočišných druhů, strojně odděleného masa, drůbežího strojně odděleného masa, bílkovin jiných živočišných druhů nebo rostlinných bílkovin se nepřipouští	a) konzistence - pružná až tuhá b) vzhled v nákroji a vypracování - řez lesklý, hladký; barva řezu růžově - červená, jemné zrnění, zrna převážně o velikosti do 3 mm, připouští se ojedinělý výskyt malých vzduchových dutinek c) vůně a chuť - příjemná aromatická po použitých surovinách, přísadách a kouři; mírně slaná, výrazněji kořeněná; na skusu výrobek vláčný, až křehký; příjemně nakyslá chuť
herkules	hovězí maso, vepřové maso použití vlákniny, masa zvířat jiných živočišných druhů, strojně odděleného masa, drůbežího strojně odděleného masa, bílkovin jiných živočišných druhů nebo rostlinných bílkovin se nepřipouští	a) konzistence - pružná až tuhá b) vzhled v nákroji a vypracování - řez lesklý, hladký, barva řezu růžově-červená, jemné zrnění, zrna převážně o velikosti do 3 mm, připouští se ojedinělý výskyt malých vzduchových dutinek c) vůně a chuť - příjemná aromatická po použitých surovinách, přísadách a kouři; průměrně až výrazně slaná, výrazněji kořeněná; na skusu výrobek vláčný až křehký; příjemně nakyslá chuť
dunajská klobása	hovězí maso, vepřové maso použití vlákniny, masa zvířat jiných živočišných druhů, strojně odděleného masa, drůbežího strojně odděleného masa, bílkovin jiných živočišných druhů nebo rostlinných bílkovin se nepřipouští	a) konzistence - tužší, soudržná, b) vzhled na nákroji - barva růžově - červená, zrna převážně o velikosti do 6 mm, bez kroužku pod obalem, c) vůně a chuť - příjemná, aromatická, výrazně kořeněná po paprice, průměrně až výrazně slaná, na skusu křehká a vláčná
lovecký salám	hovězí maso, vepřové maso použití vlákniny, masa zvířat jiných živočišných druhů, strojně odděleného masa, drůbežího strojně odděleného masa, bílkovin jiných živočišných druhů nebo rostlinných bílkovin se nepřipouští	a) konzistence - tužší, pružná, b) vzhled v nákroji a vypracování - mozaika zrn převážně o velikosti do 5 mm, bez shluku tukových a libových částic, přípustné drobné vzduchové dutinky; barva libových zrn uprostřed výrobku sytěji růžová, k okrajům tmavší; tuková zrna světlá, c) vůně a chuť - příjemná, výrazná po uzení, typická pro tento výrobek, ostřeji kořeněná a slaná; příjemně nakyslá chuť

Požadavky na jakost jsou definovány a vymezeny následovně:

1. Při nakrojení masných výrobků nesmí docházet k uvolňování vody nebo tuku. Vložka masného výrobku nesmí z nákroje vypadávat a také v něm nesmí být cizí části, které netvoří součást složení masného výrobku nebo otisky razítek. Dále se nesmí v nákroji nacházet nezpracované části, tuhé kůže a kolagenní části, shluky koření nebo jiných složek, pokud nejsou charakteristickým znakem výrobku.
2. Povrch masných výrobků nesmí být oslizlý, lepkavý, netypicky svraštělý nebo porostlý plísněmi, pokud se ovšem nejedná o ušlechtilé druhy plísní, které jsou charakteristické pro daný výrobek. Chuť masného výrobku musí být typická pro daný výrobek, nesmí vykazovat cizí příchutě nebo příchuť po surovině, která byla narušená (Vyhláška 69/2016).

1.2 Technologie výroby fermentovaných masných výrobků

Trvanlivé masné výrobky se staly pro spotřebitele velmi oblíbenými. Mezi hlavní důvody se řadí jejich trvanlivost a senzorické vlastnosti. Tyto senzorické vlastnosti, jako je aroma a chuť, určují hodnotu, kvalitu a um výrobců (Pipek, 1998; Kameník, 2012).

Výroba trvanlivých fermentovaných salámů se považuje za jednu z nejnáročnějších v oblasti technologie zpracování masa. K přípravě kvalitního produktu je zapotřebí dobré strojní vybavení, dostatek znalostí a zkušeností a použití jakostní suroviny. Technologický postup přípravy trvanlivých fermentovaných salámů je složen z pěti operací. Operace na sebe plynule navazují a zpracovatel musí mít nad každým krokem kontrolu (Kameník, 2012).

1.2.1 Suroviny pro výrobu fermentovaných masných výrobků

1.2.1.1 Maso

Pro produkci trvanlivých fermentovaných masných výrobků je maso jatečných zvířat základní surovinou. Nejvíce je využíváno u nás maso vepřové a hovězí, zatímco ve světě se využívá také koňské, skopové, krůtí, ale i jiné, u nás už netradiční druhy. Pro výrobu masných produktů se používá maso vyzrálé, přičemž doba zrání se udává podle druhu zvířete. U prasat se dobá zrání masa udává déle než 2 dny, u hovězího masa se doporučují alespoň

2 týdny, zatímco u drůbeže je to 1-2 dny. Faktory, jako jsou stáří zvířat (příčné zesiťování kolagenu v pojivové tkáni) a druhová specifická aktivita zvířat (enzymy svalové tkáně), určují dobu zrání masa. Zrání se uskutečňuje činností proteolytických enzymů, které se nachází ve svalových buňkách (Honikel, 2004). Z hygienických důvodů při zrání musí být maso vychlazeno na +3 až +7 °C z důvodu zachování enzymatických procesů, a aby nedošlo k rozvoji nežádoucí mikroflóry. Po ukončení zrání masa se teploty mohou snížit na 0 až +1 °C, ale nesmí se tvořit krystalky ledu v mase (Kameník, 2012).

U masa na výrobu trvanlivých masných výrobků se doporučuje původ ze starších zvířat (prasnice, krávy). Takové maso je totiž tmavší a obsahuje méně vody. Odstraňují se zbytky pojivových tkání, jelikož jejich přítomnost je viditelná na řezu výrobků. Tím se snižuje jejich hodnota a působí rušivě při skusu (Ingr, 1996).

Doporučení pro zachování kvalitní suroviny:

Vepřové maso:

- pH > 5,8; pH24 < 5,8,
- chladírenské uchování při 0 °C a spotřebě během 3 – 5 dnů od porážky;
- mrazírenské uchování při -30 až -18°C maximálně po dobu 90 dní.

Hovězí maso:

- pH < 5,8;
- chladírenské uchování při 0 °C a spotřebě během 3 – 14 dní od porážky;
- mrazírenské uchování při -30 až -18°C maximálně po dobu 180 dní (Kameník, 2011).

Finální výrobky musí vyhovovat požadavkům na obsah čistých svalových bílkovin a tuku. Jako surovina se používá vepřové maso druhu V2-V4, vepřové sádlo a hovězí maso druhu H2-H3. Z důvodu zhoršení senzorických vlastností finálních produktů je použití masa s vyšším obsahem tuku riskantní (Ingr, 2003).

1.2.1.2 Vepřové sádlo

Při bourání masa se získává vedlejší jatečný prvek zvaný tuková tkáň. Je významnou složkou potravy pro svůj obsah nutričních látek a energetickou hodnotu. Používá se jako spoj-

ka masných výrobků, ale i vložka (u špekáčků). Nejvíce se v masné výrobě používá vepřové sádlo, které se dělí podle umístění na těle jatečného zvířete.

Druhy tukové tkáně:

- hřbetní sádlo,
- plstní sádlo,
- střevní sádlo,
- sádlo kruponové,
- osrdečníky (Pipek, 1995).

Vepřové sádlo při vytváření struktury výrobku má rozhodující roli, a to ve fázi mělnění a míchání. Struktura produktu silně ovlivňuje mikrobiální procesy a také sušení výrobků při jejich zrání. Zvolená surovina stojí vždy na prvním místě, proto je zde kladen velký důraz na její správný výběr a následné prvotní ošetření (Kameník, 2011).

Na výrobu fermentovaných masných výrobků má být vepřové sádlo jadrné, tuhé a proto je využíváno výhradně sádlo hřbetní. Jadrné sádlo se používá tehdy, je-li požadována jasná kontrastní mozaika ve výrobku. Měkké sádlo podléhá rychlému žluknutí, protože obsahuje řídký tuk (Stiebing, 1994). Steinhauser a kol. (1995) uvádí, že tuk musí mít vysoký bod tuhnutí, nesmí se mazat a má být přirozeně bílý.

Po porážce se sádlo ihned odděluje od vepřové půlky a před zmrazením se uchovává v chladírně po dobu 2 – 3 dnů. Tímto dochází k částečnému vysušení tuku z 8 – 10 % vody přibližně na 5 %. Tuk, který má nižší obsah vody je lépe zpracovatelný a déle skladovatelný (Stiebing, 1994).

Při přípravě díla TFS a při jeho plnění do obalových střev vzniká teplo. Aby nedocházelo k uvolňování tuku v těchto fázích technologického procesu výroby, je nutné, aby se vepřové sádlo před jeho následujícím zpracováním zamrazilo na teplotu -10 až

-15 °C (Keim, Franke 2007).

V České republice je limit obsahu tuku ve vybraných trvanlivých salámech definován vyhláškou MZe č.69/2016 Sb., která uvádí hodnotu 50 % (Vyhláška 69/2016). Oproti tomu v zemích se silnou tradicí kvalitních trvanlivých fermentovaných salámů (Německo, Itálie, Francie) bývá obsah tuku v podobných produktech nižší. Obsah tuku se v tradičních výrobcích pohybuje v rozmezí 25 – 30 % (Di Cango et al., 2008). Před vlastním zpracováním by se vepřové sádlo mělo uchovávat při chladírenské

teplotě < 2 °C a doba skladování by neměla přesáhnout 3 dny. Skladování při mrazírenské teplotě -30 až -18°C by nemělo překročit dobu 90 dní (Schwing et Neidhardt, 2007).

1.2.1.3 Přísady

Soli

Kuchyňská sůl (chlorid sodný, NaCl) je nejstarší přísadou do potravin na celém světě (Feiner, 2008). Sůl snižuje a_w a má význam pro vývoj aroma výrobku (Feiner, 2008). Jira (2004) uvádí, že prodloužení údržnosti masa po přidání kuchyňské soli je známo již po dlouhá léta. Dusitanová solicí směs potlačuje rozvoj nežádoucí mikroflóry a v salámu, který má obsah dusitanů nízký, může docházet k chemickým změnám tuku, jako je jeho žluknutí. Spolu se solí se dusitan přidává za účelem konzervace (Kameník, 2009).

Při výrobě TFS se k jejich složení používá dusitanová solicí směs, a to v množství

2,4 – 3,0 % (v hotovém výrobku v důsledku ztráty vody při sušení je obsah kuchyňské soli 3,2 – 4,5%). Sladká chuť sacharidů a kyselá chuť organických kyselin je snižována také po přidání solí (Gephardt, 1994). Ve srovnání s netrvanlivými „roztíratelnými“ fermentovanými výrobky jsou TFS chuťově méně slané, a to i přes vyšší obsah NaCl. To způsobuje pevnější vazba chloridového iontu na povrchu částic masa. Přidání NaCl znesnadňuje růst mikroorganismů, protože váže volnou vodu, kterou potřebují mikroorganismy pro svůj růst a množení (Kameník, 2012).

Dusitan obsažený v dusitanové solicí směsi (dále jen DSS) se ve výrobku podílí na vybarvení, tvorbě aroma, má konzervační a antioxidační efekt. Doposud nebyla objevena jiná látka, která by tento mnohostranný účinek nahradila. Aby bylo dosaženo charakteristické barvy masných výrobků, musí se na kg díla použít 30 - 50 mg dusitanu. Konzervační efekt (inhibice mikroorganismů – *Clostridium botulinum*, salmonely, stafylokoky) je dosažen po přídavku dusitanu v množství 80 – 150 mg/kg díla. Antioxidačně pak působí množství

20 – 50 mg/kg díla (Kameník, 2012).

