

1. Úvod

Aminy vznikající v průběhu normálních metabolických procesů ve všech živých organizmech jsou zahrnuty pod všeobecný název „bioaktivní aminy“. Rozlišujeme dva druhy bioaktivních aminů:

- biogenní aminy (BA): vznikají v organizmech nespecifickými dekarboxylačními reakcemi
- polyaminy (PA): jsou v organismu tvořené biosyntézou *de novo*.

Mezi polyaminy zařazujeme putrescin, spermidin a spermin. Někteří autoři sem zařazují i agmatin.

PA plní důležitou roli v buněčném metabolismu živých organismů a při syntéze proteinů a nukleových kyselin. Jsou zapojeny do mimobuněčných struktur a některých signálních procesů. Adekvátní hladina PA v organismu je dosažena rovnováhou mezi jejich biosyntézou a degradací. Vyčerpání zásob PA má za následek útlum proliferace a migrace buněk. Nahromadění PA má za následek apoptózu a transformaci buněk.

Jenom část polyaminů je syntetizována *in situ*. Důležitým zdrojem polyaminů je **potrava** (BARDÓCZ, 1995). Biosyntéza PA *de novo* s věkem lidí klesá a tedy vzrůstá potřeba přijímat je potravou (LARQUÉ ET AL., 2007). Potřeba jednotlivých polyaminů z potravy pro zdravého člověka zatím není známa. Rozdíly mezi příjmem polyaminů v různých regionech závisí na stravovacích návycích.

Důležité bylo zjištění, že hladina polyaminů v organismu má vliv na průběh různých nemocí. Polyaminy jsou přednostně spotřebovávány rychle rostoucími tkáněmi, jakými jsou nádory nebo hojící se rány. Z toho vyplývá, že různé nemoci vyžadují rozdílný příjem polyaminů potravou. Na straně jedné u karcinogenních onemocnění je potřeba stanovit limit příjmu polyaminů v potravě (BACHRACH, 2004, THOMAS & THOMAS, 2003) a naopak zvýšený příjem PA může být velmi užitečný při hojení ran, růstu, dozrávání a regeneraci střevní sliznice (PEULEN & DANDRIFOSSE, 2004; DELOYERET ET AL., 2005). PA syntetizované *de novo* a přijímané z potravy se na těchto procesech podílejí stejnou měrou (BARDÓCZ, 1995).

Údaje o biologické využitelnosti potravních polyaminů jsou dosud jenom velmi kusé. Je důležité zjistit regionální rozdíly příjmu polyaminů, aby se zmapovaly příjem a korelace

mezi nemocemi. Informace o obsahu PA polyaminů v potravinách a nápojích se tak stávají důležité pro lékaře a dietní sestry, aby mohli vhodně ovlivňovat výživu pacientů s nádorovým onemocněním a také pacientů v pooperačních stavech.

2. Teoretická část

2.1. Charakteristika, metabolismus a biologické účinky polyaminů

2.1.1. Základní charakteristika

Polyaminy¹ (PA) jsou alifatické sloučeniny se dvěma a více aminoskupinami.. Jsou součástí všech prokaryotických i eukaryotických buněk. Mezi polyaminy jsou zařazeny sloučeniny putrescin, spermidin a spermin, které jsou syntetizovány endogenně z aminokyseliny ornithinu. Spermin – polyamin se čtyřmi aminoskupinami – byl prokázán pouze u eukaryotních organismů.

Někteří autoři řadí mezi polyaminy i agmatin, který je syntetizován v buňkách dekarboxylací L-argininu a původně byl identifikován jako neurotransmitter (MOINARD ET AL., 2005).

Je prokázáno, že lidský organismus využívá pro svoji potřebu polyaminy ze třech zdrojů:

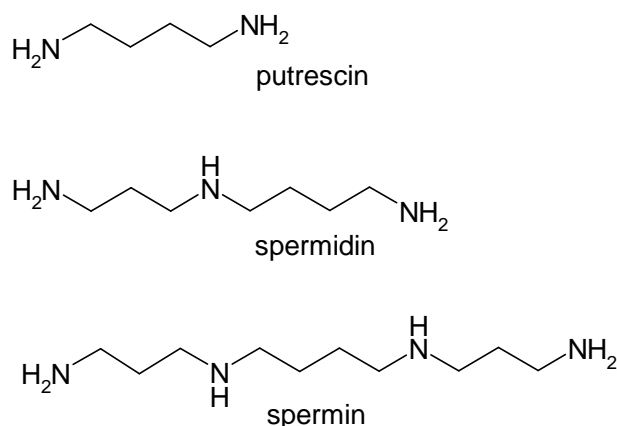
- syntetizované buňkami *in situ*,
- vytvářené mikroflórou trávicího traktu,
- z potravy.

2.1.2. Chemická struktura molekul polyaminů

Polyaminy jsou nízkomolekulární organické bazické sloučeniny s alifatickým řetězcem. Mezi přirozené PA se řadí putrescin (PUT; 1,4-diaminobutan), spermidin (SPD; *N*-(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutan) a spermin (SPM; *N,N'*-bis(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutan). Jsou to všudypřítomné esenciální složky rostlinných i živočišných buněk. Díky kladným nábojům aminoskupin rozloženým podél uhlíkového řetězce tvoří můstky se zápornými náboji na povrchu buňky a plní tak řadu fyziologických funkcí. Chemické vzorce PA jsou uvedeny na obr. 2.1.

Při fyziologickém pH tvoří protonové radikály, které jsou silně vázány na polyanionické molekuly jako jsou DNA a RNA. Ve vodě jsou dobře rozpustné. Jenom asi

¹První krystaly polyaminů byly extrahovány už v 17. století, trvalo však dalších 200 let, než zájem o tyto sloučeniny opět nabyl na významu. Začátkem 20. století bylo prokázáno, že se nacházejí ve všech tkáních živých organismů. Přesto, že v posledních desetiletích se výzkumu polyaminů věnuje zvýšená pozornost, zatím není možné říci, že jejich biologické role jsou plně známy.

Obr. 2.1. Vzorce polyaminů (v neionizované formě).

7-10 % polyaminů se v buňkách nachází volných (GUGLIUCCI 2004; MOINARD ET AL., 2005). V erythrocytech jsou polyaminy vázány na fosfolipidové membránové struktury. Avšak nejdůležitější místo jejich výskytu v buňkách je cytosol a jádro, kde se účastní transkripce DNA (FARRIOL ET AL., 1999; GUGLIUCCI, 2004; MOINARD ET AL., 2005). SHIN ET AL. (2006) imunoelektronovou mikroskopií prokázali, že PA jsou součástí aktivních ribozomů každé buňky a tedy jsou zahrnuty do translačních procesů biosyntézy proteinů. Předpokládá se, že funkce polyaminů závisí na jejich elektrickém náboji, který je nezbytný pro elektrostatické interakce s negativně nabitými sloučeninami (DNA, RNA, proteiny,...). Energie vazby klesá s počtem nábojů (spermin > spermidin > putrescin). Bylo prokázáno, že v různých biologických procesech je spermin nejaktivnější a nejméně aktivní je putrescin (YUAN ET AL., 2001).

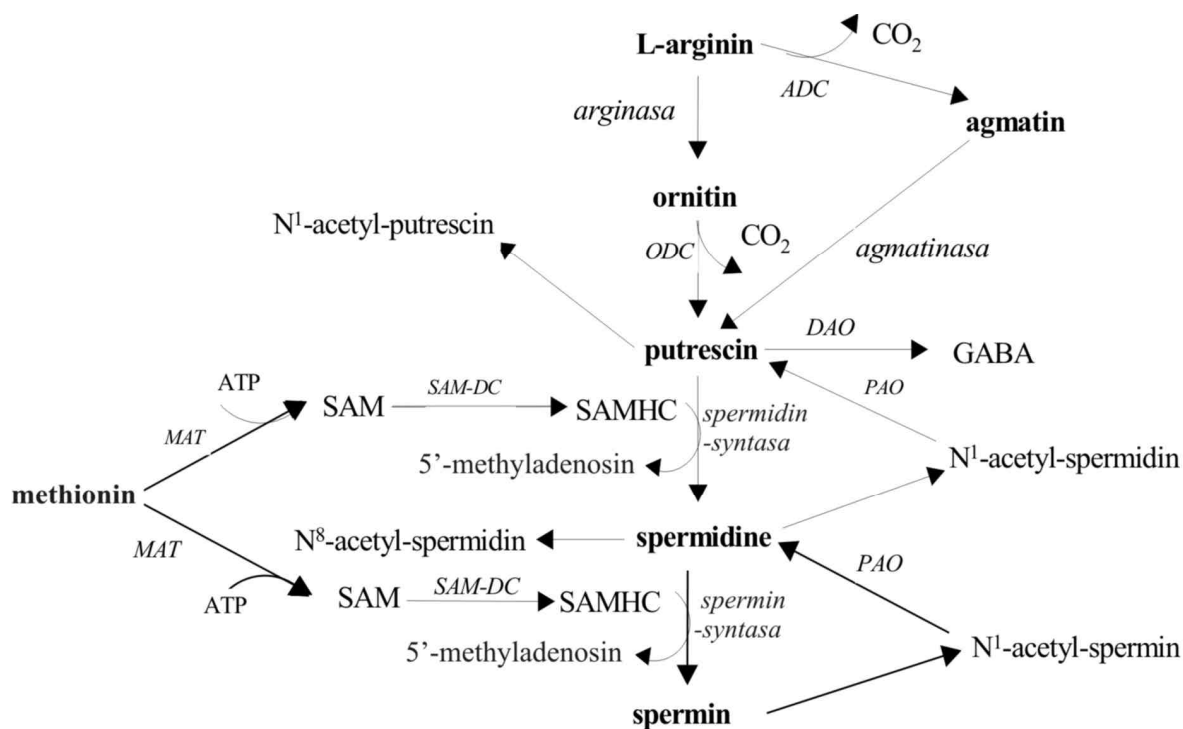
2.1.3. Zdroje polyaminů

Zdroje polyaminů mohou být *endogenní*, které zahrnují syntézu *de novo* a jejich vzájemnou konverzi, nebo *exogenní*, tj. syntéza střevní mikroflórou, která je schopná metabolizovat aminokyseliny z potravy (TETI ET AL., 2002).

a) *endogenní biosyntéza*

Obsah polyaminů v buňce je striktně regulován dvěma klíčovými enzymy ornitin-dekarboxylasou (ODC) (EC 4.1.1.17) a *S*-adenosylmethionindekarboxylasou (AdoMetDC) (EC 4.1.1.57). Polyaminy jsou endogenně syntetizovány z ornithinu. Dekarboxylací

Obr.2.2. Schéma endogenní biosyntézy polyaminů: ATP ... adenosintrifosfát, DAO ... diaminooxidasa, GABA ... kyselina γ -aminomáselná, MAT ... methioninadenosyltransferasa, ODC ... ornithindekarboxylasa, PAO ... polyaminoxidasa, SAM ... *S*-adenosylmethionin, SAM-DC ... *S*-adenosylmethioninedekarboxylasa, SAM-HC ... *S*-adenosylmethioninhomocystamin. (HILLARY & PEGG, 2003).



ornithinu vzniká putrescin. Methionin poskytuje aminopropylovou skupinu, která je potřebná na přeměnu putrescinu ve vyšší polyaminy – spermidin a spermin.

Methioninadenosyltransferasa (MAT) (EC 2.5.1.16) katalyzuje přeměnu methioninu na *S*-adenosylmethionin. Dekarboxylací *S*-adenosylmethioninu (SAM) enzymem spermidinsyntasou (EC 2.5.1.16) vzniká propylaminová skupina, které je adována na putrescin za vzniku spermidinu. Působením sperminsyntaxy (EC 2.5.1.16), která aduje druhou propylaminovou skupinu, je spermidin následně konvertován na spermin. Hlavními prekurzory PA v buňce jsou tedy aminokyseliny ornithin a methionin (HILLARY & PEGG, 2003). Schéma biosyntézy PA ukazuje obrázek 2.2. Vzájemná konverze polyaminů je umožněna dvěma propojenými reakcemi:

- (i) acetylací, umožněnou působením AcCoA: polyamin *N'*-acetyltransferasy (EC 2.3.1.9),
- (ii) štěpením, působením enzymu polyaminoxidasy (EC 1.5.3.11).

Acetylační reakce jsou hlavním mechanismem používaným buňkami ke kontrole vnitrobuněčných zásob volných aminů (LARQUÉ ET AL., 2007).

b) exogenní biosyntéza

Hlavními zdroji exogenních aminů jsou potrava a katabolické produkty buněk zažívacího traktu. Střevní bakterie rodů *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Morganella* a *Proteus* a čeledi *Enterobacteriaceae* jsou schopné dekarboxylovat aminokyseliny za vzniku příslušných biogenních aminů. Bakterie jsou schopné vytvářet putrescin nejen dekarboxylací ornithinu, ale i účinkem arginindekarboxylasy (ADC) (EC 4.1.1.19) přes agmatin. Z agmatinu vzniká putrescin účinkem ureohydrolasy (EC 3.5.1.5), enzymu, který se vyskytuje v savčích buňkách (HILLARY & PEGG, 2003).

2.1.4. Oxidace polyaminů (katabolismus)

V normálních zdravých buňkách je obsah PA složitě regulován jak biosyntetickými enzymy, tak i enzymy katabolickými (MITCHELL, 2003), které katalyzují postupné odbourávání SPM na PUT. Klíčovými enzymy jsou zde SPM/SPD *N*-acetyltransferasy a již uvedené polyaminoxidasy (PAO), popřípadě diaminoxidasy (DAO) (EC 1.4.3.10). Diaminoxidasy jsou specifické enzymy oxidující PUT a ostatní diaminy, ale také SPD. Polyaminoxidasy specificky oxidují SPM, SPD a další polyaminy (BAGNI & TASSONI, 2001). Schéma odbourávání PA oxidasami je uvedeno na obr. 2.3.

Hlavní způsob katabolismu polyaminů je oxidační deaminace enzymem diaminoxidasou, který je přítomen ve značném množství v hlenech střev, v játrech a ledvinách. Tento enzym působí nejen na volné polyaminy, ale také na jejich deriváty. Putrescin je metabolizován DAO na kyselinu γ -aminomáselnou (GABA).

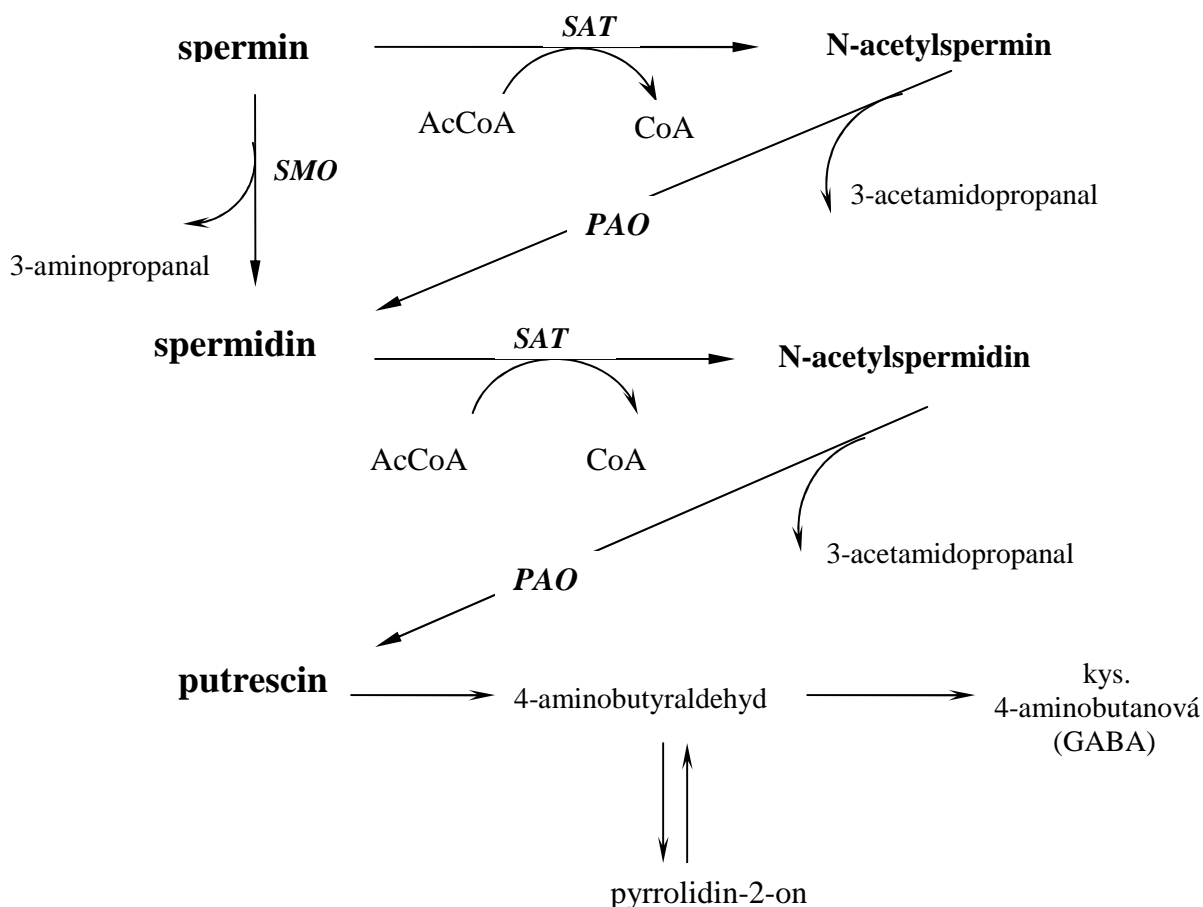
Další enzym, polyaminoxidasa, se také podílí na katabolismu polyaminů. Tento enzym preferuje volný spermin před jeho deriváty, v menším množství pak spermidin. V moči je možné detekovat mnoho metabolitů putrescinu, spermidinu a sperminu v jejich acetylované podobě, jakož i jejich oxidační produkty (SEILER, 2004).

2.1.5. Absorpce polyaminů stěvním stěnou

Do trávicího traktu se polyaminy dostávají hlavně z potravy. Hodnota denního příjmu polyaminů potravou ve Velké Británii se uvádí 350—500 mikromolů (BARDOCZ ET AL., 1995). NISHIBORI ET AL. (2005) v Japonsku uvádí 200 mikromolů na osobu a den.

Do střeva nepřicházejí polyaminy jen z potravy, ale jsou syntetizovány i střevní mikroflórou z odumřelých buněk střevního epitelu nebo se do střeva dostávají trávicími šťávami. Hlavním zdrojem polyaminů v tenkém střevě je potrava.

Obr. 2.3. Mechanismus oxidace polyaminů pomocí DAO a PAO (podle SEILERA & RAULA, 2005)



DAO ... diaminoxidasa; PAO ... polyaminoxidasa; SAT ... spermin/spermidin *N*-acetyltransferasa; SMO ... sperminoxidasa

Ve dvanáctníku (duodenum) a v první části lačníku (jejunum) jsou polyaminy mechanismem pasivní difúze rychle a úplně absorbovány a metabolizovány. Výzkum prokázal, že 60—80 % putrescinu přijatého potravou ubývá lineárně s časem a pouze asi

20 % bylo opět izolováno z krve. V krvi byl pozorován nárůst hladiny acetylovaného putrescinu a mírný, ale stálý nárůst sperminu a spermidinu. Absorbovaný lumenální PUT je metabolizován (v enterocytech, játrech, nebo v obou), ale jenom malá část těchto metabolitů se objeví v systémové cirkulaci (MILOVIC, 2001). Několik *in vitro* studií prokázalo, že polyaminy jsou absorbovány enterocyty saturačním mechanismem, který je závislý na čase a teplotě, ale není závislý na sodíkových kationtech Na^+ . Zdá se, že tento transport není specifický pro jednotlivé polyaminy, i když informace zatím nejsou dostatečné (MILOVIC, 2001).

BAUSKE ET AL. (2000) vyslovili zajímavou hypotézu, že putrescin po jeho konverzi na sukcinát se využívá jako zdroj energie pro orgány trávicího traktu. To by mohlo reprezentovat novou významnou funkci těchto sloučenin.

Polyaminy, které se dostanou do krevního oběhu, jsou absorbovány některými vnitřními orgány (střeva, brzlík, játra). V těchto orgánech je nejvyšší zásoba polyaminů, zatímco jejich koncentrace v krvi je nízká. Vzájemná proměna polyaminů v tkáních probíhá acetylačními reakcemi.

Buňky si mohou syntetizovat svoje vlastní polyaminy z ornithinu. Prekurzorem ornithinu, a tedy všech polyaminů, je L-arginin. Dekarboxylací L-argininu, působením enzymu arginindekarboxylasy (ADC, EC 4.1.1.19) může být syntetizován polyamin agmatin. Předpokládá se, že agmatin je hydrolyzován na putrescin agmatinasou (EC 3.5.3.11), což naznačuje další způsob syntézy polyaminů. Přesto, že tato cesta byla prokázána u bakterií, u savců není potvrzena (ROON ET AL., 1972; SIMON ET AL., 1982; TABOR ET AL., 1985; SATISHCHANDRAN ET AL., 1986; ARENA ET AL., 2001). U zdravých dospělých jedinců může být arginin syntetizován endogenně, ale u plodu, novorozenců a pacientů s intenzivním katabolismem proteinů způsobených sepsí nebo traumatem patří mezi esenciální aminokyseliny (BARBUL, 1986; KOLETZKO ET AL., 1998).

Polyaminy jsou metabolizovány na polyaminové a nepolyaminové produkty v různém poměru. U krys bylo na základě dřívějších studií zjištěno, že pouze 11—15 % z celkového množství PUT bylo zachováno jako PUT a 29—39 % ho bylo přeměněno na vyšší polyaminy (BARDOCZ, 1993; BARDOCZ ET AL., 1993). SPD a SPM, někdy označované jako „pravé polyaminy“, jsou zachovány a ukládány pro pozdější využití tkáněmi na rozdíl od PUT, který je metabolizován hlavně na nepolyaminové metabolity. Pokud se počítá i s tím, že tyto polyaminy vznikají z putrescinu, tělo má k dispozici k pozdějšímu využití 87—

96 % SPD a 79—82 % SPM z množství přijatého potravou. U krysa byl SPD ukládán především v kosterní svalovině, trávicím traktu (játra, střeva, pankreas) a v ledvinách.

2.1.6. *Biologické účinky polyaminů*

Polykationty přirozených PA mají dva až čtyři kladné náboje, jsou flexibilní a za fyziologického pH jsou schopné integrovat se se záporně nabitými strukturami na buněčném povrchu a mohou tak zajišťovat řadu specifických funkcí v buňce. PA jsou elektrostaticky navázané na methylenové skupiny v přesně definovaných vzdálenostech, čím tvoří silné a specifické interakce, které ovlivňují stabilitu subcelulárních struktur, stabilizují makromolekuly nukleových kyselin, regulují pevnost a stabilitu buněčných membrán. (MARTON & PEGG 1995, THOMAS & THOMAS 2001). Studiemi s pomocí elektronového mikroskopu bylo dokázáno, že PA jsou součástí biologicky aktivních ribozomů a podílejí se tedy na translačních procesech biosyntézy proteinů. Mohou proto sloužit i jako biomarkery těchto pochodů (SHIN ET AL., 2006; SHIN ET AL., 2007). Velké množství polyaminů však způsobuje apoptosu, tj. zánik buněk jejich rozdělením na jednotlivé částice. Apoptosa je způsobena pravděpodobně zvyšováním oxidačního stresu, při kterém se akumuluje peroxid vodíku vznikající v důsledku katabolizmu polyaminů (HOET & NEMERY, 2000).

Pro normální růst buněk je nevyhnutelné udržovat stálou hladinu obsahu polyaminů v buňce. Pokles obsahu polyaminů zapříčiní zastavení růstu a proliferace buňky, obvykle však nedochází k buněčné smrti (IGARASHI & KASHIWAGI, 2000).

PA jsou obvykle v buňce vázány na negativně nabitě struktury, takže ve volném – potenciálně reaktivním stavu – je pouze malá část (7—10 %) z celkového množství buněčného obsahu (GUGLIUCCI, 2005).

Nejdůležitější funkcí PA, která nemůže být nahrazena žádnými jinými pozitivně nabitými sloučeninami, je jejich zprostředkování účinků všech známých hormonů a růstových faktorů. Tato role je dělá nepostradatelnými pro lidský metabolismus (BARDÓCZ ET AL., 1990).

Vysoký obsah výskytu polyaminů v buňkách byl zjištěn u plodu, novorozenců a v době vývoje mladého organismu, zatímco u dospělých jedinců hladiny polyaminů postupně

klesají. V době gravidity a laktace matek syntéza polyaminů v mléčných žlázách postupně stoupá (RUSELL & McVICKER, 1972).

2.1.6.1. *Obnova buněk střevních stěn*

Důležitost polyaminů při udržování funkcí střeva byla dobře zdokumentována (GRIMBLE & GRIMBLE, 1998). Pokud dojde k poškození střev, sliznice střev je schopna opravit poškození dvěma mechanismy: navrácením povrchu sliznice do původního stavu migrací sousedních buněk, nebo dělením buněk. Při těchto procesech jsou nezbytné polyaminy. YUAN ET AL. (2000) ukázali, že procesy obnovy jsou závislé hlavně na obsahu sperminu a také, že exogenní PA mohou v tomto procesu nahradit endogenně syntetizované PA.

Po resekci střeva byl ve střevech zjištěn výrazný nárůst obsahu polyaminů. Blokací ODC difluoromethylornithinem (DFMO) byl proces obnovy enterocytů zpomalen nebo zcela zastaven a naopak blokací DAO se adaptivní procesy obnovy posílily (CZERNICHOW ET AL., 1997). DURANTON ET AL. (1998) dokázali, že příjem ornithin α -ketoglutarátu má vliv na obnovu sliznic pravděpodobně přes nárůst obsahu polyaminů. Množství přijatých polyaminů také působí na produkci střevních hlenů, zrání sliznice a ostatních orgánů trávicí soustavy. K tomu dochází hlavně v prvních týdnech vývoje savců po narození (RUSELL & McVICKER, 1972).

