

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Michaela Vlčková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Biogenní aminy a jejich význam v potravinách

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Michaela Vlčková**
Osobní číslo: **C19128**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Biogenní aminy a jejich význam v potravinách**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární rešerši zaměřenou na problematiku biogenních aminů a jejich význam v oblasti potravinářství.
2. Definujte základní typy biogenních aminů a popište jejich významné zástupce včetně možného výskytu především ve složkách potravin.
3. Popište základní analytické metody pro vhodné pro analýzy biogenních aminů v potravinách.
4. Diskutujte možná zdravotní rizika spojená s těmito sloučeninami.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 21. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Biogenní aminy a jejich význam v potravinách jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 27. 6. 2022

Michaela Vlčková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D., za jeho ochotu, rady, trpělivost a přístup během psaní této práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, která mě podporovala po celou dobu mého studia.

ANOTACE:

Tato práce se zabývá problematikou biogenních aminů. Jsou zde sepsány nejběžnější biogenní aminy, jejich vlastnosti a výskyt. Pozornost je věnována souvislostem mezi biogenními aminy a potravinami. Prezentovány jsou rovněž toxické účinky biogenních aminů a jejich vliv na lidské zdraví. V neposlední řadě je tato práce věnována metodám stanovení biogenních aminů.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Biogenní aminy; Endogenní biogenní aminy; Exogenní biogenní aminy; Histaminová intolerance; Toxicita;

TITLE:

Biogenic amines and their importance in food

ANNOTATION:

This thesis deals with the problematics of biogenic amines. There are written the most common representatives of biogenic amines, their properties, and their occurrence. Attention is paid to the connection between biogenic amines and food. The toxicity of biogenic amines and how biogenic amines can affect human health are presented. Finally, there are described methods of biogenic amines analysis.

KEYWORDS:

Biogenic amines; Exogenous biogenic amines; Endogenous biogenic amines; Histamin intolerance; Toxicity;

OBSAH

| | |
|---|----|
| SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK..... | 10 |
| SEZNAM ZKRATEK | 11 |
| ÚVOD..... | 13 |
| 1 AMINY..... | 14 |
| 1.1 DUSÍK..... | 14 |
| 1.2 NÁZVOSLOVÍ AMINŮ..... | 14 |
| 1.2.1 Monoaminy..... | 15 |
| 1.2.2 Polyaminy..... | 16 |
| 2 ÚVOD A CHARAKTERIZACE BIOGENNÍCH AMINŮ..... | 17 |
| 2.1 ENDOGENNÍ BIOGENNÍ AMINY..... | 18 |
| 2.1.1 Katecholaminy..... | 18 |
| 2.1.2 Indolaminy..... | 19 |
| 2.2 EXOGENNÍ BIOGENNÍ AMINY..... | 20 |
| 2.2.1 Histamin..... | 20 |
| 2.2.2 Tyramin..... | 21 |
| 2.2.3 Putrescin..... | 21 |
| 2.2.4 Spermidin a spermin..... | 21 |
| 2.2.5 Kadaverin..... | 22 |
| 2.2.6 Tryptamin a β -fenylethylamin..... | 22 |
| 2.3 VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ..... | 23 |
| 3 TOXIKOLOGIE BIOGENNÍCH AMINŮ..... | 24 |
| 3.1 MONOAMINOXIDÁZA..... | 24 |
| 3.2 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH..... | 25 |
| 3.3 TOXICITA HISTAMINU A TYRAMINU..... | 26 |
| 3.4 TOXICITA PUTRESCINU A KADAVERINU..... | 26 |
| 3.5 OTRAVA SCOMBROIDEM..... | 27 |
| 3.6 HYPERTENZNÍ KRIZE..... | 27 |
| 3.7 HISTAMINOVÁ INTOLERANCE..... | 28 |
| 4 BIOGENNÍ AMINY V RŮZNÝCH KOMODITÁCH POTRAVIN..... | 29 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.1 | FERMENTOVANÉ POTRAVINY | 29 |
| 4.2 | SÝR..... | 29 |
| 4.3 | ALKOHOLICKÉ NÁPOJE..... | 30 |
| 4.3.1 | Víno | 31 |
| 4.3.2 | Pivo | 32 |
| 4.4 | RYBY A VÝROBKY Z RYB..... | 32 |
| 4.5 | MASO A FERMENTOVANÉ MASNÉ VÝROBKY..... | 33 |
| 4.6 | OVOCE A ZELENINA | 34 |
| 4.7 | BIOGENNÍ AMINY JAKO INDIKÁTORY ČERSTVOSTI POTRAVIN..... | 34 |
| 5 | STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ | 36 |
| 5.1 | KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZA | 36 |
| 5.2 | CHROMATOGRAFIE | 37 |
| 5.2.1 | Vysokoučinná kapalinová chromatografie v analýze biogenních aminů | 37 |
| 5.2.2 | Vysokoučinná tenkovrstvá chromatografie | 38 |
| 5.2.3 | Plynová chromatografie | 39 |
| 6 | ZÁVĚR | 41 |
| 7 | POUŽITÁ LITERATURA | 42 |

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 - Molekuly methanaminu, anilinu a 2-methylpropan-1-aminu | 15 |
| Obrázek 2 - Molekuly N-fenylanilinu a 2-chlor-N-(2-chlorethyl)ethan-1-aminu | 16 |
| Obrázek 3 - Chemický vzorec katecholu | 18 |
| Obrázek 4 - Molekuly dopaminu, noradrenalinu a adrenalinu | 19 |
| Obrázek 5 - Chemický vzorec indolu | 19 |
| Obrázek 6 - Molekuly serotoninu a melatoninu | 20 |
| Obrázek 7 - Molekula histaminu | 20 |
| Obrázek 8 - Molekula tyraminu | 21 |
| Obrázek 9 - Molekula putrescinu | 21 |
| Obrázek 10 - Molekula spermidinu | 22 |
| Obrázek 11 - Molekula sperminu | 22 |
| Obrázek 12 - Molekula kadaverinu | 22 |
| Obrázek 13 - Molekuly tryptaminu a β -fenylethylaminu | 23 |
| Obrázek 14 - Chromatogram standardního roztoku | 38 |
| | |
| Tabulka 1 - Tabulka názvů biogenních aminů, jejich struktury a názvy prekurzorových aminokyselin | 17 |
| Tabulka 2 - Hodnoty IC ₅₀ , NOAEC, LOAEC pro histamin a tyramin | 26 |
| Tabulka 3 - Obsah biogenních aminů ve vzorcích vína | 31 |
| Tabulka 4 - Srovnání tenkovrstvé chromatografie a vysokoúčinné tenkovrstvé chromatografie | 39 |

SEZNAM ZKRATEK

AMK – aminokyselina

AQC – 6-aminochinolyl-N-hydroxysuccinimidylkarbamát

BA – biogenní aminy

BAI – index biogenních aminů

BMK – bakterie mléčného kvašení

CE – kapilární elektroforéza

CQI – index chemické kvality

DAO – diaminooxidáza

EFSA – Evropský úřad pro bezpečnost potravin

EPM – extrakt původní mladiny

ES – Evropské společenství

FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv

FLD – fluorescenční detektor

GC – plynová chromatografie

HIT – histaminová intolerance

HK – hypertenzní krize

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPLC/FLD – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorescenčním detektorem

HPLC/MS – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

HPLC/UV – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s UV detektorem

HPTLC – vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie

IC₅₀ – koncentrace potřebná k dosažení poloviny nejsilnějšího cytotoxického účinku

IUPAC – Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii

LOAEC – nejnižší hodnota koncentrace, při níž byl ještě detekován negativní účinek

MAO – monoaminoxidáza

MAOI – inhibitory monoaminoxidáza

MO – mikroorganismus

MS – hmotnostní spektrometrie

NOAEC – nejvyšší hodnota koncentrace, při níž nebyl zjištěn negativní účinek

NPIP – nitrosopiperidin

NPYR – nitrosopyrrolidin

PF – před filtrací

PoF – po filtraci

PSP – periodická soustava prvků

TLC – tenkovrstvá chromatografie

UHPLC – ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie

UV – ultrafialové záření

ÚVOD

Biogenní aminy jsou naprosto přirozenou součástí biochemických reakcí, které probíhají v živých organismech včetně člověka. Mají vliv na mnoho fyziologických funkcí. Biogenní aminy jsou dnes celkem běžně diskutovaným tématem, pokud jde o kvalitu potravin.

Existuje spousta druhů potravin, kde se může vyskytovat vysoká koncentrace biogenních aminů. Nadměrný příjem biogenních aminů se dnes spojuje s nejedním vedlejším účinkem, který může mít neblahý vliv na lidské zdraví. Ačkoliv jsou tyto vedlejší účinky známy, tak až na histamin, nejsou koncentrace biogenních aminů nijak přísně hlídány.

Mezi produkty bohaté na biogenní aminy patří například maso, sýry a další fermentované výrobky, kde jsou za jejich produkci zodpovědné přítomné mikroorganismy. Jelikož mají mikroorganismy vliv na výskyt biogenních aminů, lze předpokládat, že existuje nějaká souvislost mezi kvalitou potravin a výskytem biogenních aminů.

Analýza biogenních aminů v potravinách může být užitečná hned z několika důvodů, a to k prevenci zdravotních rizik, která mohou být spojena s nadměrnou konzumací biogenních aminů, ke sledování, zda byly například dodrženy hygienické požadavky při skladování potravin nebo zda nedochází v dané potravine k mikrobiální kontaminaci. Mezi nejčastěji používané metody se řadí vysokoúčinná kapalinová chromatografie, vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie nebo kapilární elektroforéza.

1 AMINY

Aminy se řadí do skupiny chemických sloučenin, pro které je typické, že ve své struktuře obsahují atomy dusíku se třemi jednoduchými vazbami a sp^3 hybridizací. Formálně jsou to sloučeniny odvozené od amoniaku. Ačkoliv existují různé typy aminů, všechny mají podobné vlastnosti právě díky atomu dusíku, který obsahují ve své struktuře. Pro mnoho lidí mohou být aminy lehké identifikovatelné díky jejich charakteristickému oděru, který se nejčastěji přirovnává k hnijící rybě ¹.