Koření

Jako další přísada do TFS se používá koření. Koření však může negativně ovlivnit průběh fermentace nežádoucí kontaminací, proto průmyslové podniky dávají přednost extraktům, které mají minimální obsah mikroorganismů. Využívají se různé druhy koření: pepř, papri-

ka, muškátový květ a oříšek, zázvor a jalovec. Do tradičních českých TFS se používá česnek, kmín a hřebíček (Kameník, 2011). Koření vykazuje částečně antioxidační a antimikrobiální účinek a podporuje sekreci žaludečních šťáv (Kameník a kol., 2014).

Tabulka 3: Přehled koření do tradičních českých TFS (Kameník, 2012).

Produkt	Koření dle spotřebních norem MP/1989
Lovecký salám	pepř černý mletý, česnekový koncentrát, hřebíček mletý
Poličan	pepř černý mletý, česnekový koncentrát, hřebíček mletý, paprika sladká a pálivá
Herkules	pepř černý mletý, česnekový koncentrát, kmín mletý, koriandr
Paprikáš	paprika sladká, speciální papriková emulze, kmín mletý

Sacharidy

Pro žádoucí okyselující mikroflóru (mléčné bakterie) se používají jako substrát sacharidy. Rychlost fermentace závisí na použitém cukru. Nejdříve je zkvašována glukóza, pak sacharóza a nejpomaleji se zkvašuje škrob. Musí se dbát na správné dávkování. Špatné dávkování vede k nepřiměřenému pomnožení laktobacilů, dojde k přílišnému okyselení, silné tvorbě oxidu uhličitého a ten pak způsobí nafouknutí a praskání salámů (Kameník, 2009).

Používají se monosacharidy (glukóza, příp. fruktóza), disacharidy (sacharóza, laktóza), případně i oligosacharidy (škrobový sirup).

Startovací kultury

Startovacími kulturami se rozumí vybrané kmeny bakterií, které se do díla přidávají pro svůj pozitivní vliv na okyselení (a tím na mikrobiální stabilitu), barvu a chuť (aroma). Dávkování startovacích kultur do díla musí zaručit minimální počet 10^7 bakteriálních buněk na 1 gram díla (Feiner, 2008). Komerčně dostupné jsou v mraženém, lyofilizovaném nebo tekutém stavu. Startovací kultury se do díla aplikují na počátku míchání v kutru. Nejčastěji používanými startovacími kulturami jsou ty, které obsahují mikrobiální rody *Lactobacillus, Pediococcus, Kocuria, Staphylococcus* (koaguláza-negativní rody). Z kvasinek jsou to zástupci rodů *Candida* a *Debaryomyces* (Kameník 2012).

Delta–lakton D-glukonové kyseliny, kyselina askorbová a proteiny

Další přísadou je delta–lakton D-glukonové kyseliny, což je přírodní kypřící látka a regulátor kyselosti zařazený pod kódem E575, který se používá jako rychlé okyselení, avšak způ-

sobuje rychlé žluknutí (wwwdTest). Jako další látka je používána kyselina askorbová, která urychluje vybarvení masných výrobků a působí také nepřímo jako antioxidant. Proteiny jsou do výrobků přidávány z mnoha důvodů. Jedním z nich je stabilizace emulze. Dále ovlivňují chuť produktů, konzistenci a také zvyšují obsah proteinů ve výrobcích. Do trvanlivých salámů jsou přidávány ve formě gelu, v mraženém, anebo také v suchém stavu (Kameník, 2012).

Vláknina

Do masných výrobků se přidává rozpustná vláknina, tzv. inulin. Inulin má neutrální chuť a snižuje obsah tuku ve výrobcích (Tremlová a kol., 2015). Vláknina se také používá jako přísada do fermentovaných trvanlivých salámů (Kameník, 2012).

1.2.1.4 Příprava díla fermentovaných masných výrobků

Při procesu míchání a mělnění se ze základní suroviny vytváří salámové dílo. Zásadní úlohou je vytvořit dílo o správném složení a struktuře. Faktory ovlivňující kvalitu díla:

- vzájemný poměr libové a tučné suroviny
- kvalita vepřového sádla
- teplota suroviny
- přísady včetně soli (solicí směsi)
- konstrukce kutru a kutrových nožů
- ostrost kutrových nožů (Kameník, 2011).

Před mělněním se musí čerstvé maso i špek zmrazit. Mělněním vzniká předdílo, které se poté zhušťuje lisováním. Narážení fermentovaných salámů probíhá do všech typů střev a je možné je vyrábět bezobalovou technikou. Aby se nehromadil oxid uhličitý, musí být střeva propustná pro vodu a plyny (Kameník, 2009). Při mělnění dochází k uvolnění obsahu svalových buněk a do nitra myofibril proniká chlorid sodný, který je obsažený v dusitanové solicí směsi. Vzniká směs, která je bohatá na bílkoviny a v důsledku denaturace a úbytku volné vody vytváří rozpuštěné bílkoviny želatinózní trojrozměrnou síťovinu. To má vliv na zpevnění díla fermentovaných salámů. Následné pokračování denaturace a další ztráta vody má za následek smršťování díla. Vzniká tak konzistenčně pevný salám (Kameník, 2012).

Kutr

Kutr je zařízení, které se skládá z otočné mísy, ve které se na hřídeli (nožové hlavě) otáčí nože, které masitou surovinu rozsekávají a současně vznikající dílo promíchávají (Budig, Klíma, 1995). Příprava díla v kutru může mít několik postupů. Obecně platí, že se v kutru zpracovává sádlo v mraženém stavu (teplota -10 °C a nižší), podobně tak i maso, které má vysoký podíl sádla (např. boky). Chlazené se používá pouze maso libové (Kameník, 2012).

Řezačka a míchačka

Na řezačce jsou připravovány salámy o velikosti zrna 4-13 mm a dále následuje jejich míchání. U velkých výrobců se pracuje s plně automatizovanými linkami. Feiner (2004) uvádí, že výhodou použití řezaček při přípravě díla TFS je získání přesných, stejně velkých částí masa i sádla (Kameník a kol., 2014).

Plnění do střev

Přírodní střeva splňují požadavky pro výrobu trvanlivých fermentovaných salámů, a proto je jejich použití nejčastější. Přírodní střeva musí být propustná pro vodní páry, plyny a složky udícího kouře. Používají se vepřová střeva tenká, která jsou jedlá a nemusí se z výrobku loupat na rozdíl oproti střevům umělým. Nevýhodou přírodních střev je jejich křehkost a nestejnoměrnost (Ingr, 2003).

1.2.1.5 Fermentace a zrání

Fermentace (kvašení) je biotechnologický proces, při kterém se organické látky pomalu přeměňují na jednodušší, a to za účasti mikrobiálních enzymů. Mezi nejstarší metodu konzervování se řadí proces fermentace a sušení. Fermentovaný masný výrobek se skládá z různých druhů syrového masa, tukové tkáně a koření. Následné je plnění do střev, fermentace a sušení. Cukry jsou během fermentace změněny v díle na kyselinu mléčnou pomocí bakterií mléčného kvašení a voda, která vystupuje na povrch, se odpařuje. Tyto procesy způsobují snížení pH a snížení a_w. Jako konečný produkt je produkován stabilní výrobek s dlouho trvanlivostí, aniž by proběhlo tepelné opracování (Baláš, 2015).

Fermentace podléhá řádné kontrole a závisí na kombinaci času, teploty, obsahu dusitanů koncentraci soli, pH, a_w a dalších důležitých faktorech, které zajišťují bezpečnost potravin

(Anonym 1). Zrání salámů probíhá v rozmezí 2-4 týdnů, kdy proces zrání zahrnuje fermentaci i sušení. Výsledkem je bezpečný kvalitní trvanlivý produkt (Anonym 2).

Hlavní cíl tohoto úseku výroby TFS je zahájení fermentačních procesů, které zajistí optimální podmínky pro růst fermentujících bakterií a odpar vlhkosti z masného výrobku. Do zrací komory s kontrolovanou teplotou, relativní vlhkostí vzduchu (RVV) a rychlostí proudění vzduchu jsou umístěny na udírenských vozících čerstvě naplněné salámy. V případě moderních kombinovaných komor zde kromě fermentace a zrání proběhne i sušení (Heinz 2009; Vignolo et al., 2010). Z důvodu nízké teploty právě naražených salámů, je doporučována tříhodinová temperace při mírné teplotě místnosti. Ta je možná provést přímo ve zrací komoře před započetím vlastní fermentace. První fáze je tzv. vyrovnávací fáze. V této fázi je teplota v komoře nastavena na 16 – 22 °C, RVV na 60 – 70 % a rychlost proudění vzduchu je 0,8 m/s. V důsledku rozdílných teplot prostředí a výrobků je důležitá nízká RVV, která brání nadměrné kondenzaci vody na povrchu salámů, která je důležitá z ekonomických důvodů. V přímé závislosti na průměru salámů a stupni naplnění komory trvá vyrovnávací období 1 – 6 hodin (Kameník 2012, Feiner 2008). V druhé fázi je RVV zvýšena na 92 – 95 %, teplota upravena na 18 – 26 °C a rychlost proudění vzduchu zachována. Tím jsou vytvořeny ideální podmínky pro správný průběh fermentace. Dále se zohledňuje typ použité startovací kultury a požadovaná rychlost poklesu pH, protože obecně je známo, že čím vyšší je teplota fermentace, tím rychlejší je produkce kyseliny mléčné a proto i pokles pH (Kameník, 2012; Vignolo et al. 2010; Marianski et Marianski, 2009).

V prvních dnech může fermentace a zrání probíhat ve speciálních zakuřovacích komorách, ve kterých je umožněno uzení zrajících salámů. Výrobky jsou zde umístěny cca 1 týden. Musí se dbát na řízení RVV, aby nedocházelo k přesušení povrchů salámů. Takto vyuzené výrobky jsou umístěny do konečných zracích komor, kde během 1 – 3 týdnů dozrávají (Marianski et Marianski, 2009). Kouř výrobkům dodává specifické aroma a zabarvení povrchu a působí především proti plísním obalového střeva na povrchu (Feiner, 2008). Celková doba uzení může být několik hodin, dní ale i týdnů. K uzení je využíván kouř o teplotě 20 – 25 °C (Heinz, 2009).

Zvláštní skupinu TFS představují výrobky, které nejsou podrobeny uzení a vyznačují se delší dobou zrání (4 – 6 týdnů) během které povrch salámů prorůstá plísní. Plíseň se na výrobky aplikuje pomocí postřiku anebo ponoření a to formou suspenze spor. Tento proces se provádí až po fermentaci, která zpravidla trvá dva dny (Heinz 2009; Kameník, 2012).

Nejvíce používanou kulturou pro výrobu TFS s plísní na povrchu je aplikace druhu *Penicillium nalgiovense* (Feiner, 2008; Heinz 2009).

1.3 Nové směry v produkci trvanlivých fermentovaných salámů

Jak zaujmout zákazníka svými produkty zůstává každodenní otázkou pro výrobce TFS. Konkurence na trhu je vysoká a prosadit své výrobky mezi ty nejlepší a nejprodávanější je stále těžší. Výroba netradičních výrobků je možnost, jak odlišit svoji produkci od ostatních na trhu. Někteří výrobci využívají nových startovacích kultur. Rozšiřuje se oblast technologie a jedním z nejnovějších směrů je španělský systém QDS (Kameník, 2012).

QDS (Q=quick, D=dry, S=slice) je proces, který urychluje výrobu krájených a balených trvanlivých salámů. Proces lze rozdělit do dvou fází: v první fázi se provádí výběr suroviny, kutrování a plnění do obalových střev. Pokud se jedná o fermentované salámy, probíhá zde dvoudenní fermentace včetně uzení. Druhá fáze spočívá v zamrazení produktu (na teplotu -3 až -7°C), sloupnutí obalového střeva, nakrájení na plátky a sušení v proudu klimatizovaného vzduchu. Plátky jsou balené, když získají požadované parametry (Kameník, 2011). Saláková a Kameník (2015) uvádí, že svojí kvalitou jsou salámy QDS srovnatelné s výrobky, které byly připraveny klasickou cestou.

Společnost Mäspoma a Nivo přinesly na trh kořenící směs – FAST PLUS – ve které je vyvážený poměr cukrů a extraktu červeného vína. Při použití tohoto konceptu je možné urychlit proces zrání, a to v průměru o 2 – 4 dny v závislosti na druhu výrobku (Kravec, 2015).