Aktivita enzymu ODC a příjem PA jsou kontrolovány vnitrobuněčnou koncentrací polyaminů. Všechny aminokyseliny kromě cysteinu silně indukují uvolňování střevní ODC (MOORE ET AL., 1983; MINAMI ET AL., 1985). Vyčerpání intracelulárních polyaminů v důsledku inhibice ODC nebo AdoMetDC vede ke zvýšení jejich využití z potravy. Transport a regulaci příjmu polyaminů v savcích buňkách shrnul SEILER ET AL. (1996). Polyaminy vázané na proteiny buněčných membrán mají vliv i na funkci membrán, pravděpodobně modifikací membránových proteinů (ELGAVISH ET AL., 1984)

2.1.6.2. *Rakovinové bujení*

Obsah a příjem polyaminů je v buňkách složitě regulován biosyntetickými a katabolickými enzymy. Rychle rostoucí buňky a nádorové buňky mají vysokou aktivitu ODC a AdoMet-dekarboxylasy. Protože polyaminy jsou nezbytné pro růst buněk, biosyntéza polyaminů se stala součástí výzkumu neoplastických novotvarů (nádorů).

Zvýšená produkce ODC je obvykle spojena se vznikem nádorů. Spontánní výskyt nádorů byl pozorován při 20—50 násobném zvýšení produkce ODC v průběhu dvou let (ALHONEN ET AL., 1995).

U nádorů prsů byla zjištěna pozitivní korelace mezi obsahem polyaminů a opakovaným výskytem. Bylo zjištěno několik pozitivních korelací mezi zvýšeným obsahem polyaminů a výskytem nádorů (WALLACE ET AL., 2003)

Tkáň zhoubného nádoru obsahuje rychle se dělící buňky a polyaminy urychlují její rozvoj. Polyaminy samy o sobě však nejsou přímými karcinogeny a ani nevyvolávají procesy karcinogeneze.

Koncentrace PUT, SPD a *N*-acetylsperminu v karcinomu tlustého střeva byla dvakrát vyšší než ve zdravé sliznici. Aktivita ODC byla také dvojnásobná (WEISS ET AL., 2002). Vyšší koncentrace polyaminů byly nalezeny ve středně diferencovaných nádorech než v nádorech nediferencovaných. Výsledky jsou důkazem toho, že obsah polyaminů závisí na stádiu zhoubného nádoru.

Výzkum se v současné době soustřeďuje na látky blokující činnost enzymů biosyntézy polyaminů a na sloučeniny podobné polyaminům svojí strukturou, u kterých se předpokládá chemoterapeutický efekt. Látkami s takovými účinky jsou zejména inhibitory enzymů ODC, AdoMetDC nebo SPD/SPM-synthasy (SEILER, 2003A), strukturální analogy a deriváty polyaminů (SEILER, 2003B). Strukturální analogy nahrazují přirozené polyaminy v buňce, ale nejsou schopny zajišťovat jejich funkce v buněčném metabolismu, což má za následek selhání buněčného metabolismu a smrt buňky. Rakovinné buňky mají vyšší požadavek na přirozené polyaminy a předpokládá se, že jsou citlivější vůči účinku strukturálních analogů polyaminů než buňky zdravé (THOMAS & THOMAS, 2003).

Zhoubné buňky jsou schopné ve zvýšené míře přijímat i polyaminy z extracelulárních zdrojů, z potravy a polyaminy syntetizované střevními bakteriemi, což tlumí efektivitu látek s chemoterapeutickými účinky. V 90. letech začal výzkum zaměřený na snížení obsahu polyaminů v organismu (QUEMENER ET AL., 1994). Kombinace omezení příjmu exogenních PA spolu s inhibicí syntézy polyaminů ve zhoubných buňkách se jeví jako slibná strategie v boji proti rakovině. Vztah mezi metabolismem PA v buňce a tvorbou a rozvojem zhoubných nádorů shrnuli např. TETI ET AL. (2002) a THOMAS & THOMAS (2003).

Biogenní aminy a polyaminy mohou být nitrosovány nebo fungovat jako prekursory sloučenin, z nichž mohou vznikat karcinogenní *N*-nitrosaminy (SHALABY, 1996). Za karcinogenní jsou považovány nitrosaminy vznikající z aminů obsahujících sekundární aminoskupinu jakými jsou spermidin, spermin a agmatin.

2.1.6.3. *Další vlivy*

U starších lidí je důležité udržovat optimální hladinu polyaminů ve vnitřních orgánech. Je nezbytné přijímat dostatek polyaminů potravou, protože aktivita klíčového enzymu ODC se s věkem snižuje.

Nedostatečný příjem polyaminů může vést ke vzniku alergií. Mezi hlavní faktory patří vedle genetických dispozic i zvýšená propustnost střevní sliznice pro makromolekuly a nedostatečný vývoj imunitního systému střeva. Polyaminy jako faktory hrající roli ve vyzrání střevní sliznice a rozvoji střevního imunitního systému kojenců, mohou hrát významnou úlohu v prevenci vzniku alergií. Pravděpodobnost rozvinutí alergie dosahuje 80%, jestliže průměrný obsah SPM v mateřském mléce je nižší 2 nmol/l a je téměř nulová, jestliže jeho koncentrace převyšuje 13 nmol/l (DELOYER ET AL., 2001). BARDÓCZ (1995) na základě shrnutí dřívějších poznatků vyvozuje, že kojene děti přijímají v mateřském mléce denně podstatně větší koncentrace PA než děti nekojené. Mateřské mléko by mohlo mít význam v prevenci vzniku alergií právě díky vyššímu obsahu PA. Také předpokládá jejich roli ve vylučování volných radikálů.

Polyaminy se zúčastňují dělení imunitních buněk a regulace protizánětlivé odpovědi. Nedostatek příjmu polyaminů může způsobit vznik potravní alergie. Polyaminy urychlují změny v hladině imunoglobulinů (DANDRIFOSSE ET AL. 2000). U kojenných potkanů perorální příjem spermidinu a sperminu vyvolal brzké dozrávání trávicího traktu a změny v hladině imunoglobulinu A.

Během místního zánětu, způsobujícího poškození nebo smrt buněk, vyvolá přísun sperminu migraci a růst buněk. V těchto situacích má spermin negativní vliv na aktivitu makrofágů prostřednictvím interakcí NO a polyaminů (MOINARD ET AL., 2005). Polyaminy mohou mít inhibiční efekt na plicní imunitní odpověď a také na imunoalergické odpovědi trávicího traktu (MOINARD ET AL., 2005 HOET & NEMERY, 2000).

Polyaminy se používají i v některých kosmetických přípravcích k podpoře růstu vlasů a ochraně pokožky proti škodlivému UV záření. DAS & MISRA (2004) poukázali na

schopnost polyaminů při vyšších koncentracích zhaset *in vitro* hydroxylové radikály •OH. SPD a SPM při vysokých koncentracích jsou navíc schopné částečně zhaset i singletový kyslík. Volné radikály způsobují buňkám oxidační stres a poškozují membránové lipidy a proteiny a v buněčném jádru nukleové kyseliny. Nejsilnější ochranné účinky na membrány má spermin a nejslabší putrescin (DAS & MISRA 2004; BELLÉ ET AL., 2004, RIDER ET AL., 2007).

Zvýšené množství polyaminů, hlavně putrescinu, v jaterních buňkách urychluje jejich regeneraci (DAYOUB ET AL., 2006). Polyaminy jsou důležité také v ochraně proti akutním poškozením jater hepatotoxiny.

Objevily se i studie, které poukazují na to, že pacienti trpící Alzheimerovou chorobou mají hladiny polyaminů a jejich acetylderivátů podstatně vyšší nebo nižší v porovnání s normálními průměrnými hodnotami (PAIK ET AL., 2006). Předpokládá se negativní vliv polyaminů na receptory postsynaptické membrány neuronů při této nemoci (HYND ET AL., 2004).

FIORI & TURECKI (2008) poukázali, že při mentálních poruchách je změněna aktivita polyaminových enzymů stejně jako hladina polyaminů. Změny byly potvrzeny u schizofrenie, depresí, úzkostných stavů a také při sebevražedných sklonech.

Zajímavou oblastí výzkumu je použití polyaminů pro transfekci DNA v neviróvé genové terapii. Výhodou je nižší toxicita než u virového vektoru, nízká imunogenicita, kontrolovatelná syntéza a definovatelná struktura molekul (BLAGHROUGH ET AL., 2003).

Glykace má za následek různé diabetické komplikace. Studie GUGLIUCCIHO & MENINIHO (2003) ukázala, že spermidin a spermin mají při fyziologické koncentraci významné antiglykační účinky.

2.2. Obsah polyaminů v potravinách

Potrava poskytuje lidskému organismu každodenní přísun polyaminů. Obsah polyaminů v různých potravinách kolísá v širokých mezích – od několika nanomolů až po mikromoly na gram potraviny. Polyaminy se nacházejí v potravinách živočišného i rostlinného původu.

Souhrnný příjem všech druhů polyaminů v potravě je v rozdílný v různých zemích světa a závisí na tradici stravování. Např. BARDÓCZ ET AL. (1995) uvádí pro typickou stravu ve Velké Británii příjem polyaminů potravou v rozmezí 350-500 $\mu\text{mol}/\text{den}/\text{os}$. Průměrný příjem polyaminů v šesti evropských zemích uvádí RALPH ET AL. (1999) 310-390 $\mu\text{mol}/\text{den}/\text{os}$. Strava severovýchodních zemí Evropy obsahuje hodně masa, zatímco v zemích kolem středozemního moře převládá dieta bohatá na ovoce a zeleninu. I když příjem obsahu polyaminů dietou v rámci Evropy je přibližně stejný, rozdílný je poměr jednotlivých přijímaných polyaminů. Zatímco v severovýchodních zemích převládá příjem SPM z masa, mléčných produktů a brambor, pro jižní země je charakteristický až dvojnásobný příjem putrescinu a spermidinu v porovnání se severem Evropy.

Ve Spojených státech ZOUMAS-MORSE ET AL. (2007) stanovili denní příjem polyaminů na hodnotu 230-240 $\mu\text{mol}/\text{den}/\text{os}$, zatímco průměrný příjem v Japonsku byl stanoven na 200 $\mu\text{mol}/\text{den}/\text{os}$. (NISHIBORI ET AL., 2007). Tato hodnota je nižší než v evropských zemích a přisuzuje se zejména nižšímu příjmu PUT v sýrech v Japonsku. Dosud však nebyl stanoven doporučený denní příjem polyaminů.

Informace o obsahu polyaminů ve stravě a nápojích jsou důležité pro stanovení jejich denního příjmu. Hlavním zdrojem putrescinu v Evropě jsou ovoce, sýry, brambory a zelenina, zatímco v Japonsku jsou to hlavně zelenina, ovoce, obiloviny a koření (NISHIBORI ET AL., 2007).

Obsah polyaminů je vesměs vyšší v potravinách živočišného původu než v potravinách původu rostlinného. Nejvyšší obsah polyaminů se zjišťuje v mladých, rychle rostoucích tkáních a pletivech a ve tkáních a pletivech metabolicky aktivních (NISHIMURA ET AL., 2006).

2.2.1. Maso a vnitřnosti

Maso je hlavním zdrojem SPM. V tabulkách 2.1 až 2.3 jsou uvedeny literární údaje průměrného obsahu SPD, SPM popř. PUT ve vepřovém, hovězím a drůbežím masu, tak

jak je uvádí různí autoři. Všeobecně platí, že čerstvé maso obsahuje pouze málo PUT, obvykle na hranici detekce. Zvýšený obsah putrescinu se zjišťuje hlavně při nedodržení dostatečné hygieny, nebo v mletých masech, ve kterých snadno dojde k bakteriální kontaminaci (RUIZ-CAPILLAS ET AL., 2004). SPD a SPM jsou přirozené polyaminy, běžně se vyskytující v masu. Obsah SPD v masu je nízký.

2.2.1.1. Vepřové maso

Obsah SPD ve vepřovém masu nepřesahuje hodnotu 5 mg.kg^{-1} , což je na hranici detekce, obsah SPM je podstatně vyšší a pohybuje se do 30 mg.kg^{-1} , putrescin se v čerstvém masu nevyskytuje. KRAUSOVÁ ET AL. (2007) uvádí, že ve vepřové pečení skladované při různých způsobech balení při cca $3 \text{ }^\circ\text{C}$ nebyl PUT detekován ani po 21 dnech uskladnění. Stejně i v dlouhodobě skladované vepřové pečení při mrazírenských teplotách ($-18 \text{ }^\circ\text{C}$) byl obsah PUT pod mezi detekce.

Tab. 2.1 Průměrný obsah polyaminů v čerstvém a tepelně upraveném vepřovém masu a vnitřnostech.

| Vepřové maso | Země původu | Počet vzorků | Spermidin (mg.kg^{-1}) | Spermin (mg.kg^{-1}) | Literatura |
|-------------------------|-------------|--------------|-----------------------------------|---------------------------------|---|
| <i>Syrové</i> | | | | | |
| libové | Skotsko | 2 | 2,9–4,9 | 30,1–70,3 | BARDÓCZ ET AL. (1993) |
| | Japonsko | 2 | 4,6 | 28,3 | OKAMOTO ET AL. (1997) |
| | Španělsko | 12 | 3,0 | 33,5 | HERNÁNDEZ-JOVER ET AL.(1997) |
| kotlety | Norsko | 5 | 2,8 | 22,4 | ELIASSEN ET AL. (2002) |
| řízky | Rakousko | 27 | – | 11,0 | BAUER & PAULSEN (2001) |
| pečeně | Česká rep. | 15 | 1,1—6,6 | 26,1 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| kýta | Česká rep. | 15 | 1,3—5,3 | 28,4 | KRAUSOVÁ ET AL. . (2006) |
| <i>tepelně upravené</i> | | | | | |
| peč.kotlety | Česká rep. | 11 | 8,9 | 13,6 | KALAČ ET AL. (2005) |
| vař.uz. kotl. | Česká rep. | 11 | 3,3 | 15,9 | KALAČ ET AL. (2005) |
| peč.krkovice | Česká rep. | 9 | 6,1 | 26,3 | KALAČ ET AL. (2005) |
| pečeně | Španělsko | 2 | 2,3 | 58,9 | RUIZ-CAPILLAS & JIMÉNEZ-COLMENERO (2004b) |
| marin. pečeně | Španělsko | 2 | 2,2 | 34,0 | RUIZ-CAPILLAS & JIMÉNEZ-COLMENERO (2004b) |

2.2.1.2. Hovězí maso

Čerstvé hovězí maso obsahuje hlavně SPM v rozsahu 20—40 mg.kg⁻¹. Obsah SPD je podstatně nižší a pohybuje se pod 5 mg.kg⁻¹. Putrescin se v čerstvém masu nevyskytuje. Nárůst byl zaznamenán až mikrobiální kontaminací, a to obvykle mletého masa (RUIZ-CAPILLAS ET AL., 2004). Nárůst obsahu putrescinu byl zpomalen uskladněním masa při 4 °C. VINCI & ANTONELLI (2002) zjistili v hovězí kýtě postupný nárůst obsahu SPD a PUT v průběhu 36 dnů při 4 °C, zatímco obsah SPM postupně klesal. Experiment však začali s chlazeným masem až 15 dní po porážce.

Tab. 2.2 Průměrný obsah polyaminů v čerstvém a tepelně upraveném hovězím masu.

| Hovězí maso | Země původu | Počet vzorků | Spermidin (mg.kg ⁻¹) | Spermin (mg.kg ⁻¹) | Literatura |
|---------------|-------------------------|--------------|----------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Syrové | | | | | |
| svíčková | Japonsko | 6 | 1,5 | 30,0 | YANO ET AL. (1995) |
| | Norsko | 7 | 2,2 | 17,0 | ELIASSEN ET AL. (2002) |
| roštěnec | Česká rep | 63 | – | 21,7 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| kýta | Česká rep | 57 | – | 22,0 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| nespecifikov. | Skotsko | 3 | – | – | BARDÓCZ ET AL. (1993) |
| | Japonsko | 2 | 2,6 | 28,3 | OKAMOTO ET AL. (1997) |
| | Španělsko | 6 | 3,1 | 39,8 | HERNÁNDEZ-JOVER ET AL.(1997) |
| | Norsko | 5 | 5,5 | 27,3 | ELIASSEN ET AL. (2002) |
| | Rakousko | 19 | 2,0 | 8,0 | BAUER & PAULSEN (2001) |
| | Japonsko | ? | 2,8 | 29,1 | NISHIMURA ET AL. (2006) |
| | Japonsko | 5 | 2,3 | 31,1 | NISHIBORI ET AL. (2007) |
| | Francie | 10 | 2,5 | 28,4 | CIPOLLA ET AL. (2007) |
| | Korea | 3 | 2,7 | 30,7 | MIN ET AL. (2007) |
| | tepelně upravené | | | | |
| vařené libové | Skotsko | 3 | – | – | BARDÓCZ ET AL. (1993) |
| vařená kýta | Česká rep | 16 | 6,7 | 16,3 | KALAČ ET AL. (2005) |
| pečená kýta | Česká rep | 21 | 3,7 | 17,1 | KALAČ ET AL. (2005) |
| smažené | Norsko | 2 | 2,6; 5,7 | 26,1; 36,2 | ELIASSEN ET AL. (2002) |

2.2.1.3. Drůbež

Obsah sperminu v čerstvém syrovém kuřecím masu se podle informací z literatury (tab. 2.3) pohybuje v rozmezí 1,6 – 82 mg.kg⁻¹. Obsah spermidinu je podstatně vyšší než u vepřového nebo hovězího masa a pohybuje se v rozmezí 2,9—27,4 mg.kg⁻¹. Obsah putrescinu je v čerstvém masu zanedbatelný.

SILVA & GLÓRIA (2002) použily pro kuřecí maso jako index kvality poměr polyaminů SPD/SPM. Zjistily, že hodnota poměru těchto polyaminů roste s časem. Jeho hodnota < 0,5 charakterizuje vysoce kvalitní maso, zatímco pro maso zkažené vychází hodnota SPD/SPM > 0,7. Výhodou tohoto indexu je, že závisí pouze na úbytku PA, které jsou rozkládány bakteriemi, a nezávisí na druhu mikroorganismů. BALAMATSIA ET AL. (2006) sledovali senzorycké a chemické změny drůbežího masa skladovaného volně a v ochranné atmosféře při 4°C. Obsahy kadaverinu a putrescinu vzrůstaly lineárně s časem uskladnění v různých podmínkách.

Tab. 2.3 Průměrný obsah polyaminů v čerstvém a tepelně upraveném drůbežím masu.

| Kuřecí maso | Země původu | Počet vzorků | Putrescin (mg,kg⁻¹) | Spermidin (mg,kg⁻¹) | Spermin (mg,kg⁻¹) | Literatura |
|------------------------------|------------------------|-------------------------|---|---|---|--------------------------|
| <i>Syrové</i> | | | | | | |
| nespecifikov. | Skotsko | 2 | 2,9 | 9,3 | 59,2 | BARDÓCZ ET AL. (1993) |
| nespecifikov. | Japonsko | 2 | <0,4 | 2,9 | 62,6 | OKAMOTO ET AL. (1997) |
| prsa | Brazílie | 4 | <0,8 | 7,3 | 17,9 | SILVA AND GLÓRIA (2002) |
| stehna | Brazílie | 4 | <0,8 | 7,2 | 16,2 | SILVA AND GLÓRIA (2002) |
| prsa | Finsko | 3 | — | 9,8—14 | 75—82 | ROKKA ET AL. (2004) |
| prsa | Řecko | 6 | 53,2 | 10,6 | 55,0 | BALAMATSIA ET AL. (2006) |
| nespecifikov. | Japonsko | 1 | 1,5 | 6,7 | 69,1 | NISHIMURA ET AL. (2006) |
| nespecifikov. | Japonsko | 4 | 0,7 | 6,5 | 45,6 | NISHIBORI ET AL. (2007) |
| stehna | Francie | 10 | 1,1 | 13,4 | 1,6 | CIPOLLA ET AL. (2007) |
| křídla | Francie | 10 | 0,7 | 9,3 | 23,2 | CIPOLLA ET AL. (2007) |
| prsa | Brazílie | 30 | 1,0 | 27,4 | 38,7 | MOREIRA ET AL. (2008) |
| <i>tepelně upravené maso</i> | | | | | | |
| gril.nespecifikov | Norsko | 5 | 2,0 | 17,3 | 44,4 | ELIASSEN ET AL. (2002) |
| pečená prsa | Česká rep | 10 | <2,1–5,5 | 25,5 | 54,1 | KALAC ET AL. (2005) |
| smažená prsa | Řecko | 6 | 0,7 | 170 | 15,7 | PATSIAS ET AL. (2006) |
| pečená prsa | Brazílie | 3 | 0,18 | 8,02 | 7,42 | MOREIRA ET AL. (2008) |

2.2.1.4. Vnitřnosti

Informace o výskytu polyaminů jsou omezené. Čerstvé vnitřnosti obsahují minimální množství PUT, hodnota SPM je obvykle vyšší, než u svaloviny, a největší rozdíl je v hladině SPD, která je poměrně vysoká (KALAČ ET AL., 2005; KRAUSOVÁ ET AL., 2006). Poměr obsahu SPM:SPD je přibližně 4:1 ve vepřových játrech a ledvinách, ale asi 3:2 u vepřové sleziny (VILLANUEVA-VALERO ET AL. 2005). VILLANUEVA-VALERO ET AL., (2005) zjistili, že množství biogenních aminů ve vnitřních vepřových orgánech s časem skladování stoupá a že je závislé na bakteriích, které se tam vyskytují. Bakterie *Aeromonas* se vyskytovaly hlavně v orgánech s vysokým pH (ledviny, slezina), kde byly signifikantně početnější než v játrech. Obsah biogenních aminů, které se ve vnitřnostech postupně objevily, odpovídá hodnotám známým pro uloženou svalovinu. Tvorba putrescinu a kadaverinu byla silně závislá na aktivitě kontaminujících bakterií.

Tab. 2.3 Průměrný obsah polyaminů v čerstvých a tepelně upravených vnitřnostech.

| <i>Vnitřnosti</i> | Země původu | Počet vzorků | Spermidin (mg.kg ⁻¹) | Spermin (mg.kg ⁻¹) | Literatura |
|--------------------------------|----------------|-----------------|--|--|---------------------------------|
| <i>Syrové</i> | | | | | |
| vepř. ledviny | Rakousko | 1 | 18,6 | 72,2 | VILLANUEVA-VALERO ET AL. (2005) |
| vepř. slezina | Rakousko | 1 | 56 | 78 | VILLANUEVA-VALERO ET AL. (2005) |
| vepř. játra | Rakousko | 1 | 29 | 103 | VILLANUEVA-VALERO ET AL. (2005) |
| vepř. játra | Česká rep. | 14 | 23,3 | 94,5 | KRAUSOVÁ ET AL. (2007) |
| kuř. játra | Česká rep, | 38 | 53,7 | 117,0 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| hov. býčí játra | Česká rep. | | 121,5 | 43,1 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| ovčí játra | Česká rep. | 3 | 45,3 | 108,0 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| jehněčí játra | Česká rep. | 9 | 22,2 | 113,0 | KRAUSOVÁ ET AL. (2006) |
| <i>tepelně upravené</i> | | | | | |
| vepř.peč.játra | Česká rep. | 5 | 45,6 | 32,7 | KALAČ ET AL. (2005) |
| vepř.vař.játra | Česká rep. | 2 | 16,4 | 68,6 | KRAUSOVÁ ET AL. (2007) |

2.2.1.5. Tepelné úpravy

KRAUSOVÁ ET AL. (2007) publikovali výsledky tepelných úprav vepřového masa a jater. Mezi tepelné úpravy zahrnuli vaření, dušení a smažení. Při všech zvolených tepelných úpravách masa a vnitřností došlo k podstatnému poklesu obsahu polyaminů (na 70—50 %) z výchozích hodnot syrových vzorků. Největší ztráty představovalo pečení

čerstvého masa i masa skladovaného 6 dnů po porážce. Obsah polyaminů ve vývaru a vydušené šťávě byl pod mezí detekce. PAULSEN ET AL. (2006) uvádějí, že v průběhu tepelného opracování vepřové pečeně došlo k poklesu obsahu putrescinu asi na polovinu. HAGEN ET AL. (2005) nezjistili změnu obsahů polyaminů po tepelném opracování vepřového, hovězího, krůtího a rybího masa.

2.3. Ostatní potraviny

2.3.1. Ryby

BARDÓCZ ET AL. (1993) uvádějí poměrně vysoký obsah PUT v syrové tresce (28 mg.kg^{-1}), obsah SPD a SPM byl podstatně nižší než u hovězího, vepřového nebo drůbežího masa. ELIASSEN ET AL. (2002) uvádí v syrové tresce hladiny polyaminů na úrovni meze detekce, zatímco u solené tresky jsou hladiny PUT, SPD a SPM o něco vyšší (5 ; $2,5$; $3,8 \text{ mg.kg}^{-1}$). Stejně byly stanoveny hodnoty polyaminů u lososa, makrely, pstruha a tuňáka. VECIANA-NOGUES ET AL. (1997b) uvádějí značný pokles obsahu SPD a SPM během konzervačního procesu tuňáka, zatímco obsah PUT zůstal beze změny. Tatáž laboratoř (VECIANA-NOGUES ET AL., 2004) zjistila výrazné změny obsahů SPD a SPM ve vzorcích tuňáka inokulovaných kmeny bakterií *Morganella morganii* a *Klebsiella oxytoca*. Předpokládaná schopnost kmene *Morganella morganii* vytvářet PUT nebyla prokázána nezávisle na teplotě. Naopak ELIASSEN ET AL. (2002) a BARDÓCZ ET AL. (1993) uvádějí u konzervovaných ryb zvýšené obsahy polyaminů. BAIXAS-NOGUERAS ET AL. (2002) při skladování hejka ze Středozemního moře zaznamenali značný vzrůst obsahu PUT, který byl intenzivnější při $6\text{--}8 \text{ }^\circ\text{C}$ než při $0 \text{ }^\circ\text{C}$, a mírný pokles SPD a SPM. Podobné výsledky byly zjištěny při skladování kapřího masa při 3 nebo $15 \text{ }^\circ\text{C}$, kdy znatelně vzrostl obsah PUT, obsah SPD mírně poklesl, ale obsah SPM zůstal konstantní. Skladovatelnost mletého rybího masa se ukázala být o $2\text{--}3$ dny kratší než u celých kapřích půlek při $3 \text{ }^\circ\text{C}$ (KŘÍŽEK ET AL., 2002). MENDES ET AL. (1999) sledovali proces zrání částečně a úplně vykuchaných sardinek, čerstvých a zmražených. Počáteční obsah obou těchto polyaminů (asi 20 mg.kg^{-1}) se během zrání (240 dní) příliš nezměnil.

Vysoké obsahy polyaminů jsou publikovány u tresčích jiker (PUT, SPD a SPM 79 , 19 a 27 mg.kg^{-1}).