1.1 Dusík

K porozumění chemického chování aminů je třeba znát vlastnosti dusíku a jak jeho umístění v periodické soustavě prvků ovlivňuje vlastnosti aminů. Dusík je zařazen v periodické soustavě prvků – dále jen PSP – v páté skupině druhé periody. Z páté skupiny má nejmenší atomové číslo, a tedy i nejmenší atomový poloměr. Z jeho pozice v PSP lze usoudit, že dusík bude mít malou tendenci tvořit ionty, ale bude mít širokou škálu oxidačních stavů. Jeho elektronová konfigurace je $1s^2 2s^2 2p^3$. Tato vlastnost limituje dusík v počtu kovalentních vazeb, které může tvořit. S ohledem na valenční orbital s, který je plně obsazen, je dusík schopen tvořit pouze tři kovalentní vazby a má jeden volný elektronový pár. Vzhledem k těmto vlastnostem lze předpokládat, že elementární dusík bude mít tendenci tvořit násobné vazby. V molekule dusíku N_2 je vazba trojná, která se vyznačuje vysokou energií a vysokou stabilitou. V případě dvojně vazby mezi atomy dusíku, je energie dvojně vazby dost podobná energiím dvouatomových molekul, kde se také uplatňuje dvojná vazba. V případě trojně vazby je ale vazebná energie u dvouatomové molekuly dusíku zcela odlišná od jiných dvouatomových molekul, kde se uplatňuje trojná vazba. Například vazby $O=O$ nebo $N=N$ nebo $C=C$ mají podobnou energii, ale stejné molekuly s uplatněním trojně vazby mají energie zcela odlišné od teoretického odhadu ¹.

1.2 Názvosloví aminů

Názvosloví aminů je bohaté na tradiční názvy a na tvorbu názvů byly použity rozmanité metody. Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii – dále jen IUPAC – definuje jasné a jednoznačné metody pro volbu mateřského hydridu a pojmenovávání jednotlivých sloučenin.

Mateřský hydrid je dle IUPAC struktura, která je pojmenována před tím, než jsou přidány přípony označující substituenty, aby mohl vzniknout název specifické sloučeniny. V případě nejjednoduššího aminu methanaminu, je mateřským hydridem methan.

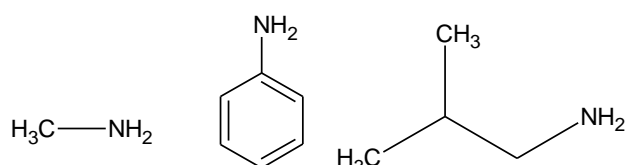
U názvosloví aminů je preference věnována substituční metodě tvoření názvů, tedy s využíváním přípon amin, a zároveň se dnes zachovává již pouhé minimum tradičních názvů ².

1.2.1 Monoaminy

Monoaminy vznikají nahrazením jednoho, dvou nebo tří atomů vodíku za jeden, dva nebo tři uhlovodíkové zbytky. Mezi uhlovodíkovým zbytkem a aminoskupinou je uplatňována jednoduchá vazba. Obecně mají tedy monoaminy strukturu R-NH₂ v případě primárních aminů, R₂NH v případě sekundárních aminů a R₃N pro aminy terciární.

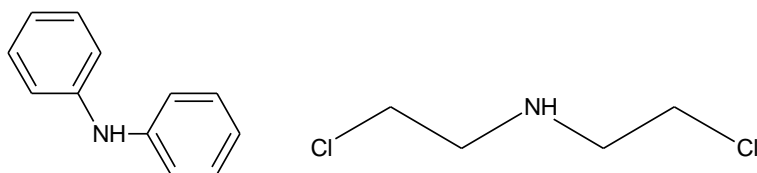
Primární aminy (viz obrázek 1) jsou tedy aminy, u nichž dochází k nahrazení jednoho atomu vodíku uhlovodíkovým zbytkem.

Primární aminy jsou systematicky pojmenovávány následujícími způsoby. Při prvním způsobu se k názvu mateřského hydridu přidá přípona amin. Jako příklad lze uvést methanamin a 2-methylpropan-1-amin. U druhého způsobu pojmenovávání, kdy je k uhlovodíkovému zbytku od mateřského hydridu přidávána koncovka azan, lze pro výše zmíněné aminy dostat názvy methylazan a (2-methylpropyl)azan. Třetí způsob pojmenovávání lze použít pouze pro monoaminy. K uhlovodíkovému zbytku je přidána koncovka amin, která byla předem vybrána jako mateřský hydrid k NH₃. Při využití tohoto způsobu by vznikly názvy methylamin a (2-methylpropyl)amin. Výjimkou u názvosloví primárních aminů je anilín, který zůstal jako preferovaný název IUPAC. Systematicky by se anilín nazýval benzenamin.



Obrázek 1 - Molekuly methanaminu, anilinu a 2-methylpropan-1-aminu

Sekundární aminy jsou takové sloučeniny, u nichž došlo k nahrazení dvou atomů vodíku konkrétními substitučními skupinami a u terciárních aminů došlo k nahrazení všech tří atomů vodíku substitučními skupinami. U názvosloví sekundárních a terciárních aminů se uplatňují stejná pravidla jako u názvosloví primárních aminů. Využívá se zde tedy koncovka amin a odpovídající mateřským hydrid, kterému předchází *N*-lokant. Dále je možné využít koncovky azan a amin pro uhlovodíkové zbytky od mateřských hydridů. Pokud se ve sloučenině vyskytne více substitučních skupin, je třeba je řadit abecedně, aby se předešlo nejednoznačností. U sekundárních aminů se druhé pojmenování substituentu dává do závorek a u terciárních aminů se druhé a třetí pojmenování udává do závorek. Jako příklad lze uvést *N*-fenylanilin a 2-chlor-*N*-(2-chlorethyl)ethan-1-amin, jejichž struktury lze vidět na obrázku 2. S použitím koncovek amin a azan pro uhlovodíkové zbytky by se názvy změnilly následovně – difenylazan, (difenyl)amin a bis(2-chlorethyl)azan, bis(2-chlorethyl)amin².



Obrázek 2 - Molekuly *N*-fenylanilinu a 2-chlor-*N*-(2-chlorethyl)ethan-1-aminu

1.2.2 Polyaminy

Polyaminy lze rozdělit na jednoduché a komplexní. Jednoduché polyaminy jsou sloučeniny, kde jsou veškeré aminoskupiny navázané na jeden mateřský hydrid. Komplexní aminy, tj. sloučeniny, kde musí být zvoleno mezi dvěma nebo více mateřskými hydridy, jsou sloučeniny složené z dvou a více sekundárních anebo terciárních aminů.

U jednoduchých polyaminů nejsou žádné zachovalé názvy, které by byly preferovány IUPAC. U polyaminů, kde je k jednomu mateřskému hydridu připojeno dvě a více aminoskupin, je nutné příslušné skupiny označit vhodnými násobícími číselnými předponami vycházejících z latiny. U číselných předpon končících na „a“ se před koncovkou amin toto „a“ odstraňuje. Tetramin se tedy nebude psát tetraamin.

U di- a triaminů se lokant mateřského hydridu, ke kterému je připojen atom dusíku, vyjadřuje jako číselný horní index nad písmenem *N* (například N^1 , N^5)².

2 ÚVOD A CHARAKTERIZACE BIOGENNÍCH AMINŮ

Biogenní aminy, dále jen BA, jsou nízkomolekulární látky, které lze rozdělit podle počtu aminoskupin na monoaminy a polyaminy a dále podle jejich struktury na alifatické, aromatické nebo heterocyklické. Rozdělení BA s konkrétními názvy, strukturou, počtem aminoskupin a s názvy aminokyselin, ze kterých jsou tvořeny, jsou uvedeny níže v tabulce 1 ³.

Tabulka 1 - Tabulka názvů biogenních aminů, jejich struktury a názvy prekurzorových aminokyselin ³

| Název | Sumární vzorec | Molekulová hmotnost [g/mol] | Klasifikace | Chemická struktura | Prekurzorová aminokyselina |
|-----------------|--|-----------------------------|-------------|--------------------|----------------------------|
| Methylamin | CH ₅ N | 31,06 | Monoamin | Alifatická | Glycin |
| Ethylamin | C ₂ H ₇ N | 45,08 | Monoamin | Alifatická | Alanin |
| Fenyl ethylamin | C ₈ H ₁₁ N | 121,18 | Monoamin | Aromatická | Fenylalanin |
| Tyramin | C ₈ H ₁₁ NO | 153,18 | Monoamin | Aromatická | Tyrosin |
| Oktopamin | C ₈ H ₁₁ NO ₂ | 153,18 | Monoamin | Aromatická | Tyrosin |
| Dopamin | C ₈ H ₁₁ NO ₂ | 153,18 | Monoamin | Aromatická | Tyrosin |
| Noradrenalin | C ₈ H ₁₁ NO ₃ | 169,18 | Monoamin | Aromatická | Tyrosin |
| Histamin | C ₅ H ₉ N ₃ | 111,15 | Monoamin | Heterocyklická | Histidin |
| Tryptamin | C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O | 160,22 | Monoamin | Heterocyklická | Tryptofan |
| Serotonin | C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O | 176,22 | Monoamin | Heterocyklická | Hydroxy tryptofan |
| Putrescin | C ₄ H ₁₂ N ₂ | 88,15 | Diamin | Alifatická | Ornitin |
| Kadaverin | C ₅ H ₁₄ N ₂ | 102,18 | Diamin | Alifatická | Lysin |
| Agmatin | C ₅ H ₁₄ N ₄ | 130,19 | Polyamin | Alifatická | Arginin |
| Spermidin | C ₇ H ₁₉ N ₃ | 145,25 | Polyamin | Alifatická | Arginin/ornitin |
| Spermin | C ₁₀ H ₂₆ N ₄ | 202,34 | Polyamin | Alifatická | Arginin/ornitin |

Tyto látky se mohou v potravinách vyskytnout z důvodu mikrobiologické aktivity, která spočívá v dekarboxylaci volných aminokyselin enzymem dekarboxylázou. Dále mohou být tvořeny

reduktivní aminací a transaminací aldehydů a ketonů nebo v důsledku aktivity tělesných tkání. U mikroorganismů, zvířat a rostlin jsou BA součástí buněčného metabolismu, kde se, konkrétně v rostlinách, podílejí na organogenezi a růstu buněk ⁴. V potravinářství se lze s BA nejčastěji setkat v potravinách, které jsou bohaté na bílkoviny – maso, masné výrobky a ryby, ve výrobcích, které podléhají fermentaci a u dlouhozrajících potravin, jako jsou například sýry. Přítomnost BA není výjimkou ani u potravinářských komodit, jako jsou například zelenina, vejce, mléčné výrobky nebo čokoláda.

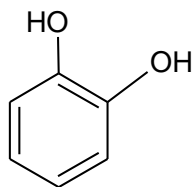
BA lze dále rozdělit na endogenní a exogenní. Endogenní BA zahrnují neurotransmitery, kam se řadí katecholaminy, indolaminy a histaminy. Exogenní aminy jsou převážně tvořeny dekarboxylázami fermentační mikroflóry ⁵.