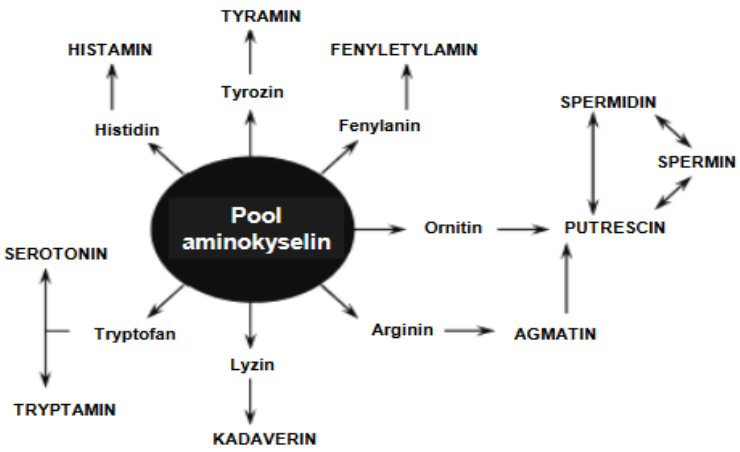
2 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH

Biogenní aminy jsou důležité dusíkaté látky biologického významu v rostlinných, živočišných a mikrobiálních buňkách. Lze je detekovat v syrovém, ale i zpracovaném jídle. V potravinářské mikrobiologii se často spojují s fermentačními procesy a procesem kažení potravin. Sekundární aminy mohou vytvářet nitrosaminy, a proto nezbytná znalost biogenních aminů je důležitá pro zlepšení kvality a bezpečnosti potravin (Santos Silla, 1996).

2.1 Biogenní aminy a jejich rozdělení

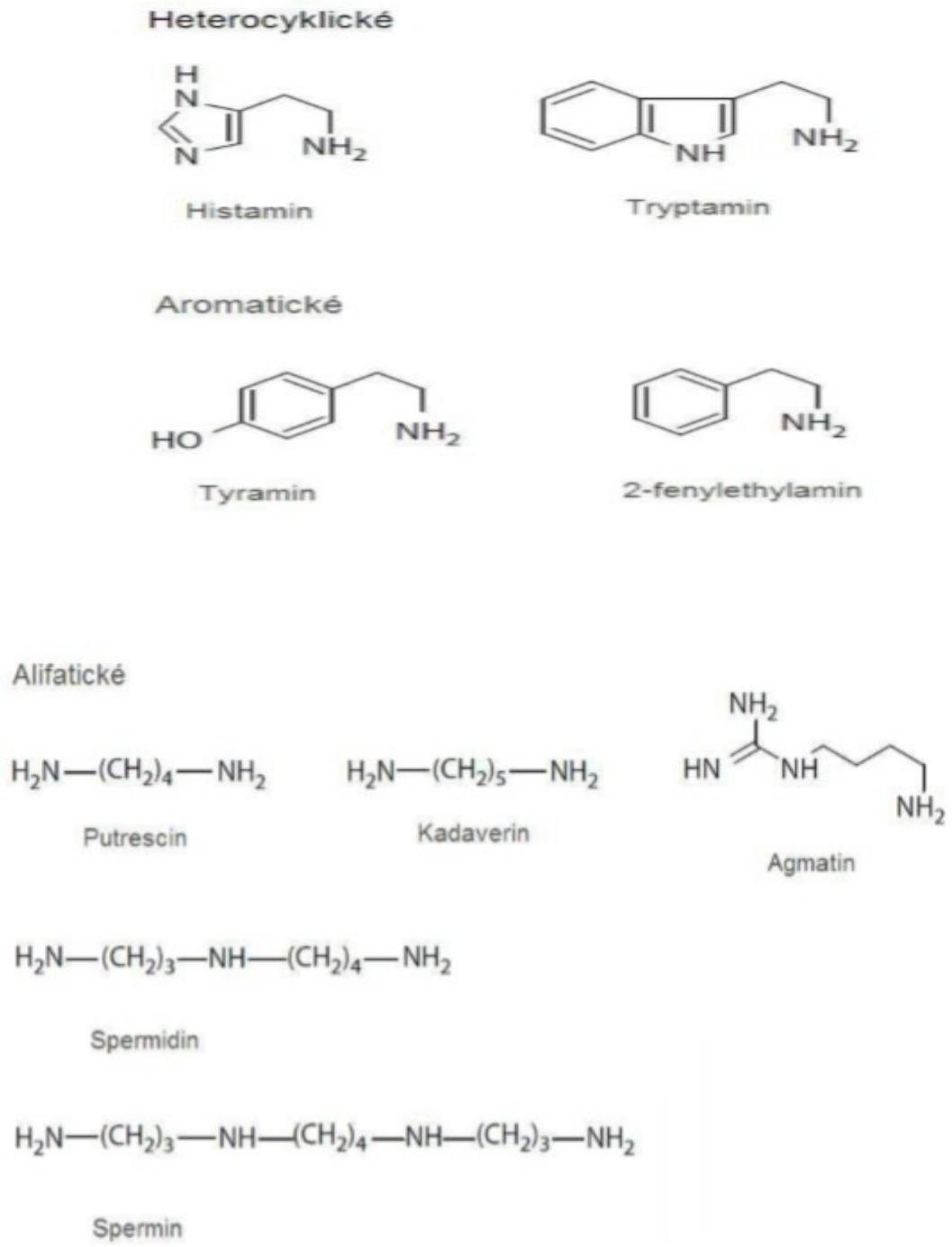
Biogenní aminy (BA) se řadí mezi nízkomolekulární sloučeniny odvozující se od aminokyselin. BA se vyskytují především v potravinách a nápojích, kde vznikají činností mikroorganismů, jejichž aktivní enzymy dekarboxylázy odštěpují z aminokyselin COOH skupinu (Velíšek, 2002). Rozdělují se podle chemické struktury na alifatické (kadaverin, putrescin), aromatické (fenyletylamin, tyramin), heterocyklické (tryptamin, histamin) a polyaminy (putrescin, kadaverin, agmatin, spermin, spermidin), (Kalač, 2005).

Pro vznik biogenních aminů je podmínkou přítomnost aminokyselin v daném substrátu, dále přítomnost mikroorganismů nesoucích příslušné enzymy a podmínky vhodné pro množení a růst zmíněných mikroorganismů. Vznik biogenních aminů je katalyzován dekarboxylázami a vznik těchto látek vede od proteinů přes peptidy k aminokyselinám (obr. č. 3), jejichž dekarboxylací vznikají (Halász, 1994).



Obrázek č. 3: Tvorba biogenních aminů z aminokyselin (Ancín Azpilicueta, 2008).

Mezi nejvýznamnější biogenní aminy nacházející se v potravinách lze zařadit: tyramin, histamin, putrescin, tryptamin, 2-fenyletylamin, kadaverin, agmatin, spermin a spermidin, některé jsou zobrazeny na obrázku č. 4 (Komprda, 2010).



Obrázek č. 4: Vzorce vybraných biogenních aminů (Karabín, 2009).

2.2 Působení biogenních aminů na lidský organismus

Pro člověka jsou biogenní aminy nepostradatelné. Příkladem jsou polyaminy ovlivňující syntézu proteinů, stabilizující membrány a uskutečňující neurofyzikální funkce, kdy jsou účastníky přenosu nervového vzruchu na synapsích. V buňkách je rovnováha koncentrace biogenních aminů dána nejen jejich biosyntézou a degradací, ale i různými formami příjmu a exkrece (Halász, 1994; Shalaby, 1996; Kalač, 2005). I když si tělo dokáže polyaminy syntetizovat samo, tak určité množství se přijímá i z potravy. Je dobré zmínit i jejich antioxidační účinky. Polyaminy se podílejí i na procesu zpomalování opotřebování a stárnutí buněk. Jejich činností se vychytávají volné radikály. Biogenní aminy spermidin a spermin stabilizují hydroperoxid, tyto účinky mohou být příčinou protizánětlivého působení při chronických a akutních zánětech v organismu (Kalač, 2009).

V případě, že jsou biogenní aminy přijaty potravou v malém množství, jsou metabolizovány ve střevech systémem mono- a diaminooxidáz. U histaminu je možná detoxifikace metylací a acetylací. Detoxifikace BA je individuální, protože někteří jedinci citlivěji reagují už na nižší obsah aminů v potravě. Pro tento střevní systém mohou být inhibitory také některé léky, např. inhibitory monoaminooxidázy (IMAO), antidepresiva a také alkohol. Pacienti užívající zmíněné léky se musí vyvarovat potravinám, kde je výskyt biogenních aminů častý. Není určena povolená hranice v legislativě, ale za vysoká až velmi vysoká množství biogenních aminů v potravě jsou považovány desítky až stovky mg/kg potraviny (Spano, 2010; Novella-Ridríguez, 2003).

Je-li detoxikační systém ve střevech poškozen, biogenní aminy se dostanou do krevního oběhu a mohou způsobit nežádoucí účinky na organizmus. Riziková je zejména konzumace fermentovaných výrobků, piva a vína (Spano, 2010).

Při hodnocení toxického účinku se musí zvažovat i ostatní faktory, jakými jsou množství spotřebované potraviny a přítomnost jiných toxických látek. Jednotlivé BA vyvolávají nežádoucí účinky přímo (histamin, tyramin) nebo inhibují detoxikační enzymatický systém (kadaverin, putrescin) (Shalaby,1996; Santos Silla, 1996).

Tyramin ve vysokých dávkách způsobuje hypertenzi, horečku, migrénu, bušení srdce, pocení, nevolnost a zvracení. Změna hladiny tyraminu je ovlivněna i změnou mozkových funkcí u mnoha chorob a stavů (deprese, Parkinsonova choroba, schizofrenie, drogová závislost) (Trivedi, 2009; Spano, 2010; Santos, 2003).

Tryptamin a 2-fenyletylamin způsobují migrénu (Santos, 2003).

Je důležité ovšem říci, že některé biogenní aminy jsou v nízkých koncentracích pro lidský organizmus prospěšné. Hrají významnou roli v mnoha lidských a živočišných fyziologických funkcích (Tabulka č. 4). Jako příklad lze zmínit regulaci tělesné teploty, pH žaludku, mozková činnost anebo plní funkci prekurzorů dalších molekul (Stratton, 1991).

Tabulka č. 4 Fyziologické funkce polyaminů a biogenních aminů (Shalaby, 1996)

Biogenní aminy, polyaminy	Prekurzor	Fyziologický efekt v organismu
Histamin	Histidin	Uvolňování adrenalinu, noradrenalinu Kontrakce hladké svaloviny dělohy, střeva a dýchacího ústrojí Stimulace senzorů a motorických neuronů Sekrece žaludečních šťáv
Tyramin	Tyrosin	Periferní vasokonstrikce Zvýšení srdečního minutového objemu Slzení a slinění Zrychlení dýchání Zvýšení hladiny cukru v krvi Uvolnění noradrenalinu ze sympatického nervového systému Migrény
Putrescin a kadaverin	Ornitin a lysin	Hypotenze Bradykardie Tonická křeč čelistních svalů Paréze okončetin Toxicita dalších aminů
2-fenyletylamin	Fenylalanin	Uvolnění noradrenalinu ze sympatického nervového systému Zvýšení krevního tlaku Migrény
Tryptamin	Tryptofan	Zvýšení krevního tlaku

2.3 Výskyt biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích

2.3.1 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Mezi bakterie produkující biogenní aminy se řadí mnoho druhů. Tyto mikroorganismy mají specifické dekarboxylázy, což jsou enzymy náležící do třídy lyáz. Tyto enzymy jsou rozšířené zejména u rostlin, živočichů i mikroorganismů, a to hlavně u bakterií, kde vykazují dekarboxylázy výraznou aktivitu (Silla Santos, 1996).

Mezi rody vykazující dekarboxylační aktivitu patří např. *Bacillus, Citrobacter, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Shigella, Pediococcus, Streptococcus, Lactobacillus, Photobacterium, Enterococcus, Hafnia, Morganella* a další (Silla Santos, 1996; Halász a kol., 1994).

Nejčastěji se vyskytuje schopnost dekarboxylázové aktivity u laktobacilů, pediokoků, enterokoků a bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* (Halász a kol., 1994).