Nejvyšší obsahy putrescinu a kadaverinu jsou uváděny v rybích omáčkách, kde stanovené hodnoty dosahují až cca 1500 mg.kg^{-1} (STUTE ET AL., 2002).

MIETZ & KARMAS (1977) stanovili pro ryby a mořské plody tzv. **index čerstvosti CQI** (Chemical Quality Index) jako poměr obsahů PUT, kadaverinu (KAD) a histaminu (HI) (v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) k obsahům SPD a SPM, jehož hodnota <1 zaručuje vysokou kvalitu a hodnota >10 znamená pokročilý stupeň kažení. HERNÁNDEZ-JOVER ET AL. (1996) zahrnuly do čitatele *Mietzova-Karmasova* kritéria navíc tyramin (TY), neboť tento amin vzniká při kažení masa a navrhly **BAI** (Biogenic Amine Index). Jeho hodnota < 5 vychází pro čerstvé maso a hodnota > 50 pro maso zkažené.

2.3.2. Masné výrobky:

a) Nefermentované výrobky: obsah polyaminů v různých šunkách je srovnatelný s použitým vepřovým masem. Tzv. iberská šunka vyráběná tradičním způsobem v Španělsku nebo Portugalsku – zráním po dobu 18 měsíců - obsahovala hladiny PUT, SPD a SPM 41,8; 8,0 a $27,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny, zatímco použitím zkráceného procesu zrání se obsah polyaminů změnil na 1,9; 6,5 a $139 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny (CÓRDOBA ET AL., 1994). Vařená šunka obsahovala asi poloviční obsahy polyaminů v porovnání s čerstvou surovinou (HERNÁNDEZ-JOVER ET AL., 1996).

b) Fermentované výrobky: Při výrobě fermentovaných masných výrobků závisí obsah biogenních aminů také na druhu použité startovací kultury mléčných bakterií a na době zrání výrobku. Startovací kultury se používají ke zkrácení doby zrání a k optimalizaci senzorických vlastností produktu. BOVER-CID ET AL. (2001a) zjistili významné potlačení vzniku biogenních aminů při použití kultury *Lactobacillus sakei*. Použití cukrů (glukosa, laktosa, sacharosa) při výrobě tohoto typu výrobků může rovněž významně snížit vznik biogenních aminů (BOVER-CID ET AL., 2001b). Přídavek glukoso-delta-laktonu silně potlačil tvorbu PUT (MAIJALA ET AL., 1993). Šiřičitan sodný, používaný někdy jako konzervační látka při výrobě uzenin, v EU však nepovolený, potlačuje růst plísní, kvasinek a gramnegativních bakterií. BOVER-CID ET AL. (2001) nezjistili vztah mezi tvorbou PUT a přidaným množstvím této konzervační látky.

Uzeniny vyrobené z masa skladovaného 11 dní obsahovaly mnohem víc PUT než produkty vyrobené z masa skladovaného 8 dní (BOVER-CID ET AL., 2003). Pokud se při výrobě masných výrobků používá vysoce kvalitní maso a dodržují se přísné hygienické normy, vznik nežádoucích BA je silně potlačen. SMĚLÁ ET AL. (2003) sledovali změny v salámu „herkules“. Obsah PUT stoupal v průběhu zrání (16 týdnů) z nedetekovatelného množství na $601 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny, zatímco hladiny SPD a SPM s časem klesaly.

REA ET AL. (2005) sledovali změny BA a PA v průběhu 90-denního zrání a následného 30-denního uložení v italském salámu „lardellato“. Obsah PUT a SPD postupně vzrůstal z 11,1 a 4,5 mg.kg⁻¹ v nultém dnu až na 253 a 7,2 mg.kg⁻¹ po 120 dnech. Obsah SPM v prvních 40 dnech stoupal z 22,3 na 42,5 mg.kg⁻¹ a pak pozvolna až do 120. dne klesl na 34,4 mg.kg⁻¹. BARDÓCZ (1995) předpokládá, že pokles obsahu SPD a SPM skladováním je způsoben využitím dusíku fermentující mikroflórou. LATORRE-MORATALLA ET AL. (2006) masovou hmotu na přípravu tradičních španělských salámů „fuet“ a „chorizo“ podrobili silnému hydrostatickému tlaku a následně inokulovali různými druhy startovacích kultur. Zjistili, že na tradiční kultury používané na výrobu salámů tlak neměl žádný vliv a vyvodili, že použité startovací kultury jsou nejlepší ochranou před vznikem nežádoucích biogenních aminů.

2.3.3. *Mléko a mléčné výrobky*

Mateřské mléko je první potravinou novorozence. Polyaminy v mateřském mléce ovlivňují vyhrávaní střevní sliznice v prvních týdnech po porodu a podílejí se na prevenci vzniku alergií u dětí. Obsah polyaminů se během laktace mění. V prvních fázích je obsah PUT velmi nízký, zatímco SPD a SPM po třech dnech dosahuje 8–12 násobku výchozí hodnoty. Po čtyřech měsících laktace obsah PUT klesá, zatímco hladiny SPD a SPM zůstávají přibližně stejné (ROMAIN ET AL., 1992). U kojících matek existují rozdíly v obsahu PA v mateřském mléce. Tyto individuální rozdíly mohou být dány geneticky a ovlivňovány jsou stravou nebo životním stylem (DANDRIFOSSE ET AL., 2000).

Obsahy polyaminů a BA v kravském mléce jsou velmi nízké. MOTYL ET AL., (1995) sledovali několik faktorů ovlivňujících obsah SPD a SPM v kravském a prasečím mléce. Byly to hlavně vnitrodruhové a individuální vlastnosti zvířete, fáze laktace a věk zvířete. Nejvyšší hodnoty obou polyaminů byly zjištěny v prvních fázích laktace, zejména v mlezivu – kolostru a u mladších dojnic. U prasnic zjistili vztah mezi počtem selat a obsahem polyaminů v mléce matky. Intenzivnější sekrece mléka znamenala vyšší obsah SPD a SPM v mléce.

NOVELLA-RODRIGUEZ ET AL. (2003) na základě analýzy 100 vzorků různých druhů nezrajících a zrajících španělských sýrů zjistily rozdíly v obsahu BA nejen mezi druhy sýrů, ale také mezi jednotlivými vzorky stejného druhu sýra. U nezrajících sýrů byl obsah PUT velmi nízký (kolem 3 mg.kg⁻¹), zatímco u tvrdých zrajících sýrů vyrobených z nepasterizovaného mléka byl velmi variabilní (od nestanovitelných obsahů až do

670 mg.kg⁻¹). Obsah PUT se rovněž *klesal* od povrchu směrem ke středu sýra. V nezrajících sýrech bylo zjištěno pouze velmi malé množství SPM. NOVELLA-RODRIGUEZ ET AL. (2000) uvádějí v nezrajících sýrech stejné množství SPD i SPM, ve zrajících sýrech SPD převažoval.

Obsah polyaminů v jogurtech je velmi nízký, pohybuje se na mezi detekce (NOVELLA-RODRIGUEZ ET AL., 2000; ELIASSEN ET AL., 2002).

2.3.4. Potraviný rostlinného původu

Polyaminy se běžně vyskytují ve všech částech rostlinného organismu, kde plní řadu fyziologických funkcí od aktivace organogeneze po ochranu rostliny proti stresu. Úlohu polyaminů ve zvýšení životnosti skladovaného ovoce objasňují VALERO ET AL. (2002) a PERÉZ-VINCENTE ET AL. (2002). Polyaminy se v rostlinném materiálu vyskytují buď jako volné, nebo vázané ve formě konjugátů. PUT se nejčastěji váže s fenolovými kyselinami – kumarovou, kávovou nebo ferulovou. Diaminy a polyaminy vázané s kyselinou skořicovou byly nalezeny v řadě čeledí rostlin. Také poměr mezi volnými a vázanými polyaminy závisí na druhu rostliny (BAGNI & TASSONI, 2002). Fyziologický účinek konjugovaných PA není dosud zcela objasněn.

Běžné polyaminy v ovoci a zelenině jsou PUT a SPD, zatímco SPM se většinou vyskytuje v nízkých množstvích. Obsah PUT je vysoký (kolem 40 mg.kg⁻¹) u pomerančů, mandarinek, grapefruitů a džusů z nich. Ze zeleniny nejvíce PUT obsahují především fermentované výrobky jako je kysané zelí, dále kečup, sójové výrobky a také mražený zelený hrášek. Vysoký obsah SPD (často nad 30 mg.kg⁻¹) byl zjištěn zejména v luštěninách, především sóji, dále v kvěťáku a brokolici. Z ovoce je nejvíce SPD v hruškách. Tyto potraviny, hlavně luštěniny, obsahují zároveň vysoké množství SPM. Vysoké množství PA v sójových výrobcích uvádí např. YEN (1986) a OKAMOTO ET AL. (1997). STUTE ET AL. (2002) publikovali údaje o vysokém obsahu PUT v sójových omáčkách. Změny obsahu PA zjišťovali SIMON-SARKADI ET AL. (1994) v listové zelenině – čínském zelí, ledovém salátu a čekance během skladování při 5 °C. Po 5 dnech se 3-8 krát zvýšil obsah PUT, ale hladiny SPD a SPM zůstaly téměř beze změny.

Výrazné změny v obsahu polyaminů byly zjištěny během pražení zelených kávových bobů (CIRILO ET AL., 2003) a závisely na způsobu pražení. V pražené kávě nebyl na rozdíl od zelené kávy zjištěn PUT a SPM. Obsah SPD během pražení zřetelně klesl.

3. Cíle řešení

Polyaminy přijímané potravou mají vliv na zdraví člověka, a to v pozitivním i negativním smyslu. Proto informace o obsahu polyaminů v čerstvých, uskladněných i tepelně upravených potravinách jsou důležité pro práci lékařů i dietologů.

Z uvedeného přehledu literatury vyplývá, že v potravinách živočišného původu je obvykle vyšší obsah SPM než SPD, zatímco v potravinách rostlinného původu je tomu vesměs naopak. V čerstvém masu jsou přítomny hlavně tzv. „pravé“ polyaminy SPD a SPM. Putrescin se v čerstvém masu nevyskytuje, vzniká jako důsledek činnosti bakterií při nevhodném ošetření masa. Nejvyšší obsah PA byl zjištěn v živočišných tkáních mladého organismu a v metabolicky aktivních orgánech.

Literatura obsahuje jen velmi omezené informace o změnách obsahu PA vlivem různých způsobů uskladnění masa. Málo výsledků bylo dosud publikováno o změnách obsahu polyaminů vlivem různých tepelných úprav masa a zejména vnitřností.

Tyto oblasti patří k nejméně objasněným, přestože jde o základní potraviny. Proto je předkládaná práce zaměřena na:

- zjištění změn obsahu PA během skladování a tepelných úprav hovězího masa,
- zjištění obsahu PA ve vepřových ledvinách a slezině po porážce a změny jejich obsahu během skladování a tepelných úprav vepřových ledvin,
- zjištění obsahu PA v mase a vnitřnostech kuřat a změny jejich obsahu během skladování a tepelných úprav kuřecího masa.

Zaměření disertační práce bylo spoluurčováno cíli etapy 2/6 výzkumného záměru MSM 6007665806 řešené na školicím pracovišti.

4. Materiál a metody

4.1. Použité chemikálie, přístroje a zařízení

1,7-diaminoheptan, Sigma Aldrich, Německo,
Acetonitril pro HPLC (gradient grade), Merck, Německo,
Dansylchlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Dusík (UN 1066), Linde Technoplyn, ČR,
Helium (UN 1066), Linde Technoplyn, ČR,
Heptan, Fluka, Buchs, Švýcarsko,
Histamin dihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Hydrogenuhlíčan sodný, Lachema, Neratovice, ČR,
Kadaverin dihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Kyselina chloristá, Acros Organic, New Jersey, USA,
Prolin, Fluka, Buchs, Švýcarsko,
Putrescin dihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Spermidin trihydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Spermin tetrahydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Tryptamin hydrochlorid, Sigma Aldrich, Německo,
Uhlíčan draselný, Lachema, Neratovice ČR,
Uhlíčan sodný, Lachema, Neratovice ČR,

Kapalinový chromatograf (HPLC) Spektra SYSTEM, TSP, USA,
kolona pro HPLC, RP-C18 (průměr zrna 3 μ m, vnitřní průměr kolony 2 mm, délka kolony 150 mm), Varian, Austrálie,
automatický dávkovač vzorků ke kapalinovému chromatografu, Midas Spark, Holandsko,
analytické váhy, B 204, Mettler Toledo, Švýcarsko
mixer Bosch, Německo,
odstředivka Sigma 2-5, Německo,
svářečka fólií, ETA, ČR,
termostatová skříň Liebherr, Německo
ultrazvuková lázeň Bandelin Sonorex RK 31, Německo,

4.2. Odběr vzorků

Vzorky hovězího masa a vepřových vnitřností byly odebírány na jatkách firmy Ing. Václav Kozel v Týně nad Vltavou, vzorky kuřecího masa a vnitřností v podniku Jihočeská drůbež, a.s. se sídlem ve Vodňanech.

Vzorky byly odebírány přímo z porážkové linky a v chladicí tašce ihned transportovány do laboratoře k bezprostřednímu zpracování.

4.2.1. Vzorky hovězího masa

Pro stanovení PA byly použity roštěnce o váze cca 1,5 kg celkem z 9 býků. Vzorky, určené ke sledování změn obsahu PA uložením při -18°C (způsob balení kap. 4.3.) a ke sledování změn při rozdílném chladírenském skladování (aerobní uložení, vakuové balení a balení v ochranné atmosféře (kap. 4.4.)), byly odebrány v **rouárně** jatek asi 20 hod po porážce z hovězího, rychle zchlazeného masa, uloženého při teplotě $3\text{--}4^{\circ}\text{C}$. Tři roštěnce, určené ke stanovení změn obsahu PA kuchyňskými úpravami, byly z kusů hovězího 5 dnů po porážce. Roštěnce byly skladovány při teplotě $3\text{--}4^{\circ}\text{C}$.

Vzorky byly řezány z roštěnce za devátým obratlem. Stáří býků bylo v rozmezí 15—27 měsíců, plemeno neznámé. Maso přivezené z jatek bylo buď okamžitě zpracované (hodnoty z tzv. nultého dne u mražení, 5. den u kuchyňských úprav), nebo při sledování změn obsahu polyaminů v čase za různých podmínek chladírenského uskladnění bylo uloženo v termostatu při teplotě $2\text{--}3^{\circ}\text{C}$. Výchozí hodnoty byly stanoveny 24 hod po porážce.

4.2.2. Vzorky vepřových ledvin a vepřové sleziny

Vzorky vepřových ledvin a slezin byly odebírány přímo z porážkové linky. Pocházely ze zvířat s hmotností 115—120 kg. Zvířata byla hybridy několika plemen, stáří cca 6 měsíců, obou pohlaví. Krátce po porážce byly vzorky rychle zchlazeny na teplotu $2\text{--}3^{\circ}\text{C}$ a transportovány v chladicím boxu do laboratoře. PA byly extrahovány 24 hod po porážce. Vzorky vepřových ledvin, určené ke sledování změn obsahu polyaminů při různých způsobech skladování (viz kap. 4.4.1. a 4.4.2.) byly baleny přímo na balicí lince jatek.

4.2.3. Vzorky kuřecího masa, kůže a vnitřností

Vychlazená těla dvaceti kuřat, hybridů ROSS 308 a COBB 500, s odpovídajícími játry a srdcem, určená ke stanovení PA v různých druzích kuřecího masa, byla do laboratoře dopravena v chladicím boxu do 2 hodin po porážce. Hmotnosti kuřecích těl se pohybovaly v rozmezí 1,2—2,2 kg, stáří kuřat bylo 35—38 dnů. Těla byla následně uložena do termostatu při teplotě 2—3 °C. Základní hodnoty PA byly stanoveny 24 hod po porážce v kuřecích prsou, stehnech, játrech a srdcích. U deseti kuřat byl stanoven obsah PA i v kůži stažené z prsou a stehen.

V osmi kuřecích tělech byly sledovány změny obsahu PA způsobené zmražením na -18 °C v průběhu šesti měsíců. Těla byla rozříznuta na dvě části. Pravá část byla analyzována 3—4 hod po porážce, osm levých částí bylo zabalených do mikroténové folie (viz kap. 4.3.) a po třech a šesti měsících analyzovaných, vždy po čtyřech vzorcích.

Ke stanovení změn obsahu PA vyvolaných různým způsobem skladování — aerobním uložením, vakuovým balením a balením v ochranné atmosféře (viz kap. 4.4.1., 4.4.2., 4.4.3.), byly použity kuřecí prsa z devíti kuřat. Pro každé uložení byly použity prsní svaly ze třech kusů kuřecích těl. Vzorky byly baleny přímo na baličích linkách v podniku Jihočeská drůbež, a.s.

Změny obsahu polyaminů kuchyňskými úpravami byly sledovány na čtyřech kuřecích tělech, které byly tři dny po porážce. Vzorky – těla kuřat – byly zakoupeny v obchodní síti. Vzorky byly po celou dobu od porážky až po laboratorní zpracování udržovány při chladírenské teplotě.

4.3. Skladování zmraženého masa

Vliv uskladnění při -18 °C v průběhu 178 dnů byl sledován u hovězího roštěnce a u kuřecího masa.

Hovězí roštěnec ze třech různých kusů byl nakrájen na řízky o hmotnosti cca 150 g, zabalen do mikroténových sáčků (HDPE, tloušťka 0.017 mm) a uložen do mrazáku se stálou teplotou -18 °C. Před analýzou se vzorky rozmrazovaly asi 2 hod při laboratorní teplotě. Analýza vzorků byla provedena ve dnech 0-14-30-62-90-118-148-178 po uskladnění.

8 kuřecích těl určených ke stanovení změn obsahu PA v průběhu uskladnění při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ bylo odebráno přímo z porážkové linky. Těla byla následně podélně rozdělena na dvě části a zmrazena v mrazicím tunelu při teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ až na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorky byly následně transportovány v chladicím boxu do laboratoře. Vzápětí byla udělána analýza počátečního obsahu PA prsou a stehem v pravé části těl. Levá část byla zabalena stejně jako roštěnec (viz výše) a další analýzy proběhly po 90 a 178 dnech po porážce.

4.4. Chladírenské skladování masa a vepřových ledvin

Vliv chladírenského skladování na změnu obsahu PA byly sledovány v hovězím roštěnci, kuřecích prsou a ve vepřových ledvinách. U hovězího a kuřecího masa byly sledovány změny a) v aerobně uskladněném masu, b) masu baleném vakuově a c) v masu uloženém v ochranné atmosféře. Změny ve vepřových ledvinách byly sledovány pouze za aerobních podmínek a ve vakuu. Rozsah sledování změn vyplynul z výrobní a spotřebitelské praxe – např. vepřové ledviny se téměř nebalí v modifikované atmosféře vzhledem k finančním nákladům.

4.4.1. Skladování za aerobních podmínek

Skladováním hovězí roštěné, kuřecích prsou i vepřových ledvin za aerobních podmínek byla napodobena běžná praxe v domácnostech – maso i ledviny byly zabaleny do PE sáčku (HDPE, tloušťka 0.017 mm) a uloženy do termostatu při teplotě $2\text{--}3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorky hovězí roštěné a kuřecích prsou byly analyzovány ve dnech 0-1-2-5-9 po porážce; vzorky ledvin vzhledem k omezené velikosti vzorků limitované velikostí ledvin a vzhledem k nižší údržnosti byly analyzovány pouze ve dnech 0-2-5-7 po porážce.

4.4.2. Skladování vakuově balených materiálů

Všechny vzorky byly vakuově balené způsobem běžně používaným v praxi:

- hovězí roštěná a vepřové ledvinky byly vakuově zabaleny na jatkách firmy Kozel v Týně nad Vltavou na přístroji Vac-Star S240M (Busch, Německo). Použitá polyetylenová folie měla tloušťku 0,080 mm s permeabilitou kyslíku nižší než $0,02\text{ ml}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ za tlaku 0,1 MPa.
- kuřecí prsa byla vakuově zabalena v podniku Jihočeská drůbež na zařízení Tiromat 320 (Německo) do polyamid/polyetylenové folie o tloušťce 0.22 mm.

4.4.3. *Skladování v ochranné atmosféře*

Vzorky byly baleny v modifikované atmosféře požívané oběma výrobními podniky:

- pro zabalení hovězí roštěné do ochranné atmosféry bylo použito stejné zařízení a typ folie jako u vakuově balených vzorků (viz kap 4.4.2.). Složení ochranné atmosféry: 70 % N₂ a 30 % CO₂ (obj.). Použití pouze CO₂ jako ochrannou atmosféru se pro tmavé maso nedoporučuje pro jeho rozpustnost v potravinách, v důsledku čehož klesá pH a snižuje se vaznost masa. Proto se mísí s dusíkem. Vysoký obsah O₂ urychluje oxidaci tuků v mase a podporuje růst aerobních bakterií (DOBIÁŠ & OPATOVÁ, 2004)
- kuřecí prsa byla balena na zařízení Mondini E350 (Itálie). Modifikovaná atmosféra obsahovala 20 % CO₂ a 80 % O₂ (obj.). Maso bylo uloženo do polyetylenového výlisku, který byl uzavřen krycí polypropylen/polyetylenovou folií.

Zabalené vzorky byly v chladicím boxu převezeny do laboratoře a uloženy do termostatu při 2—3 °C.

Změny obsahu polyaminů v hovězím roštěnci a v kuřecích prsou balených ve vakuu a v ochranné atmosféře byly sledovány ve dnech 0-5-9-15-21 po porážce. U kuřecích prsou sledování tak dlouhou dobu nevyvolala používaná praxe (výrobce dává záruku pouze 10 dnů), ale potřeba srovnání výsledků s hovězí roštěnou.

V ledvinách balených ve vakuu vzhledem k jejich velikosti byla sledována dynamika změn obsahu polyaminů pouze ve dnech 0-5-12-21.

Nultý den v časových řadách se rozumí 24 hod po porážce.

Časové řady byly zvoleny dle zvyklostí běžných domácností. Nepředpokládá se doba uložení masa v chladničce delší než jeden týden a v mrazničce delší než půlrok.

4.5. *Tepelné zpracování*

Vliv tepelného zpracování na změny obsahu PA byla ověřována na hovězím roštěnci, kuřecích prsou a vepřových ledvinkách. Úprava vařením a dušením byla prováděna podle postupu popsaném PAULSENEM ET AL. (2006). Všechny způsoby úprav odpovídaly zpracování masa v běžných domácnostech.

4.5.1. Tepelné úpravy hovězího masa

K tepelným úpravám hovězího masa byly použité roštěnce ze tří býků. Úpravy byly udělány 5. a 10. den po porážce, tedy v masu různě vyzrálém. Zvolené byly úpravy typické pro středoevropskou kuchyni:

- **vaření:** plátky roštěnce o hmotnosti cca 150 g byly nakrájeny na kostičky o straně cca 2 cm a zalité hmotnostně přibližně stejným množstvím destilované vody (tj. kolem 150 ml). Směs byla v zataveném polyetylenovém sáčku ponořena do vroucí lázně na 90 min. Teplotu masa v lázni byla měřena dotekovým teploměrem (Amarell Electronic, Germany, přesnost ± 0.5 °C). Vnitřní teplota masa dosáhla po 20 minutách maxima 98 °C. Ukázka průběhu teplot je uvedena v obrázku 4.1.
- **dušení:** probíhalo ve dvou variantách za podobných podmínek jako vaření. V první variantě bylo ke kostičkám hovězího masa přidáno asi 40 ml destilované vody, v druhé variantě bylo maso dušené pouze ve vlastní šťávě (tj. bez přidání vody). Vnitřní teplota masa dosáhla po 20 minutách maximálně 98 °C.

Obsah polyaminů byl stanoven ve vařeném i dušeném masu a ve vývaru i šťávě.

4.5.2. Tepelné úpravy vepřových ledvin

Vepřové ledviny byly tepelně opracovány pouze nejběžnější úpravou používanou středoevropskou kuchyní – dušením. Pro úpravu byla ledvina odebrána vždy ze stejné strany zvířete.

- **dušení:** ledvina 24 hod po porážce byla rozříznuta napříč. Jedna část byla okamžitě za aerobních podmínek uložena do termostatu. Druhá část byla nakrájena na kostičky o hraně cca 1 cm. Pro odstranění charakteristického zápachu ledvin byly kostičky dvakrát po sobě ponořeny na 20 minut do 50 ml destilované vody, následně ještě stejně na 20 minut do roztoku polotučného mléka a destilované vody (1/1, v/v). Takto pročištěné kostičky byly v zataveném polyetylenovém sáčku ponořeny do vroucí lázně. Vařily se 30 minut. Vnitřní teplotu byla měřena stejně jako u hovězího roštěnce (kap. 4.5.1.). Hodnoty jsou uvedeny v obr. 4.1.

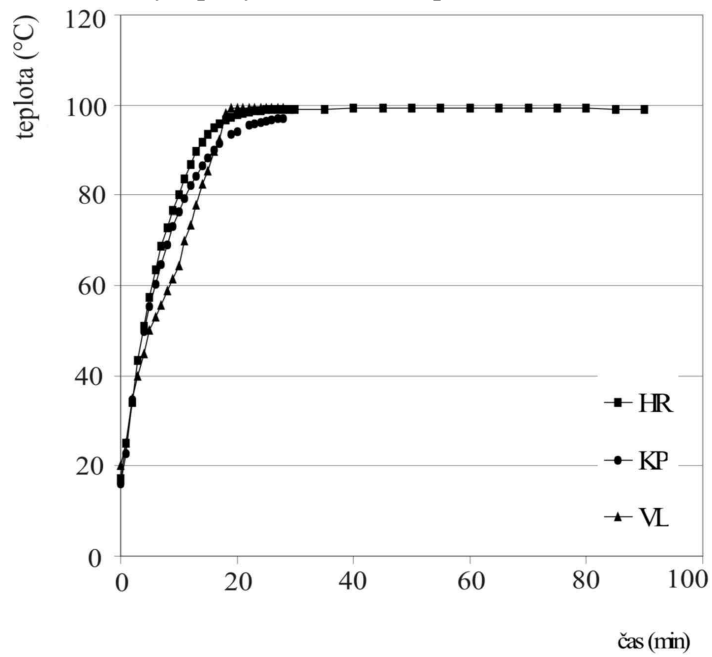
Obsah polyaminů byl stanoven v ledvinách, vydušené šťávě i ve všech třech namáčecích lázních.