2.1 Endogenní biogenní aminy

Endogenní aminy jsou neurotransmitery a hormony produkované různými tkáněmi a jsou přenášeny buď lokálně nebo krevním oběhem. Mají mnoho fyziologických funkcí jako je například regulace růstu a zajištění přenosu nervového vzruchu. Endogenní aminy jsou rozděleny do tří velkých tříd, a to na katecholaminy, indolaminy a histaminy ⁶.

2.1.1 Katecholaminy

Katecholaminy jsou aminy, které obsahují ve své struktuře katecholový, což je strukturně benzenové jádro nesoucí na sobě dvě hydroxyskupiny (viz obrázek 3) a jeho sumární vzorec je $C_6H_4(OH)_2$. Mezi katecholaminy patří dopamin, adrenalin a noradrenalin, jejichž struktury jsou uvedeny na obrázku 4 ⁷.

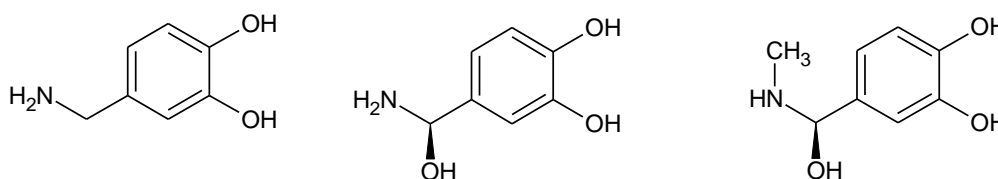


Obrázek 3 - Chemický vzorec katecholu

Dopamin, nebo-li 3,4-hydroxyfenylethylamin, je neurotransmiterem jak centrální, tak i periferní nervové soustavy. V biosyntéze je dopamin prekursorem noradrenalinu a adrenalinu. V potravinách ho lze najít v banánech, kde má velký podíl na enzymatickém hnědnutí ⁸.

Noradrenalin, nebo také norepinefrin, patří mezi stresové hormony produkované dřevní nadledvin. Mimo jiné se řadí i mezi neurotransmitery sympatické periferní nervové soustavy. Noradrenalin způsobuje konstriktci cév a tím zvyšuje systolický a diastolický krevní tlak ⁹.

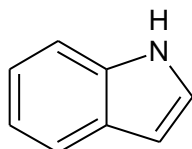
Adrenalin je neurotransmitter produkovaný kmenem mozkovým a také se řadí mezi hormony, je syntetizován metylací noradrenalinu ¹⁰. Adrenalin se do těla vylučuje v případech, kdy se člověk cítí v ohrožení, ale také při cvičení. Vylučování adrenalinu se může navenek projevit následujícími fyziologickými změnami: rozšíření zorniček, pocení, zrychlený tep a zesílená kontrakce srdečního svalu ¹¹.



Obrázek 4 - Molekuly dopaminu, noradrenalinu a adrenalinu

2.1.2 Indolaminy

Indolaminy jsou aminoderiváty, které mají ve své struktuře indol (viz obrázek 5). Řadí se sem serotonin a melatonin ⁶.

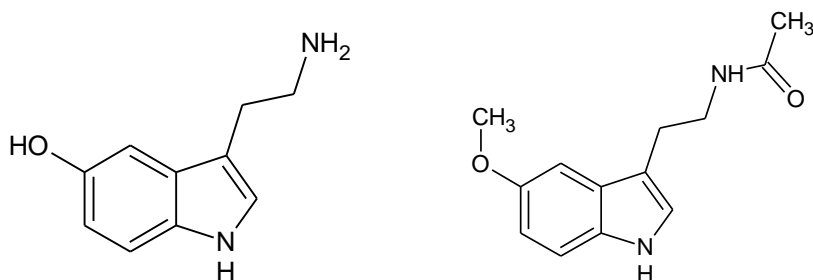


Obrázek 5 – Chemický vzorec indolu

Serotonin (viz obrázek 6), nebo také 5-hydroxytryptamin, je široce rozšířen v rostlinné i zvířecí říši. V ovoci se vyskytuje zejména v banánech a ananasu. Lze ho ale nalézt i v toxinech kopřivy dvoudomé a u obojživelníků se nachází v kožních žlázách. U člověka se serotonin nachází v buňkách gastrointestinálního traktu, v trombocytech a v mozku. Serotonin působí jako neurotransmitter periferní a centrální nervové soustavy a je také řazen mezi tkáňové hormony. Jeho biosyntéza je prováděna enzymatickou hydroxylací a dekarboxylací z L-tryptofanu ¹².

Melatonin (viz obrázek 6) je endokrinní hormon syntetizovaný v epifyze ze serotoninu. Jeho systematický název je N-acetyl-5-methoxytryptamin. U savců tento hormon ovlivňuje cirkadiánní rytmus a může mít vliv na reprodukční systém. Melatonin byl nalezen v lidském,

kravském a kozím mléce v malých koncentracích – do 25 pg/ml. Zajímavostí bylo, že největší denní koncentrace melatoninu v mléce byla o půlnoci a nejmenší v poledne. Tento fakt potvrzuje, že melatonin se primárně biosyntetizuje v nočních hodinách ¹³.



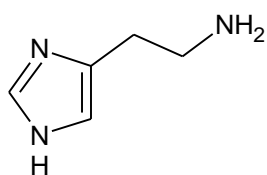
Obrázek 6 - Molekuly serotoninu a melatoninu

2.2 Exogenní biogenní aminy

Exogenní aminy jsou přirozené anti-nutriční látky, které lze stanovit jak v syrovém, tak ve zpracovaném jídle. Vznikají v potravinách nejčastěji dekarboxylací, kdy dochází k odstranění α -karboxylové skupiny z prekurzorové aminokyseliny, po které jsou většinou pojmenovávány. Jako příklad lze uvést následující dvojice, kdy z histidinu vzniká histamin a z tryptofanu tryptamin ⁶. Nejčastější BA vyskytující se v potravinách jsou histamin, tyramin, putrescin, kadaverin, tryptamin, β -fenylethylamin, spermin a spermidin ¹⁴.

2.2.1 Histamin

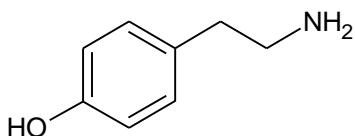
Histamin (viz obrázek 7) je v lidském těle syntetizován z histidinu pomocí L-histidindekarboxylázy za účasti pyridoxalfosfátu. V lidském těle ho lze nalézt v žírných buňkách, ze kterých je uvolňován během nástupu alergických reakcí, dále v krevních buňkách, konkrétně v trombocytech, a také v mozkových neuronech. Při interakci se specifickými receptory na cílových buňkách má histamin mnoho funkcí. Řídí například sekreci trávicích kyselin, řídí růst a diferenciaci buněk a také má vliv na pozornost ¹⁵.



Obrázek 7 - Molekula histaminu

2.2.2 Tyramin

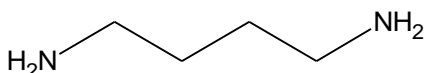
Tyramin (viz obázek 8) vzniká v potravinách dekarboxylací tyrosinu. Výskyt tyraminu v potravinách je nejčastěji spojován s fermentační aktivitou bakterií mléčného kvašení. Vysoký obsah tyraminu je zejména v potravinách živočišného původu. Produkty živočišného původu jsou bohatým zdrojem volných prekurzorových aminokyselin (AMK) v tomto případě tyrosinu, protože z těchto AMK si živočichové syntetizují katecholaminy¹⁶.



Obrázek 8 - Molekula tyraminu

2.2.3 Putrescin

Putrescin (viz obrázek 9) je polyamin, který se přirozeně vyskytuje v živých organismech. U rostlin se putrescin při nedostatku draslíku v živné půdě akumuluje v listech, a to v koncentracích až 150× vyšších než za podmínek, kdy je draslíku dostatek. Po tomto zjištění se putrescin stal jedním z kandidátů na detekci nedostatku draslíku a stal se prvním z metabolických biomarkerů ve fyziologii rostlin¹⁷. V lidském těle je putrescin prekurzorem pro psychologické polyaminy – spermidin a spermin – spolu s putrescinem mají vliv na regulaci růstu buněk a jejich dělení a hrají roli také při růstu nádorů¹⁵.

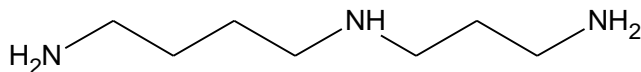


Obrázek 9 - Molekula putrescinu

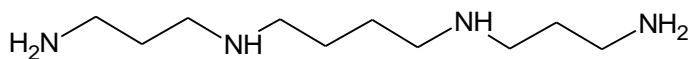
2.2.4 Spermidin a spermin

Spermidin a spermin (viz obrázek 10 a 11) jsou polyaminy, které jsou biosyntetizovány z putrescinu. Biosyntéza začíná u putrescinu, na který se navazuje aminopropyl a za účasti enzymu spermidin-syntázy vzniká spermidin. Dále se pak na spermidin opět navazuje aminopropyl a za účasti spermin-syntázy vzniká spermin¹⁸. Spermin a spermidin jsou nejvýznamnějšími a nejdůležitějšími regulátory různých buněčných procesů, mezi které patří buněčný růst a proliferace, zejména při nižších koncentracích. Zvýšené hladiny těchto aminů však naznačují maligní neboli zhoubné nádory. Toho se využívá v onkologické praxi, kdy

tyto polyaminy působí jako biochemický marker pro včasnou diagnózu rakoviny, pro posouzení účinnosti léčby rakoviny a detekci remise a relapsu rakoviny ¹⁹.



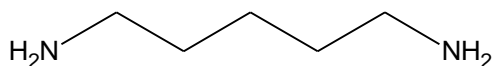
Obrázek 10 - Molekula spermidinu



Obrázek 11 - Molekula sperminu

2.2.5 Kadaverin

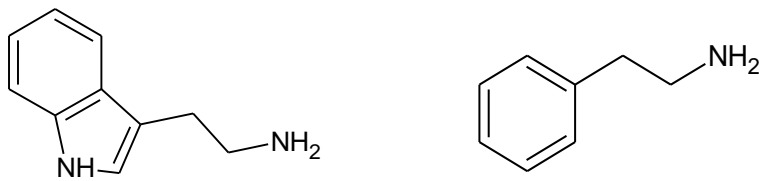
Kadaverin (viz obrázek 12) je přírodní polyamin, který vzniká přímou dekarboxylací L-lysinu za účasti enzymu lysindekarboxylázy. Je široce zastoupen jak u eukaryot, tak i prokaryot. V rostlinách se podílí na regulaci různých pochodů, jako je například růst a vývoj rostlin nebo odolnost proti stresu. Tvorba kadaverinu je také spojována s procesem zvaným tumorigeneze, kdy dochází ke vzniku nebo růstu nádorů ²⁰.