2.3.1.1 Bakterie mléčného kvašení (BMK)

Jedná se o nesporulující, grampozitivní, nepohyblivé tyčinky a koky, které fermentují sacharidy za fakultativně anaerobních podmínek a hlavně produkují kyselinu mléčnou. Řada zástupců bakterií mléčného kvašení jsou přidávány do potravin jako kulturní či startovací mikroflóra nebo jako probiotika. Zejména se jedná bakterie rodu *Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc* (Burdychová a Sládková, 2007; Görner a Valík, 2004).

BMK prodlužují trvanlivost potravině a dokáží vytvořit nevhodné podmínky pro růst nežádoucích bakterií. Mohou se vyskytovat v mléce, mléčných výrobcích, na rostlinách a rostlinných materiálech, v trávicím traktu zvířat a lidí, v dutině ústní a na sliznicích člověka, ve fermentované zelenině a trvanlivých tepelně neopracovaných salámech (Šilhánková, 2008).

Enterokoky se popisují jako grampozitivní, fakultativně anaerobní, kataláza negativní koky, vyskytující se v párech nebo vytváří krátké řetízky. Optimální teplota růstu je 37 °C, ale rostou i při 10 a 45 °C. Dokáží snést 6,5% NaCl, pH 9,6 a přežívají teplotu 60 °C po dobu 30 minut. Jejich schopnost zkvašovat glukózu na kyselinu mléčnou se v potravinářství využívá při výrobě masných a mléčných výrobků. Významné druhy jsou *E. faecalis, E. faecium, E. durans, E. gallinarum, E. casseliflavus, E. avium* (Franz a kol., 2003).

2.3.2 Biogenní aminy ve fermentovaných masných výrobcích

Obsah biogenních aminů může být v suchých fermentovaných salámech značně variabilní. Mezi nejběžnější BA v těchto výrobcích se řadí tyramin a putrescin, kdy jejich přítomnost je díky aktivitě bakterií mléčného kvašení. Klíčovou roli v obsahu biogenních aminů ve zmíněných výrobcích hraje kvalita výchozí suroviny, a to syrového masa. Pro výrobu salámu se používá čerstvé maso, ve kterém jsou ve vyšším množství obsaženy pouze spermidin, a spermin. Čerstvé maso, které je vystaveno nevhodným teplotním podmínkám, se vyznačuje vysokým počtem enterokoků a bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae.* Tato skutečnost má za následek rychlejší a vyšší hromadění tyraminu (kolem 250 mg/kg), kadaverinu (340 mg/kg) a putrescinu (80 mg/kg). Salámy, které se vyrábí z masa zmraženého, obsahují pouze tyramin, kdy jeho koncentrace může dosahovat až 100 mg/kg. Nejvíce dochází k nárůstu obsahu biogenních aminů v počátečních fázích fermentace. Nárůst byl zpozorován i v poslední výrobní fáze a ve fázi uskladnění (Pipek, 2008; Suzzi, 2003; Velíšek, 2002).

V salámech pocházejících ze Španělska jako Chorizo, Fuet, Sobrasada a Salsichon bylo ve studiích Hernandez-Jover et al. (1996, 1997); Roig-Sagués et al. (1999); Bover-Cid et al. (2000) prokázáno větší množství tyraminu (více než 600 mg/kg). Biogenní amin putrescin byl produkován v některých vzorcích v koncentraci nad 450 mg/kg a kadaverin byl nalezen ve významném množství v salámech Chorizo a Sasichon (nad 600 mg/kg). Histamin nebyl objeven v žádném vzorku a 2-fenyletylamin a tryptamin se vyskytovaly pouze v malém množství a jen u malého množství salámů. Nepřítomnost histaminu byla odůvodněna nepříznivými podmínkami pro růst bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*, které jinak dokáží hromadit vysoké množství histaminu (Suzzi, 2003).

V suchých salámech vyrobených ve Finsku byl identifikován tyramin a putrescin jako nejhojnější biogenní aminy. Ve studii Hernandez-Jover et al. (1997) byl zmíněn nález velkého množství putrescinu v dánských suchých salámech. Dále v ruských a tuzemských suchých salámech byl objeven hlavně histamin, kdy jeho koncentrace byla nižší než 100 mg/kg. Putrescin, tyramin, kadaverin byly objeveny ve francouzských salámech, a to jak v průmyslově vyráběných, tak řemeslně vyráběných. Vysoký obsah tyraminu (270 mg/kg) a putrescinu (400 mg/kg) byly stanovené v salámech s vysokým počtem pseudomonád, kvasinek a grampozitivních koků. Biogenní aminy se hromadí v průmyslově vyráběných produktech stejně jako v domácích výrobcích (Suzzi, 2003).

2.3.3 Startovací kultury

Jako kultury pro salámovou fermentaci jsou v masném průmyslu používány bakterie mléčného kvašení. K vyvolání jejich typické chuti přispívají také mikrokoky nebo koagulázanegativní stafylokoky, které jsou zaočkované společně s bakteriemi mléčného kvašení. Před změnami barvy a žluknutím je důležitá produkce katalázy. Barva a stabilita výrobku se zlepšuje díky tomu, že mění nitráty na nitrity (Suzzi, 2003).

V dnešní době je velmi oblíbené používat probiotické kultury pro výrobu fermentovaných potravin i fermentovaných masných výrobků. Probiotika jsou mikroorganismy nacházející se v potravě, které po požití pozitivně ovlivňují složení a rovnováhu střevní mikroflóry. Ovšem je důležité si uvědomit, že někteří zástupci probiotických kultur mohou být producenty biogenních aminů (Pipek, 2008; Suzzi, 2003).

Díky startovací kultuře *Lactobacillus sakei* CTC494 došlo k redukci obsahu biogenních aminů během zrání. Další podmínkou je dobrá kvalita syrového masa, ve kterém bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* nesmí být přítomné v množství vyšším než 10^3 CFU/g. Při výrobě salámu Fuet tento kmen společně se *Staphylococcus carnosus* a *Staphylococcus xylocus* snižoval hromadění biogenních aminů z 80-90 %. Díky *Lactobacillus curvatus* CTC371 ve spojení s kmenem *Staphylococcus xylocus* se dosáhlo 50% snížení biogenních aminů ve fermentovaných salámech. Směs startovacích kultur (*Lactobacillus sakei, Staphylococcus carnosus* a *Staphylococcus xylosus)* ve španělských salámech snížila přítomnost putrescinu, kadaverinu a tyraminu (Suzzi, 2003).

3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH

Základní podmínky pro vznik biogenních aminů:

- Přítomnost volných aminokyselin sloužících jako substrát
- Přítomnost mikroorganismů schopných přeměňovat aminokyseliny na příslušný biogenní amin (díky enzymům dekarboxylázám)
- Podmínky a faktory vhodné pro bakteriální růst, dekarboxylázovou aktivitu a syntézu dekarboxylázy.

Vznik biogenních aminů v potravinách uskutečňuje dekarboxylační aktivita bakteriálních enzymů anebo enzymů přítomných v potravinách. Enzymovou aktivitu mikroorganismů lze ovlivnit řadou faktorů, jako je teplota, doba skladování, pH, obsah solí, přítomnost kyslíku, vodní aktivita nebo přítomnost kofaktorů dekarboxyláz, a to pyridoxalu, pyridoxinu (Bover-Cid a Holzapfel, 1999).

Dalším velmi významným faktorem je dostupnost substrátu. Důležitá je nejen přítomnost volných aminokyselin, ale také přítomnost využitelných cukrů v potravině. Optimální koncentrace glukózy se uvádí od 0,5 do 2 %, protože 3 % glukózy v substrátu už inhibují syntézu enzymů (Silla Santos, 1996).

Mezi další důležité faktory patří teplota. Je známo, že množství biogenních aminů roste s dobou skladování a se zvyšující se teplotou. Dalo by se říci, že tepelná úprava ovlivňuje jen nepatrně množství vznikajících biogenních aminů. Histamin, který je termostabilní a koncentrace se nemění vařením, zatímco obsah sperminu při vaření klesá (Adams a Nout, 2001).

Pro aktivitu většiny dekarboxylačních enzymů a tvorbu biogenních aminů je optimální hodnota pH 4 - 5,5. Nižší hodnoty pH inhibují bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae,* naopak bakterie mléčného kvašení jsou tolerantní vůči kyselejšímu prostředí (Bover-Cid a Holzapfel, 1999).

Přítomnost kuchyňské soli inhibuje vznik biogenních aminů. Ale lze zmínit i případy jako histamin nebo tyramin, kdy působí na některé bakterie osmoprotektivně a syntéza je tedy díky NaCl v některých případech zvýšena (Komprda, 2005).

Kyslík může podporovat nebo omezovat vznik biogenních aminů. Vše záleží na tom, zdali jsou mikroorganismy aerobní, anaerobní nebo fakultativně anaerobní.

Dále konzervační prostředky v potravinách mohou ovlivnit tvorbu biogenních aminů. Příkladem je některé koření a byliny, které moho u mít antibakteriální vlastnosti. Je známo, že i antibiotika potlačují vznik BA (Adams a Nout, 2001).

Je důležité myslet na to, že pro udržení nízkého obsahu biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích je nutné dodržování technologických postupů, hygieny výroby a skladování, čímž se zabrání kontaminaci nežádoucí mikroflórou a vytvoří se podmínky, které brání vznik BA (Velíšek, 2002).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce byl monitoring výskytu biogenních aminů ve vybraných vzorcích fermentovaných masných výrobků získaných z běžné obchodní sítě v ČR a zjištění změny jejich obsahu během chladírenského skladování, a to po uplynutí doby použitelnosti a doby minimální trvanlivosti.

Cílem teoretické části diplomové práce bylo:

- Technologie výroby a rozdělení fermentovaných masných výrobků
- Charakteristika a výskyt biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích
- Faktory ovlivňující výskyt biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích.

Cílem praktické části diplomové práce bylo:

- Skladovací pokus se 46 vzorky fermentovaných masných výrobků
- Stanovení obsahu biogenních aminů ve vzorcích po nákupu a poté po uplynutí doby použitelnosti (např. u krájených fermentovaných salámů) nebo doby minimální trvanlivosti (tyče fermentovaných salámů)
- Na základě teoretické části a výsledků formulovat závěr.

5 MATERIÁL A METODY PRÁCE

5.1 Charakteristika vzorků

V praktické části diplomové práce byl stanoven obsah osmi biogenních aminů (tryptaminu, fenyletylaminu, putrescinu, kadaverinu, tyraminu, histaminu, sperminu a spermidinu) ve fermentovaných masných výrobcích. Všechny výrobky byly zakoupeny v běžné obchodní síti. K experimentu bylo použito 46 vzorků fermentovaných masných výrobků (fermentovaných salámů rozdělených na tyče a krájené salámy a dále fermentovaných klobás). Všechny vzorky byly rozděleny podle průměru výrobku do 2 skupin. Skupiny vzorků jsou zmíněny v tabulce č. 5. Vždy jeden ze vzorků stejné šarže byl analyzován ihned po nákupu a druhý vzorek byl umístěn v chladničce při teplotě 6 ± 2 °C a byl skladován po celou dobu experimentu. Druhý vzorek byl zanalyzován po uplynutí doby použitelnosti nebo doby minimální trvanlivosti.

Tabulka č. 5: Charakteristika analyzovaných vzorků.

Výrobce	číslo vzorku	FMV	tyč/krájený	Počet dnů skladování
A	1	herkules	tyč	40
	2	herkules	krájený	18
	7	poličan	tyč	30
	8	poličan	krájený	20
	13	paprikáš	tyč	40
	14	paprikáš	krájený	22
	28	fermentovaný masný salám	tyč	40
	29	fermentovaný salám	tyč	70
	30	lovecký salám	tyč	40
	31	fermentovaný masný salám	tyč	40
	32	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	33	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	34	fermentovaná masná klobása	tyč	50
	35	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	36	fermentovaná masná klobása	tyč	50
B	3	herkules	tyč	30
	4	herkules	krájený	16
	9	poličan	tyč	40
	10	poličan	krájený	18
	15	paprikáš	tyč	40
	16	paprikáš	krájený	18
	39	fermentovaný masný salám	tyč	50

Tabulka č. 5: Pokračování: charakteristika analyzovaných vzorků.