4.5.3. *Tepelné úpravy kuřecího masa*

Ke sledování změn v důsledku tepelných úprav byla u kuřecího masa použita prsa, protože jsou největší a nejlépe umožnila provedení více variant s homogenním materiálem. Ve snaze napodobit co nejlépe běžnou středoevropskou praxi bylo provedeno pět způsobů kuchyňských úprav:

- **vaření:** k 50—60 g masa nakrájeného na kostičky o straně cca 1 cm byla přidána destilovaná voda o stejné hmotnosti. Směs byla zatavena do polyetylénového sáčku a ponořena do vroucí vodní lázně na 30 minut. Stejně jako v předchozích případech i tady byla vnitřní teplota masa sledována dotekovým teploměrem a svého maxima – 98 °C — dosáhla po cca 20 minutách (obr. 4.1). Polyetylénový sáček byl po ukončení vaření zchlazen na pokojovou teplotu.
- **dušení:** probíhalo za podobných podmínek jako vaření, ke kostičkám masa však byla přidána voda v množství cca čtvrtiny hmotnosti masa.
- **pečení:** kousky o hmotnosti 40—60 g a tloušťce cca 4 cm byly pečené 90 minut při teplotě cca 180—190 °C v laboratorní sušárně. Nádoby byly zakryty aluminiovou folií. Ke vzorkům nebyl přidán tuk, jenom byly několikrát podlité destilovanou vodou.
- **grilování:** stejné kousky masa jako při pečení byly použité i ke grilování na grilu zn. ELOMA ELG 5. Grilování trvalo 60 minut při 215 °C.
- **smažení:** ke smažení byly použité kousky masa o stejné velikosti jako při pečení a grilování. Maso bylo paličkou jemně naklepané a následně obalené v trojobalu – mouka, šlehané vejce, strouhanka – a smažené na teflonové pánvi při teplotě 180 °C s použitím slunečnicového oleje, 10 minut po každé straně. Po vychlazení byl obal z řízku odstraněn a analyzováno bylo pouze maso.

Obr. 4.1 Změny teploty masa a ledvin při vaření ve vodní lázni při cca 100 °C.



HR ...hovězí roštěná, KP ... kuřecí prsa, VL ... vepřové ledviny

4. 6. Analytické postupy

4.6.1. Stanovení sušiny

Pro objektivní vyjádření změny obsahu polyaminů ve vzorcích vlivem rozdílných způsobů skladování a kuchyňských úprav změny obsahu polyaminů byly propočítány na sušinu. Čerstvý vzorek masa o hmotnosti cca 5 g byl vysušen do konstantní hmotnosti při 105 °C v laboratorní sušárně.

4.6.2. Stanovení polyaminů metodou HPLC

Ke stanovení polyaminů byla použita analytická metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí. Analýze na přístroji předcházela extrakce polyaminů ze vzorků. Protože molekuly polyaminů nevykazují fluorescenci, je nutné vyextrahované polyaminy derivatizací převést na sloučeniny s měřitelnou fluorescencí.

4.6.2.1. Extrakce polyaminů z matric (z pevných a z „vývarů“)

- Vzorek masa o hmotnosti cca 40 g přelijeme 80—100 ml 0,6M kyseliny chloristé.
- Směs zhomogenizujeme kuchyňským ručním mixérem (Bosch, 600 W) po dobu cca 3 min a následně odstředíme při 3500 otáčkách za minutu po dobu 10 minut (Sigma 2-5, průměr rotoru 272 mm).
- Supernatant profiltrujeme přes skládaný filtrační papír (pro kvalitní analýzu, nekrepaný, nehlazený). Celkový objem filtrátu je 100—120 ml filtrátu.

Extrakty byly do doby analýzy skladovány v chladničce při teplotě 4 ± 1 °C, doba skladování byla kratší než jeden měsíc.

Vývary nebo šťávy vzniklé po kuchyňských úpravách byly profiltrovány přes nekrepaný, nehlazený filtrační papír, okamžitě derivatizovány a podrobeny analýze.

4.6.2.2. Derivatizace polyaminů dansylací

Extrakty byly derivatizovány podle prof. O. Peulena, Univerzita Liège, Belgie. Jeho původní metoda byla upravena pro naše podmínky.

- z kyselého extraktu vzorku odpipetujeme 1 ml,

- přidáme 100 μl vnitřního standardu — roztok 1,7-heptandiaminu v 0,6 M HClO_4 o koncentraci $400 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$,
- vzniklý roztok neutralizujeme 1,5 ml uhličitanového roztoku (složení viz tab. 4.1), čerstvě připraveným vždy před každou analýzou.

Tab. 4.1 Příprava uhličitanového neutralizačního roztoku:

| Počet vzorků | 1 | 2 | 4 | 5 | 6 | 8 | 10 |
|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| K_2CO_3 (g) | 0,666 | 1,332 | 1,998 | 2,664 | 3,333 | 4,664 | 5,328 |
| Roztok AB (ml) | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 14 | 16 |

Příprava roztoku AB, který byl připravován do zásoby:

roztok A: Na_2CO_3 2,65 g do 50 ml

roztok B: NaHCO_3 4,2 g do 100 ml

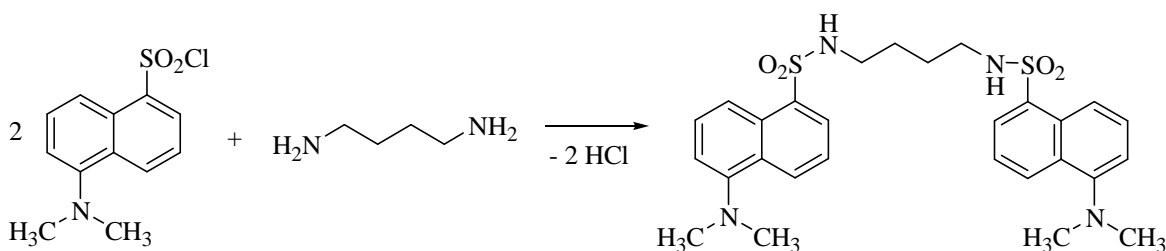
- přidá se 1 ml derivatizačního činidla (roztok 5 mg dansylchloridu na 1 ml acetonu); čerstvě připraveným před každou derivatizací. Reakční schéma je na obr. 4.2. Po přidání roztoku dansylchloridu necháme vzorek třepat 20 hodin ve tmě při laboratorní teplotě,
- poté přidáme 20 μl roztoku L-prolinu (0,1 g v 1 ml destilované vody) a pro zreagování nadbytečného činidla třepeme ještě 1 hodinu ve tmě,
- pro vyextrahování derivátů polyaminů a biogenních aminů přidáme 3 ml heptanu a třepeme 2,5 minuty,
- do vialky odebereme 1 ml supernatantu a odpaříme při 55°C pod dusíkem do sucha,
- odparek rozpustíme v 1,5 ml roztoku 68 % acetonitrilu a přefiltrujeme skleněným filtrem (velikost pórů $1,7 \mu\text{m}$).

Derivatizace tekutých vzorků:

- Pro vzorky vývarů, šťáv a namáčecích lázní byl postup derivatizace upraven. Vzhledem k tomu, že vzorek byl v tekutém stavu, vynechána je extrakce.

- Z přefiltrovaných tekutých vzorků pipetujeme 10 ml,
- přidáme 5 ml tlumivého uhličitanového roztoku a 5 ml derivatizačního činidla,
- směs třepeme 20 hodin ve tmě,
- přidáme 1 ml L-prolinu a ještě 1 hodinu necháme třepat ve tmě,
- polyaminy extrahujeme do 5 ml heptanu,
- směs odstředíme 5 minut při 2000 ot.min⁻¹ při laboratorní teplotě,
- do vialky odebereme 3 ml supernatantu a pod dusíkem při teplotě 55 °C vysušíme do sucha,
- vzorek rozpustíme v 1,5 ml 68% acetonitrilu.

Obr. 4.2. Reakce aminů s dansylchloridem.



4.6.2.3. Analytická koncovka HPLC

Dansyl deriváty polyaminů byly stanovovány metodou HPLC na přístroji SpektraSystem (ThermoSeparation Products, USA, vysokotlaké čerpadlo P2000, fluorescenční detektor FL3000 a UV detektor 3000HR). Jako mobilní fáze byly použity vodné roztoky acetonitrilu (A: 50%, v/v; B: 95%, v/v). Rozdělení analyzovaných derivátů bylo dosaženo gradientovou elucí (tab. 4.2.) na koloně RP-C₁₈, objem nastříkovaného vzorku byl 10 μl. Detekce probíhala na UV detektoru při vlnové délce 225 nm.

Kromě tří základních polyaminů (PUT, SPD, SPM), současně bylo stanovováno pět biogenních aminů – tryptamin, fenylethylamin, tyramin, histamin a kadaverin.

Tab. 4.2 Profil gradientové eluce při HPLC-analýze dansylovaných derivátů aminů.

| Čas (min) | %A | %B | Průtok mob. fáze (ml.min ⁻¹) |
|-----------|----|-----|--|
| 0 | 60 | 40 | 0,25 |
| 8 | 30 | 70 | 0,25 |
| 9 | 0 | 100 | 0,25 |
| 25 | 0 | 100 | 0,25 |
| 26 | 60 | 40 | 0,25 |
| 41 | 60 | 40 | 0,25 |

A ... 50% vodný roztok acetonitrilu, B ... 95% vodný roztok acetonitrilu

4.6.2.4. Limity detekce a opakovatelnost stanovení

Detekční limity pro tuto metodu byly stanoveny na 1,0 mg.kg⁻¹ pro putrescin; 1,7 mg.kg⁻¹ pro spermidin; 2,2 mg.kg⁻¹ pro spermin. Hodnoty byly stanoveny jako dvojnásobek šumu základní linie.

Opakovatelnost stanovení byla ověřována 7 paralelními analýzami vepřových ledvin a 5 paralelními analýzami kuřecích prsou. Výsledky jsou uvedeny v tab. 4.3.

Tab. 4.3 Opakovatelnost stanovení polyaminů metodou HPLC. Hodnoty sedmi paralelních analýz. Obsah putrescinu byl pod mezí detekce.

| | Vepřové ledviny | | | Kuřecí prsa | | |
|-----|-------------------------------|---------------------------------------|--------|-------------------------------|---------------------------------------|--------|
| | průměr (mg.kg ⁻¹) | S _x (mg.kg ⁻¹) | VK (%) | průměr (mg.kg ⁻¹) | S _x (mg.kg ⁻¹) | VK (%) |
| SPD | 16,75 | 0,64 | 3,80 | 3,6 | 0,27 | 7,5 |
| SPM | 76,04 | 3,43 | 4,51 | 31,8 | 2,13 | 6,7 |

S_x ... směrodatná odchylka, VK ... variační koeficient

4.7. Statistické metody

Pro statistické vyhodnocení výsledků byl použitý program Microsoft Excel a program STATISTICA. Obsah polyaminů v hovězím a kuřecím mase a vepřových ledvinách a slezině je charakterizován aritmetickým průměrem, směrodatnou odchylkou, mediánem a rozpětím. Statistická významnost byla testována Studentovým testem a ANOVA. Pro testování statistické významnosti změn obsahu polyaminů v závislosti na čase byla použita regresní analýza na hladině významnosti $P < 0,05$.

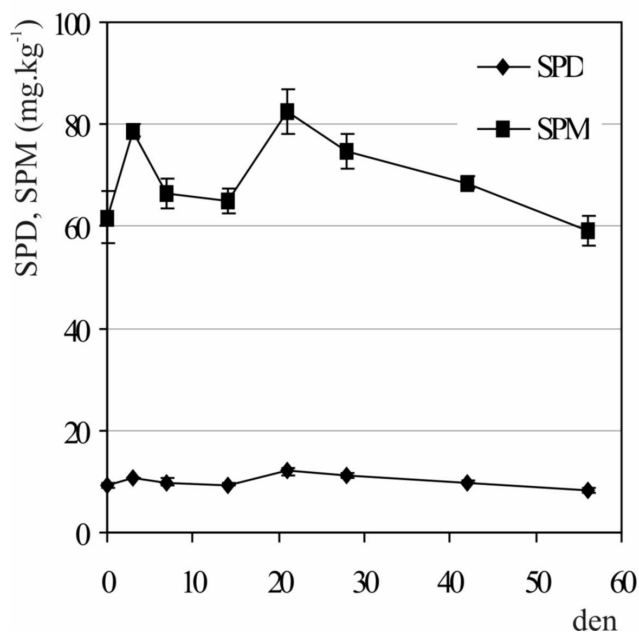
5. Výsledky a diskuse

5.1. Ověření doby skladovatelnosti extrahovaných polyaminů

Z provozních důvodů nebylo možné extrakty polyaminů v kyselině chloristé, získané ze syrového a kuchyňsky upraveného masa či vnitřností, okamžitě po extrakci derivatizovat a připravit pro měření na HPLC. Proto bylo nezbytné ověřit dobu skladovatelnosti extraktů při teplotě uložení cca 3 °C, aniž by došlo ke změně obsahu sledovaných polyaminů.

Skladovatelnost extraktů byla zjišťována u vepřových ledvin. Ledviny byly zakoupené v obchodní síti a ponechány před extrakcí v termostatu ještě 3 dny v polyetylenovém sáčku při cca 3 °C. Následně byly extrahovány polyaminy. Kyselý extrakt byl skladován po dobu 8 týdnů při cca 3 °C v chladničce. Derivatizace extraktů byla provedena v časové řadě 0-3-7-14-21-28-42-56 dnů a vzorky byly po derivatizaci ihned analyzovány. Změny obsahu polyaminů během skladování extraktů jsou uvedeny na obr. 5.1.

Obr. 5.1 Změny obsahu SPD a SPM během skladování kyselých extraktů vepřových ledvin.



Jak je patrné z grafu, k významné změně v obsahu polyaminů nedošlo. Pro ověření významnosti těchto změn byla testována strmost lineární regrese programem STATISTICA. Na hladině $P < 0,05$ nebyla prokázána odlišnost strmosti od nuly.

Z provedených experimentů a jejich statistického vyhodnocení vyplynulo, že je možné skladovat extrakty vzorků v chladničce při cca 3 °C po dobu minimálně osmi týdnů, aniž by došlo ke statisticky významné změně obsahu polyaminů v extraktu. Skutečná skladovatelnost extraktů byla obvykle mnohem kratší. Extrakty před dansylací byly skladovány maximálně 3 týdny.

Zjištění skladovatelnosti derivatizovaných vzorků nebylo nutné, protože kapacita HPLC-přístroje umožňuje změřit všechny vzorky ihned po derivatizaci.

5.2. Změny obsahu polyaminů v hovězím mase

5.2.1. Vliv mrazírenského skladování

Pro mrazírenské skladování byly použity roštěnce ze tří kusů zvířat. Každý roštěnec byl rozdělen na 8 částí o hmotnosti cca 150—200 g. Z jedné části z každého roštěnce byly bezprostředně po naporcování extrahovány polyaminy a zbylých 7 částí bylo zabalených do PE-sáčků, určených k mražení potravin a uložených do mrazicího boxu (-18 °C). Analýza takto uložených vzorků byla provedena sedmkrát po dobu 6 měsíců (178 dnů) v pravidelných intervalech (kap. 4.3.). Rozmrazování vzorků před každou analýzou trvalo asi 2 hod při pokojové teplotě a následně byly z nich extrahovány polyaminy. U každé analýzy byl stanoven obsah sušiny ve vzorku. Hodnoty sušiny jsou uvedeny v tabulce 5.1.

Tab. 5.1 Hodnoty sušiny (%) hovězí roštěné skladované při -18 °C po dobu 178 dnů.

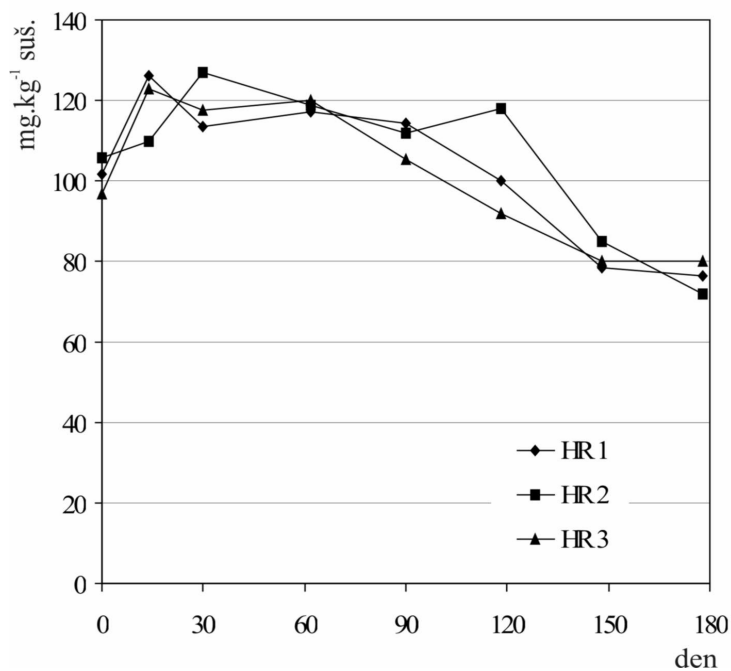
| | Hodnoty sušiny (%) | | | | | | | |
|------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | | | | |
| | 0 | 14 | 30 | 62 | 90 | 118 | 148 | 178 |
| HR1 | 25,02 | 24,41 | 23,56 | 24,12 | 24,14 | 24,74 | 25,62 | 23,57 |
| HR2 | 25,04 | 24,22 | 23,44 | 23,23 | 25,05 | 23,63 | 24,00 | 23,34 |
| HR3 | 25,68 | 23,10 | 23,09 | 23,09 | 23,89 | 24,00 | 24,41 | 23,61 |

V hovězím masu byl detekován pouze polyamin spermin. Změny obsahu SPM v průběhu půlročního uložení při -18 °C jsou zobrazeny na obr. 5.2. Jednotlivé body grafu jsou průměrem tří paralelních měření.

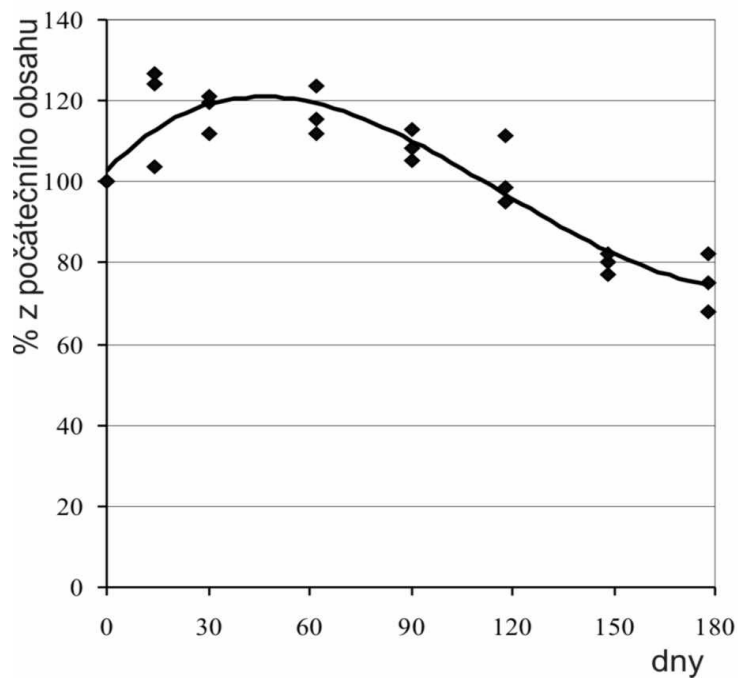
V průběhu skladování hovězí roštěné po dobu 178 dnů (šest měsíců) při -18 °C (obr. 5.2) došlo v prvních třech měsících k nárůstu obsahu SPM o přibližně 20 %. Na hladině pravděpodobnosti $P < 0,05$ je nárůst nevýznamný. V následujících třech měsících byl zaznamenán pokles obsahu SPM v sušině přibližně na 70 % výchozích hodnot. Na hladině pravděpodobnosti $P < 0,05$ je to významný pokles.

Na obr. 5.3 jsou zobrazeny relativní změny obsahu SPM během půlročního skladování. Změny obsahu SPM nejlépe zachytila polygonální křivka proložená naměřenými body.

Obr. 5.2 Změny obsahu SPM v hovězí roštěné ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{suš}$) při mrazírenském skladování.



Obr. 5.3 Relativní změny obsahu SPM (%) v průběhu mrazírenského skladování.



Příčina nárůstu obsahu SPM v prvních měsících mrazírenského uskladnění je nejasná. Polyaminy stabilizují v neporušené buňce buněčné organely a membrány (GUGLIUCCI, 2004). Důvodem nárůstu obsahu polyaminů v prvních měsících mražení může být poškození buněčných membrán v důsledku mražení, což zapříčiní uvolnění polyaminů vázaných na proteiny.

Obsah biogenních aminů byl po celou dobu skladování pod hranicí detekce. Dlouhodobé sledování změn obsahu polyaminů při nízkých teplotách u hovězího masa se dosud v literatuře neobjevilo. Výsledky se vyskytují pouze pro různé druhy vepřového masa. CHEN ET AL. (1994) nezjistili během devítiměsíčního skladování zmrazeného vepřového masa při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ žádné změny obsahu polyaminů, HALÁSZ et al. (1994) publikovali významný pokles obsahu SPM ve vepřovém masu uloženém 15 dnů při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, HERNANDEZ-JOVER ET AL. (1996) nezaznamenali v mletém masu uloženém 12 dnů při $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ žádnou změnu. KRAUSOVÁ ET AL. (2008) u vepřové pečení skladované 6 měsíců při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ zaznamenala mírný nárůst obsahu SPM.

5.2.2. Vliv chladírenského skladování za různých podmínek

Pro zjištění změn za různých podmínek chladírenského uskladnění byla použita roštěná ze tří býků. Z každého kusu byly nařezány plátky o hmotnosti cca 150–200 g pro uskladnění aerobní, vakuové a v ochranné atmosféře.

5.2.2.1. aerobní uskladnění – k analýze bylo použito 5 plátků z každého roštěnce. Čtyři plátky z každého kusu byly zabaleny do polyetylenového sáčku a uložili do termostatu při cca $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 9 dnů. Z jednoho plátku masa byly extrahovány polyaminy okamžitě. Z dalších plátků byly extrahovány polyaminy v intervalech 1-2-5-9 dnů. Hodnoty sušiny stanovované při každé extrakci jsou uvedeny v tab. 5.2.

Tab. 5.2 Hodnoty sušiny (%) v hovězí roštěné skladované za aerobních podmínek.

| | Hodnoty sušiny (%) | | | | |
|------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 5 | 9 |
| HR1 | 23,54 | 24,02 | 23,45 | 24,00 | 23,44 |
| HR2 | 25,17 | 24,33 | 24,00 | 24,28 | 25,79 |
| HR3 | 27,54 | 25,86 | 27,16 | 26,69 | 25,10 |

Změny obsahu SPM při aerobním uskladnění roštěných jsou zobrazeny na obr. 5.4.A, relativní změny obsahu SPM na obr. 5.5.A. Na hladině pravděpodobnosti $P < 0,05$ byly změny obsahu SPM v průběhu devítidenního skladování nevýznamné. PUT a SPD zůstaly pod hranicí detekce.

HERNÁNDEZ-JOVER ET AL. (1996) uvádějí stabilní obsah SPD a mírný pokles SPM během osmi dnů u mletého vepřového masa a vepřového masa nakrájeného na plátky uskladněného při 6—8 °C. VINCI & ANTONELLI (2002) zjistili v hovězí kýtě uskladněné při 4 °C postupný úbytek obsahu SPM z 30 mg.kg⁻¹ až téměř k nule během 36 dnů. Sledované období však zahájili s masem až 15 dnů po porážce.

5.2.2.2. vakuové uložení – 4 plátky hovězí roštěné byly zabaleny na jatkách (kap 4.4.2.). Změny obsahu SPM jsou uvedeny na obr. 5.4.B, relativní změny obsahu SPM na obr. 5.5.B. Změny v obsahu SPM byly podobné jako při aerobním uložení, avšak devátý den byl pokles obsahu SPM ztelnější (asi na 90 % výchozí hodnoty). 21. den klesl obsah SPM na cca 80 % výchozí hodnoty. Pokles byl signifikantní na hladině pravděpodobnosti $P < 0,05$. Míra poklesu byla srovnatelná s údaji pro vepřovou kýtu uváděnými KRAUSOVOU ET AL. (2008). Hodnoty sušiny vakuově balené hovězí roštěné jsou uvedeny v tab. 5.3.

Tab. 5.3 Hodnoty sušiny (%) vakuově balené hovězí roštěné.