Obrázek 12 - Molekula kadaverinu

2.2.6 Tryptamin a β-fenylethylamin

Tryptamin a β-fenylethylamin (viz obrázek 13) patří mezi stopové aminy. V lidském těle jsou syntetizovány z aminokyselin dekarboxylací. Katabolismus těchto aminů je do jisté míry řízen monoaminoxidázou – MAO, která má dvě formy A a B. Tyto formy se od sebe liší substrátovou specifitou a místem, kde se vyskytují. MAO-A se vyskytuje převážně v trávicím traktu a má substrátovou preferenci pro polární aromatické aminy, jako je například noradrenalin. MAO-B se nejčastěji vyskytuje v mozku a má substrátovou preferenci pro nepolární aromatické aminy jako je například fenylethylamin a dopamin. Fenylethylamin může být také díky *N*-methylacím a *N*-transferázám přeměňován na noradrenalin. Což může vést ke stažení cév a přechodné hypertenzi ²¹.



Obrázek 13 – Molekuly tryptaminu a β -fenylethylaminu

2.3 Vznik biogenních aminů

Biogenní aminy mohou vznikat v zásadě 4 enzymatickými pochody. Dekarboxylací volných aminokyselin transaminací, reduktivní aminací a degradací určitých prekurzorových aminosloučenin. V potravinách vznikají biogenní aminy nejčastěji dekarboxylací příslušných aminokyselin²².

Dekarboxylace je děj, kdy dochází díky aktivitě selektivního enzymu dekarboxylázy k odštěpení karboxylové skupiny z volné AMK a vzniká tak příslušný biogenní amin a oxid uhličitý. Jak již bylo zmíněno, v potravinách vznikají BA nejčastěji mikrobiologickou aktivitou. Aktivace dekarboxylačních drah u bakterií má dva základní fyziologické důvody. Dekarboxylaci lze chápat jako odpověď buněk na kyselý stres a na konci této dráhy dochází k odštěpení karboxylové skupiny, což vede ke zvýšení intracelulárního i extracelulárního pH. Bylo také dokázáno, že druhým důvodem, proč bakterie dekarboxylaci provádějí, je to, že tyto dráhy mohou buňce přinést doplňkovou energii²³.

3 TOXIKOLOGIE BIOGENNÍCH AMINŮ

Biogenní aminy hrají podstatnou roli ve fyziologii lidského těla. BA řídí v těle spoustu důležitých funkcí, jako například imunologickou odpověď v gastrointestinálním traktu, pH žaludku, zajišťují sekreci trávicích šťáv, kontrolují tělesnou teplotu a krevní tlak a v neposlední řadě mohou mít vliv na řízení mozkové aktivity. Navzdory všem těmto tělu prospěšným funkcím, s sebou ale nadměrná konzumace BA z potravin nese i jistá zdravotní rizika. Mezi projevy nadměrné konzumace BA může patřit hypertenze, hypotenze, bolesti hlavy, bušení srdce, problémy s dýcháním, kopřivka a v těžších případech i krvácení do mozku, selhání srdce nebo ledvinová intoxikace. BA jsou navíc dobře známy kvůli tomu, že mohou být potenciálními prekurzory pro karcinogenní nitrosaminy¹⁴. V lidském těle jsou malé dávky biogenních aminů ihned metabolizovány v trávicím traktu na méně bioaktivní látky. Enzymy, které se účastní detoxikace BA v lidském těle, jsou monoaminoxidáza, dále jen MAO, diaminoxidáza a polyaminoxidáza²⁴.

Toxicita biogenních aminů závisí na konkrétním typu biogenního aminu a na individuální citlivosti nebo alergii jedince. Dalším faktorem, který ovlivňuje toxicitu BA, je konzumace inhibitorů monoaminoxidázy (dále jen MAOI), nebo požívání ethanolu, který reaguje s enzymatickým systémem aminoxidázy zodpovědným za detoxikaci exogenních BA²⁵.

3.1 Monoaminoxidáza

MAO je enzym, který katalyzuje oxidativní deaminace biogenních aminů, jako jsou například serotonin, noradrenalin a dopamin, ale také katalyzuje oxidativní deaminace exogenních biogenních aminů, MAO hraje důležitou roli při psychiatrických a neurologických poruchách²⁶.

Inhibitory monoaminoxidázy, zkráceně MAOI, byly objeveny jako jedny z prvních antidepresiv, ale dnes už se jejich užívání omezuje a při léčbě poruch duševního zdraví nejsou první volbou. Důvodem jsou především dietní restriktce a vedlejší účinky. Lékaři předepisují tento druh antidepresiv pouze v případě, že žádné jiné druhy nefungují²⁷.

Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) schválil pro léčbu deprese následující MAOI:

- Selegilin
- Izokarboxazid
- Fenelzin
- Tranylcypromin

V souvislosti s těmito léky FDA varuje před nadměrnou konzumací zrajících a plísňových sýrů, vína a obecně potravin s vysokým obsahem tyraminu. Spolu s těmito varováními uvádí FDA i časté vedlejší účinky, mezi které patří nevolnost, třes, nervozita a problémy se spánkem²⁸.

Vztahu mezi inhibitory monoaminoxidázy a biogenními aminy si bylo poprvé všimnuto u lidí, kteří užívali antidepresiva založená na inhibitech MAO. Byly u nich pozorovány silné bolesti hlavy poté, co konzumovali zrající a plísňové sýry. Tyto druhy sýrů jsou bohaté na tyramin, který byl také jako první ze sýrů izolován a své jméno si získal z řeckého výrazu *tyros*, což znamená sýr²⁹.

3.2 Legislativa týkající se biogenních aminů v potravinách

Ačkoliv nadměrná konzumace BA z potravin může vést ke zdravotním komplikacím, zatím neexistují žádné právní předpisy, které by omezovaly přítomnost a limitní koncentrace BA v potravinách. Výjimkou jsou ryby a výrobky z ryb, kde je přísně hlídána hladina histaminu²⁵.

Nařízení komise Evropského společenství (ES) číslo 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny udává, že pro ryby a rybí výrobky bohaté na histidin je limitní maximální koncentrace pro histamin 200 mg/kg. Pro výrobky z ryb, které byly ošetřeny enzymatickým zráním v láku, vyrobené z druhů ryb spojovaných s vysokým množstvím histidinu je maximální limitní koncentrace 400 mg/kg. Mezi druhy ryb bohaté na histidin patří zejména ryby z čeledi *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae* a *Pomatomidae*. Otrava histaminem z ryb je také známá pod pojmem otrava scombroidem³⁰.

3.3 Toxicita histaminu a tyraminu

Histamin a tyramin jsou BA, které se běžně vyskytují v potravinách ve velkých koncentracích³¹. Toxicitu histaminu podmiňuje i přítomnost ostatních BA, zejména přítomnost putrescinu a kadaverinu, které usnadňují prostup histaminu tenkým střevem a tím se histamin dostává rychleji do krevního oběhu³². U histaminu a tyraminu byla prokázána cytotoxicita pomocí analýzy buněk v reálném čase. Tato metoda shromažďuje informace o změnách v morfologii buněk v reálném čase. Analýza byla prováděna *in vitro* s lidskými střevními buňkami. Po vystavení buněk různým dávkám histaminu a tyraminu byla sledována jejich cytotoxicita a také schopnost vyvolat nekrózu a apoptózu buňky. Pro histamin a tyramin byla stanovena koncentrace potřebná k dosažení poloviny nejsilnějšího cytotoxického účinku (IC₅₀), nejvyšší hodnota koncentrace, při níž nebyl zjištěn negativní účinek – NOAEC a nejnižší hodnota koncentrace, při níž byl ještě detekován negativní účinek – LOAEC. Porovnáním hodnot IC₅₀ bylo zjištěno, že tyramin má vyšší cytotoxické účinky než histamin. Hodnota IC₅₀ byla pro tyramin 3,2 mM a pro histamin 26 mM, což znamená, že pro dosažení poloviční hodnoty nejsilnějšího cytotoxického účinku je potřeba menší koncentrace tyraminu než histaminu. Hodnoty milimolárních koncentrací (mM) IC₅₀, NOAEC a LOAEC jsou zapsány níže v tabulce 2³³.

Tabulka 2 - Hodnoty IC₅₀, NOAEL, LOAEL pro histamin a tyramin³³

| BA | IC ₅₀ [mM] | NOAEC [mM] | LOAEC [mM] |
|----------|--------------------------|---------------|---------------|
| Histamin | 26 | 3 | 4 |
| Tyramin | 3,2 | 1,8 | 2,2 |

3.4 Toxicita putrescinu a kadaverinu

Putrescin a kadaverin jsou také jedny z běžně se vyskytujících BA v potravinách. Putrescin se může hromadit ve vysokých koncentracích v mléčných fermentovaných výrobcích, jako jsou sýry (až 1560 mg/kg), fermentované klobásky (až 1550 mg/kg), rybí omáčky (až 1220 mg/kg), fermentovaná zelenina (až 549 mg/kg) a ryby a rybí výrobky (až 337 mg/kg). Kadaverin se může hromadit ve vysokých koncentracích v sýrech (až 3170 mg/kg), rybách a rybích výrobcích (až 1690 mg/kg) a fermentovaných klobásách (až 1250 mg/kg). U putrescinu a kadaverinu byla také prokázána cytotoxicita. S využitím analýzy buněk v reálném čase byla cytotoxicita těchto biogenních aminů opět zkoumána *in vitro* na lidských střevních buňkách³². U potravin bohatých na bílkoviny může vysoká koncentrace putrescinu a kadaverinu indikovat hygienické nedostatky. Oba diaminy jsou známé jako prekurzory

karcinogenních nitrosoaminů. Ačkoliv jde o BA, které mohou způsobovat při nadměrné konzumaci zdravotní obtíže, dosud nebyly stanoveny žádné tolerovatelné hladiny v potravinách. Diaminoxidáza je hlavní enzym zodpovědný za detoxikaci putrescinu a kadaverinu pomocí oxidační deaminace ve střevní sliznici a hraje klíčovou roli v obecném ochranném mechanismu proti akumulaci diaminů ve tkáních ³⁴.