Výrobce	číslo vzorku	FMV	tyč/krájený	Počet dnů skladování
C	5	herkules	tyč	30
	6	herkules	krájený	20
D	11	poličan	tyč	40
	12	poličan	krájený	18
	24	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	43	fermentovaná masná klobása	tyč	40
E	17	fermentovaný masný salám	tyč	40
	18	fermentovaný masný salám	krájený	22
	44	fermentovaný masný salám	tyč	50
	45	fermentovaný masný salám	tyč	50
	46	lovecký salám	tyč	50
F	19	fermentovaný masný salám	tyč	18
	20	fermentovaný masný salám	krájený	40
G	21	fermentovaná masná klobása	tyč	40
H	22	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	23	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	25	fermentovaná masná klobása	tyč	40
CH	26	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	37	fermentovaná masná klobása	tyč	40
	42	fermentovaný masný salám	tyč	40
I	27	fermentovaná masná klobása	tyč	30
J	38	fermentovaná masná klobása	tyč	50
K	40	fermentovaný masný salám	tyč	50
L	41	fermentovaný masný salám	tyč	40

5.2 Stanovení biogenních aminů

Nejprve byla nutnost biogenní aminy ze vzorků vyextrahovat, a to za použití 0,6 M kyseliny chloristé. Samotné biogenní aminy nelze detekovat pomocí UV/VIS spektrometrie, a proto je nezbytně nutné na biogenní aminy navázat látku, kterou tímto způsobem je možné detekovat. K derivatizaci byl aplikován dansylchlorid (5-(diametylamino)naftalen-1-

sulfonylchlorid). Dansylderiváty biogenních aminů je potom nutné separovat, a to provedením pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Detekce dansylderivátů byla provedena spektrofotometricky při vlnové délce 254 nm (Komprda, 2010; Onal, 2007; Proestos, 2008).

5.2.1 Příprava vzorků na chromatografické stanovení

Nejdříve byl každý vzorek zhomogenizován promícháním. Poté do prázdné hliníkové misky bylo naváženo cca 20 – 35 g vzorku, a to od každého vzorku vždy dvě misky. Hliníkové misky se vzorky byly poté umístěny nejméně na 4 hodiny do mrazícího boxu, kde byla teplota -80 °C. Následně byly vzorky umístěny do lyofilizátoru typu ALPHA 1-4LSC (CHRIST,SRN) a lyofilizovány. Vzorky po lyofilizaci byly zváženy a rozmělněny na prášek. Takhle zpracované vzorky byly do dalšího kroku analýzy uskladněny v uzavřených igelitových sáčcích v mrazícím zařízení.

Následným krokem při přípravě vzorků byla derivatizace pomocí dansylchloridu (Sigma-Aldrich, USA). Do 15 ml zkumavky byl navážen 1 g již rozmělněného vzorku, a k tomu bylo přidáno 10 ml 0,6 M $HClO_4$ (Sigma-Aldrich). Pomocí vortexu byl promíchán obsah zkumavky, který byl dále umístěn na laboratorní třepačku, kde byl 30 minut třepán. Poté byly zkumavky odstředěny při 6000 otáčkách po dobu 20 minut (EBA 21; Hettich SRN). Do odměrné baňky o obsahu 25 ml byl přelit supernatant. K sedimentu bylo napipetováno 7 ml 0,6 M $HClO_4$ a vzorek byl znovu promíchán na vortexu a třepán 20 minut na třepačce. Dále byly zkumavky 20 minut odstřeďovány při 6000 otáčkách a supernatant byl přidán do odměrných baněk. Opět bylo k sedimentu přidáno 7 ml 0,6 M $HClO_4$ a byl zopakován krok třepání a odstřeďování. V další fázi byl supernatant přelit do odpovídajících odměrných baněk a množství roztoku v nich bylo po rysku vyznačující 25 ml doplněno 0,6 M $HClO_4$.

Vzniklá suspenze byla přefiltrována přes papírový filtr a dále byl pipetován 1 ml filtrátu do derivatizační nádobky. Z každé odměrné baňky byly takovým způsobem nachystány 3 derivatizační nádobky (3 paralelní stanovení). Okyselená směs byla derivatizována podle Dadákové a kol., 2009), kde bylo ke vzorku do každé derivatizační nádobky přidáno 100 µl vnitřního standardu (1,7-heptandiamin/Sigma-Aldrich/ o koncentraci 500 mg/l), 1,5 ml karbonátového pufru o pH 11,1 – 11,2 a 2 ml čerstvě připraveného roztoku dansylchloridu o koncentraci 5 g/l v acetonu (Merck, SRN). Pufr byl připraven smícháním 50 ml 0,5 M $NaHCO_3$ a 12 ml 0,5 M Na_2CO_3. Následně bylo v pufru rozpuštěno 16,65 g 5 K_2CO_3 a pH

bylo upraveno na konečných 11,1 – 11,2. V dalším kroku byly derivatizační nádobky uzavřeny a v temnu třepány po dobu 20 hodin.

Po uplynutí doby 20 hodin bylo přidáno ke vzorkům 200 µl roztoku prolinu (Sigma-Aldrich) a další hodinu byly vzorky znovu třepány. Následovně se ke vzorkům přidaly 3 ml heptanu (Sigma-Aldrich) a 3 minuty se ručně protřepávaly. Poté, co se heptanová vrstva ustálila, byl z ní odpipetován 1 ml do vialky. Heptan byl odpařen pod proudem dusíku při teplotě 60 °C. Suchý odparek byl zředěn 1,5 ml acetonitrilu (Sigma-Aldrich), následně přefiltrován přes stříkačkový filtr s porozitou 0,22 µm. Takovým způsobem připravené vzorky byly buď dávkovány do chromatografického systému, nebo ihned po naředění acetonitrilem umístěny do mrazícího zařízení (teplota ≤ -18 °C) a uchovávány až do chromatografické analýzy.

5.2.2 Chromatografické stanovení

Díky předchozímu postupu a dodržování jednotlivých kroků bylo získáno z každého spotřebitelského balení fermentovaného masného výrobku 6 vzorků nachystaných k analýze pomocí HPLC. Vzorky byly uloženy do přístroje, kde byly automaticky dávkovány do kolony a separovány gradientovou elucí podle Smělá a kol., (2004) (kolona Zorbax Eclipse Plus C18 s rozměry 3 x 50 mm a velikostí částic 1,8 µm, Agilent USA; termostat kolon Agilent 1260 Infinity, UV/VIS DAD detektor Agilent 1200, Agilent technologies, USA; binární pumpa a autosampler LabAlliance, USA). Dansylderiváty byly detekovány spektrofotometricky UV zářením o vlnové délce 254 nm.

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

6 VÝSLEDKY

Při monitoringu biogenních aminů u 46 vzorků fermentovaných masných výrobků byl sledován obsah 8 biogenních aminů: tryptaminu (TR), fenyletylaminu (PHE), putrescinu (PU), kadaverinu (CA), histaminu (HI), tyraminu (TY), spermidinu (SD) a sperminu (SM). Biogenní aminy tryptamin a histamin nebyly v žádném zkoumaném vzorku zjištěny. Spermidin a spermin byly u 5 vzorků detekovány, avšak v zanedbatelném množství. Zpočátku byly jejich koncentrace nižší a ke konci měření byla jejich koncentrace téměř nulová. Tahle skutečnost vedla k odstranění jejich zmínky v tabulkách a grafech. Ve vzorcích (č. 2, 27, 28, 38, 39) se nacházelo jejich minimální množství. Ve všech 46 vzorcích fermentovaných masných výrobků byl detekován alespoň jeden biogenní amin. Nejvíce zastoupeným biogenním aminem byl tyramin, který pouze u 5 analyzovaných vzorků nebyl přítomen na počátku experimentu a pouze u jednoho vzorku jeho výskyt na konci měření zmizel. Jeho množství nebylo malé, koncentrace se pohybovala na konci měření od 16,8 do 435,3 mg/kg). Jako druhým nejčastějším biogenním aminem zjištěným ve 39 vzorcích byl kadaverin v množství od 1,6 do 196,2 mg/kg. Putrescin byl přítomen v množství 9,9 – 555,6 mg/kg.

6.1 Obsah biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích s průměrem nižším než 3 cm

Tahle skupina produktů zahrnovala 26 vzorků, přičemž bylo testováno 11 fermentovaných masných salámů a 25 fermentovaných masných klobás. Jednotlivé vzorky byly dále rozděleny na ochucené a neochucené výrobky. Mezi fermentované masné výrobky neochucené se zařadilo 10 vzorků a zbylých 16 vzorků bylo ochucených.

6.1.1 Neochucené fermentované masné výrobky

Testovalo se 10 vzorků neochucených masných výrobků. Celkový obsah biogenních aminů na počátku experimentu se v těchto výrobcích pohyboval v rozmezí 22,5 ± 1,9 mg/kg (vzorek č. 42) až 209,4 ± 7,3 mg/ kg (vzorek č. 30). Po uplynutí doby použitelnosti byl nejnižší obsah biogenních aminů detekován ve vzorku č. 42 (59,8 ± 6,7 mg/kg) a nejvyšší obsah u vzorku č. 30 (449,6 ± 2,0 mg/kg). Pouze u jednoho vzorku č. 47 nebyl na počátku experimentu detekován žádný biogenní amin. U vzorku č. 29 se po uplynutí doby použitelnosti obsah biogenních aminů zvýšil více než 8x, což je patrné z tabulky č. 6.

Tabulka č. 6 Celkový obsah biogenních aminů u neochucených fermentovaných masných výrobků s průměrem nižším než 3 cm

celkový obsah BA* (mg/kg)		
vzorek č.	**počátek**	**konec**
17	176,2±3,6	190,6±7,1
18	110,2±7,2	282±4,8
29	24,6±0,8	204,1±6,6
30	209,4±7,3	449,6±2,0
39	74,9±5,9	80,4±6,2
42	22,5±1,9	59,8±6,7
43	42,2±1,9	177,1±6,4
44	78,7±3,3	99,6±7,1
40	200,7±7,6	357,7±6,8
46	ND**	92,1±6,5

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

**ND – biogenní aminy nedetekovány

Spermidin a spermin byly detekovány u této skupiny výrobků jen u vzorku č. 39 a jejich množství bylo nízké a pohybovalo se v rozmezí 0,05 ± 0,01 až 0,21 ± 0,05 mg/kg, a to na začátku experimentu. Fenyletylamin nebyl zpočátku ani u jednoho vzorku detekován a na konci měření byla jeho nejvyšší hodnota u vzorku č. 43 (44,1 ± 2,4 mg/kg). Kadaverin u vzorku č. 17 nebyl nalezen ani v jednom případě a u zbylých vzorků se jeho množství na konci měření pohybovalo od 2,9 ± 0,2 mg/kg po 52,4 ± 0,8 mg/kg. Putrescin u třech vzorků (29, 39, 42) nebyl detekován a u vzorku č. 17 a č. 40 se jeho množství ke konci měření snížilo, jak je vidět v tabulce č. 7. Nejvíce zastoupeným biogenním aminem byl tyramin, jehož nejvyšší množství na konci měření činilo 255,5 ± 2,1 mg/kg.

Tabulka č. 7 Obsah jednotlivých BA v neochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem nižším než 3 cm (mg/kg).

	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec
Vzorek č.	Fenylethylamin		Kadaverin		Putrescin		Tyramin	
17	ND	15,7±1,6	ND	ND	133,2±0,9	35,4±3	43±2,7	139,5±2,5
18	ND	8,8±0,6	4,7±0	2,9±0,2	61,5±3,1	180,6±1,9	44±4,1	89,6±2,1
29	ND	36,7±1,1	24,6±0,8	33,2±0,1	ND	ND	ND	134,3±5,4
30	ND	38,3±1,7	ND	52,4±0,8	50,4±4,2	103,4±2,4	159±3,1	255,5±2,1
39	ND	20,1±3,7	21,3±2,3	32,1±1,7	ND	ND	53,6±3,4	28,2±0,6
40	ND	31,8±0,3	26±2,2	43,3±1,9	124,3±2,8	35,8±3,8	50,4±2,6	246,8±0,8
42	ND	14,6±1,2	ND	45,1±5,5	ND	ND	22,5±1,9	ND
43	ND	44,1±2,4	23,6±1,2	27±1,6	ND	41,9±0,6	18,6±0,7	64,1±1,8
44	ND	21,1±0,9	ND	20,2±2,3	29,9±0,8	32,4±0,7	48,8±2,5	25,8±3,2
46	ND	30,2±2,5	ND	24,3±2,1	ND	ND	ND	37,6±1,8

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

**ND – biogenní aminy nedetekovány

6.1.2 Ochucené fermentované masné výrobky

Skupina ochucených fermentovaných masných výrobků byla zastoupena 16 vzorky, a z toho se zkoumalo 11 fermentovaných masných salámů a 15 fermentovaných masných klobás. Celkový obsah biogenních aminů se ve zkoumaných výrobcích na počátku experimentu pohyboval od 48,7 ± 5,0 mg/kg až do 569,1 ± 8,5mg/kg. Po uplynutí doby použitelnosti se obsah biogenních aminů zvýšil od 74,9 ± 5,4 mg/kg až na hodnoty 792,9 ±2,4 mg/kg, což je zmíněno v tabulce č. 8. Celkový obsah biogenních aminů v ochucených fermentovaných masných výrobcích byl až o 343,3 mg/kg vyšší než u neochucených fermentovaných výrobků daného průměru.