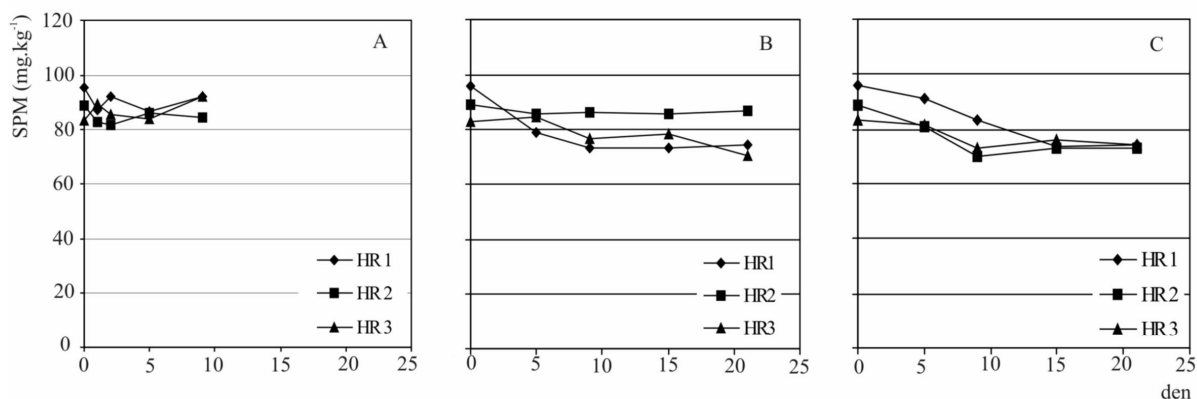
| | Hodnoty sušiny (%) | | | | |
|-------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | |
| | 0 | 5 | 9 | 15 | 21 |
| HR 1 | 23,54 | 28,48 | 29,19 | 28,71 | 25,93 |
| HR 2 | 25,17 | 25,46 | 26,26 | 25,14 | 26,05 |
| HR 3 | 27,54 | 26,18 | 25,24 | 25,79 | 26,28 |

5.2.2.3. uložení v ochranné atmosféře – balení 4 plátků roštěné proběhlo na jatkách (kap. 4.4.2.) a extrakce polyaminů ze vzorků byla prováděna ve stejné časové posloupnosti jako u vakuově balené roštěné. Dynamika změn obsahu SPM je graficky zaznamenána na

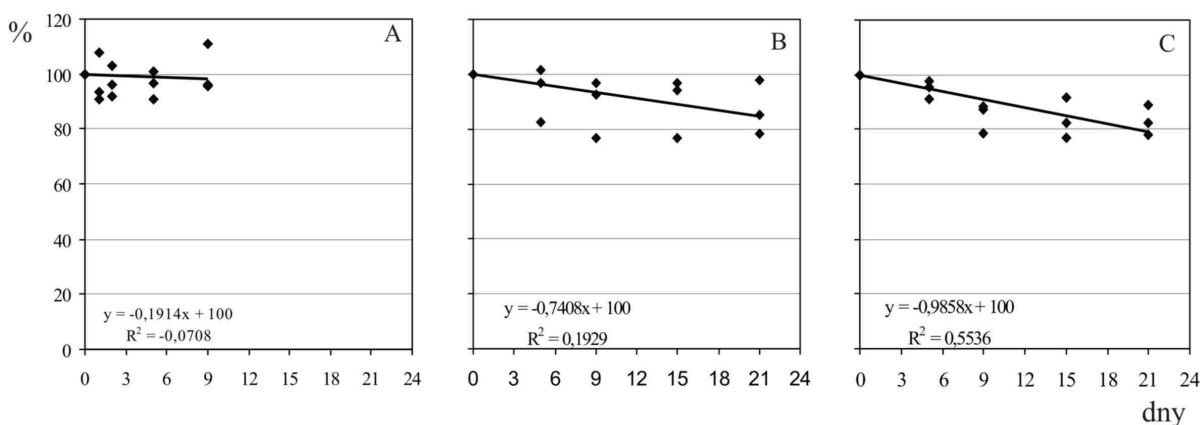
Tab. 5.4 Hodnoty sušiny (%) hovězí roštěné balené v ochranné atmosféře.

| | Hodnoty sušiny (%) | | | | |
|-------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | |
| | 0 | 5 | 9 | 15 | 21 |
| HR 1 | 23,54 | 23,68 | 24,24 | 24,17 | 26,11 |
| HR 2 | 25,17 | 26,36 | 26,96 | 25,71 | 24,13 |
| HR 3 | 27,54 | 25,64 | 25,63 | 25,78 | 26,76 |

Obr. 5.4 Změny obsahu SPM v hovězí roštěné ($\text{mg.kg}^{-1}\text{suš}$) při aerobním uskladnění (A), ve vakuu (B) a v ochranné atmosféře (C).



Obr. 5.5 Relativní změny obsahu SPM v hovězí roštěné ($\text{mg.kg}^{-1}\text{suš}$) při aerobním uskladnění (A), ve vakuu (B) a v ochranné atmosféře (C).



obr. 5.4.C. Hodnoty obsahu SPM jsou přepočítány na sušinu. Hodnoty sušiny v syrovém roštěnci skladovaném v ochranné atmosféře jsou uvedeny v tab. 5.4. Relativní změny obsahu SPM v hovězí roštěné jsou uvedeny na obr. 5.5.C.

U vakuově balené roštěné byl pokles obsahu SPM devátý den po porážce výraznější (obr. 5.4.B) než u aerobního uložení. V poslední (21.) den vakuového uložení poklesl obsah SPM na 80 % výchozí hodnoty, což představuje statisticky významný pokles na hladině $P < 0,05$. Změna obsahu SPM v hovězí roštěné je porovnatelná se změnou uváděnou pro vepřovou pečení (KRAUSOVÁ ET AL., 2008).

V 15. a 21. den uskladnění byl u dvou ze tří uskladněných vzorků ve vakuu zaznamenán nízký obsah (do $3,9 \text{ mg.kg}^{-1}$) tyraminu. Byl to jediný biogenní amin detekovaný během celého experimentu.

YANO ET AL. (1995) uvádějí u vakuově balené svíčkové uložené při různých teplotách (0, 5 a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ uložných 39, 22 a 16 dnů) v průběhu sledování stabilní hladinu SPM. LEE &

YOON (2001) udávají u hovězí přední hrudi uložené při 0 °C vzrůstající obsah SPM z 8,5 na 25 mg.kg⁻¹ v čase 38 až 76 dnů po porážce.

V hovězí roštěné uložené v modifikované atmosféře byl pokles SPM výraznější než u vakuově balené a obsah SPM na konci uskladnění byly asi 75 % výchozího obsahu. Pokles byl intenzivnější než uvádí KRAUSOVÁ ET AL. (2008) v podobném experimentu s vepřovou pečení.

5.2.3. Vliv tepelných úprav

Kuchyňské úpravy hovězí roštěné prováděné v laboratoři napodobili způsoby úpravy masa obvyklé ve středoevropské kuchyni. Hovězí roštěná byla vařena a dušena podle postupu popsaného v kap. 4.5.1. Maso bylo vařené i dušené v zatavené fólii, abych se zabránilo ztrátám vody odpařováním. Dušené bylo ve dvou variantech: s přídavkem vody a ve vlastní šťávě.

Experiment byl opakován dvakrát – s masem po pěti a deseti dnech po porážce. Roštěná byla skladována zabalena v polyetylenové fólii v chladničce při cca 3 °C. Po úpravě byl analyzován, kromě tepelně zpracovaného masa, také vývar a šťáva. Výsledky byly přepočteny na sušinu a porovnány s kontrolním vzorkem tj. s výchozím syrovým masem.

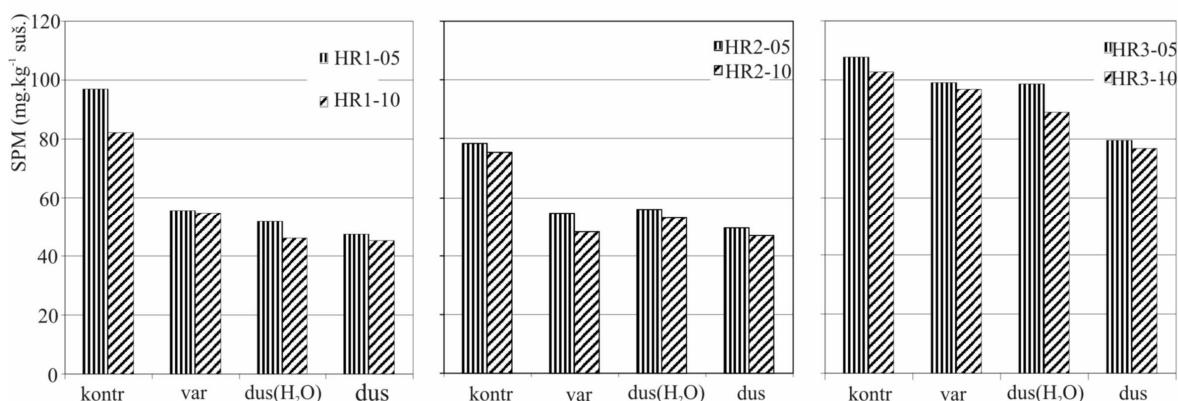
Hodnoty sušiny tepelně upravených vzorků shrnuje tab. 5.5.

Tab. 5.5 Hodnoty sušiny (%) tepelně upravené hovězí roštěné.

| Způsob úpravy | Hodnoty sušiny (%) | | | | | | | |
|----------------------|---------------------|-------|--------|-------|----------------|-------|--------|-------|
| | Výchozí syrové maso | | Vaření | | Dušení s vodou | | Dušení | |
| | 5 | 10 | 5 | 10 | 5 | 10 | 5 | 10 |
| HR1–15 měsíců | 26,88 | 28,03 | 35,82 | 39,04 | 37,07 | 42,28 | 42,42 | 43,02 |
| HR2–21 měsíců | 27,26 | 29,23 | 37,40 | 39,63 | 37,82 | 37,80 | 44,10 | 40,61 |
| HR3–27 měsíců | 23,43 | 23,20 | 29,14 | 30,96 | 32,24 | 31,36 | 33,26 | 33,76 |

Změny obsahu SPM při kuchyňských úpravách ve třech roštěných jsou znázorněny na obr. 5.6. Relativní změny obsahu SPM jsou uvedeny v tabulce 5.6. Jak je zřejmé z grafu i z hodnot v tabulce, ztráty při různých kuchyňských úpravách dosahují až 50 % z obsahu SPM v syrovém masu. Průměrný pokles obsahu SPM byl na asi 70 % výchozího obsahu

Obr. 5.6 Změny obsahu SPM po kuchyňských úpravách v porovnání s výchozím vzorkem ze syrového masa.



v syrovém masu. Rozdíly mezi testovanými způsoby kuchyňských úprav byly statisticky nevýznamné. Průměrná ztráta obsahu SPM byla mírně nižší v porovnání s podobným experimentem s vepřovou pečením za stejných experimentálních podmínek (KRAUSOVÁ ET AL., 2008). V tabulce 5.6 jsou uvedeny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými vzorky roštěné, které pocházely z býčků roždlného stáří. Zdá se, že věk zvířat má velký vliv na míru úbytků SPM během tepelného zpracování hovězího masa. Pro vyslovení této hypotézy však počet vzorků není dostatečný.

Tab. 5.6 Relativní změny obsahu SPM v hovězí roštěné vlivem kuchyňských úprav (% obsahu SPM v porovnání s obsahem v syrovém masu) 5. a 10. den po porážce. Změny obsahu byly vypočítány přes sušinu.

| Hov. rošt. č. | Stáří býků (měsíce) | Čas po porážce (dny) | Čerstvý vzorek | Úprava vařením | Úprava dušením | |
|---------------|---------------------|----------------------|------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | | | | s vodou | bez vody |
| 1 | 15 | 5 | 100 ^A | 57,6 ^B | 53,4 ^B | 49,0 ^B |
| | | 10 | 100 ^A | 66,6 ^{B, X} | 55,9 ^{B, X} | 54,8 ^{B, X} |
| 2 | 21 | 5 | 100 ^A | 69,6 ^B | 71,2 ^A | 63,3 ^A |
| | | 10 | 100 ^A | 63,5 ^{A, X} | 70,1 ^{B, Y} | 61,8 ^{B, X} |
| 3 | 27 | 5 | 100 ^A | 91,9 ^A | 91,5 ^A | 73,8 ^A |
| | | 10 | 100 ^A | 94,0 ^{A, Y} | 86,7 ^{A, Z} | 74,5 ^{A, Y} |

Indexy v řádcích: ^A nevýznamný rozdíl, ^B významný pokles obsahu SPM v tepelně upravené roštěné v porovnání se syrovou na $P < 0,05$.

Indexy ve sloupcích: rozdílné indexy ^{X, Y, Z} udávají významné rozdíly mezi jednotlivými roštěnými. Rozdíly byly testovány pro každou roštěnou po 5 a 10 dnech uložení na $P < 0,05$.

ELIASSEN ET AL. (2002) uvádí průměrnou hodnotu SPM v syrovém hovězím masu 27,3 mg.kg⁻¹, zatímco v smaženém hovězím uvádí 30,3 mg.kg⁻¹. U svíčkové jsou hodnoty SPM v syrové masu v porovnání se smaženým 17,0 mg.kg⁻¹ a 26,7 mg.kg⁻¹. U hovězího

mletého masa uvádějí hodnoty obsahu SPM pro syrové $20,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ a $29,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ pro smažené hovězí. Zřejmě však šlo o vzorky různého původu. Podle ELIASSENA ET AL. (2002) tepelné úpravy potravin nemají podstatný vliv na změnu obsahu polyaminů.

5.3. Změny obsahu PA ve vepřových ledvinách a obsah PA ve vepřové slezině

Ledviny savců jsou párový orgán. Jejich tkáň jsou zřetelně rozděleny na hnědočervenou zrnitou kůru (cortex renalis) a světlejší dřev (medulla renalis). Ledviny (stejně jako všechny měkké orgány) pracují s velkou metabolickou rezervou. To znamená, že v daný okamžik metabolizuje jen malá část orgánu a zbytek odpočívá, regeneruje. Metabolizující buňky jsou rozloženy v ledvinách rovnoměrně, nestává se, že by metabolizovala pouze část ledvin a zbytek regeneroval. Z tohoto důvodu je možné předpokládat, že nejsou rozdíly v obsahu a v rozložení polyaminů.

Patří k vnitřním orgánům, které jsou využívány i pro kulinářské účely.

5.3.1. Ověření rovnoměrného rozložení polyaminů v párových ledvinách

Pro ověření rovnoměrnosti rozložení polyaminů v párových ledvinách bylo použito osm párů ledvin. Z každé ledviny byly odstraněny močovody, následně byla rozmixována a z homogenní masy byl odebrán vzorek. Výsledky pokusů jsou uvedeny v tab. 5.7. Na hladině $P < 0,05$ nejsou v obsahu polyaminů rozdíly.

Tab. 5.7 Porovnání obsahu SPD a SPM v osmi párových ledvinách.

| | Obsah spermidinu ($mg.kg^{-1}$) | | | | Obsah sperminu ($mg.kg^{-1}$) | | | |
|---|-----------------------------------|-------|--------|-------|---------------------------------|-------|--------|-------|
| | levá | pravá | průměr | S_x | levá | pravá | průměr | S_x |
| 1 | 6,91 | 7,77 | 7,34 | 0,43 | 41,65 | 45,17 | 43,41 | 1,76 |
| 2 | 7,55 | 8,04 | 7,79 | 0,24 | 34,10 | 34,63 | 34,36 | 0,27 |
| 3 | 10,50 | 10,39 | 10,44 | 0,06 | 50,18 | 48,60 | 49,39 | 0,79 |
| 4 | 14,62 | 13,71 | 14,16 | 0,45 | 60,81 | 56,92 | 58,87 | 1,95 |
| 5 | 14,56 | 14,60 | 14,58 | 0,02 | 65,67 | 65,04 | 65,35 | 0,32 |
| 6 | 15,08 | 16,73 | 15,91 | 0,82 | 67,86 | 84,04 | 75,95 | 8,09 |
| 7 | 17,74 | 16,35 | 17,04 | 0,69 | 88,49 | 78,88 | 83,69 | 4,80 |
| 8 | 15,43 | 15,59 | 15,51 | 0,08 | 61,56 | 63,49 | 62,53 | 0,96 |

S_x -směrodatná odchylka

5.3.2. Ověření rovnoměrného rozložení polyaminů ve vepřové ledvině

Ledviny byly odebírány ze stejné strany poražených vepřových těl. V laboratoři byly nejdříve z podélně rozříznuté ledviny odstraněny močovody, následně byla ledvina

Tab.5.8 Rozložení obsahu SPD a SPM ve vepřové ledvině

| Ledvina | | Obsah polyaminů ($mg.kg^{-1}$) | | | | Průměr ($mg.kg^{-1}$) | Směr. odch. |
|---------|-----|----------------------------------|-------|-------|-------|----------------------------|----------------|
| | | části | | | | | |
| | | I | II | III | IV | | |
| č. 1 | SPD | 7,51 | 7,25 | 7,12 | 6,97 | 7,21 | 0,23 |
| | SPM | 49,26 | 47,49 | 47,26 | 45,21 | 47,31 | 1,66 |
| č. 2 | SPD | 14,08 | 10,76 | 12,24 | 14,48 | 12,89 | 1,72 |
| | SPM | 61,71 | 45,57 | 51,04 | 59,95 | 53,82 | 8,83 |
| č. 3 | SPD | 11,91 | 12,01 | 12,93 | 11,74 | 12,23 | 0,53 |
| | SPM | 48,46 | 54,27 | 54,94 | 49,43 | 52,88 | 3,30 |

rozdělena příčným řezem na čtyři přibližně stejné části.

V tabulce 5.8. jsou uvedeny hodnoty obsahu SPD a SPM v každé části ledviny. Na hladině $P < 0,05$ jsou rozdíly bezvýznamné.

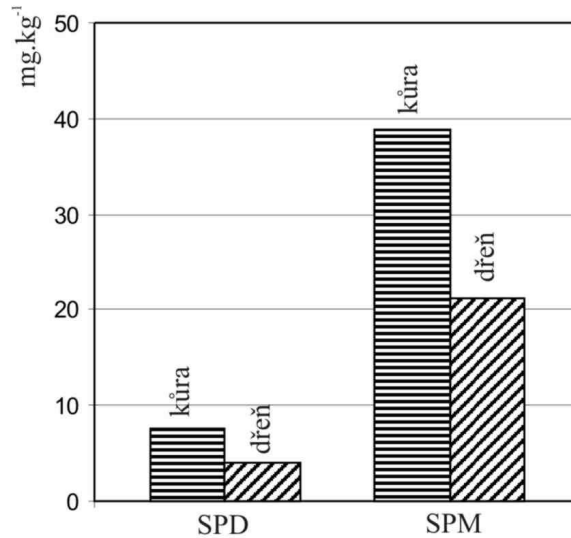
5.3.3. Zjišťování rozložení polyaminů v kůře a dřeni vepřové ledviny

Rozložení SPD a SPM v kůře a dřeni ledvin bylo zjišťováno u dvou párů ledvin. Z podélně rozříznuté ledviny byla odstraněna ledvinová pánvička (sběrač moče) a následně velmi opatrně vyříznuta dřev, která tvoří asi 5 % celkové hmotnosti ledviny. Výsledky obsahu polyaminů v kůře a dřeni ledvin jsou uvedeny v tabulce 5.9. Na hladině $P < 0,05$ jsou rozdíly obsahu polyaminů v těchto dvou částech ledviny významné. V dřeni vepřových ledvin je obsah polyaminů podstatně nižší — přibližně poloviční — v porovnání s kůrou ledvin (obr. 5.7). Význam tohoto rozdílu pro dietu z hlediska příjmu polyaminů je zanedbatelný až žádný. Dřev se nachází v bezprostřední blízkosti močovodů. Při kuchyňské úpravě ledvin se většina dřevě vyřízne spolu s ledvinovou pánvičkou.

Tab. 5.9 Rozložení SPD a SPM ($mg.kg^{-1}$) v kůře a dřeni vepřových ledvin.

| | 1. ledvina | | | | 2. ledvina | | | |
|----------|------------|-------|--------------|-------------|------------|-------|--------------|-------------|
| | levá | pravá | průměr | S_x | levá | pravá | průměr | S_x |
| SPD-kůra | 6,91 | 7,77 | 7,34 | 0,60 | 7,55 | 8,04 | 7,79 | 0,34 |
| SPD-dřev | 4,70 | 4,65 | 4,68 | 0,03 | 2,84 | 3,57 | 3,21 | 0,52 |
| SPM-kůra | 41,65 | 45,17 | 43,41 | 2,49 | 34,10 | 34,63 | 34,36 | 0,38 |
| SPM-dřev | 28,26 | 27,69 | 27,97 | 0,40 | 12,58 | 16,52 | 14,55 | 2,79 |

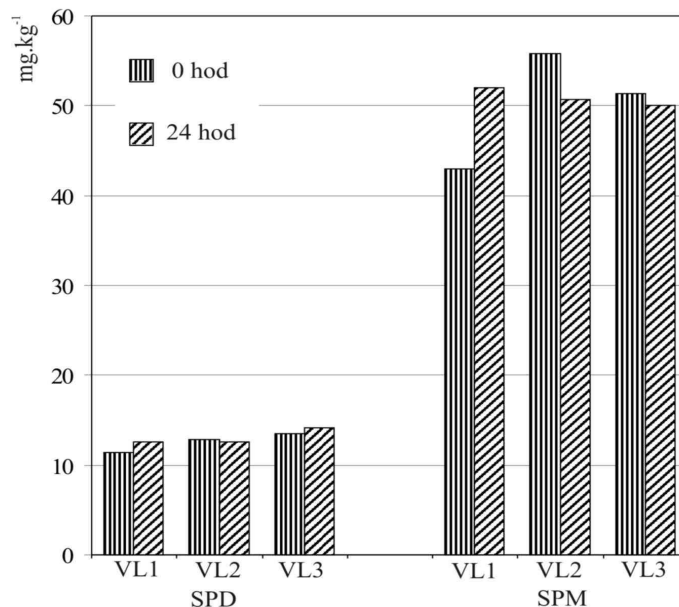
S_x směrodatná odchylka

Obr. 5.7 Rozdíly obsahu SPD a SPM v kůře a dřeni ledvin.

5.3.4. Zjišťování změn obsahu polyaminů v ledvinách v průběhu 24 hodin po porážce

Z důvodu velkých postmortálních biochemických změn v živočišných tkáních byly na třech ledvinách zjišťovány změny obsahu polyaminů v průběhu 24 hodin. Obr. 5.8 je záznamem obsahu polyaminů krátce po porážce (cca 3 hod) a po 24 hod po porážce. Na hladině $P < 0,05$ ke změně obsahu polyaminů v ledvinách nedošlo.

Údaje literatury o obsahu polyaminů a změnách během skladování vepřových ledvin chybějí. MOREIRA ET AL. (2008) zjišťovali změny obsahu polyaminů v kuřecích prsou hned po porážce a 8 hod po porážce. Zjistili nárůst obsahu SPD ($6,27 \text{ mg.kg}^{-1} \rightarrow 27,4 \text{ mg.kg}^{-1}$) i SPM ($29,5 \rightarrow 38,7 \text{ mg.kg}^{-1}$).

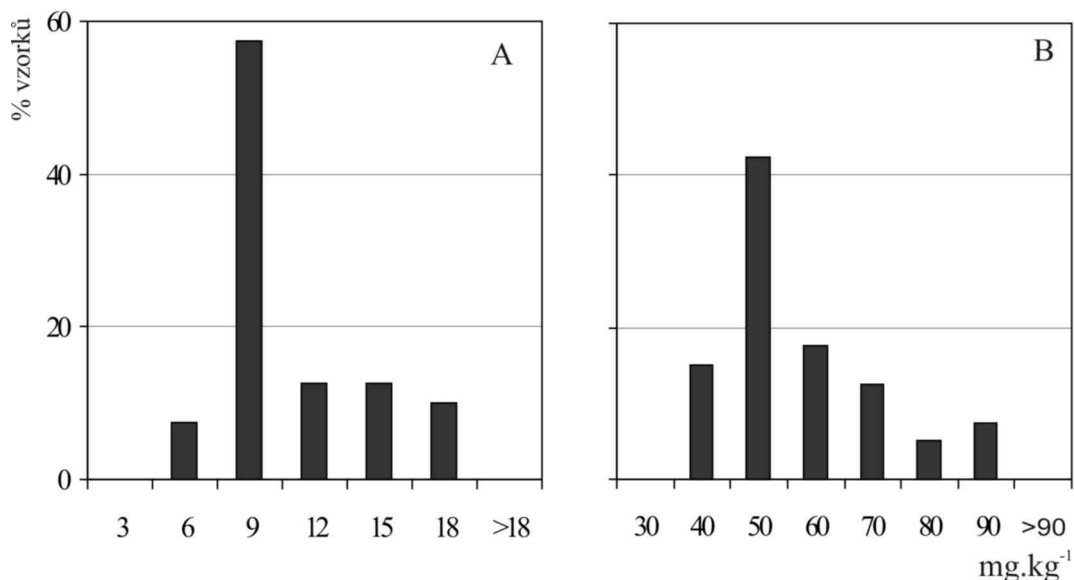
Obr. 5.8 Změny obsahu spermidinu a sperminu (mg.kg^{-1}) ve vepřových ledvinách v průběhu 24 hod po porážce.

5.3.5. Obsah PA v ledvinách po porážce

Průměrný obsah polyaminů po porážce byl stanoven na souboru 40 vepřových ledvin, odebíraných vždy ze stejné strany těla poraženého zvířete. Zároveň byly zjišťovány rozdíly obsahu polyaminů mezi vepříky a prasničkami. Průměrný obsah SPD 24 hodin po porážce byl $9,39 \pm 3,35 \text{ mg.kg}^{-1}$ s rozptylem 5,67—17,7 mg.kg^{-1} a mediánem 7,97 mg.kg^{-1} . Průměrný obsah SPM 24 hod po porážce byl $53,1 \pm 14,03 \text{ mg.kg}^{-1}$, s rozptylem 32,8—88,5 mg.kg^{-1} a mediánem 47,9 mg.kg^{-1} . Výsledky jsou zobrazeny na histogramech v obr. 5.9. Obsah spermidinu se nejčastěji pohyboval v intervalu 6–9 mg.kg^{-1} a sperminu 40—50 mg.kg^{-1} . Tyto hodnoty jsou o něco nižší než uvádějí VILLANUEVA-VALERO ET AL. (2005). V devíti analyzovaných vzorcích ledvin zjistili v průměru 18,6 mg.kg^{-1} spermidinu a 72,2 mg.kg^{-1} sperminu. Rozdíly v obsahu polyaminů mezi pohlavími nebyly zjištěny. Byla však zjištěna pozitivní korelace ($P < 0,05$) mezi obsahem spermidinu a sperminu ve vzorcích.

Z výsledků vyplývá, že vepřové ledvinky patří mezi potravinové suroviny s vyšším obsahem polyaminů.

Obr. 5.9 Rozložení četnosti (% vzorků) SPD (A) a SPM (B) ve vepřových ledvinách (n=40).



5.3.6. Vliv chladiřenského skladování vepřových ledvin za různých podmínek

K tomuto stanovení bylo na jatkách odebráno 6 párů ledvin. Pro zjištění změn obsahu polyaminů při aerobním uskladnění bylo využito 6 ledvin vždy ze stejné strany zvířete a 6 párových ledvin z opačné strany zvířete bylo použito pro zjištění změn obsahu polyaminů při vakuovém uložení.