Jsou-li v potravinách přítomny dusitany, může docházet ke vzniku karcinogenních *N*-nitrosoaminů, jejichž prekurzory jsou putrescin a kadaverin ³⁵. Studie *in vitro* prokázaly, že kadaverin a putrescin se účastní tvorby nitrosoaminů, jako je nitrosopiperidin (NPIP) a nitrosopyrrolidin (NPYR) ³⁶.

3.5 Otrava scombroidem

Otrava scombroidem nastává po požití čerstvých, konzervovaných nebo uzených ryb s vysokým obsahem histaminu v důsledku nesprávného zpracování nebo skladování. Poprvé byla otrava scombroidem popsána ve spojení s rybami z čeledi *Scombridae* (např. tuňák nebo makrela). Vzhledem k tomu, že histamin nemění organoleptickou kvalitu, mohou se ryby zdát normální. Za zvýšenou hladinu histaminu u ryb může především nesprávné chlazení před zpracováním nebo skladování ryb při pokojové teplotě po uvaření. Z tohoto důvodu jsou vzhled, chuť a vůně ryb špatnými vodítky, která by mohla indikovat přítomnost tohoto biogenního aminu. Histamin je tepelně stabilní a zůstává přítomen po vaření, zmrazení, konzervování nebo uzení ³⁷. Mezi příznaky této otravy patří vyrážka zarudnutí obličeje, svědění a otoky rtů, zvracení a bolest hlavy ³⁸.

3.6 Hypertenzní krize

Hypertenzní krize (dále jen HK) je pojem, který označuje stav, kdy dojde k silnému zvýšení krevního tlaku, v jehož důsledku může dojít k poškození srdce i koncových orgánů. V dětské populaci může vést HK až k úmrtí ³⁹. Tyramin je nejhojněji se vyskytujícím biogenním aminem v sýru, který je zodpovědný za tzv. „sýrové účinky“ charakterizované právě HK, bolestmi hlavy nebo dokonce migrénou ⁴⁰. Studie potvrzují, že tyramin kombinovaný s inhibitory monoaminoxidázy (MAOI) může vyvolat HK. Alarmujícím příznakem je zde rychlé zvýšení krevního tlaku nad 180/100 až 110 mmHg ⁴¹. Tranylcypromin a fenelzin jsou

antidepresiva řadí se mezi MAOI. Oba léky mohou při souběžné konzumaci měkkého sýra vyvolat HK a v jejím důsledku způsobit poškození myokardu ⁴².

3.7 Histaminová intolerance

Histaminová intolerance, nebo také HIT, je pojem označující potravinovou intoleranci spojenou s požitím nebo nahromaděním histaminu, což vede ke sledu nežádoucích projevů. HIT je stav, kdy dochází k dysbalanci mezi histaminem přijatým z jídla a schopností lidského těla tento amin odbourávat. S tímto stavem je spojená snížená aktivita enzymu diaminoxidázy (DAO) ⁴³. Primární nebo také genetická HIT je způsobena sníženou aktivitou DAO v důsledku exprese poškozeného genu, který kóduje DAO. Výsledkem je produkce bílkovin se sníženou enzymatickou aktivitou. Sekundární HIT může být vyvolána onemocněním, nadměrnou konzumací potravin bohatých na histamin a užíváním léků blokujících DAO. Snížená aktivita DAO byla zaznamenána u dětí, které měly celiakii nebo akutní gastroenteritidu. U dospělých se snížená aktivita DAO objevovala u lidí s kopřivkou nebo virovou hepatitidou ⁴⁴. Ačkoliv je klinické určení HIT obtížné, mezi hlavní příznaky HIT se řadí:

- Gastrointestinální příznaky: bolesti břicha, střevní koliky, zvracení, zácpa a pocity plnosti
- Kardiovaskulární: závratě, bušení srdce a kolaps
- Respirační: ucpání nosu, kýchání a astma
- Kožní: svědění, kopřivka, zarudlá víčka a otoky nohou nebo rukou

Názor, že HIT má souvislost s enzymem DAO, podpořila studie, která zahrnovala 56 pacientů, kteří trpěli výše pospanými příznaky. Tito pacienti měli nízké koncentrace DAO, které byly stanovené ze séra. Pacienti byli i předem vyšetřeni na jiné potravinové intolerance (celiakie a intolerance na laktózu) a infekci *Helicobacter pylori*. Výsledky těchto vyšetření byly negativní. U těchto pacientů se po perorálním podávání tabletek s DAO všechny výše zmíněné příznaky zlepšily ⁴⁵.

4 BIOGENNÍ AMINY V RŮZNÝCH KOMODITÁCH POTRAVIN

Typy biogenních aminů a jejich koncentrace v potravinách závisí především na konkrétní bakterii, která se v dané potravíně nachází, a také zde hrají roli vnitřní faktory dané potraviny, jako je například – aktivita vody, pH potraviny, složení a přirozená mikroflóra. Mezi vnější faktory, které ovlivňují tvorbu a koncentraci BA, patří skladovací teplota a doba, po kterou je daná potravina někde uskladněna. Tyto dva faktory ovlivňují mikrobiální růst. Jelikož jsou BA toxické je nutné je v potravinách sledovat a lze je využít i jako indikátory kvality potravin ²².

4.1 Fermentované potraviny

Fermentované potraviny jsou ty, které byly vystaveny působení mikroorganismů (MO) nebo jejich enzymů. Expozice potravin MO nebo jejich enzymům vede k užitečným biochemickým změnám. Fermentované potraviny mají většinou vyšší obsah živin a jsou snadněji stravitelné. Fermentace je proces, který může prodloužit trvanlivost potravin a zlepšovat jejich organoleptické vlastnosti ⁴⁶.

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou považovány za jedny z hlavních producentů BA ve fermentovaných potravinách ²⁵. Z BMK patří mezi nejvýznamnější producenty tyraminu bakterie z rodu *Enterococcus* ⁴⁷.

Mezi bakterie, které jsou schopny pomocí lysindekarboxylázy nebo ornitindekarboxylázy tvořit putrescin nebo kadaverin, patří konkrétně *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas fluorescens/lputida*, *Pseudomonas putrefaciens* a *Serratia marcescens*. Mezi bakterie zodpovědné za tvorbu histaminu patří *Morganella morganii* a *Klebsiella genus*. Z rodu *Enterobacter* byly schopny tvorby histaminu bakterie *Enterobacter cloacae* a *Enterobacter aerogenes* ⁴⁸.

4.2 Sýr

Sýry jsou ceněny po celém světě pro své sensorické a nutriční vlastnosti a jejich výroba je jednou z nejdůležitějších činností v mlékárenském průmyslu. Mléko je třeba po odběru chladit při teplotách mezi 6 a 8 °C a skladovat při teplotách nejvýše 6 °C. Tyto podmínky

podporují rozvoj užitečné mléčné mikroflóry, a naopak brání růstu patogenních bakterií. Dodržením těchto podmínek je docíleno jak zachování jakosti, tak i bezpečnosti konečného produktu. Fermentace a zrání sýrů stimuluje aktivitu proteáz a peptidáz, díky nimž vznikají malé peptidy a volné aminokyseliny.

Vhodné podmínky pro tvorbu biogenních aminů může zajistit spousta proměnných, jako jsou pH v rozmezí od 5,0 do 6,5, vysoké hodnoty aktivity vody od 0,9 do 1,0 a dostupnost pyridoxalfosfátu, který je důležitým kofaktorem pro aktivitu dekarboxyláz. Naproti tomu za inhibitor proteolytických bakterií je považován tuk.

Je dobře známé, že během zrání sýra dochází k mnoha biochemickým reakcím, jako jsou fermentace zbytkové laktózy a hydrolyza lipidů a bílkovin na mastné kyseliny a aminokyseliny a jejich následná degradace na několik aromatických sloučenin, tj. alkoholů, aldehydů, ketonů, esterů nebo laktonů, aminů a fenolických sloučenin. Sýr je jednou z potravin, která je spojována s vysokým obsahem biogenních aminů, protože díky požadovanému proteolytickému účinku, který provádějí bakterie během zrání, je sýr velmi bohatý na volné AMK, ze kterých vznikají BA. Nejčastěji lze v sýru nalézt tyramin, histamin, putrescin a β -fenylethylamin.

Při analýze měkkých sýrů (Brie, Camembert nebo Gorgonzola), polotvrdých sýrů (Trappista a sýry holandského typu) a tvrdých sýrů (parmezán) bylo zjištěno, že nejvyšší koncentrace biogenních aminů v těstě byla u polotvrdých sýrů. Hodnota koncentrace biogenních aminů byla 354 mg/kg. Nejvyšší koncentrace biogenních aminů v povrchové vrstvě byla u měkkých sýrů, a to v množství 240,5 mg/kg^{16,49}.

4.3 Alkoholické nápoje

V běžných potravinách je hladina biogenních aminů do 100 mg/kg (mg/l) obecně považována za bezpečnou. V alkoholických nápojích, jako je například pivo a víno, se biogenním aminům věnuje daleko větší pozornost, protože přítomný alkohol – konkrétně ethanol – inhibuje enzymy zodpovědné za detoxikaci BA a tím zvyšuje jejich toxický účinek. Pro alkoholické nápoje byly deklarovány nižší limity BA. Jako toxické dávky lze považovat následující hodnoty: 8–20 mg/l pro histamin, 25–40 mg/l pro tyramin a 2–3 mg/l pro fenylethylamin⁵⁰.

4.3.1 Víno

BA se vyskytují v hroznech přirozeně. Vysoké množství spermidinu, putrescinu a kadaverinu je přítomno v oplodí bobulí a vysoké koncentrace těchto BA lze také nalézt v semenech bobulí. Ve víně se mohou BA vyskytovat ze tří možných důvodů: BA mohou být již přítomny v hroznovém moštu, mohou být vytvořeny během alkoholové fermentace kvasinkami nebo během malolaktické fermentace působením bakterií mléčného kvašení, které mohou dekarboxylovat aminokyseliny přítomné ve víně ⁵¹. Vyšší koncentrace BA jsou obecně spíše v červeném víně, protože malolaktická fermentace, kde se uplatňují bakterie mléčného kvašení, je typická právě pro červená vína ⁵². Ve víně se nejčastěji vyskytuje tryptamin. Níže je uvedena tabulka 3, která obsahuje zjištěná množství BA v různých vzorcích vína. Zkratka PF znamená před mikrofiltrací a PoF po mikrofiltraci. Při analýze došlo k úpravě vzorků, konkrétně k mikrofiltraci. K mikrofiltraci byl používán deskový filtr z nerezové oceli s porozitou 0,5 µm ⁵³.