Tabulka č. 8 Celkový obsah BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem nižším než 3 cm

celkový obsah BA* (mg/kg)		
vzorek č.	počátek	konec
21	125,2±6,8	224,7±7,1
22	53,5±2,8	168,2±4,3
23	164,9±2,1	225,6±1,7
24	84,1±2,5	210,8±4,8
25	307,5±6,9	409,9±8,6
26	ND	79,7±5,8
27	352,4±7,3	509,4±4,3
28	90,3±6,0	360,7±4,3
31	ND	792,9 ±2,4
32	48,7±5,0	373,8±6,4
33	177,2±3,5	312,9±7,9
34	183,5±3,9	336,9±4,3
35	137,2±4,2	323,8±5,3
36	100,2±1,6	309,4±7,9
37	569,1±8,5	753,2±8,2
38	170,2±4,1	74,9±5,4

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

**ND – biogenní aminy nedetekovány

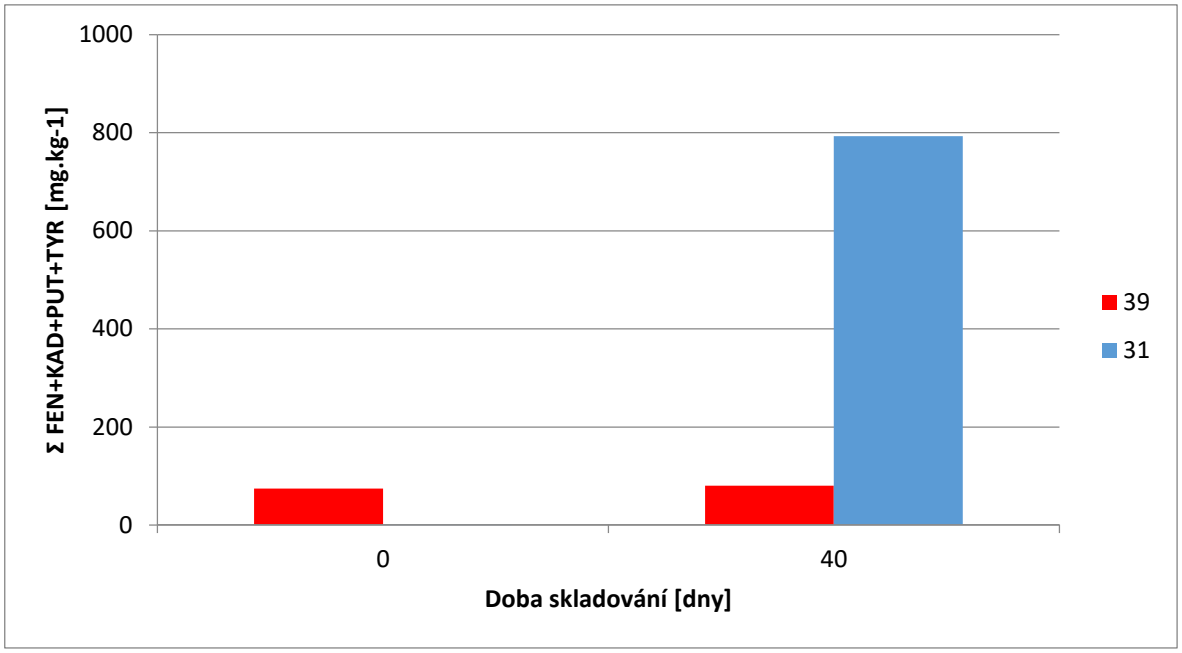
Tabulka č. 9 Obsah jednotlivých BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem nižším než 3 cm (mg/kg)

	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec
Vzorek č.	Fenylethylamin		Kadaverin		Putrescin		Tyramin	
21	5,6±0,6	ND	ND	23,5±3	40,6±1,8	83,8±1,4	79±4,4	117,4±2,7
22	17,8±1,5	52,5±1,1	ND	ND	ND	ND	35,7±1,3	115,7±3,2
23	ND	1,7±0,3	ND	ND	ND	ND	164,9±2,1	223,9±1,4
24	ND	ND	ND	20±1,8	ND	98±3,4	84,1±2,5	92,8±0,6
25	16,5±2,1	18,1±4,0	75,2±0,3	82,9±1,9	104,5±1,2	227,6±2,1	111,2±3,3	81,3±0,6
26	ND	8,5±1,7	ND	20,4±1,4	ND	24,1±2	ND	26,7±0,7
27	ND	ND	59,7±2,7	110,7±1,7	98,2±2,5	152,1±1,5	194,4±2,1	246,5±2,1
28	ND	ND	46,8±2,5	77,8±3,9	43,5±3,5	53,9±3	ND	229±0,6
31	ND	66,2±2,5	ND	98,7±1,4	ND	192,7±1,0	ND	435,3±2,5
32	ND	25,2±1,7	23,4±1,5	57,7±1,4	ND	56,3±1,5	25,3±1,5	234,5±1,8
33	ND	44,9±1,8	34,3±2,2	43,1±1,6	ND	47,2±3,4	142,9±1,3	177,8±1,1
34	27,5±2,2	35,7±0,1	ND	35,6±1,5	ND	61,3±1,2	156±1,7	204,3±1,5
35	31,2±1,4	56,5±2,2	ND	24±1,7	ND	34,8±0,4	106±2,6	208,3±1
36	ND	60,3±1,4	ND	17,8±1,1	ND	44,2±3,5	100,2±1,6	187,1±1,9
37	ND	20,7±2,8	165,9±2,1	196,2±2,9	204,5±3,5	232,8±0,8	198,7±2,6	303,5±1,7
38	ND	42,7±1,7	68,9±1,3	106,7±1,4	ND	ND	101,3±3,8	186,8±2,3

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

**ND – biogenní aminy nedetekovány

Fenyletylamin nebyl u vzorků č. 24, 27, 28 detekován v žádném úseku experimentu a patřil k nejméně zastoupeným biogenním aminům u této skupiny. Kadaverin a putrescin se nenacházely u vzorků č. 22 a 23 a ještě u vzorku č. 38 nebyl putrescin detekován. Biogenní amin putrescin se u 11 vzorků na počátku měření vůbec nevyskytoval a na konci skladování jeho nejvyšší množství bylo 232,8 ± 0,8 mg/kg. I u téhle skupiny fermentovaných masných výrobků byl v nejvyšších koncentracích zjištěn tyramin (tabulka č. 9). Jeho obsah se na konci skladování pohyboval v rozmezí 26,7 ± 0,7 mg/kg až po 435,3 ± 2,5 mg/kg (vzorek č. 31). Spermidin a spermin byly detekovány pouze u vzorků tří vzorků (č. 27, 28, 38), přičemž nejvyšší množství bylo 0,6 ± 0,5 mg/kg. Z grafu na obrázku č. 5 lze vidět nejvyšší a nejmenší rozdíl od začátku měření až po konec skladování nárůstu biogenních aminů ve vzorcích č. 31 a 39.



Obrázek č. 5 Nárust BA během skladování u vzorku č. 31 a 39

6.2 Obsah biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobků s průměrem vyšším než 3 cm

6.2.1 Neochucené fermentované masné výrobky

Skupina neochucených fermentovaných masných výrobků byla zastoupena 15 vzorky, z toho 12 vzorků reprezentovaly fermentované masné salámy a 3 vzorky byly fermentované masné klobásy. Celkový obsah biogenních aminů byl nejnižší na počátku u vzorku č. 2 (13,0 ± 1,7 mg/kg) a nejvyšší u vzorku č. 10 (372,0 ± 5,1 mg/kg). Na konci skladování se celková suma biogenních aminů pohybovala v rozmezí 51,2 ± 4,5 mg/kg (vzorek č. 2) až po 961,1 ± 7,0 mg/kg (vzorek č. 10). Ve zmíněném vzorku č. 10 bylo detekováno po celou dobu nejvíce biogenních aminů. U všech vzorků byly zjištěny biogenní aminy fenyletylamin, kadaverin, putrescin a tyramin. V tabulce č. 10 je zobrazen souhrn celkového obsahu všech detekovaných biogenních aminů.

Tabulka č. 10 Celkový obsah BA v neochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem vyšším než 3 cm

celkový obsah BA* (mg/kg)		
vzorek č.	počátek	konec
1	94,2±1,7	153,6±6,0
2	13,0±1,7	51,2±4,5
3	63,4±3,0	139,5±5,1
4	56,3±4,0	191,0±7,3
5	54,2±6,3	88,2±6,9
6	43,2±3,8	121,6±7,3
7	157,7±3,0	277,6±5,1
8	232,3±2,0	502,4±8,8
9	242,2±6,5	291,2±4,8
10	372,0±5,1	961,1±7,0
11	151,7±3,3	340,9±4,0
12	147,9±1,0	435,6±3,2
19	25,4±2,4	286,8±3,2
20	62,0±2,9	75,3±2,9
45	21,4±1,8	68,9±6,4

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

Tabulka č. 11 Obsah jednotlivých BA v neochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem vyšším než 3 cm (mg/kg)

	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec
Vzorek č.	Fenylethylamin		Kadaverin		Putrescin		Tyramin	
1	ND	ND	ND	26,2±2,1	ND	32,3±2,7	94,2±7,7	95,1±7,2
2	ND	27,2±2	ND	7,2±1,1	ND	ND	13±1,7	16,8±1,4
3	ND	11,5±1,5	ND	16±2,1	9,9±1,7	36±4	53,5±6,3	75,9±6,1
4	ND	10,1±2,1	19±1,4	7,2±0,2	ND	125,1±6,8	37,3±2,6	48,6±9,2
5	4,6±0,6	6,8±0,6	7±1,3	12,6±1,1	18,6±1,5	26±3,6	24±2,9	42,8±4,6
6	ND	15,4±1,7	ND	9,1±1,9	22,4±1,6	60,3±4,5	20,8±2,2	36,8±2,1
7	3,5±0,2	20,5±3,2	ND	ND	ND	ND	154,2±11,8	257,1±11,9
8	3,8±0,4	17,8±2,4	ND	33,4±3,6	ND	76,3±6,7	228,5±16	375±16,7
9	17,1±1,3	26,1±1,1	7,2±1,7	22,2±0,5	23,1±2,3	22,9±0,9	194,8±14,2	220,1±2,3
10	ND	2,4±0,5	19,2±2,5	50,9±3,9	204,4±11	555,6±24,7	148,5±7,5	352,1±32,9
11	ND	ND	ND	ND	77,2±1,6	174,7±8,6	74,6±4,7	166,2±7,4
12	ND	ND	ND	3,5±0,4	60,6±7	256,4±4,5	87,3±3	175,7±7,3
19	4,8±0,6	11,5±0,8	ND	1,6±0,6	ND	ND	20,6±1,8	273,7±15,8
20	8,6±1,2	10,3±1,1	ND	7,2±0,6	ND	ND	53,3±3,7	57,9±4,2
45	ND	24,1±2,9	ND	23,8±1,9	ND	ND	21,4±1,8	21,1±1,6

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

**ND – biogenní aminy nedetekovány

Z tabulky č. 11 je patrné, že u třech vzorků č. 1, 11, 12 nebyl vůbec detekován fenyletylamin a u 8 vzorků se nenacházel už od počátku měření. Jeho nejvyšší hodnota dosahovala na konci měření u vzorku č. 2 (27,2 ± 2,0 mg/kg). Nejvíce zastoupeným biogenním aminem byl opět tyramin, který se vyskytoval ve všech analyzovaných vzorcích. Nejvyšší hodnoty však dosáhl na konci skladování putrescin u vzorku č. 10 (555,6 ± 24,7 mg/kg). Spermidin a spermin byly zjištěny pouze u vzorku č. 2, kdy jejich množství bylo nejvyšší na začátku měření (0,9 ± 0,4 mg/kg).