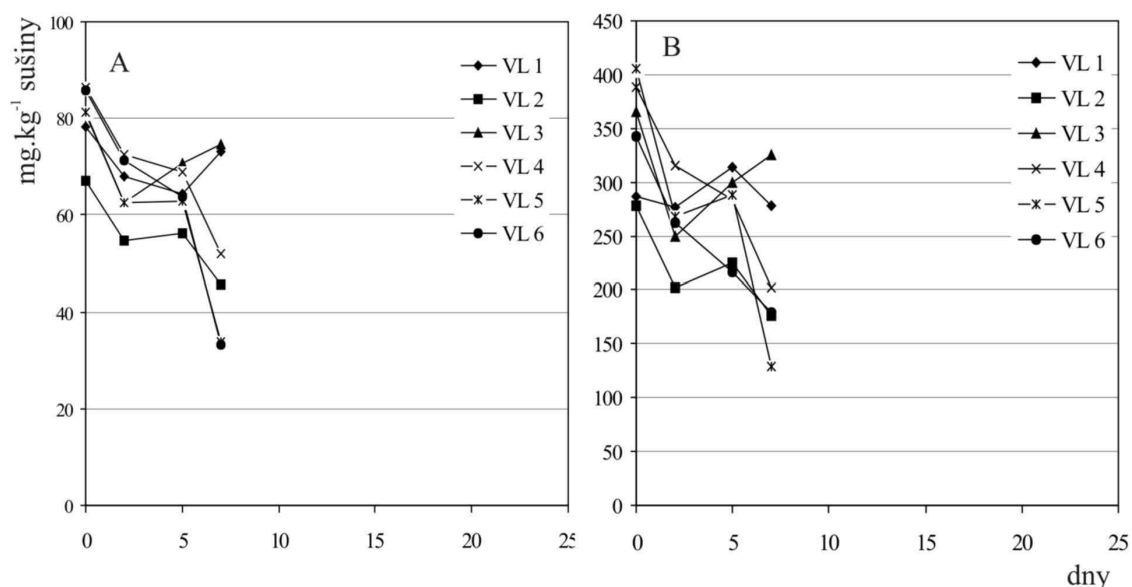
5.3.6.1. aerobní uložení – ledviny byly zabalený do polyetylenového sáčků a uloženy do chladničky na 7 dnů. Při každém stanovení obsahu polyaminů v časové řadě 0-2-5-7 dnů byl stanoven zároveň i obsah sušiny v každé ledvině (tab. 5.10).

Změny obsahu polyaminů jsou zobrazeny na obr. 5.10, a to pro SPD v grafu A a pro SPM v grafu B. U tří ledvin obsah polyaminů prudce klesal, u dalších tří byl úbytek obou polyaminů mírnější. Obsah obou polyaminů poklesl v průměru na přibližně 60 % výchozích hodnot. V porovnání s poklesem na 70–75 % u vepřových jater, které uvádějí KRAUSOVÁ ET AL. (2008), byl pokles obsahu polyaminů u ledvin o něco výraznější. Relativní změny obsahu polyaminů jsou zobrazeny grafy na obr. 5.11.

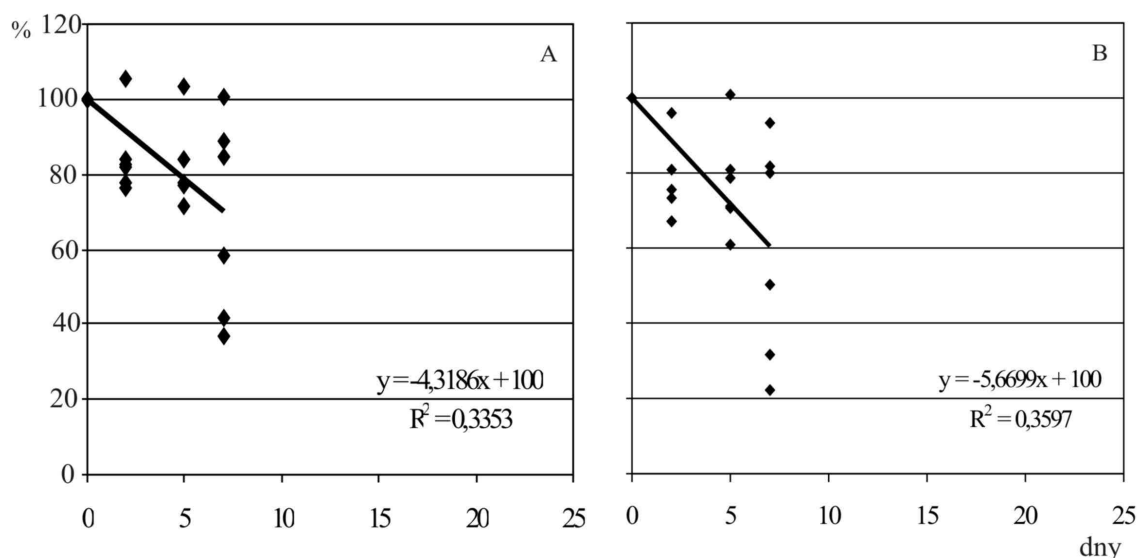
Tab. 5.10 Hodnoty sušiny vepřových ledvin při aerobním uložení.

| Hodnoty sušiny % | | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| Doba skladování (dny) | | | | |
| | 0 | 2 | 5 | 7 |
| VL 1 | 17,47 | 17,46 | 16,89 | 16,84 |
| VL 2 | 21,83 | 22,09 | 21,85 | 21,73 |
| VL 3 | 17,96 | 17,73 | 17,29 | 17,30 |
| VL 4 | 16,97 | 17,06 | 16,59 | 17,24 |
| VL 5 | 20,83 | 21,69 | 20,85 | 22,03 |
| VL 6 | 18,76 | 17,53 | 17,89 | 18,15 |

Obr 5.10 Změny obsahu SPD (A) a SPM (B) v při aerobním uložení ledvinek ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny).



Obr. 5.11 Relativní změny obsahu SPD (A) a SPM (B) (v % z výchozího obsahu) při aerobním uložení ledvinek.

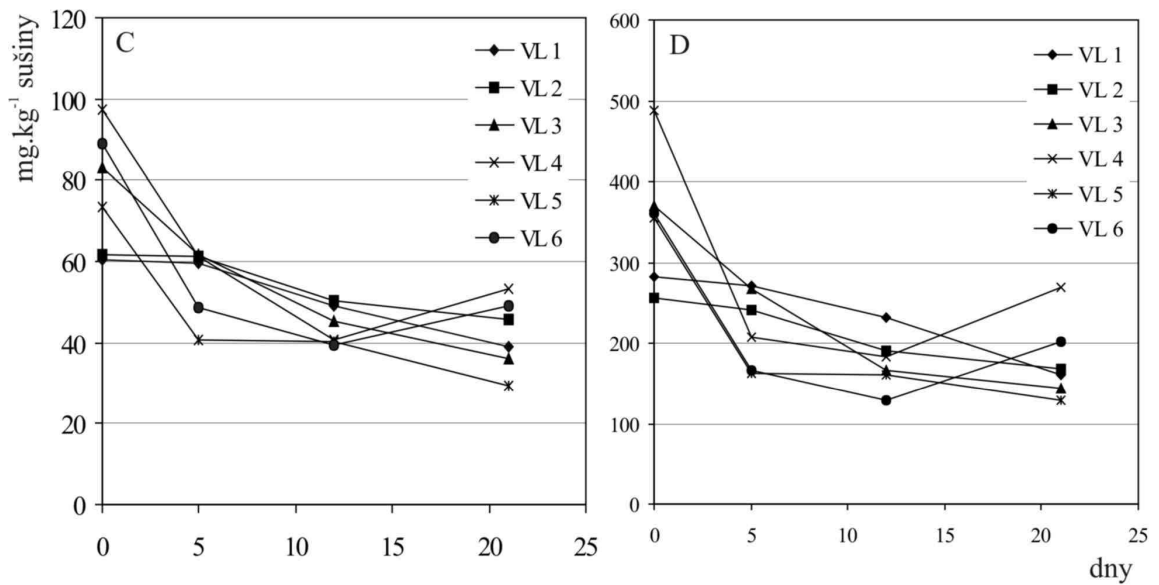


5.3.6.2. uložení ve vakuu – použita byla druhá z párových ledvin u aerobního uložení. Ledviny byly přímo na jatkách naporcovány na přibližně 4 stejné části a zabaleny (kap. 4.4.2.). Obsah sušiny je uveden v tab. 5.11. Změny obsahu polyaminů jsou zobrazeny na obrázku 5.12. Z grafů je patrné, že pokles obsahu polyaminů při uložení ve vakuu byl pozvolnější, za prvních 5 dní poklesl obsah obou polyaminů na přibližně 75–80 % výchozí hodnoty. Po 21 dnech představoval úbytek polyaminů přibližně 50 % výchozí hodnoty. Relativní změny obsahu jsou zobrazeny na obr. 5.13.A pro SPD a 5.13.B pro SPM.

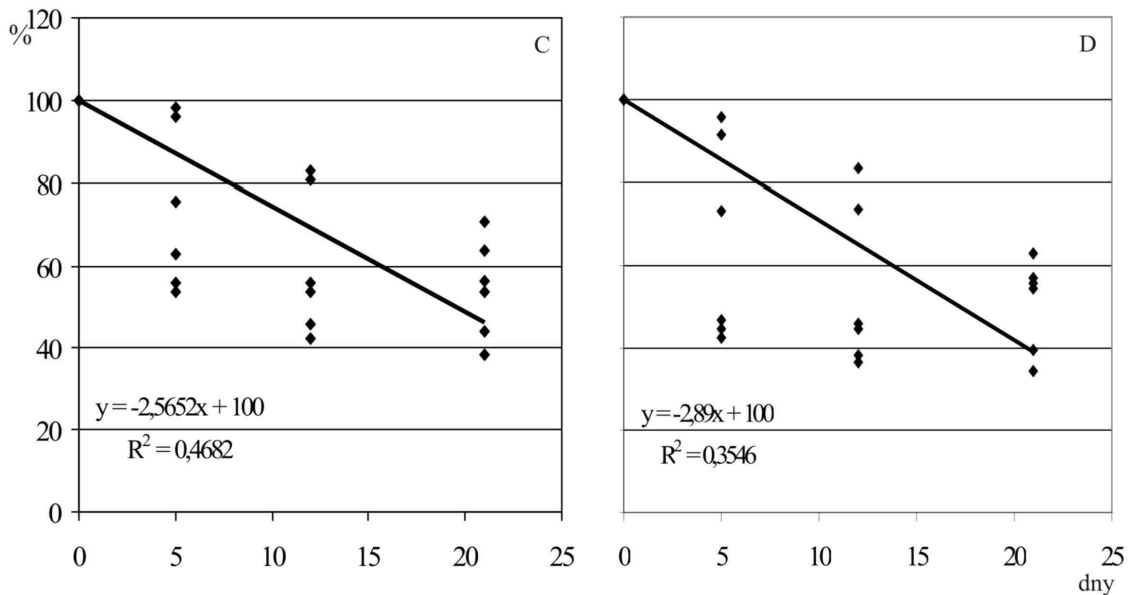
Tab. 5.11 Hodnoty obsahu sušiny vepřových ledvinek skladovaných ve vakuu.

| Hodnoty sušiny % | | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| Doba skladování (dny) | | | | |
| | 0 | 5 | 12 | 21 |
| VL 1 | 17,21 | 17,18 | 17,51 | 16,93 |
| VL 2 | 22,21 | 21,53 | 21,93 | 21,24 |
| VL 3 | 17,56 | 17,84 | 18,07 | 17,89 |
| VL 4 | 16,57 | 17,56 | 16,87 | 17,54 |
| VL 5 | 21,53 | 21,35 | 20,47 | 21,83 |
| VL 6 | 18,26 | 17,22 | 17,95 | 18,47 |

Obr. 5.12 Změny obsahu SPD (C) a SPM (D) při vakuovém uložení ledvinek (mg.kg^{-1} sušiny).



Obr. 5.13 Relativní změny obsahu SPD (C) a SPM (D) (v % z výchozího obsahu) při skladování ledvinek ve vakuu.



V pěti ze šesti experimentů ke konci doby uložení byl zjištěn v ledvinkách PUT na hranici detekce. Pokles obsahu polyaminů byl signifikantní pro obě uložení.

V jediných dostupných údajích v literatuře (VILLANUEVA-VALERO ET AL., 2005), byl pokles obsahu SPD a SPM vakuově balených ledvinek uložených 6 dnů při 0, 3 a 7 °C v průměru stejný nebo ještě o něco prudší než námi zjištěný.

Pokles obsahu polyaminů v ledvinách byl vyšší než u vepřových jater, které byly skladovány za podobných podmínek. Pravděpodobně je to způsobené velikostí vepřových

ledvin, které jsou podstatně menší než játra a bakteriální kontaminace je tedy mnohem snazší. Je možné také očekávat rozdílnou aktivitu enzymů polyaminoxidáz, které degradují polyaminy (SEILER, 2004). Tím je pravděpodobně možné vysvětlit velké rozdíly poklesu obsahu polyaminů u jednotlivých vzorků. Pokles obsahu polyaminů byl signifikantní pro obě uložení na hladině $P < 0,05$.

5.3.7. Vliv tepelných úprav vepřových ledvin

Pět párů vepřových ledvin, vzhledem k jejich poměrně malému využití pro dietu, bylo tepelně upravených pouze dušením. Kuchyňské úpravy byly prováděny první a sedmý den po porážce. V tabulce 5.12. jsou uvedeny obsahy sušiny čerstvých i dušených ledvin. Hodnoty obsahu sušiny v dušených ledvinách v porovnání se sušinou čerstvých ledvin jsou znatelně vyšší.

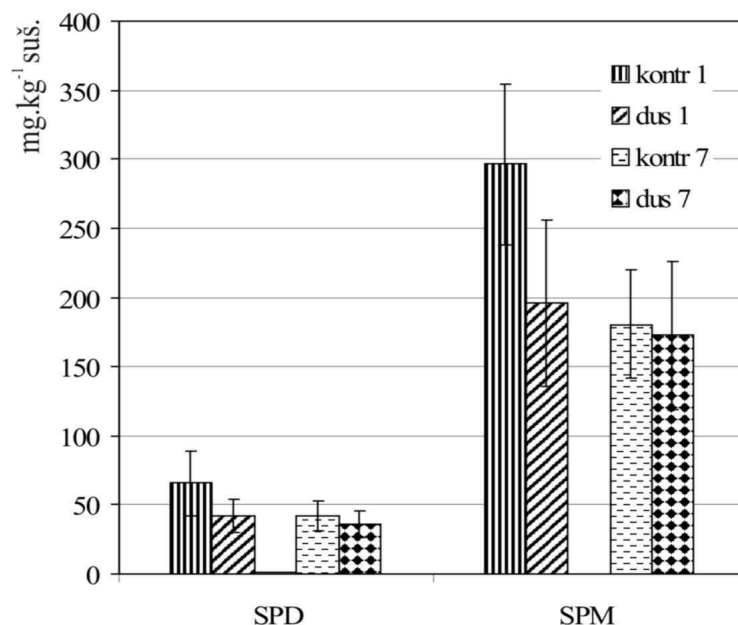
Tab. 5.12 Hodnoty sušiny čerstvých a tepelně upravených vepřových ledvin.

| | Hodnoty sušiny (%) | | | |
|---|--------------------|----------------|------------------|----------------|
| | 1. den | | 7. den | |
| | Čerstvé ledviny | Dušené ledviny | Čerstvé ledviny. | Dušené ledviny |
| 1 | 18,41 | 28,54 | 18,27 | 28,54 |
| 2 | 17,85 | 30,69 | 17,67 | 30,69 |
| 3 | 19,16 | 31,92 | 19,19 | 31,92 |
| 4 | 20,62 | 32,90 | 20,71 | 32,89 |
| 5 | 21,22 | 33,48 | 20,37 | 30,16 |

Průměrný pokles obsahu polyaminů vlivem kuchyňských úprav byl v první den u SPD na 64,2 % a u SPM na 66 % obsahu v čerstvých ledvinách. V sedmý den obsah SPD v dušených ledvinách poklesl na 85,1 % a SPM na 95,5 % výchozích hodnot v sedmý den. Pokles obsahu polyaminů byl statisticky významný u kuchyňských úprav v první den, ale nevýznamný v sedmý den na $P < 0,05$. I přesto, že ztráty v důsledku kuchyňských úprav u ledvin byly sedmý den nevýznamné, celkově byl pokles polyaminů způsobený skladováním vysoký, což má za následek, že absolutní obsah polyaminů byl u dušených ledvin po sedmi dnech podstatně nižší než v ledvinách kuchyňsky upravených 24 hodiny po porážce. Změny obsahu polyaminů vlivem dušení v porovnání s čerstvými ledvinami jsou zobrazeny na obr. 5.14.

Ve vývaru ani v namáčecích lázních nebyl detekován žádný z polyaminů.

Obr. 5.14 Změna obsahu SPD a SPM (mg.kg^{-1} suš.) v dušených ledvinách v 1. a 7. den kuchyňských úprav.



V podobném pokusu s vepřovými játry (KRAUSOVÁ ET. AL., 2007) nebyla zjištěna výrazná ztráta polyaminů v průběhu šesti skladovacích dnů, ztráty obsahu polyaminů vlivem kuchyňských úprav byly v první i šestý den přibližně stejné.

5.3.8. Obsah PA ve vepřové slezině po porážce

Přestože slezina není kulinárně zajímavá, pro získání komplexnějších informací o obsahu polyaminů ve vnitřnostech bylo analyzováno i 10 vzorků sleziny. Výsledky jsou zaznamenány v tabulce 5.13.

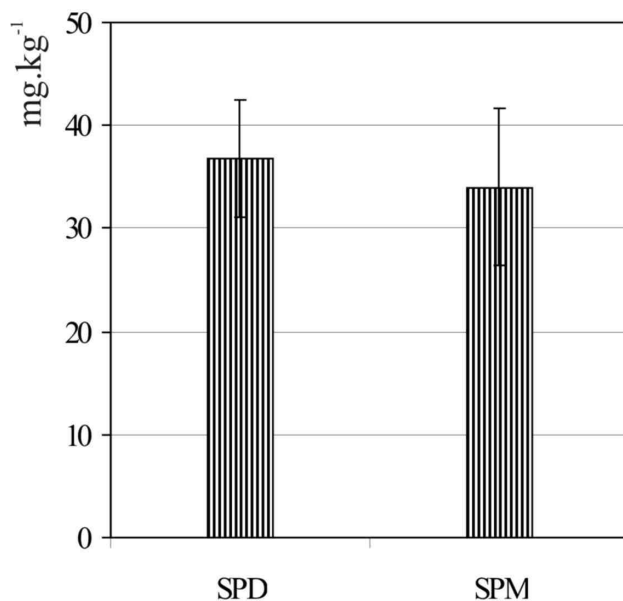
Tab. 5.13 Průměrný obsah SPD a SPM (mg.kg^{-1}) ve vepřové slezině.

| Vepřová slezina | | |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | SPD (mg.kg^{-1}) | SPM (mg.kg^{-1}) |
| obsah | 36,7 | 34,0 |
| směrodatná odchylka | 5,70 | 7,64 |
| medián | 36,3 | 31,4 |
| rozptyl | 30,2—51,9 | 25,3—53,6 |

Jediné publikované hodnoty uvádějí VILLANUEVA-VALERO ET AL. (2005). Ve třech vzorcích udávají průměrný obsah SPD $56 \pm 2.7 \text{ mg.kg}^{-1}$ a SPM $78 \pm 3.4 \text{ mg.kg}^{-1}$.

U vnitřností všeobecně se setkáváme s velkými rozdíly obsahu mezi oběma polyaminy (KRAUSOVÁ ET AL., 2007). Podle našich výsledků však slezina má obsah obou polyaminů vzácně vyrovnaný.

Obr. 5.15 Obsah SPD a SPM (mg.kg^{-1}) ve vepřové slezině ($n = 10$).



5.4. Změny obsahu PA v kuřecím mase, kůži a vnitřnostech

Těla kuřat jsou poměrně malá, proto bylo nezbytné v následujících experimentech použít obě části kuřecích prsou i obě stehna. Na základě stanovení obsahu polyaminů v obou částech prsou a v obou stehnech pěti kuřat byl potvrzen předpoklad rovnoměrného rozložení polyaminů v obou částech příslušných svalů (tab. 5.14). Rozdíly v obsahu polyaminů byly statisticky nevýznamné, proto obě párové části těl byly považovány za homogenní materiál.

Tab. 5.14 Obsah polyaminů v párových částech kuřecího těla.

| | Kuřecí stehna | | Kuřecí prsa | |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | SPD (mg.kg ⁻¹) | SPM (mg.kg ⁻¹) | SPD (mg.kg ⁻¹) | SPM (mg.kg ⁻¹) |
| pravá strana | 10,91 ± 1,60 | 38,14 ± 4,11 | 4,03 ± 1,08 | 36,81 ± 4,35 |
| levá strana | 11,70 ± 1,40 | 39,75 ± 5,48 | 4,60 ± 0,95 | 37,04 ± 4,93 |

5.4.1. Obsah PA v kuřecím mase, kůži, játrech a srdci

Průměrný obsah spermidinu a sperminu v kuřecím masu a vnitřnostech 24 hodiny po porážce byl stanoven z těl 20 kuřat. Z každého poraženého kuřete byl odebrán prsní a stehenní sval, srdce a játra. Z deseti těl byla stažena navíc i kůže. Výsledky stanovení polyaminů ve všech vzorcích jsou uvedeny v tabulce 5.16. Obsah SPD a SPM v srdci a v kůži byl stanoven poprvé, údaje v literatuře nejsou zatím k dispozici. Obsah SPD v srdci je porovnatelný s obsahem SPD ve stehnech, obsah SPM je na hladině $P < 0,05$ významně vyšší v srdci než ve stehnech a v prsou. Obsah SPD v kůži je také porovnatelný s obsahem SPD v stehnech, ale obsah SPM je na hladině $P < 0,05$ významně nižší v kůži v porovnání s obsahem polyaminů ve stehnech i v prsou. Významné korelace ($P < 0,05$) mezi obsahem SPD a SPM byly zjištěny u kuřecích prsou, stehen, kůže a jater, nevýznamná korelace mezi obsahem SPD a SPM byla zjištěna v srdci.

Hodnoty obsahu polyaminů v kuřecích prsou podobné údajům v tab. 5.15 uvádí BALAMATSIA ET AL. (2006). ROKKA ET AL. (2004) a SILVA AND GLÓRIA (2002) uvádějí přibližně stejné hodnoty pro obsah spermidinu v kuřecích prsou a stehnech, ale v porovnání s našimi výsledky zjistili pouze poloviční obsah sperminu. Obsah SPD a SPM v kuřecích játrech je stejný jako udávají KRAUSOVÁ ET AL. (2006). MOREIRA ET AL. (2008)

uvádějí v kuřecích prsou 24 hodiny po porážce přibližně stejný obsah SPM, ale asi šestinásobně vyšší obsah SPD v porovnání s našimi výsledky.

Obsah putrescinu v kuřecím masu byl detekován pouze ojediněle na hranicích detekce.

Tab. 5.15 Průměrný obsah polyaminů v drůbežím masu, vnitřnostech a kůži 24 h po porážce.

| Materiál | Spermidin | | Spermin | |
|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Průměr ($mg.kg^{-1}$) | Median ($mg.kg^{-1}$) | Průměr ($mg.kg^{-1}$) | Median ($mg.kg^{-1}$) |
| Prsa | $4,84^A \pm 1,70$ | 4,56 | $36,78^B \pm 5,89$ | 37,38 |
| Stehna | $10,22^B \pm 2,17$ | 9,66 | $37,96^B \pm 3,69$ | 38,32 |
| Kůže | $11,37^{B,C} \pm 1,67$ | 11,07 | $24,32^A \pm 3,84$ | 23,46 |
| Játra | $48,74^D \pm 8,77$ | 48,81 | $132,7^D \pm 17,97$ | 129,5 |
| Srdce | $12,14^C \pm 3,34$ | 11,39 | $82,67^C \pm 10,36$ | 79,49 |

Hodnoty s rozdílným indexem ve sloupci jsou statisticky rozdílné ($P < 0,05$).

5.4.2. Vliv mrazírenského skladování masa

Pro určení změn obsahu polyaminů vlivem nízkých teplot byla použita těla 8 kuřat. Každé kuře bylo rozdělené na dvě části. Jedna část byla v polyetylenovém sáčku uložena do mrazicího boxu a z druhé části byly stanoveny výchozí hodnoty obsahu polyaminů v prsou a stehnech.

Po třech a osmi měsících uskladnění při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl stanoven obsah polyaminů v příslušných odpovídajících částech kuřecích těl.

Navíc byly v takto skladovaném masu stanoveny orientační hodnoty změn obsahu polyaminů vlivem kuchyňských úprav – dušením a pečením.

Hodnoty sušiny v čerstvém a zmraženém kuřecím masu jsou uvedeny v tab. 5.16. Změny v obsahu SPD a SPM v kuřecím masu uskladněném šest měsíců v mrazicím boxu při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ jsou uvedeny v tabulce 5.17. Grafické znázornění změn je na obr. 5.16.

Tab. 5.16 Hodnoty sušiny v čerstvém a zmraženém kuřecím masu.

| | Sušina (%) | | | | | | | |
|---------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Kuřecí prsa | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| čerstvá | 25,15 | 23,98 | 24,40 | 25,15 | 24,74 | 24,88 | 25,10 | 24,09 |
| po 3 měsících | 26,41 | 24,00 | 23,88 | 26,00 | - | - | - | - |
| po 6 měsících | - | - | - | - | 24,73 | 25,58 | 26,34 | 23,73 |
| | Kuřecí stehna | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | čerstvá | 25,93 | 23,11 | 23,77 | 22,74 | 25,38 | 22,33 | 27,61 |
| po 3 měsících | 23,12 | 27,22 | 22,39 | 23,99 | - | - | - | - |
| po 6 měsících | - | - | - | - | 23,15 | 24,85 | 24,53 | 22,65 |

Tab. 5.17 Průměrný počáteční obsah PA v čerstvých kuřecích prsou a stehnech ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a relativní změny v obsahu PA (% počáteční hodnoty) v kuřecím masu uskladněném při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

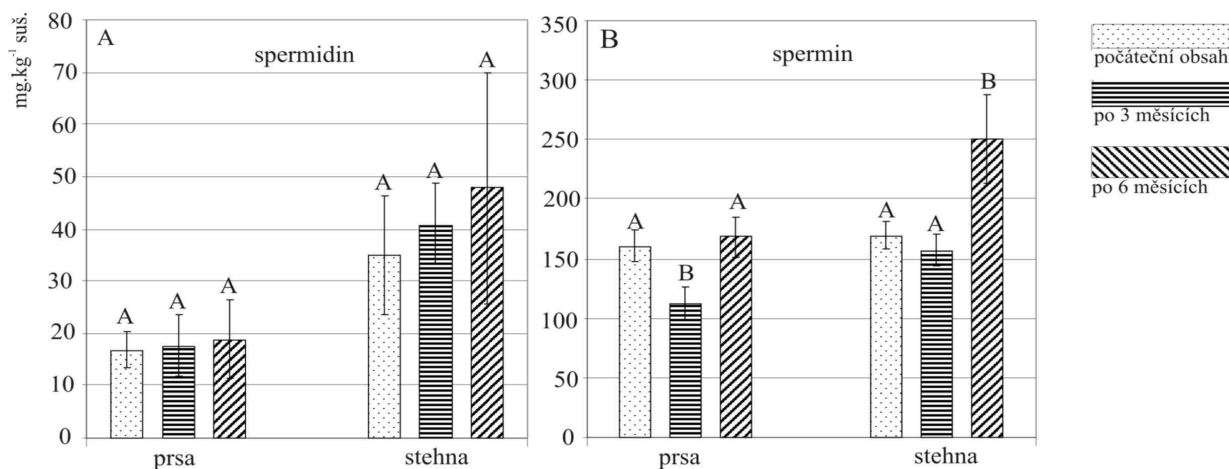
| | Spermidin | Spermin |
|-------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Prsa | | |
| Počáteční hodnota (n=8) | 4,15 ± 0,88 (100 ^A) | 39,55 ± 3,57 (100 ^A) |
| Po třech měsících (n=4) | 95,8 ^A ± 10,0 | 72,6 ^B ± 13,8 |
| Po šesti měsících (n=4) | 124,0 ^A ± 17,6 | 103,0 ^B ± 13,1 |
| Stehna | | |
| Počáteční hodnota (n=8) | 8,52 ± 1,54 (100 ^A) | 41,24 ± 3,26 (100 ^A) |
| Po třech měsících (n=4) | 119,5 ^A ± 17,7 | 91,5 ^A ± 12,2 |
| Po šesti měsících (n=4) | 169,2 ^A ± 48,8 | 151,2 ^B ± 22,9 |

Hodnoty s rozdílným indexem ve sloupci jsou statisticky rozdílné na hladině $P < 0,05$.