Tabulka 3 - Obsah biogenních aminů ve vzorcích vína ⁵³

| Vzorek vína | Tryptamin [mg/l] | Putrescin [mg/l] | Cadaverin [mg/l] | Histamin [mg/l] | Tyramin [mg/l] | Spermin [mg/l] |
|------------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|
| Cabernet Sauvignon PF | 34,9 | 9,2 | 0,1 | 4,0 | 9,2 | 2,4 |
| Cabernet Sauvignon PoF | 31,9 | 11,1 | 0,1 | 5,3 | 12,9 | 1,1 |
| Pinot noir PF | 71,8 | 8,9 | 1,0 | 2,2 | 6,2 | 3,3 |
| Pinot noir PoF | 85,9 | 12,9 | 0,8 | 4,0 | 6,8 | 1,8 |
| Saint Laurent PF | 40,6 | 9,8 | 2,9 | 5,4 | 12,9 | 2,7 |
| Saint Laurent PoF | 89,4 | 8,9 | 1,9 | / | 4,2 | 3,1 |
| Pinot Gris PF | 41,3 | 4,5 | 0,3 | / | 3,8 | 1,7 |
| Pinot Gris PoF | 45,5 | 4,7 | 0,5 | / | 9,1 | 1,3 |
| Chardonnay PF | 59,7 | 6,4 | 0,6 | / | 7,3 | 1,5 |
| Chardonnay PoF | 51,7 | 5,9 | 0 | / | 5,1 | 1,6 |
| Müller Thurgau PF | 47,5 | 4,8 | 0,3 | / | 3,1 | 1,6 |
| Müller Thurgau PoF | 41,9 | 6,1 | 0,1 | 2,7 | 7,6 | 1,2 |
| Pálava | 38,0 | 1,5 | 0,1 | / | 5,0 | 1,8 |

4.3.2 Pivo

Pivo je syčený alkoholický nápoj široce konzumovaný po celém světě. Obecně platí, že pivo je považováno za bezpečný produkt díky své mikrobiologické stabilitě. Patogeny a jiné mikroorganismy nejsou schopny růst v „pivním prostředí“ kvůli přítomnosti ethanolu, chmelových hořkých sloučenin, vysokému obsahu CO₂ a nízkému pH. Přesto existují bakterie, které mohou v takovém prostředí růst a svou aktivitou tak zvyšovat zákal a negativně ovlivňovat sensorické vlastnosti piva. Mezi takové se řadí jak gramnegativní, tak grampozitivní bakterie. Mezi nejčastější a neškodlivější bakterie patří bakterie mléčného kvašení, zejména bakterie rodu *Lactobacillus* a *Pediococcus*.

Pivo vyráběné v průmyslovém měřítku obvykle není tak bohaté na biogenní aminy. Koncentrace BA se pohybuje v řádu jednotek miligramů na litr. V některých případech však byly zjištěny koncentrace BA vyšší než 50 mg/l nebo dokonce vyšší než 100 mg/l. Stanovení biogenních aminů v pivech je relevantní ze tří hlavních důvodů. Zaprvé kvůli zdravotnímu riziku, které by mohly BA představovat. Za druhé lze BA využít jako indikátory mikrobiálního znehodnocení a za třetí lze díky BA vyhodnotit, zda je potřeba provést nápravná opatření, která by mohla snížit nebo zabránit přítomnosti BA, např. zlepšení nebo úprava výrobních procesů.

Česká republika je zemí s nejvyšší spotřebou piva na obyvatele za rok. Průměrný Čech vypije cca 140 l piva za rok 2020. Z analýzy piv, pocházejících z minipivovarů v České republice, byly zjištěny nejhojněji se vyskytující biogenní aminy. Piva byla na základě extraktu původní mladiny (EPM) rozdělena do tří skupin: lehká piva (EPM ≤ 10%), ležáky (EPM ≤ 12%) a speciály (EPM ≤ 13%). Nejhojněji se vyskytujícím BA, který byl detekován ve vzorcích lehkého piva, byl tyramin (až 40 mg/l), po něm následoval putrescin. Ve vzorcích ležáků byl nejčastěji detekovaným BA také tyramin (až 80 mg/l), následovaný kadaverinem a putrescinem. V případě speciálů byl nejhojnějším BA opět tyramin (až 70 mg/l). Přítomnost spermidinu a sperminu byla zjištěna ve všech zkoumaných vzorcích piva, ale hodnoty koncentrace byly nižší než 20 mg/l. Spermidin a spermin hrají roli v metabolismu nukleových kyselin kvasinek, ale tyto BA mohou pocházet i ze sladu⁵⁴⁻⁵⁷.

4.4 Ryby a výrobky z ryb

Ryby a mořské plody patří mezi potraviny, které rychle podléhají zkáze a kazí se mnohdy daleko rychleji než ostatní potraviny živočišného původu. Hlavní příčinou kažení ryb a mořských

plodů je růst mikroorganismů, jejichž metabolismus má pak za následek vznik toxických sloučenin včetně BA. Na vzniku BA má vliv mnoho faktorů: technologie zpracování, manipulační a skladovací podmínky, mikroorganismy a typy enzymů mořských plodů nebo typy enzymů mikroorganismů. Aby bylo zabráněno tvorbě BA, přidává se do mořských plodů mnoho přídatných látek chemického původu - tzv. aditiv, které inhibují růst bakterií nebo omezují aktivitu enzymu dekarboxylázy. Účinnost takových aditiv závisí opět na mnoha faktorech jako jsou, koncentrace konkrétního aditiva, pH, aktivita vody, teplota a počáteční mikroflóra mořských plodů⁵⁸. Ačkoliv jsou chemické sloučeniny, jako například dusitany, siřičitany, organické kyseliny a antioxidanty, ze kterých lze zmínit například butylovaný hydroxytoluen, běžně užívaná aditiva k zamezení mikrobiální proliferace a oxidativním změnám v rybách, dnes je snaha se od nich distancovat, protože u metabolitů těchto látek byla prokázána potencionální toxicita. Alternativou k těmto chemickým sloučeninám mohou být extrakty z rostlin, které jsou bohaté na polyfenoly a flavonoidy. Nejznámějšími zástupci jsou z této skupiny látek kvercetin a flavonol. Tyto látky se hojně vyskytují například v cibuli nebo brokolici⁵⁹.

U čerstvě chycených ryb může dojít ke vzniku sperminu a spermidinu v koncentracích pod 1 mg/100 g masa. Vznik těchto BA se odvíjí zejména od toho, o jaký druh ryby se jedná a jaké byly hladiny volných aminokyselin. Histamin je BA nejvíce spojovaný s otravou rybami a je také používán jako index pro kontrolu kvality a také jako index používaný k detekci kažení ryb. Histamin spolu s agmatinem a kadaverinem jsou používány jako indikátory autolytických změn, které jsou zodpovědné za ztrátu čerstvosti ryb a byly navrženy jako kontrolní indexy v rybách a mořských plodech, které byly vakuově baleny⁵⁸.

4.5 Maso a fermentované masné výrobky

Biogenní aminy jsou také přítomny v masu a masných výrobcích a lze je považovat za markery čerstvosti a také za markery dodržování hygieny během skladování. Tyramin, kadaverin, putrescin a histamin jsou nejčastější BA v masu a masných výrobcích. Koncentrace histaminu je obvykle výrazně nižší než koncentrace histaminu zjištěná v rybách a rybích výrobcích. Proto je otrava histaminem méně častá u masných výrobků než u těch rybích. Důvodem proč se sledují hladiny BA v masu a masných výrobcích je to, že může docházet k tvorbě karcinogenních nitrosoaminů, a to konkrétně u těch masných výrobků,

kteře obsahují kromě vysokých koncentrací BA také přidané dusičnany a dusitany jako konzervační látky ⁶⁰.

Salám je klasifikován jako fermentovaný, suchý nebo polosuchý, neemulgovaný výrobek, získaný z vepřového masa nebo ze směsi vepřového a hovězího masa. Obsahuje přidaný vepřový tuk, cukry, sůl, dusitany a dusičnany a kořením. Výrobek je vložen do přírodních nebo umělých obalů a vystaven fermentaci, zrání a poté je buď uzen nebo vysušen. Během fermentace a zrání jsou bílkoviny a lipidy díky chemickým a enzymatickým reakcím rozkládány na aminokyseliny a mastné kyseliny. Aminokyseliny jsou dekarboxylovány na BA nebo aromatické sloučeniny a mastné kyseliny jsou oxidovány na aldehydy, alkoholy a ketony, které přispívají k chuti a vůni salámu a obecně ovlivňují jejich senzoričké vlastnosti. U salámu bylo zjištěno, že nejčastěji se vyskytujícími BA je putrescin, hned po něm fenylethylamin, poté tryptamin, histamin a nakonec kadaverin. Vliv na výskyt BA má také typ použité startovací kultury pro fermentaci. Použití komerční startovací kultury *Staphylococcus xylosus* vede obecně k výskytu BA ve vyšších koncentracích než při použití probiotické startovací kultury *Enterococcus faecium* ⁶¹.

4.6 Ovoce a zelenina

Volné biogenní aminy v ovoci a zelenině formují typickou a charakteristickou chuť zralých potravin a jsou prekurzory určitých aromatických sloučenin. Polyaminy, jako jsou putrescin, kadaverin, spermidin a spermin, mohou vyvolávat nebo znásobovat toxické účinky tyraminu a histaminu tím, že jsou kompetitivní pro detoxikační enzymy. V rostlinách se polyaminy podílejí na řadě buněčných procesů (buněčné dělení a diferenciace, syntéza nukleových kyselin a bílkovin, stabilita membrány a jiné). Polyaminy putrescin, spermin a spermidin se vyskytují prakticky ve veškeré čerstvé zelenině v množství několika mg/100 g. Ovoce a ovocné šťávy jsou obzvláště bohaté na putrescin zatímco zelená zelenina je bohatší na spermidin ⁶².

4.7 Biogenní aminy jako indikátory čerstvosti potravin

Hlavními faktory, které ovlivňují mikrobiální aktivitu v potravinách, jsou teplota, koncentrace soli a pH. Tyto faktory mohou ovlivnit tvorbu BA dvěma způsoby. V první řadě jsou tyto faktory zodpovědné za celkový metabolismus dekarboxylujících buněk. V druhé řadě je

aktivita dekarboxyláz závislá na stejných parametrech ²³. U fermentovaných výrobků může dojít k výskytu BA v důsledku použití nekvalitních surovin, dostupnosti volných aminokyselin, nedostatku správné výrobní praxe, špatných podmínek skladování a přítomnosti mikroorganismů pozitivních na dekarboxylázu ⁶¹.