6.2.2 Ochucené fermentované masné výrobky

Do testování téhle skupiny bylo zařazeno pouze 5 vzorků. Všechny vzorky zahrnovaly pouze fermentované masné salámy typu paprikáš a uherák. Na začátku experimentu se celkové množství biogenních aminů pohybovalo od 32,9 ± 1,6 mg/kg (vzorek č. 41) až po 210,0 ± 2,3 mg/kg (vzorek č. 13). Na konci doby skladování se jejich obsah vždy zvýšil, a to od 69,4 ± 5,4 mg/kg (vzorek č. 41) až do hodnoty 353,9 ± 2,7 mg/kg (vzorek č. 15), jak lze vidět v tabulce č. 12. Z tabulky lze dále vyčíst, že celkový obsah biogenních aminů v ochucených fermentovaných masných výrobcích o průměru nad 3 cm je nižší než u neochucených.

Tabulka č. 12 Celkový obsah BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem vyšším než 3 cm

celkový obsah BA* (m/kg)		
vzorek č.	počátek	konec
13	210,0±2,3	276,9±4,4
14	126,0±0,5	224,9±3,4
15	117,5±5,5	353,9±2,7
16	63,8±4,0	96,0±8,6
41	32,9±1,6	69,4±5,4

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

Z tabulky č. 13 je patrné, že nejméně zastoupen ze všech biogenních aminů byl u této skupiny produktů fenyletylamin, přičemž u vzorků č. 13, 15, 16 se nenacházel v žádné fázi měření. Putrescin u většiny na konci doby skladování vymizel, ale u vzorku č. 15 se jeho hodnota rapidně zvýšila na 266,8 ± 1 mg/kg. Nejvíce detekovaným biogenním aminem byl tyramin, jehož množství se na konci experimentu pohybovalo od 20,3 ± 2,2 mg/kg až po 261,2 ± 5,8 mg/kg.

Tabulka č. 13 Obsah jednotlivých BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích s průměrem vyšším než 3 cm (mg/kg)

	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec	začátek	konec
Vzorek č.	Fenylethylamin		Kadaverin		Putrescin		Tyramin	
13	ND	ND	3,3±0,4	15,7±1,6	18,7±0,5	ND	188±6,4	261,2±5,8
14	ND	11,6±2,1	ND	ND	15,2±0,2	ND	110,8±0,3	213,3±16,3
15	ND	ND	ND	ND	17,3±3	266,8±1	100,2±2,5	87,1±1,7
16	ND	ND	ND	14,5±3,5	16,8±2,4	30,1±3,7	47,1±4,6	51,3±5,4
41	ND	19,2±2,1	ND	29,8±4,1	ND	ND	32,9±4,6	20,3±2,2

*Množství biogenních aminů vyjádřeno jako průměr ± směrodatná odchylka.

**ND – biogenní aminy nedetekovány

DISKUZE

V této práci byla sledována pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie změna koncentrace biogenních aminů u vzorků fermentovaných masných výrobků při chladírenském skladování. V obchodní síti jsou tyto výrobky zastoupeny nejčastěji fermentovanými masnými salámy typu herkules, paprikáš, poličan, uherský salám, lovecký salám a dále fermentovanými masnými klobásami.

V diplomové práci bylo analyzováno 46 vzorků fermentovaných masných výrobků pocházejících od 13 různých výrobců. Z celkového množství výrobků měly největší zastoupení fermentované masné salámy (31 vzorků) a zbylých 15 vzorků zahrnovalo fermentované masné klobásy. Všechny fermentované masné výrobky byly zakoupeny v obchodní síti v ČR, a to v supermarketech a hypermarketech a u všech 46 analyzovaných vzorků byly stanoveny biogenní aminy.

Produkce biogenních aminů byla prokázána již v minulosti u řady mikroorganismů používaných jako startovací kultury při výrobě fermentovaných potravin. V dnešní době je velkým trendem probiotické mikroorganizmy přidávat do fermentovaných masných výrobků. Ovšem u probiotických a startovacích kultur používaných při výrobě fermentovaných potravin je vznik biogenních aminů nežádoucí. Proto se právě tyto mikroorganizmy na produkci těchto látek testují, případně je nutné je prověřovat na obsah biogenních aminů ve finálních výrobcích (Sládková a spol., 2007).

Z výsledků bylo zpozorováno, že ve většině případů délka skladování ovlivňuje obsah biogenních aminů v analyzovaném vzorku a tuto skutečnost prezentuje řada autorů ve svých odborných pracích (Andic, 2010). K podobným výsledkům jsme dospěli rovněž, kdy u většiny výrobků byl na konci skladování zjištěn vyšší výskyt biogenních aminů.

Biogenní aminy mohou být ve vyšších koncentracích toxické. Nejvíce studií zmiňuje negativní účinky na lidský organizmus pro histamin a tyramin. Ve studiích je uváděno, že 40 – 100 mg/kg může vyvolat mírné otravy a za množství toxické je považována hodnota vyšší než 100 mg/kg (Önal, 2007). Histamin nebyl v žádném z analyzovaných vzorků detekován, stejně tak, jako ve studii Ayhan et al. 1999, kdy se v žádném fermentovaném salámu histamin neobjevil. Oproti tomu ve studii Aenoz et al. (2000) byla zmíněna přítomnost histaminu v některých vzorcích, a to v množství až 350 mg/kg.

Vyšší obsah biogenního aminu tyraminu byl zaznamenán u 28 vzorků. Vyšším obsahem se myslí množství nad 100 mg/kg, protože takové množství tyraminu někteří autoři pokládají za toxické (Komprda, 2010). U vzorku č. 31 byl obsah tyraminu až 435,3 ± 2,5 mg/kg. Parente et al. (2001) ve své studii stanovil v suchých salámech vyráběných v jižní Itálii obsah tyraminu vyšší než 500 mg/kg a ve studiích Hernandez-Jover et al. (1996, 1997); Roig-Sagués et al. (1999); Bover-Cid et al. (2000) bylo prokázáno množství tyraminu více než 600 mg/kg. Ve zmíněných studiích byl obsah tyraminu ve FMV vždy vyšší než u analyzovaného vzorku č. 31.

U vzorků č. 8, 27, 31, 37 byl celkový obsah biogenních aminů poměrně vysoký a zaznamenané hodnoty byly vyšší než 500 mg/kg a u vzorku č. 10 dokonce až 961,1 ± 7,0 mg/kg. Vzhledem ke skutečnosti, že někteří autoři uznávají za toxické hodnoty celkového množství biogenních aminů v potravinách do 100 mg/kg (Ancin-Azpilicueta, 2008) by vzorek č. 10 s obsahem 900 mg/kg BA mohl představovat zdravotní riziko pro spotřebitele.

Původ detekovaných biogenních aminů může pocházet ze starterových a nonstarterových mikroorganizmů. Například kadaverin může sloužit jako indikátor hygieny při výrobě (Stadnik, 2010). V tomhle experimentu byl kadaverin druhým nejméně vyskytovaným biogenním aminem. U 7 vzorků nebyl kadaverin v žádné fázi měření detekován a pouze u jednoho vzorku č. 37 jeho množství dosáhlo 196,2 ± 2,9 mg/kg. To může svědčit o tom, že k výrobě byla použita kvalitní surovina bez kontaminující mikroflóry nebo také o tom, že byly správně dodrženy technologické postupy výroby. Zatímco ve studiích Hernandez-Jover et al. (1996, 1997); Roig-Sagués et al. (1999); Bover-Cid et al. (2000) bylo nalezeno významné množství (nad 600mg/kg) kadaverinu ve španělských salámech Chorizo a Sasichon.

Biogenní amin putrescin se ve 13 analyzovaných vzorcích nenacházel a jeho nejvyšší hodnota vzrostla na 555,6 ± 4,7 mg/kg. Tohle množství bylo vyšší než ve studii Motel et al. (1999), kdy obsah putrescinu dosáhl maximálně 400 mg/kg u fermentovaných salámů s vysokým mikrobiálním počtem pseudomonád, grampozitivních koků a kvasinek.Ve fermentovaných masných výrobcích může být původ putrescinu způsobený rody mikroorganizmů náležících do čeledí *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae* a další jako bakterie mléčného kvašení (Suzzi, 2003). Spermin a spermidin byly detekovány pouze u 5 vzorků č. (2, 27, 28, 38, 39). Tyhle dva aminy jsou přirozenou složkou buněk a zpravidla nevznikají činností mikroorganizmů (Kalač, 2009).

Největší rozdíl obsahu celkových biogenních aminů během skladování byl zaznamenán u vzorku č. 31, kdy z nulové hodnoty se na konci skladování objevilo celkové množství BA 792,9 ± 2,4. Naopak nejmenší rozdíl se projevil u vzorku č. 39, kdy na počátku experimentu bylo jeho množství 74,9 ± 5,9 a po uplynutí doby použitelnosti se obsah zvýšil pouze o 5,5 mg/kg.

Je důležité dále zmínit, že průměr fermentovaných salámů ovlivňuje obsah biogenních aminů. Bover-Cid et al. (1999) tuto skutečnost popsal ve své studii. Průměr salámu totiž ovlivňuje podmínky pro růst mikroorganismů. Každý průměr odpovídá jednotlivým stupňům anaerobiózy, různým redoxním potenciálům, koncentracím chloridu sodného a hodnotám aktivity vody. Ve fermentovaných salámech s větším průměrem bývá nižší koncetrace soli a vyšší vodní aktivita. Lze tedy říci, že ve větších salámech je obecně vyšší obsah biogenních aminů než v salámech menších. Vyšší množství bylo ve studii nalezeno více uprostřed, než na okraji salámu. V této diplomové práci byl nejvyšší celkový obsah biogenních aminů detekován u vzorků č. 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 25, 27, 28, 30, 31, 37, 40 přičemž více než polovina byly fermentované salámy s větším průměrem a vzorek č. 10, kde byl detekován nejvyšší celkový obsah biogenních aminů byl také fermentovaný salám s větším průměrem. Výsledky námi analyzovaných vzorků odpovídají zmíněné studii.

Vzorky, u kterých byl detekován nejvyšší celkový obsah biogenních aminů pocházely od různých výrobců a lze říci, že vliv výrobce není rozhodující. Větší vliv na tvorbu BA má použité koření a průměr salámů. Vzorek č. 10 s nejvyšším počtem BA neobsahoval koření, oproti tomu u vzorků ochucených byl nižší počet celkových BA. V kořenící směsi je obsažena paprika, která obsahuje kapsaicin, který působí antimikrobiálně (Velíšek, 2002). Antimikrobiální působení může způsobit nižší obsah BA a fermentovaných salámů. Koření tedy může ovlivňovat tvorbu BA.

ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na monitoring výskytu osmi biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích zakoupených v běžné obchodní síti.

Biogenní aminy jsou biologicky aktivní látky pro lidský organizmus nepostradatelné. Ve vysokých koncentracích v organizmu mohou vyvolat nežádoucí až toxické účinky. BA produkují některé potravinářsky významné mikroorganizmy potřebné při výrobě fermentovaných potravin anebo způsobující jejich kažení.

Hlavním úkolem práce bylo pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie sledovat změny obsahu biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích během chladírenského skladování.

Zjištěné výsledky:

- Přítomnost biogenních aminů byla zjištěna u všech analyzovaných vzorků,
- Jejich vznik může být způsoben přítomnými mikroorganizmy, které mohou být součástí startérových a non-starterových kultur nebo kontaminující mikroflóry,
- Celkové množství biogenních aminů v analyzovaných vzorcích dosáhlo nejvyšší hodnoty 961,1 ± 7,0 mg/kg,
- Tryptamin a histamin nebyly detekovány v žádném testovaném výrobku,
- Tyramin byl detekován v nejvyšším množství 435,3 ± 2,5 mg/kg, putrescin 555,6 ± 2,7, kadaverin 196,2 ±2,9, fenyletylamin 66,2 ± 2,5 mg/kg, spermin a spermidin 0,9 ± 0,4 mg/kg,
- Obsah biogenních aminů na konci doby skladování může dosahovat hodnot, které mohou způsobit zdravotní komplikace.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Adams, R., M., Nout, R., J., M.: Fermentation and food safety. An Aspen publication, 2001, 291 s.