Porovnáním hodnot obsahu polyaminů u hovězího (kap. 5.1) a kuřecího masa dlouhodobě uloženého při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ se ukazuje, že průběh změn obsahu polyaminů je opačný. Zatímco u hovězí roštěné byl první tři měsíce zaznamenán nárůst a další tři měsíce pokles obsahu sperminu, u kuřecího masa je tomu právě opačně: po třech měsících byl zaznamenán pokles a po půl roce nárůst obsahu polyaminů.

MOREIRA ET AL. (2008) při sledování změn obsahu polyaminů v kuřecích prsou při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ během 89 dnů zaznamenali rapidní pokles obsahu obou polyaminů (SPD: 27,4 → 8,0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a SPM: 38,7 → 7,42 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, tj. až na 20 % výchozích hodnot).

Obr. 5.16 Grafické vyjádření změn obsahu SPD (A) a SPM (B) v kuřecích prsou a stehnech ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš.) během uskladnění při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ v porovnání s počátečními hodnotami.



Důvody zvýšení obsahu polyaminů v kuřecím masu během mrazírenského skladování jsou stejně nejasné jako u hovězího masa. Snaha o vysvětlení tohoto jevu vede ke stejné hypotéze jako v kapitole 5.1.1.

5.4.3. Vliv chladírenského skladování kuřecího masa za různých podmínek

Při testování vlivu chladírenského uskladnění na kuřecí maso byla pro každý způsob uložení použita prsa ze tří kuřat.

5.4.3.1. aerobní uskladnění – po přivezení do laboratoře byl ihned z kuřecích prsou odebrán vzorek na první analýzu. Zbytek prsou byl zabalen do polyetylénového sáčku a uložen do chladničky při cca $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následné extrakce polyaminů byly provedeny v časové řadě 1-2-5-9 dnů. Hodnoty sušiny stanovené při každé analýze jsou uvedeny v tab. 5.18. Změny obsahu SPD a SPM v čase jsou zobrazeny na obr. 5.16.A a obr. 5.18.A. Příslušné relativní změny obsahu SPD zobrazuje obr. 5.17.A a SPM obr. 5.19.A.

Tab. 5.18 Hodnoty sušiny kuřecího masa (prsa třech zvířat) při aerobním uložení.

| | Hodnoty sušiny (%) | | | | |
|------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 5 | 9 |
| KP1 | 25,38 | 24,50 | 24,28 | 23,70 | 24,85 |
| KP2 | 25,01 | 25,07 | 24,87 | 24,47 | 25,09 |
| KP3 | 25,73 | 25,45 | 25,53 | 26,30 | 26,28 |

5.4.3.2. vakuové uložení – kuřecí prsa byla nakrájena na 6 částí a zabalena přímo na výrobní lince (kap. 4.4.2). Takto ošetřené maso bylo uloženo do chladničky a analyzováno ve dnech 2-5-9-15-21. Dynamika změn obsahu SPD je zaznamenána na obr. 5.16.B a SPM na obr. 5.18.B. Výsledky relativních změn obsahu SPD a SPM jsou uvedeny v obr. 5.17.B a 5.19.B. Změny byly nevýznamné pro SPD a významné pro SPM na $P < 0,05$. Hodnoty sušiny vakuově balených kuřecích prsou jsou uvedeny v tab. 5.19.

Tab. 5.19 Hodnoty sušiny kuřecích masa (prsa třech zvířat) při vakuovém uložení.

| | Hodnoty sušiny (%) | | | | | |
|-----|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | | |
| | 0 | 2 | 5 | 9 | 15 | 21 |
| KP1 | 25,35 | 25,32 | 25,24 | 25,80 | 26,13 | 25,15 |
| KP2 | 25,37 | 24,91 | 25,29 | 25,10 | 26,44 | 25,29 |
| KP3 | 25,76 | 25,57 | 25,85 | 25,65 | 26,70 | 25,53 |

5.4.3.3. uložení v ochranné atmosféře – stejně jako v předešlém případě, kuřecí prsa byla zabalena do ochranné atmosféry přímo na výrobní lince (kap. 4.4.3.). Maso bylo uloženo do chladničky a analyzováno ve stejné časové posloupnosti jako vakuově balené vzorky. Hodnoty sušiny kuřecích prsou balených do ochranné atmosféry jsou uvedeny v tab. 5.20. Dynamika změn obsahu SPD a SPM v čase je zobrazena v obr. 5.16.C a obr. 5.18.C. Relativní změny obsahu SPD jsou zaznamenány na obr. 5.17.C a SPM na obr. 5.19.C. Změny byly statisticky nevýznamné pro SPD a významné pro SPM na hladině $P < 0,05$.

Tab. 5.20 Hodnoty sušiny kuřecího masa (prsa třech zvířat) uložení v ochranné atmosféře.

| | Hodnoty sušiny (%) | | | | | |
|-----|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Doba skladování (dny) | | | | | |
| | 0 | 2 | 5 | 9 | 15 | 21 |
| KP1 | 24,84 | 25,00 | 25,66 | 26,34 | 26,01 | 23,96 |
| KP2 | 24,59 | 24,87 | 25,23 | 25,57 | 26,24 | 25,07 |
| KP3 | 24,48 | 24,52 | 24,72 | 25,89 | 25,75 | 25,66 |

Všeobecně je možno říci, že obsah SPD u všech typů uložení hodně kolísá. Zřejmě je to zapříčiněné nízkým obsahem SPD, který se pohybuje na hranici detekce. Tyto hodnoty by proto měly být vnímány jen jako prvotní informace s nízkou mírou věrohodnosti. U aerobně uložených kuřecích prsou (obr. 5.16.A) došlo během devítidenního uskladnění

k mírnému poklesu obsahu SPD. Průměrný pokles obsahu SPM byl přibližně na 85 % výchozí hodnoty. Podobný průběh zjistili SILVA & GLÓRIA (2002) a BALAMATSIA ET AL. (2006) u kuřecích prsou uložených při 4 °C, pokles obsahu SPM byl však poněkud výraznější.

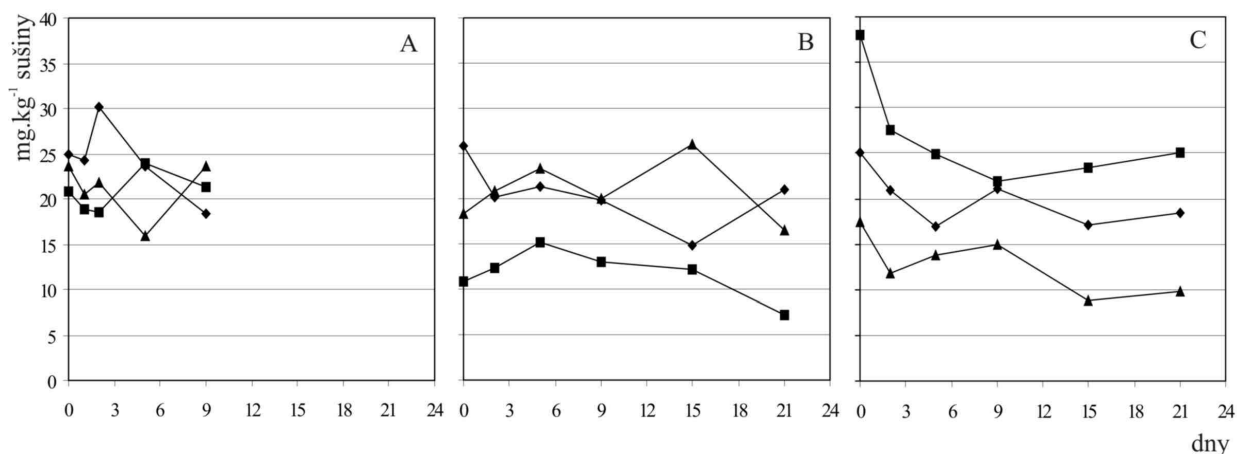
Nejvyšší rozptyl hodnot je u SPD při vakuovém uložení (obr. 5.16.B). Pokles obsahu SPD byl nevýznamný. Naopak pokles obsahu SPM (obr. 5.18.B) byl významný, a to na asi 60 % výchozí hodnoty ($P < 0,05$). Informace o vakuově uskladněném kuřecím masu v literatuře podle našich informací chybí.

Obsah obou polyaminů v kuřecích prsou balených v ochranné atmosféře poklesl pod 60 % výchozí hodnoty. Pokles byl nevýznamný pro SPD a významný pro SPM.

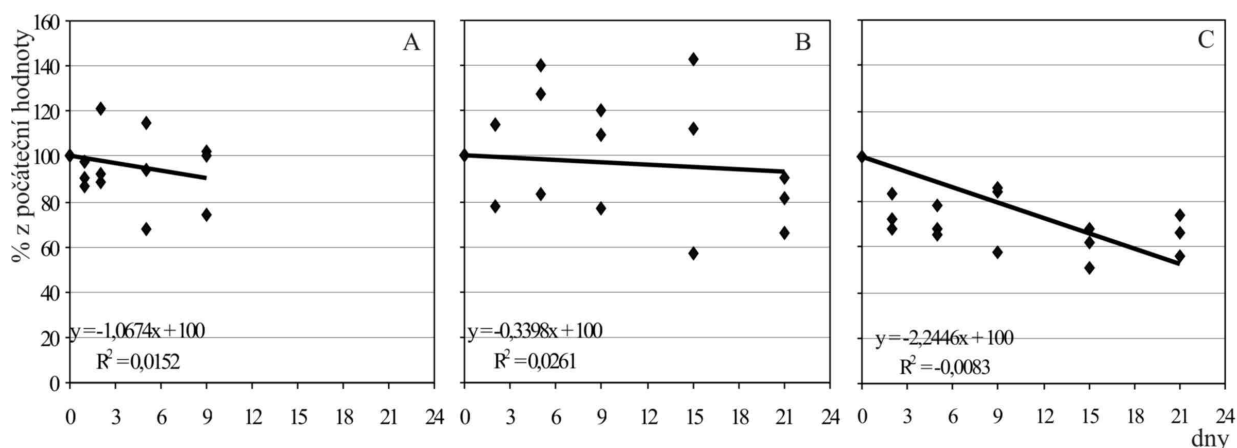
ROKKA ET AL. (2004) v ochranné atmosféře 80 % CO₂ + 20 % N₂ a při teplotě 3—8 °C, v průběhu 12 dnů nezjistil žádný pokles obsahů polyaminů u kuřecích řízků. BALAMATSIA ET AL. (2006) u kuřecích prsou uložených 17 dnů při teplotě 4 °C v ochranné atmosféře 30 % CO₂ + 70 % N₂ zjistil pokles obsahu polyaminů podobný našemu – až na 60 % výchozích hodnot.

Testování ve vakuu a v ochranné atmosféře po dobu 21 dnů umožnilo srovnat výsledky změn obsahu polyaminů v kuřecím masu se změnami v hovězí roštěné (kap. 5.1), popř. vepřové pečení (KRAUSOVÁ ET AL. 2008) uložených v příslušné ochranné atmosféře podmínek. V praxi tak dlouhé uskladnění ztrácí na významu, protože výrobce poskytuje záruku pouze na 10—11 dnů po porážce kuřat. Pokles obsahu obou PA desátý den po porážce byl u vakuového uložení a uložení v ochranné atmosféře až k 75 % z výchozích hodnot. Na hladině $P < 0,05$ je to významný pokles.

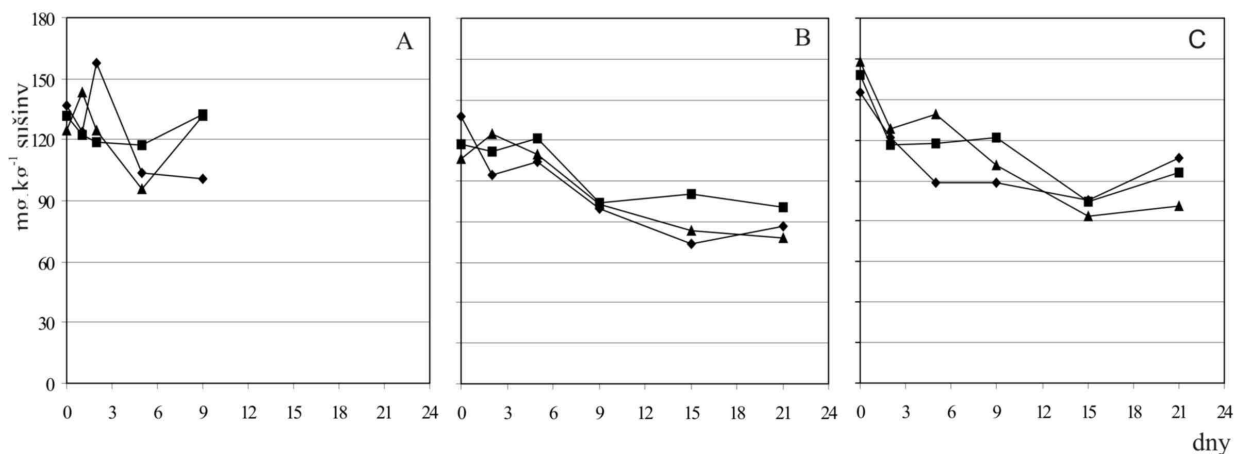
Obr. 5.16 Změny obsahu SPD v průběhu uložení kuřecího masa (prsna třech zvířat) za aerobních podmínek (A), ve vakuu (B) a v modifikované atmosféře (C).



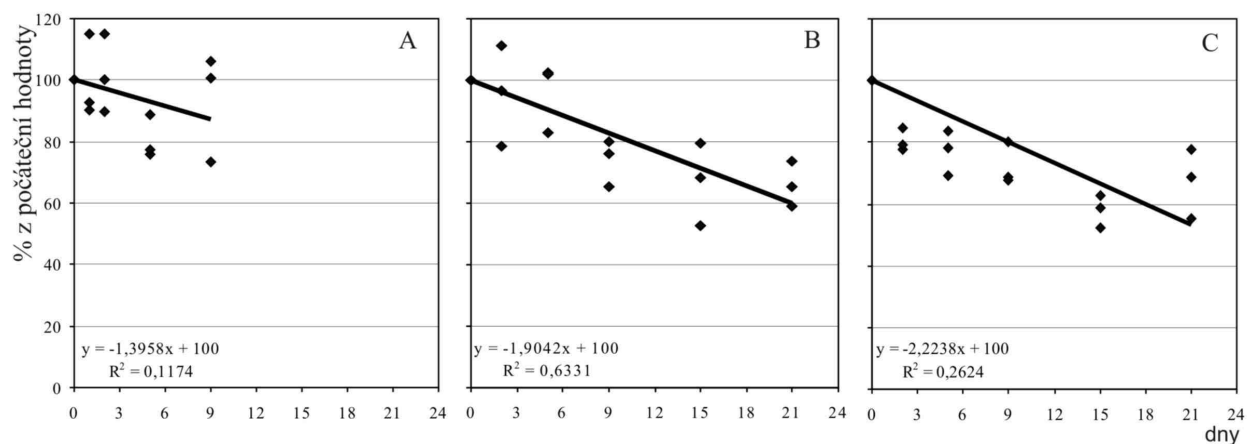
Obr. 5.17 Relativní změny obsahu SPD v průběhu uložení kuřecího masa (prsna třech zvířat) za aerobních podmínek (A), ve vakuu (B) a v modifikované atmosféře (C).



Obr. 5.18 Změny obsahu SPM v průběhu uložení kuřecího masa (prsna třech zvířat) za aerobních podmínek (A), ve vakuu (B) a v modifikované atmosféře (C).



Obr. 5.19 Relativní změny obsahu SPM v průběhu uložení kuřecího masa (prsna třech zvířat) za aerobních podmínek (A), ve vakuu (B) a v modifikované atmosféře (C).



Informace o katabolismu polyaminů v potravinových maticích uložených při nízkých teplotách v literatuře zatím nejsou. Enzymový katabolismus polyaminů v savčích orgánech

a buňkách živých organismů popsal SEILER (2004). Je však problém aplikovat jeho závěry na maso uskladněné v různých prostředích.

5.4.4. Vliv tepelných úprav masa

K tepelným úpravám bylo použité jednak maso zakoupené v obchodní síti, ale také maso dlouhodobě uskladněné při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cílem použití dlouhodobě zmraženého masa ke kuchyňským úpravám bylo získat aspoň orientační informace o kombinaci dvou účinků na maso najednou: dlouhodobého skladování a tepelných úprav.

Výsledky vlivu tepelných úprav na obsah polyaminů v kuřecím masu z obchodní sítě shrnuje tab. 5.21. Změny obsahu sušiny při tepelném zpracování jsou zaznamenány v tab. 5.20. Obsah sušiny pozoruhodně vzrostl u všech kuchyňských úprav.

V tab. 5.22 jsou zachyceny změny obsahu polyaminů vlivem kuchyňských úprav na maso dlouhodobě zmražené na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ před úpravou.

Tab. 5.20 Hodnoty sušiny kuchyňsky upraveného kuřecího masa (prsá čtyř zvířat).

| | Hodnoty sušiny (%) | | | | | |
|------------|--------------------|--------|---------------|--------|-----------|---------|
| | Čerstvé maso | Vaření | Dušení (voda) | Pečení | Grilování | Smažení |
| KP1 | 25,28 | 29,27 | 28,13 | 61,02 | 35,25 | 43,53 |
| KP2 | 24,10 | 29,41 | 28,47 | 56,46 | 34,05 | 42,45 |
| KP3 | 24,81 | 33,27 | 32,18 | 42,62 | 34,54 | 47,25 |
| KP4 | 24,79 | 30,6 | 29,33 | 42,7 | 32,6 | 43,90 |

Tab. 5.21 Relativní obsah PA v kuřecím masu (prsá čtyř zvířat) po kuchyňských úpravách.

| Kuch. úprava | Spermidin (%) | Spermin (%) |
|--------------|----------------------------|-----------------------------|
| Vaření | $78,5^{\text{A}} \pm 10,4$ | $125,2^{\text{B}} \pm 34,8$ |
| Dušení | $86,9^{\text{B}} \pm 15,8$ | $113,7^{\text{B}} \pm 2,7$ |
| Pečení | $46,8^{\text{A}} \pm 16,2$ | $52,0^{\text{A}} \pm 11,9$ |
| Grilování | $54,4^{\text{A}} \pm 19,5$ | $61,9^{\text{A}} \pm 11,4$ |
| Smažení | $67,6^{\text{A}} \pm 36,7$ | $71,8^{\text{A}} \pm 18,2$ |

Rozdílné indexy ve sloupcích udávají statisticky významné rozdíly mezi způsoby kuchyňských úprav ($P < 0,05$).

Tab. 5.22 Relativní obsah PA v kuřecím masu po tepelných úpravách – % z výchozích hodnot obsahu v syrovém masu 3 nebo 6 měsíců uskladněném při -18 °C.

| Kuch. úprava | Po 3 měsících (%) | Po 6 měsících (%) |
|------------------|-------------------------|---------------------------|
| <i>spermidin</i> | | |
| vaření | 51,9 ^A ± 4,3 | 73,1 ^A ± 8,0 |
| pečení | 42,3 ^A ± 5,7 | 44,2 ^A ± 4,3 |
| <i>spermin</i> | | |
| vaření | 93,5 ^A ± 7,7 | 105,9 ^B ± 10,7 |
| pečení | 57,5 ^A ± 3,0 | 55,4 ^A ± 7,4 |

Rozdílné indexy ve sloupcích indikují významné rozdíly mezi způsoby kuchyňských úprav ($P < 0,05$).

Z údajů v tab. 5.21 vyplývá, že — pečením, grilováním a smažením se ztrácí 30—50 % obsahu polyaminů v porovnání s čerstvým masem. Vaření a dušení se ukazuje jako nejšetrnější úprava pro zachování obsahu SPD velmi blízko obsahu v čerstvém masu. Překvapující je relativní vzestup obsahu SPM v uvařeném a dušeném masu.

Jak vidět z tab. 5.22 dlouhodobé skladování masa nemá zásadní vliv na změnu obsahu polyaminů vlivem tepelných úprav. Obsah PA po úpravách je velmi podobný jako u čerstvého masa. zopakoval se i relativní vzestup obsahu SPM po vaření.

Podobný trend byl zjištěn i u obsahu SPM ve vařených prsou zmrazených před úpravou po dobu 3 nebo 6 měsíců. Pro vysvětlení tohoto jevu je možné hledat odpověď – alespoň dílčí – v uvolňování SPM z komplexů, diskutovaném v části o mražené roštěné (kap. 5.2.1.).

Údaje v obou tabulkách potvrzují, že vyšší teplota při kuchyňských úpravách vyvolává vyšší ztráty polyaminů, než vaření nebo dušení. Nejvyšší ztráty byly zaznamenány po úpravě pečením.

Pečení bylo uvedeno jako kuchyňská úprava s největší ztrátou SPM i ve vepřové pečení (KRAUSOVÁ ET AL., 2008).

Podle hypotézy, kterou vyslovil GUGLIUCI (2004), že primární aminoskupiny polyaminů při zvýšené teplotě reagují s glukózou Maillardovou reakcí, by mohly být vyšší úbytky důsledkem této reakce.

Ve vývarech nebyl zjištěn žádný polyamin. Obsah putrescinu byl pod hranicí detekce.

6. Závěr

Údaje literatury o obsahu biologicky účinných polyaminů PUT, SPD a SPM v mase a vnitřnostech, které v bilanci příjmu potravních polyaminů představují významný podíl, jsou dosud jen kusé. Vesměš se týkají potravních surovin a často vycházejí z jen velmi malého počtu analyzovaných vzorků. Informací o vlivu skladování za různých podmínek a vlivu různých způsobů tepelného zpracování je minimum.

Cílem této disertační práce bylo vyplnit některé z těchto mezer. Práce byla zaměřena na hovězí maso, kuřecí maso a vnitřnosti a na vepřové ledviny a okrajově i na vepřovou slezinu.

Při statistickém vyhodnocování vlivu sledovaných faktorů byla použita jednotná hladina významnosti $P < 0.05$.

a) *Hovězí roštěná*

V čerstvém masu 24 h po porážce byl zjištěn pouze SPM v rozsahu 20–25 mg.kg⁻¹. Při uskladnění hovězí roštěné při -18 °C obsah SPM v prvních třech měsících významně vzrostl a ve druhé polovině doby uskladnění postupně klesal až k 70 % z výchozích hodnot. Tento úbytek byl statisticky významný. Podstata dějů při nárůstu a následném úbytku SPM vyžaduje objasnění dalším výzkumem.

Při uskladnění hovězí roštěné za chladírenských podmínek (+2 °C) hodnoty obsahu SPM zůstaly nezměněny při aerobním uložení po dobu 9 dnů a poklesly v porovnání s výchozími hodnotami maximálně o 20 % při vakuovém balení a uložení v ochranné atmosféře (70 % N₂ + 30 % CO₂ obj.) po dobu 21 dnů. Tento úbytek byl statisticky významný.

Vlivem kuchyňských úprav – vařením a dušením – poklesl obsah SPM až na 50 % výchozích hodnot. Významně se projevil věk zvířat. Nejvyšší úbytky obsahu SPM byly u nejmladšího zvířete, zatímco u nejstaršího zvířete pouze cca o 20 %. Hypotézu, že úbytky obsahu SPM vlivem tepelných úprav jsou funkcí věku zvířete, je potřeba ještě experimentálně ověřit.

b) *Vepřové ledviny a slezina*

V ledvině i slezině byly detekovány SPD a SPM. Rozložení polyaminů v párových ledvinách je rovnoměrné, významné rozdíly v obsahu polyaminů byly zjištěny mezi kůrou

a dření ledvin. Zjištěné hodnoty obsahu SPD byly v průměru $9,39 \pm 3,35 \text{ mg.kg}^{-1}$ a SPM $53,1 \pm 14,03 \text{ mg.kg}^{-1}$, což řadí ledviny mezi potravní suroviny s vysokým obsahem polyaminů.

Při chladírenském aerobním i vakuovém uskladnění ledvin došlo k výraznému poklesu obsahu obou polyaminů až o 60 %. Rovněž tepelné úpravy způsobily značný úbytek, a to až o cca 40 % z výchozích hodnot obsahu polyaminů.

Vepřová slezina patří podle zjištěných výsledků k potravním surovinám s vysokým průměrným obsahem SPD ($36,7 \pm 5,70 \text{ mg.kg}^{-1}$) i SPM ($34,0 \pm 7,64 \text{ mg.kg}^{-1}$). Takováto vyrovnanost obsahu obou polyaminů je neobvyklá.

c) Kuřecí maso a vnitřnosti:

V kuřecím masu byl detekován SPD i SPM. Obsah obou polyaminů je v různých částech těla zastoupen rozdílně. Stehna měla vyšší průměrný obsah SPD ($10,2 \text{ mg.kg}^{-1}$) než prsa ($4,8 \text{ mg.kg}^{-1}$), obsah SPM byl v prsou i stehnech přibližně stejný (kolem $37,5 \text{ mg.kg}^{-1}$). Průměrné hodnoty obsahu polyaminů v játrech (SPD $48,7 \text{ mg.kg}^{-1}$, SPM 133 mg.kg^{-1}) a srdci (SPD $12,1 \text{ mg.kg}^{-1}$, SPM $82,7 \text{ mg.kg}^{-1}$) byly vysoké, což potvrzuje údaje literatury, že obsah polyaminů v metabolicky aktivních orgánech je značný. Poměrně vysoké byly i průměrné obsahy v kůži (SPD $11,4 \text{ mg.kg}^{-1}$, SPM $24,3 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Změny obsahu polyaminů při mrazírenském skladování měly opačný průběh než u hovězí roštěné. Obsah polyaminů po prvních třech měsících uskladnění poklesl a v následujících třech měsících stoupl. Změny byly statisticky významné pouze pro SPM v kuřecích stehnech, obdobný trend změn obsahu SPM byl zřejmý i u prsou. Hodnoty obsahu SPD byly značně rozkolísané, je proto těžké vysledovat trend změn. Změny obsahu polyaminů při mrazírenském uskladnění vyžadují další hledání příčin těchto změn.