U masa a masných výrobků bylo navrženo několik indexů určujících čerstvost masa. Index chemické kvality (CQI) je součtem koncentrací kadaverinu, putrescinu, sperminu, spermidinu a histidinu. Index biogenních aminů (BAI) je součtem koncentrací histidinu, kadaverinu, tyraminu a putrescinu. Byl také navržen index kvality kuřecího masa, který je založený na poměru sperminu a spermidinu ⁶³.

5 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ

Pro kvantitativní analýzu biogenních aminů existuje několik analytických metod včetně vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC), kapilární elektroforézy (CE), vysokoúčinné tenkovrstvé chromatografie (HPTLC) a plynové chromatografie (GC). HPLC je nejčastěji používanou technikou pro stanovení BA ve vínech a pivech, nicméně ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie (UHPLC) se ukázala jako výkonná metoda, díky které je možné dosáhnout vyššího rozlišení, lepší detekce a doba analýzy se s využitím UHPLC velmi zkracuje. V současné době je nejpoužívanější HPLC v systémech s obrácenými fázemi v kombinaci s předkolonovou nebo postkolonovou derivatizací ⁶⁴. Derivatizace v analytické chemii znamená, že v důsledku jednoduché reakce dojde k malé změně chemické struktury analytu a tato změna ve struktuře vede k lepší detekci nebo i separaci ⁶⁵. EFSA doporučuje HPLC z hlediska spolehlivosti a citlivosti jako jednu z nejlepších metod pro analýzu biogenních aminů ve fermentovaných potravinách ⁶⁴.

5.1 Kapilární elektroforéza

Elektroforéza je účinný analytický nástroj pro separaci, protože neovlivňuje molekulární strukturu, a je také vysoce citlivá na malé rozdíly v náboji molekuly a na velikost analytů.

Kapilární elektroforéza je separační technika, při které jsou ionty separovány na základě jejich elektroforetické pohyblivosti v elektrickém poli. Ke generaci elektrického pole během separace je používán vysokonapěťový zdroj. Kapilární elektroforéza nabízí, na rozdíl od chromatografie, mnoho výhod. Při analýze se spotřebují jen nano – až pikolitrové objemy vzorků a celá analýza trvá jen několik málo minut. Kapilární elektroforéza nabízí separaci komplexního vzorku díky své vysoké separační účinnosti.

Separace probíhají v křemenné kapiláře naplněné elektrolytem. V kapilární elektroforéze existují dva způsoby transportu, a to elektroosmotický tok a elektroforetická pohyblivost iontů. Elektroosmotický tok je objemový tok kapaliny v kapilárách. Vzniká v přítomnosti elektrického pole díky povrchovému náboji na vnitřní stěně křemenné kapiláry. Povrch oxidu křemičitého je záporně nabitý při hodnotách pH nad 4, takže kationty se hromadí na povrchu kapiláry. To má za následek hromadný průtok kapaliny směrem ke katodě. Elektroforetická pohyblivost je založena na poměru náboje ku velikosti analytu. Malý kationt bude migrovat směrem ke katodě rychleji než větší kationt, i když budou mít oba kationty stejný náboj.

Elektroosmotický tok je typicky větší než elektroforetická pohyblivost, proto mohou být kationty, neutrální analyty a anionty analyzovány při jedné analýze ⁶⁶.

5.2 Chromatografie

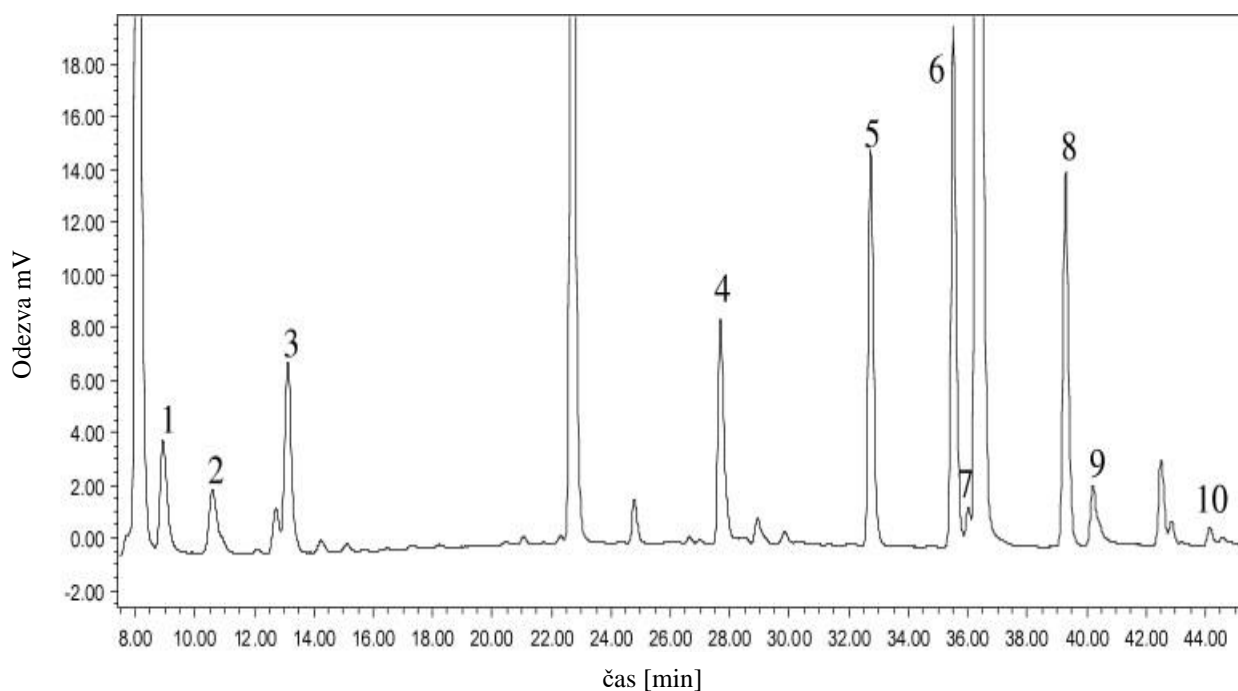
Chromatografie je fyzikálně-chemická separační metoda používaná k separaci a stanovení látek. Během separace jsou látky rozděleny mezi dvě fáze – mobilní a stacionární. Mobilní fáze má daný směr pohybu a je to tekutina která protéká skrz nebo podél stacionární fáze. Běžně se v chromatografii používají tři základní typy mobilní fáze – kapalná, plynná nebo nadkritická. Od skupenství mobilní fáze se většinou odvozují i názvy chromatografie. Kapalinová chromatografie se označuje chromatografie s využitím kapalně mobilní fáze a při využití plynné mobilní fáze jde o plynovou chromatografii. Chromatografie s nadkritickými tekutinami pak využívá jako mobilní fázi tekutinu v nadkritickém stavu ⁶⁷.

5.2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie v analýze biogenních aminů

Analytické stanovení biogenních aminů není jednoduché vzhledem k tomu, že jsou obvykle přítomny v nízkých koncentracích ve složitých maticích. HPLC je technika nejčastěji používaná ke stanovení těchto aminů díky vysokému rozlišení a citlivosti. BA však nemají dobré absorpční vlastnosti ve viditelném, ultrafialovém nebo fluorescenčním rozsahu vlnových délek. Z tohoto důvodu se ke stanovení těchto sloučenin používá chemická derivatizace. Nejčastěji používaná derivatizační činidla jsou o-ftalaldehyd, dansylchlorid, nebo 6-aminochinolyl-*N*-hydroxysuccinimidylkarbamát (zkráceně AQC). Nejčastěji je využíván právě dansylchlorid, protože tvoří s BA stabilní derivatizované sloučeniny detekované UV detektory a fluorescenčními detektory (FLD) ^{60,64}. Tyto derivatizační postupy jsou však často pracné a časově náročné a k odstranění interferencí, které může způsobovat matrice vzorku, je nutné čištění vzorku před samotným měřením. Ve srovnání s konvenčními HPLC/UV, HPLC/FLD poskytuje HPLC ve spojení s hmotnostní spektrometrií (HPLC/MS) významné výhody týkající se citlivosti a selektivity pro analýzu BA. V poslední době se HPLC/MS široce používá k přímé detekci BA v rybách a rybích výrobcích bez derivatizace ⁶⁸.

Na obrázku 14 je prezentován chromatogram standardního roztoku, na kterém lze vidět píky pro dané biogenní aminy. Na chromatogramu lze vidět jednotlivé retenční časy daných BA

a výšku píku, kterou lze odečíst v milivoltech. Při kvalitativní analýze lze z retenčních časů určit, který z BA se ve vzorku nachází. Z výšky píku lze pak integrací zjistit množství daného BA ⁶⁹.



Obrázek 14 - Chromatogram standardního roztoku ⁶⁹

- (1) histamin, (2) agmatin, (3) methylamin, (4) tyramin, (5) putrescin, (6) kadaverin, (7) vnitřní standard, (8) fenyletylamin, (9) spermidin, (10) spermin

5.2.2 Vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie

Vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie je typ rovinné chromatografie, ve které se rozpouštědlo pohybuje stacionární fází ukotvené na desce a jde, na rozdíl od HPLC, o otevřený systém. HPTLC je sofistikovaná forma tenkovrstvé chromatografie (TLC). Hlavním rozdílem mezi HPTLC a TLC jsou vlastnosti separační desky. Deska použitá pro HPTLC obsahuje částice výrazně menší velikosti, má hladší povrch a tenčí vrstva sorbentu zvyšuje citlivost detekce a rychlost analýzy. Vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie nabízí mnoho výhod, jako jsou jednoduchost, přesnost a rychlé výsledky, což z ní činí alternativu k HPLC. Jednou z výhod HPTLC je schopnost analyzovat vzorky obsahující multiaktivní složky, které lze na stejném HPTLC paralelně rozlišit ⁷⁰. Níže je uvedena tabulka 4, která srovnává vlastnosti klasické tenkovrstvé chromatografie a vysokoúčinné tenkovrstvé chromatografie ⁷⁰⁻⁷².