Ancín-Azpilicueta, C., González-Marco, A., Jiménez-Moreno, N. Current knowledge about the presence of amines in wine. Critical reviews in Food Science and Nutrition, 2008, vol. 48, no. 3, p. 257-275.

Andic, S., Genccelep, H., Tuncturk, Y., Köse. The effect of storage temperatures and packaging methods on properties of motal cheese. Journal of dairy Science, 2010, vol. 93 ,no. 3, p. 849-859.

Anonym 1 Fermentation.Canadian Food Inspection Agency [online]. [cit. 2018-04-19]. Dostupné z: http://www.inspection.gc.ca/food/meat-and-poultry-products/manual-ofprocedures/chapter-4/eng/1367622697439/1367622787568?chap=18.

Anonym 2 Průvodce výrobou. Kmotr [online]. [cit. 2017-04-20]. Dostupné z: http://www.kmotr.cz/cs/pruvodce-vyrobou

Baláš, J., Mikroorganismy ve fermentovaných salámech a klobásách. Maso: Odborný časopis pro zpracování masa. 2015, 4-6s.

Bover-Cid, S., Holzapfel, H., W: Improved screening procedur for biogenic amine production by lactit acid bakteria. International Journal of Food Microbiology 53, 1999.

Burdychová, R., Komprda, T.Biogenic amine-forming microbial communities in cheese. FEMS Microbiology letters, 2007. Vol. 276, no. 2, p. 149-155.

DI CAGNO, R., LÓPEZ, C. Ch., TOFALO, R., GALLO, G., De ANGELIS, M., PAPARELLA, A., HAMMES, W. P., GOBETTI, M.: (2008) Comparison of the compositional, microbiological, biochemici and volatile profile characteristics of free Italian PDO fermented sausages; Meat Science, 79, 2008, s. 224 – 235.

Fanco, I., B. Prieto, J. M. Cruz, M. López, and J. Caraballo. 2002. Study of the biochemical changes during the processing of androlla, a Spanish dry-cured pork sausage. Food Chem. 78:339–345.

Feiner, G., Meet product handbook Practical science end technology, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, USA 2008, ISBN-13: 978-1-84569-172-1 (e-book).

Franz, Ch., M., A., P., Stiles, M., E., Schleifer, K., H., Holzapfel, W., H.: Enterococci in foods a conundrum for food safety. International of Food Microbiology 88, 2003, 105-122.

Gephardt, P.,: Methods for general and molecular bacteriology. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. 1994.

Görner, F., Valík, L.:Aplikovaná mikrobiológia poživatin. 1. Vyd. Malé centrum Bratislava, 2004. 528 s.

Halász, A., Baráth, Á., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. Biogenic aminesand their production by microorganisms in food. Trends in Food Science and Technology,5, 42-49. 1994.

Heinz, G., Hautzinger, P., Meat Processing Technology for small to Medium Scale producers. FAO, 2009.

Honikel, K. O., Vom Fleisch zum Produkt, Reifen-Erhitzen-Zerkleinem-Salzen, Fleischwirtschaft, 84, č. 5, s. 228-234. 2004.

Ingr, I., Produkce a zpracování masa, Vyd. 1. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno. 2003.

Ingr, I., Technologie masa, Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně,1996. ISBN 80-7157-193-8.

Jira, W., : Chemische Vorgänge beim Pokeln und Rauchern, Fleischwirtschaft, 84, 2004, č. 5, s. 235-239, č. 6, s.107-111.

KALAČ, P., GLÓRIA, M. B. A. Biogenic amines in cheeses, wines. Beers and sauerkraut. Biological Aspects of Biogenic Amines, Polyamines and Conjugates. 267-309. 2009.

Kalač, P., Křížek, M. Biogenní aminy a polyaminy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví. Potravinářská revue, 2, 40-42. 2005.

Kameník, J., Hygiena a technologie masa Trvanlivé masné výrobky,vyd.1. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno 2012 ISBN 978-80-7305-608-7.

Kameník, J., Janštová, B., Saláková, A., Technologie a hygiena potravin živočišného původu. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno 199 s. ISBN 978-80-7305-722-0.2014.

Kameník, J., Řízení rizik při výrobě trvanlivých fermentovaných salámů. Maso, 2009, 6-10s.

Kameník, J., Trvanlivé masné výrobky FVHEVFU Brno, ISBN 978-80-7305-106-8,s248., 2011.

Karabín, M., Brányik, T., Kruliš, R., Dvořáková, M., Dostálek, P. Využití chemicky modifikovaných hořkých látek v pivovarství. Chemické listy, 103, 721-728. 2009.

Katina, J., Označování masných výrobků, vyd.1. Sdružení českých spotřebitelů, o.s. Praha 2010. ISBN 978-80-904633-0-1.

Keim, H., Franke, R., Fachwissen Fleischtechnologie, Deutcher Fachverlag, Frankfurt am Mein, 2007, 13. Vydání, 481 s.

Komprda, T. et al. Handbook of Dairy Foods Analysis. 2010. Chapter 41, Amines, p. 861-878. ISBN 978-1-42004631-1.

Komprda, T.: Biogenní aminy a polyaminy ve fermentovaných potravinách živočišného původu. Veterinářství č. 10, 2005. 646-649.

KOVÁŘOVÁ, Veronika. Startovací kultury pro výrobu trvanlivých salámů. Brno, 2006. Bakalářská práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Vedoucí práce Ing. Libor Kalhotka

Kravec, J., Výroba trvanlivých fermentovaných masných výrobků – rychle a bezpečně. Maso: Odborný časopis pro obor zpracování masa. 2015.

Marianski, S., Marianski, A.,The Art of Making Fermented Sausages. 2nd ed. Bookmagic LLC, 2009, 276s.

Novella-Rodríguez, S. et al. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. Journal of food science. 2003, 68, 750-755.

Obrázek. Lovecký salám. [online]. [2018-03-25]. Dostupné na: https://www.krahulik.cz/sortiment/trvanlive-fermentovane-uzeniny/lovecky-salam/

Obrazek, Prosciutto crudo. [online]. [2017-03-21]. Dostupné na: http://www.italianfood.cz/www-italianfood-cz/eshop/6-1-Sunky-Salamy-Syry/0/5/872-

ÖNAL, A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. Food Chemistry, 103, 1475-1486. 2007.

Pipek, P., Fermentované salámy a probiotika. Potravinářská revue, 2008, roč. 5, č.3, s. 13-16. ISSN 1801-9102.

Pipek, P., Základy technologie masa. 1. VVŠPV Vyškov, ISBN 80-7231-010-0. 1998.

Pipek,P., Technologie masa, vydání Praha, ISBN 80-708-0174-3, 1995.

Proestos, CH. et al. Determination of biogenic mines in wines by HPLC with precolumn dansylation and fluorimetric detection. Food Chemistry. 106. 2008, s. 1218-1224.

Roig-Sagués. A., x., Molina, A., P., Hernándes-Herrero, M.: Histamine and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. European Food Research and Technology 215, 2002, 96-100.

SANTOS, W. C. et al. Bioactive amines formation in milk Lactococcus in the presence or not of rennet and NaCl at 20 and 32 °C. Food chemistry. 2003, 81, 595-606.

ShalabY, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research International, 29, 675-69. 1996.

Silla Santos, M. H. Biogenic amines: their importance in food. International Journal of Food Microbiology, 29, 213-231. 1996.

Sládková, P., Komprda, T., Burdychová, R. Skríning startovacích a probiotických kultur určených pro výrobu fermentovaných masných výrobků na schopnosti tvorby biogenních aminů. Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelu v Brně, 2007. ISBN 978-80-7375-119-7.

Spano, G., Russso, 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. Biogenic amines in fermented foods. European Journal ofClinical Nutrition, 64, S95-S100. 2010.

Steinhauser, L., Hygiena a technologie masa, LAST 1995, Brno ISBN 80-900260-4-4.

Stiebing, A., Kritische Kontrollpunkte bei der Herstellung von Rohwurst, Fleisch, 48s. 1994.

Stratton, J., E., Hutkins, R., W., Taylor, S. L. Biogenic amines in Cheese and Other Fermented Foods: a review. J. Food Protect. 1991, č. 54, s. 460-470.

SUZZI, G., GARDINI, F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. International Journal of Food Microbiology, 88, 41-54. 2003.

Šilhánková, L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. Vyd. Academia Praha, 2008, 363 s.

Toldrá, F., Handbook of meat processing. Ames, lowa: Willey-Blackwell. 566s. ISBN978-0-8138-2182-5, 2010.

Tremlová B., Pospiech M., Kameník J., Náhrady živočišných bílkovin v masných výrobcích. 2015, 34-36 s.

TRIVEDI, K. et al. Tyramine Production by Enterococci from Various Food-stuffs: A Threat to the Consumers. Czech journal of food science. 27. 2009, p. 357-360.

Velíšek, J., Cejpek, K., Davídek, D., Míková, K., Pánek, J., Pokorný, J. Chemie potravin 3. 2. Vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 368 str. ISBN 80-86659-02-3.

Vignolo, Graciela; Fontana, Cecilia; Fadda, Silvina. Semidry and dry fermented sausages. In: Toldrá, Fidel. Handbook of Meat Processing. 1st ed. USA: Blackwell Publishing, 2010, 379-398.

Vyhláška ministerstva zemědělství 69/2016 Sb. Ve znění pozdějších předpisů.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

a_w	Vodní aktivita
BA	Biogenní aminy
BMK	Bakterie mléčného kvašení
CA	Kadaverin
CFU	Colony Forming Units
ČR	Česká republika
DAD	Detektor diodového pole
DSS	Dusitanová solící směs
FMV	Fermentované masné výrobky
HI	Histamin
$HClO_4$	Kyselina chloristá
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IMAO	Inhibitory monoaminooxidázy
K_2CO_3	Uhličitan draselný
NaCl	Chlorid sodný
$NaHCO_3$	Hydrogenuhličitan sodný
ND	Nebylo detekováno
pH	Potential of hydrogen
PHE	Fenyletylamin
PU	Putrescin
QDS	Quick-Dry-Slice
RVV	Relativní vlhkost vzduchu
SD	Spermidin
SM	Spermin

TFS	Trvanlivé fermentované salámy
TR	Tryptamin
TY	Tyramin
UV/VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Syrová šunka – Prosciutto crudo 14
Obrázek č. 2: Lovecký salám 15
Obrázek č. 3: Tvorba biogenních aminů z aminokyselin (Ancín Azpilicueta, 2008). 26
Obrázek č. 4: Vzorce některých biogenních aminů (Karabín, 2009). 27
Obrázek č. 5: Nárust BA během skladování u vzorku č. 31 a 39……47

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1 Mezní limity vodní aktivity a_w pro různé skupiny mikroorganismů (Keim, Franke, 2007). 13
Tabulka č. 2 Požadavky na vybrané trvanlivé fermentované masné výrobky 16
Tabulka 3: Přehled koření do tradičních českých TFS (Kameník, 2012). 21
Tabulka č. 4 Fyziologické funkce polyaminů a biogenních aminů (Shalaby, 1996) 29
Tabulka č. 5: Charakteristika analyzovaných vzorků. 37
Tabulka č. 5: Pokračování: charakteristika analyzovaných vzorků. 38
Tabulka č. 6 Celkový obsah biogenních aminů u neochucených fermentovaných masných výrobků 42
Tabulka č. 7 Obsah BA v neochucených fermentovaných masných výrobcích (mg/kg). 43
Tabulka č. 8 Celkový obsah BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích 44
Tabulka č. 9 Obsah BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích (mg/kg) 45
Tabulka č. 10 Celkový obsah BA v neochucených fermentovaných masných výrobcích 47
Tabulka č. 11 Obsah BA v neochucených fermentovaných masných výrobcích (mg/kg) 47
Tabulka č. 12 Celkový obsah BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích 48
Tabulka č. 13 Obsah BA v ochucených fermentovaných masných výrobcích (mg/kg) 49