Při chladírenském skladování kuřecích prsou docházelo k postupným úbytkům obsahu polyaminů v čase. Hodnoty obsahu SPD byly značně rozkolísané, zřejmě proto, že se jeho obsah pohyboval na hranici meze stanovitelnosti. Hodnoty obsahu SPM s časem (až do 21. dne skladování) klesaly. Pokles byl výraznější při uložení prsou v ochranné atmosféře (20 % CO₂ + 80 % O₂ obj.), než u vakuově či aerobně baleného masa.

Vlivem tepelných úprav při vyšších teplotách (pečení, grilování a smažení) docházelo k úbytkům obsahu polyaminů o 30—50 % z výchozích hodnot. Naopak u úprav při teplotě

kolem 100 °C, tj. vařením a dušením, byl zaznamenán pouze nízký úbytek obsahu SPD a nárůst obsahu SPM až o 25 % v porovnání s výchozími hodnotami.

Zjišťování obsahu polyaminů v různých druzích masa a vnitřností potvrdilo fakt, že metabolicky aktivní orgány mají vyšší hladinu polyaminů v porovnání se svalovinou. Obsah polyaminů v různých druzích masa je rozdílný. Z hlediska využitelnosti zjištěných výsledků pro řízenou výživu pacientů je nevýhodou, že výchozí obsahy polyaminů v mase a vnitřnostech po porážce značně kolísají. To je však u obsahu polyaminů v potravních surovinách běžné.

Různé způsoby chladírenského skladování a tepelných úprav vyvolaly úbytky obsahu obou polyaminů v řádu desítek procent z výchozích hodnot. Zdá se, že tepelné úpravy při vyšších teplotách způsobují vyšší ztráty než zpracování masa při teplotách kolem 100 °C. O (bio)chemických mechanismech těchto ztrát lze zatím jen spekulovat.

Nejednoznačné jsou změny obsahu polyaminů během mrazírenského skladování masa – průběh u hovězí roštěné a kuřecích prsou a stehen byl odlišný.

Náměty pro další výzkum:

a) zemědělsko-potravinářský:

- stanovit obsah polyaminů v dalších druzích masa a vnitřností,
- zjistit vliv polyaminoxidasy na úbytek SPD a SPM v průběhu dlouhodobého uskladnění při různých teplotách,
- zjistit mechanismus úbytku obsahu polyaminů vlivem zvýšených teplot,

b) lékařský:

- stanovit potřebu příjmu jednotlivých polyaminů pro zdravé lidi,
- stanovit limity příjmu polyaminů potravou při různých onemocněních.

7. Literatura

- ALHONEN L., HALMEKYTO M., KOSMAV.M., WAHLFORS J., KAUPINEN R., JANNE J. (1995). Life-long over-expression of ornithine decarboxylase (ODC) gene in transgenic mice does not lead to generally enhanced tumorigenesis or neuronal degeneration. *International Journal of Cancer*, 63: 402—404.
- ARENA M.E., MANCA DE NADRA M.C. (2001). Biogenic amine production by *Lactobacillus*. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 158–162.
- BAGNI N., TASSONI A., (2001). Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. *Amino Acids*, 20: 301—317.
- BAIXAS-NOGUERAS S., BOVER-CID S., VECIANA-NOGUES T., VIDAL-CAROU M.C. (2002). Chemical and sensory changes in Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) under refrigeration (6-8 degrees C) and stored in ice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6504—6510.
- BALAMATSIA CH.C., PATSIAS A., KONTOMINAS M.G., SAVVAIDIS I.N. (2007). Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere-packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes. *Food Chemistry*, 104: 1622—1628
- BARBUL A. (1986). Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 10: 227—238.
- BARDÓCZ S. (1993). The role of dietary polyamines. *European Journal of Clinical Nutrition*, 47: 683—690.
- BARDÓCZ S (1995). Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, 6: 341–346.
- BARDÓCZ S, DUGUID T.J, BROWN D.S., GRANT G., PUSZTAI A., WHITE A., RALPH A. (1995). The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *British Journal of Nutrition*, 73: 819–828.
- BARDÓCZ S., DUGUID T.J., BROWN D.S., GRANT G., PUSZTAI A. (1993). Polyamines in food -implications for growth and health. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 4: 66–71.
- BARDÓCZ S., GRANT G., BROWN D.S., EWEN S.W.B., NEVISON I. (1990). Polyamine metabolism and uptake during *Phaseolus vulgaris* lectin, PHA- induced growth of rat small intestine. *Digestion* 46: 360—366.

- BAUSKE R., MILOVIC V., TURCHANOWA L., STEIN J. (2000). EGF-stimulated polyamine accumulation in the colon carcinoma cell line, Caco-2. *Digestion*, 61: 230–236.
- BELLÉ N.A.V., DALMOLIN G.D., FONINI G., RUBIN M.A., ROCHA J.B.T. (2004). Polyamines reduce lipid peroxidation induced by different pro-oxidant agents. *Brain Research*, 1008. 245—251.
- BLAGHROUGH I.S., GEALL A.J., NEAL A.P. (2003). Polyamines and novel polyamine conjugates interact with DNA in ways that can be exploited in non-viral gene therapy. *Biochemical Society Transactions*, 31: 397—406.
- BOVER-CID S., HERNÁNDEZ-JOVER T., MIGUÉLEZ-ARRIZADO M.J., VIDAL-CAROU M.C. (2003). Contribution of contaminant enterobacteria and lactic acid bacteria to biogenic amine accumulation in spontaneous fermentation of pork sausages. *European Food Research and Technology*, 216: 477-482.
- BOVER-CID S., HUGAS M., IZQUIERDO-PULIDO M., VIDAL-CAROU M.C. (2000). Reduction of biogenic amine formation using a negative amino acid-decarboxylase starter culture for fermentation of fuet sausages. *Journal of Food Protection*. 63: 237—243.
- BOVER-CID S., IZQUIERDO-PULIDO M., VIDAL-CAROU M.C. (2001a). Changes in biogenic amine and polyamine contents in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar. *Meat Science*, 57: 215–221.
- BOVER-CID S., IZQUIERDO-PULIDO M., AND VIDAL-CAROU M. C. (2001b). Effect of the interaction between a low tyramine-producing *Lactobacillus* and proteolytic staphylococci on biogenic amine production during ripening and storage of dry sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 65: 113–123.
- BOVER-CID S., HUGAS M., IZQUIERDO-PULIDO M., VIDAL-CAROU M.C. (2001). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66: 185—189.
- CIPOLLA B., HAVOUIIS R., MOULINOUX J.P. (2007). Polyamine contents in current foods: a basis for polyamine reduced diet and a study of its long term observance and tolerance in prostate carcinoma patients. *Amino Acids*, 33: 203-212.
- CIRILO M.P.G., COELHO A.F.S., ARAÚJO C.M., GONÇALVES F.R.B., NOGUEIRA F.D., GLÓRIA M.B.A. (2003). Profile and levels of bioactive amines in green and roasted coffee. *Food Chemistry*, 82: 397—402.

- CÓRDOBA J.J., ROJAS T.A., GONZÁLEZ C.G., BARROSO J.V., BOTE C.L., ASENSIO M.A. (1994). Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 2296—2301.
- CZERNICHOW B., NSI-EMVO E., GALLUSER M., GOSSE F., RAUL F. (1997). Preventive administration with ornithine α -ketoglutarate improves the early adaptive response to resection. *Gut*, 40: 67—72.
- DANDRIFOSSE G., PEULEN O., EL KHEFIF N., DELOYER P., DANDRIFOSSE A.C., GRANDFILS C. (2000). Are milk polyamines preventive agents against food allergy? *Proceedings of the Nutrition Society*, 59: 81—86.
- DAS C.K. AND MISRA P.H. (2004). Hydroxyl radical scavenging and singlet oxygen quenching properties of polyamines. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 262: 127—133.
- DAYOUB R., THASLER W.E., BOSSERHOFF A.K., SINGER T., JAUCH K.-W., SCHLITT H.J., WEISS T.S. (2006). Regulation of polyamine synthesis in human hepatocytes by hepatotrophic factor augments liver regeneration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345: 181—187.
- DELOYER P., PEULEN O., DANDRIFOSSE G. (2001). Dietary polyamines and non-neoplastic growth and disease. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13: 1027—1032.
- DELOYER P., PEULEN O., DANDRIFOSSE G. (2005). Intestinal effects of long-lasting spermine ingestion by suckling rats. *Experimental Physiology*, 90: 901—908.
- DOBIÁŠ J., OPATOVÁ H. (2004). Možnosti balení v modifikované atmosféře při výrobě potravin. *Potravinářská Revue*, 1: 48—52.
- DURANTON B., SCHLEIFFER R., GOSSE F., RAUL F. (1998). Preventive administration of ornithine α -ketoglutarate improves intestinal mucosa repair after transient ischemia in rats. *Critical Care Medicine*, 26: 120—125.
- ELGAVISH A., WALLACE R.W., PILLION D.J., MEEZAN E. (1984). Polyamines stimulate D-glucose transport in isolated renal brush-border membrane vesicles. *Biochimica Biophysica Acta*, 777: 1—8.
- ELIASSEN K.A., REISTAD R., RISOEN U., RONNING H.F. (2002). Dietary polyamines. *Food Chemistry*, 78: 273—280.
- FARRIOL M., SEGOVIA T., VENEREO Y., ORTA X. (1999). Importancia de las poliaminas: revisión de la literatura. *Nutrición Hospitalaria*, 14: 101—113.
- FIORI L.M., TURECKI G. (2008). Implication of the polyamine system in mental disorders. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 33: 102—110.

- GRIMBLE R.F., GRIMBLE G.K. (1998). Immunonutrition: role of sulfur amino acids, related amino acids, and polyamines. *Nutrition*, 14: 605—610.
- GUGLIUCCI A. (2004). Polyamines as clinical laboratory tools. *Clinical Chimica Acta*, 344: 23–35.
- GUGLIUCCI A. (2005). Alternative antiglycation mechanism: are spermin and fructosamine-3-kinase part of a carbonyl damage control pathway? *Medical Hypotheses*, 64: 770—777.
- GUGLIUCCI A., MENINI T. (2003). The polyamines spermin and spermidine protect proteins from structural and functional damage by AGE precursors: a new role for old molecules? *Life Science*, 72: 2603—2616.
- HAGEN U., BAUER F., PAULSEN P. (2005). Geringfügige Veränderungen von Amingehalten. Modellversuche zu Änderungen im Gehalt an biogenen Aminen und Polyaminen bei der Zubereitung von Fleisch und Diech. *Fleischwirtschaft*, 12: 128—130.
- HALÁSZ A., BARATH A., SIMON-SARKADI L., HOLZAPFEL W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 5: 42-49.
- HERNÁNDEZ-JOVER T., IZQUIERDO-PULIDO M., VECIANA-NOGUÉS M.T., VIDAL-CAROU M.C., (1996). Biogenic amine sources in cooked cured shoulder pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 3097–3101.
- HERNÁNDEZ-JOVER T., IZQUIERDO-PULIDOM., VECIANA-NOGUÉS M.T., MARINÉ-FONT A., VIDAL-CAROU M.C. (1997). Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2098-2102.
- HILLARY R.A., PEGG A.E. (2003). Decarboxylases involved in polyamine biosynthesis and their inactivation by nitric oxide. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1647: 161—166.
- HOET P.H., NEMERY B. (2000). Polyamines in the lung: polyamine uptake and polyamine-linked pathological or toxicological conditions. *American Journal of Physiology — Lung Cellular and Molecular Physiology*, 278: 417—433.
- HYND M.R., SCOTT H.L., DODD P.R. (2004). Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemistry International*, 45: 583-595.
- CHEN C.M., LIN L.C., YEN G.C. (1994). Relationships between changes in biogenic amine contents and freshness of pork during storage at different temperatures. *Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society*, 32: 47—60.
- IGARASHI K., KASHIWAGI K. (2000). Polyamines: Mysterious modulators of cellular functions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 271: 559—556.

- KALAČ P., KRAUSOVÁ P. (2005). A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90: 219—230.
- KALAČ P. (2006). Biologically active polyamines in beef, pork and meat products: A review. *Meat Science*, 77: 1—11.
- KOLETZKO B., AGGETT P.J., BINDELS J.G., BUNG P., FERRE P., GIL A., LENTZE M.J., ROBERFROID M., STROBEL S. (1998). Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *British Journal of Nutrition*, 80: 5—45.
- KRAUSOVÁ P., KALAČ P., KŘÍŽEK M., PELIKÁNOVÁ T. (2006). Content of biologically active polyamines in livers of cattle, pigs and chickens after animal slaughter. *Meat Science*, 73: 640—644.
- KRAUSOVÁ P., KALAČ P., KŘÍŽEK M., PELIKÁNOVÁ T. (2007). Changes in the content of biologically active polyamines during storage and cooking of pig liver. *Meat Science*, 77: 269-274.
- KRAUSOVÁ P., KALAČ P., KŘÍŽEK M., PELIKÁNOVÁ T. (2008). Changes in content of biologically active polyamines during pork loin storage and culinary treatments. *European Food Research and Technology*, 226: 1007—1012.
- KŘÍŽEK M., PAVLÍČEK T., VÁCHA F. (2002). Formation of selected biogenic amines in carp meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1088—1093.
- LARQUÉ E., SABATER-MOLINA M., ZAMORA S. (2007). Biological significance of dietary polyamines. *Nutrition*, 23: 87—95.
- LATORRE-MORATALLA M.L., BOVER-CID S., AYMERICH T., MARCOS B., VIDAL-CAROU M.C., GARRIGA M. (2007). Aminogenesis control in fermented sausages manufactured with pressurized meat batter and starter culture. *Meat Science*, 75: 460—469.
- LEE, K.-T., YOON, C.-S. (2001). Quality changes and shelf life of imported vacuum-packed beef chuck during storage at 0 °C. *Meat Science*, 59: 71—77.
- MARTON L.J., PEGG A.E. (1995). Polyamines as targets for therapeutic intervention. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 35: 55—91.
- MAIJALA R.L., EEROLA S.H., AHO M.A., HIRN J.A. (1993). The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *Journal of Food Protection*, 56:125—129.
- MENDES R., GONCALVES A., NUNES M.L. (1999). Changes in free amino acids and biogenic amines during ripening of fresh and frozen sardine. *Journal of Food Biochemistry*, 23: 296—306,

- MIETZ J.L., KARMAS E. (1977). Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 42: 155—158.
- MILOVIC V. (2001). Polyamines in the gut lumen: bioavailability and biodistribution. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13: 1021—1025.
- MINAMI H., MIYAMOTO K., FUJI Y., NAKABOU Y., HAGIHIRA H. (1985). Induction of intestinal ornithine decarboxylase by single amino acid feeding. *Journal of Biochemistry*, 98: 133—139.
- MITCHELL J.L.A. (2003). Regulation of polyamine metabolism. In *Health Implications of Dietary Amines*, eds H.M. Wallace and A. Hughes, Vol. I, Office for Official Publications of the European Publications of the European Communities, Luxemburg, pp. 89—100.
- MITCHELL J.L.A., RUSCH H.P. (1973). Regulation of polyamine synthesis in *Physarum polycephalum* during growth and differentiation. *Biochimica Biophysica Acta*, 297: 503—516.
- MOINARD C., CYNOBER L., DE BANDT J.P. (2005). Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nutrition*, 24: 184—197.
- MOORE P., SWENDSEID M.E. (1983). Dietary regulation of the activities of ornithine decarboxylase and *S*-adenosylmethionine decarboxylase in rats. *Journal of Nutrition*, 113: 1927—1935.
- MOREIRA A.P.S., GIOMBELI A. LABANCA R.A., NELSON D.L., GLÓRIA M.B.A. (2008). Effect of aging on bioactive amines, microbial flora, physico-chemical characteristic, and tenderness of broiler breast meat. *Poultry Science*, 87: 1868—1873.
- MOTYL T., PTOSZAJ T., WOJTASIK A., KUKULSKA W., PODGURNIAK M. (1995). Polyamines in cow's and sow's milk. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111b: 427—433.
- NISHIBORI N., FUJIHARA S., AKATUKI T. (2007). Amounts of polyamines in foods in Japan and intake by Japanese. *Food Chemistry*, 100: 491—497.
- NISHIMURA K., SHIINA R., KASHIWAGI K., IGARASHI K. (2006). Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink. *Journal of Biochemistry*, 139: 81—90.
- NOVELLA-RODRÍGUEZ S., VECIANA-NOGUÉS M.T., VIDAL-CAROU M.C. (2000). Biogenic amines and polyamines in milks and cheeses by ion-pair high performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5117—5123.

- NOVELLA-RODRIGUEZ VECIANA-NOGUÉS M.T., IZQUIERDO-PULIDO M., VIDAL-CAROU M.C. (2003). Distribution of biogenic amines and polyamine in cheese. *Journal of Food Science*, 68: 750—755.
- OKAMOTO A., SUGI E., KOIZUMI Y., YANADIGA F. UDAKA, S. (1997). Polyamine content of ordinary foodstuffs and various fermented foods. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 61: 1582–1584.
- PAIK M.-J., LEE S., CHOB K.-H., KIMA K.-R. (2006). Urinary polyamines and N-acetylated polyamines in four patients with Alzheimer's disease as their N-ethoxycarbonyl-N-pentafluoropropionyl derivatives by gas chromatography–mass spectrometry in selected ion monitoring mode. *Analytica Chimica Acta*, 576: 55—60.
- PATSIAS A., CHOULIARA I., BADEKA A., SAVVAIDIS I.N., KONTOMINAS M.G. (2006). Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: microbiological, chemical, sensory attributes. *Food Microbiology*, 23: 423—429.
- PAULSEN P., HAGEN U., BAUER F. (2006). Changes in biogenic amine contents, non protein nitrogen and crude protein during culinary and thermal processing on *m. longissimus, pars lumborum* of pork. *European Food Research and Technology*, 223: 603-608.
- PERÉZ-VINCENTE A., MATINEK-ROMERO D., CARBONELL A., SERANO M., RIQUELME F., GUILLÉN F., VALERO D. (2002). Role of polyamines in extending shelf life and the reduction of mechanical damage during plum storage. *Postharvest Biology and Technology*, 25: 25—32.
- PEULEN O., DANDRIFOSSE G. (2004). Spermine-induced maturation in Wistar rat intestine: A cytokine-dependent mechanism. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition*, 38: 524—532.
- QUEMENER V., BLANCHARD Y., CHAMAILLARD L., HAVOUI R., CIPOLLA B., MOULINOX J.P. (1994). Polyamine deprivation: a new tool in cancer treatment. *Anticancer Research*, 14(2A): 443-448.
- RALPH A., ENGLYST K., BARDÓCZ S. (1999). Polyamine content of the human diet. In S. Bardocz. & A. White (Eds.), *Polyamines in Health and Nutrition*, 123—137. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers.
- REA S., RICCIUTELLI M., CECCHINI S., PACIFICI L., STOCCHI R., LOSCHI A.R. (2005). Biogenic amine concentration in “lardellato” salami, a traditional product of Central Italy, during ripening. *Italian Journal of Food Science*, 17: 211—220.

- RIDER J.E., HACKER A., MACKINTISH C.A., PEGG A.E., WOSTER P.M., KASERO R.A. JR. (2007): Spermin and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*, 33: 231—240.
- ROKKA M., EEROLA, S., SMOLANDER M., ALAKOMI H.-L., AHVENAINEN R. (2004). Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. B. Biogenic amines as quality-indicating metabolites. *Food Control*, 15: 601—607.
- ROMAIN N., DANDRIFOSSE G., JEUNETTE F., FORGET P. (1992). Polyamine concentration in rat milk and food, human milk, and infant formulas. *Pediatric Research*, 32: 58—63.
- ROON R.J., BARKER H.A. (1972). Fermentation of agmatine in *Streptococcus faecalis*: occurrence of putrescine transcarbamoylase. *Journal of Bacteriology*, 109: 44—50.
- RUIZ-CAPILLAS C., JIMÉNEZ-COLMENERO F. (2004). Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 489—499.
- RUSELL D.H., MCVICKER T.A.: Polyamine biogenesis in the rat mammary gland during pregnancy and lactation. *Biochemistry Journal*, 130: 71—76.
- SATISHCHANDRAN C., BOYLE S.M. (1986): Purification and properties of agmatine ureohydrolyase, a putrescine biosynthetic enzyme in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 165: 843—848.
- SEILER N. (2003a): Thirty years of polyamine-related approaches to cancer therapy. Retrospect and prospect: Part 1. Selective enzyme inhibitors. *Current Drug Targets*, 4: 537—564.
- SEILER N. (2003b). Thirty years of polyamine-related approaches to cancer therapy. Retrospect and prospect: Part 2. Structural analogues and derivatives. *Current Drug Targets*, 4: 565—585.
- SEILER N. (2004): Catabolism of polyamines. *Amino Acids*, 26: 217—233.
- SHALABY A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29: 675—690.
- SHIN M., HIROKAWA K., FUJIWARA K. (2006). Immunoelectron microscopic study of polyamines in the gastrointestinal tract of rat. *Histochemical Cell Biology*, 125: 369—375.
- SHIN M., LARSSON L.I, FUJIWARA K. (2007). Polyamines in spermatocytes and residual bodies of rat testis. *Histochemical Cell Biology*, 127: 649—655.

- SILVA, C.M.G., GLÓRIA, M.B.A. (2002). Bioactive amines in chicken breast and thigh after slaughter and during storage at 4 ± 1 °C and in chicken-based meat products. *Food Chemistry*, 78: 241-248.
- SIMON J.P., STALON V., (1982). Enzymes of agmatine degradation and the control of their synthesis in *Streptococcus faecalis*. *Journal of Bacteriology*, 152: 676–681.
- SIMON-SARKADI L., KOCSY G., SEBESTYÉN Z., GALIBA G. (2007) Deletions of chromosome 5A affect free amino acid and polyamine levels in wheat subjected to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 193–201.
- SMĚLÁ D., PECHOVÁ P., KOMPRDA T., KLEJDUS B., KUBÁŇ V. (2003). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in a meat product during fermentation and long-term storage. *Czech Journal of Food Science*, 21: 167—175.
- STUTE R., PETRIDIS K., STEINHART H., BIERNOTH G. (2002). Biogenic amines in fish and soy sauces. *European Food Research and Technology*, 215: 101–107.
- TABOR C.H., TABOR H. (1985). Polyamines in microorganisms. *Microbiological Reviews*, 49: 81—99.
- TETI D., VISALLI M., MCNAIR H. (2002). Analysis of polyamines as markers of (patho)physiological conditions. *Journal of Chromatography B*, 781: 107—149.
- THOMAS T., THOMAS T.J. (2001). Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. *Cell Molecular Life Science*, 58: 244—258.
- THOMAS T., THOMAS T.J. (2003). Polyamine metabolism and cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 7: 113–126.
- VECIANA-NOGUÉS M.T., BOVER-CID S., MARINÉ-FONT A., VIDAL-CAROU M.C. (2004). Biogenic amine production by *Morganella morganii* and *Klebsiella oxytoca* in tuna. *European Food Research and Technology*, 218: 284–288.
- VILLANUEVA-VALERO B., BAUER F., SMULDERS F.J.M., ARIÑO A., HAGEN U., PAULSEN P. (2005). Biogenic amines and polyamines and total aerobic count during storage of vacuum-packaged porcine kidney, liver and spleen. *Food Science and Technology International*, 11: 337—344.
- VINCI, G., ANTONELLI, M.L. (2002). Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat. *Food Control*, 13: 519—524.
- WALLACE H.M., FRASER A.V., HUGHES A. (2003). A perspective of polyamine metabolism. *Biochemistry Journal*, 324: 807—813.
- WEISS T.S., BERNHARDT G., BUSCHAUER A., THASLER W.E., DOLGNER D., ZIRNGIBL H., JAUCH K.W. (2002). Polyamine levels of human colorectal adenocarcinomas are

correlated with tumor stage and grade. *International Journal of Colorectal Disease*, 17: 381–387.

- ZOUMAS-MORSE C., ROCK, C. L., QUINTANA E. L., NEUHouser M. L., GERNERE. W., MEYSKENS F. L., JR. (2007). Development of a polyamine database for assessing dietary intake. *Journal of the American Dietetic Association*, 107: 1024–1027.
- YANO Y., KATAHO N., WATANABE M., ASANO Y. (1995). Changes in the concentration of biogenic amines and application of tyramine during storage of beef. *Food Chemistry*, 54: 155—159.
- YEN G-C (1986). [Studies on biogenic amines in foods. I. Determination of biogenic amines in fermented soybean foods by HPLC]. *Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society*, 24: 211—227 (in Chinese).
- YUAN Q., VIAR M.J., RAY R.M., JOHNSON L.R. (2000). Putrescine does not support the migration and growth of IEC-6 cells. *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology*, 278: 49—56.

5. Seznam publikovaných prací

Publikované práce týkající se disertační práce

a) vědecké práce

KOZOVÁ M., KALACH P., PELIKÁNOVÁ T. (2008). Biologically active polyamines in pig kidneys and spleen: Content after slaughter and changes during cold storage and cooking. *Meat Science*, 79: 326—331. (IF: 2,006)

KOZOVÁ M., KALACH P., PELIKÁNOVÁ T. (2009). Changes in the content of biologically active polyamines during beef loin storage and cooking. *Meat Science*, 84: 607—611. (IF: 2,006)

KOZOVÁ M., KALACH P., PELIKÁNOVÁ T. (2009). Contents of biologically active polyamines in chicken meat, liver, heart and skin after slaughter and their changes during meat storage and cooking. *Food Chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.057. (IF: 3,052)

b) postery na konferencích

KOZOVÁ M., KALACH P. Biologicky účinné polyaminy ve vepřových ledvinách. Sborník souhrnu sdělení XXXIV. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin, MZLU Brno, 2008.

9. Přílohy I.—III.