Tabulka 4 - Srovnání tenkovrstvé chromatografie a vysokoúčinné tenkovrstvé chromatografie ⁷¹

| Vlastnost | HPTLC | TLC |
|--|-----------------------|---------------------|
| Střední velikost částic | 5–6 μm | 10–12 μm |
| Tloušťka tenké vrstvy | 200 μm | 250 μm |
| Tloušťka desky | 12 μm | 30 μm |
| Typická migrační vzdálenost | 3–6 cm | 10–15 cm |
| Typická doba separace | 3–20 min | 20–200 min |
| Počet vzorků na desku | < 36 | < 10 |
| Objem vzorků | 0.1–0.5 μl | 1–5 μl |
| Detekční limity při využití absorpce | 100–500 pg | 1–5 ng |
| Detekční limity při využití fluorescence | 5–10 pg | 50–100 pg |

5.2.3 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je analytická separační technika, která se využívá za účelem zjištění složení daného vzorku. Instrumentace pro GC se většinou skládá z lahve s nosným plynem, dávkovače vzorku, kolony, která je umístěna v termostatu, a detektoru. Technika je založená na rozdělování sloučenin mezi dvě fáze, stacionární a mobilní. Mobilní fází je v GC inertní plyn, jako například helium, dusík nebo vodík. Stacionární fáze, která je uložena v chromatografické koloně, je většinou tekutina s vysokou molekulovou hmotností, která je nanesena na tuhém sorbentu nebo je nanesena v tenké vrstvě na stěně kapiláry, což je dnes využívanější typ stacionárních fází. Sloučeniny ve směsi jsou unášeny mobilní fází přes stacionární a na základě rozdílné afinity ke stacionární fázi je každá sloučenina jinak zpomalována a tím dochází k jejich fyzické separaci. Ty sloučeniny, které mají větší afinitu ke stacionární fázi, budou zpomalovány více a budou se déle zdržovat na koloně než ty sloučeniny, které mají afinitu menší.

Detektory používané v GC jsou plamenově ionizační, detektor elektronového záchytu nebo tepelně vodivostní detektor, a také hmotnostní spektrometr. Princip plamenově ionizačního detektoru spočívá v tom, že analyty jsou v plamenu spáleny a vzniklé vodivé ionty jsou detekovány pomocí elektrod, na které je vkládáno napětí a výsledný proud je zaznamenáván na chromatogram. Detektor elektronového záchytu je vysoce selektivní na sloučeniny,

které obsahují atomy nebo funkční skupiny bohaté na elektrony. V ionizující komůrce dochází pomocí β -zářiče k ionizaci přiváděného inertního plynu, nejčastěji dusíku, a volné elektrony se pohybují, díky připojení ke zdroji nízkého potenciálu, k anodě. Tímto způsobem je zajištěn v detektoru ustálený a rovnoměrný tok proudu. Detekce analytů je pak založená na poklesu proudu, který je interpretován jako pík ve výsledném chromatogramu. U tepelně vodivostního detektoru je základem odporově žhavené vlákno, které zaznamenává rozdíl v tepelné vodivosti čistého plynu a plynu s analyty z kolony. Při spojení GC-MS dochází nejen k separaci látek na plynovém chromatografu, tak i ke spektrální analýze jednotlivých sloučenin, které lze na základě MS spektra lépe identifikovat^{65,73}.

6 ZÁVĚR

Biogenní aminy jsou nízkomolekulární látky, které se mohou přirozeně vyskytovat v rostlinách i u zvířat. Lze je rozdělit na endogenní a exogenní. Endogenní, ale i některé exogenní, mohou zastávat mnoho biochemických funkcí a mít vliv na psychiku člověka. Prekurzory pro tyto látky jsou především volné aminokyseliny. Takto vzniklé volné aminokyseliny mohou být, zejména v potravinách, dále přetvářeny mikroorganismy na biogenní aminy. Spousta biogenních aminů vykazuje při vysokých koncentracích toxické účinky a nadměrný příjem biogenních aminů z jídla může mít za následek zdravotní obtíže.

Biogenní aminy se vyskytují nejčastěji v potravinách bohatých na bílkoviny, jako jsou například maso a ryby, ve fermentovaných potravinách ale i v ovoci a zelenině. Ve fermentovaných potravinách mohou za tvorbu biogenních aminů především bakterie mléčného kvašení, a to konkrétně rod *Enterococcus*. Mezi další bakterie zodpovědné za tvorbu biogenních aminů lze zařadit bakterii *Serratia marcescens* nebo *Klebsiella*. Tyto bakterie jsou pozitivní na dekarboxylázu, což je hlavní enzym zodpovědný za tvorbu biogenních aminů.

Ačkoliv byla prokázána spousta vedlejších, někdy i zdraví ohrožujících, účinků spojených s nadměrným příjmem biogenních aminů, neexistuje dodnes žádná legislativa, která by nějakým způsobem limitovala množství biogenních aminů v potravinách. Jediný biogenní amin, který si získal pozornost legislativy, je histamin, jehož limitní koncentrace v rybách a výrobcích z ryb jsou uvedeny v nařízení komise Evropského společenství o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Mezi další velmi toxické biogenní aminy patří putrescin, kadaverin a tyramin.

Navzdory všem negativním účinkům, které mohou biogenní aminy mít na lidské zdraví, jejich detekce v potravinách může být užitečná. Při analýze biogenních aminů se využívá především vysokoúčinná kapalinová chromatografie, která byla doporučena Evropským úřadem pro bezpečnost potravin jako jedna z nejvhodnějších metod. Výskyt biogenních aminů v potravinách může poskytnout informace například o tom, zda byly dodrženy hygienické nároky dané potraviny, zda byla potravina správně uskladněna nebo zda nedošlo ke kontaminaci nežádoucími bakteriemi. Tento fakt dělá z biogenních aminů vhodné indikátory kvality a čerstvosti potravin.

7 POUŽITÁ LITERATURA

1. Lawrence, S. A. *Amines: Synthesis, Properties and Applications*. Cambridge University Press, 2004. ISBN 9780521782845. Dostupné online z: <https://books.google.cz/books?id=35xwBwjhe2MC>.
2. Favre, H. A. & Powell, W. H. *Nomenclature of organic chemistry: IUPAC recommendations and preferred names*. Royal Society of Chemistry, Cambridge UK, 2013. ISBN 9780854041824. Dostupné online z: <https://iupac.qmul.ac.uk/BlueBook/PDF/>.
3. Kotzekidou, P. 22.1 Introduction. *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*. Elsevier 2016. ISBN 9780128019160. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt01104UA1/food-hygiene-toxicology/biogenic-a-introduction>.
4. Park, Y. K., Lee, J. H. & Mah, J.-H. Occurrence and reduction of biogenic amines in traditional Asian fermented soybean foods: A review. *Food chemistry* **278**, 1–9 (2019).
5. Wojcik, W., Lukasiewicz, M. & Puppel, K. Biogenic amines: formation, action and toxicity - a review. *Journal of the science of food and agriculture* **101**, 2634–2640 (2021).
6. Jairath, G., Singh, P. K., Dabur, R. S., Rani, M. & Chaudhari, M. Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: a review. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 6835–6846 (2015).
7. Daintith John, M. E. Catecholamine. *Dictionary of Science (6th Edition)*. Oxford University Press, 2010. ISBN 9780199561469. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt007X4V52/dictionary-science-6th/catecholamine>.
8. Daintith John, M. E. Dopamine. *Dictionary of Science (6th Edition)*. Oxford University Press, 2010. ISBN 9780199561469. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt007X5VDA/dictionary-science-6th/dopamine>.
9. Cammack, R. Attwood, T. K. Campbell, P. N. Parish, J. H. Smith, A. D. Stirling, J. L. Vella, F. Norepinephrine. *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology (2nd Edition)*. Oxford University Press, 2006. ISBN 9780198529170. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt008OAD26/oxford-dictionary-biochemistry/norepinephrine>.
10. Cammack, R. Attwood, T. K. Campbell, P. N. Parish, J. H. Smith, A. D. Stirling, J. L. Vella, F. Epinephrine. *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology (2nd Edition)*. Oxford University Press, 2006. ISBN 9780198529170. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt008O4UI5/oxford-dictionary-biochemistry/epinephrine>.
11. Kramer, I. M. 3.1.1 Adrenaline. *Signal Transduction (3rd Edition)*. Elsevier, 2016. ISBN 9780123948038. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt010V39P1/signal-transduction-3rd/adrenaline>.

12. Steglich, E., Fugmann, B., Lang-Fugmann, S. Serotonin. *RÖMPP Encyclopedia Natural Products*. Thieme Medical Publishers, 2000. ISBN 9783131177117. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt00AQ2N86/r-mpp-encyclopedia-natural/sesamol>.
13. Park, Y. W. 5.10 Vitamins. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. John Wiley & Sons, 2009. ISBN 9780813819822. Dostupné online z: <https://app.knovel.com/hotlink/khtml/id:kt011NAWJ1/bioactive-components/bioactive--vitamins>.
14. Omer, A. K., Mohammed, R. R., Mohammed Ameen, P. S., Abas, Z. A. & Ekici, K. Presence of biogenic amines in food and their public health implications: A review. *Journal of Food Protection* **84**, 1539–1548 (2021).
15. Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal* **9**, 2393 (2011).
16. Pessione, E. & Cirrincione, S. Bioactive Molecules Released in Food by Lactic Acid Bacteria: Encrypted Peptides and Biogenic Amines. *Frontiers in Microbiology* **7**, 876 (2016).
17. Cui, J., Pottosin, I., Lamade, E. & Tcherkez, G. What is the role of putrescine accumulated under potassium deficiency? *Plant cell and environment* **43**, 1331–1347 (2020).
18. Fukui, T., Soda, K., Takao, K. & Rikiyama, T. Extracellular Spermine Activates DNA Methyltransferase 3A and 3B. *International journal of molecular sciences* **20**, 1254 (2019).
19. Bhosle, A. A., Banerjee, M., Barooah, N., Bhasikuttan, A. C., Kadud, K., Ramanand, R. S., Chatterjee, A. ESIPT-active hydroxybenzothiazole-picolinium@CB[7]-HAp NPs based supramolecular sensing assembly for spermine, spermidine and cadaverine: Application in monitoring cancer biomarkers and food spoilage. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **426**, 113770 (2022).
20. Moradi, S., Shareghi, B., Saboury, A. A. & Farhadian, S. The influence of Cadaverine on the structure, stability, and activity of acid phosphatase. *Journal of Molecular Structure* **1247**, (2022).
21. Broadley, K. J. The vascular effects of trace amines and amphetamines. *Pharmacology therapeutics* **125**, 363–375 (2010).
22. Saad, B. & Tofalo, R. *Biogenic Amines in Food: Analysis, Occurrence and Toxicity*. Royal Society of Chemistry, 2019. ISBN 9781788014366. Dostupné online z: <https://books.google.cz/books?id=gwbADwAAQBAJ>.
23. Gardini, F., Ozogul, Y., Suzzi, G., Tabanelli, G. & Ozogul, F. Technological Factors Affecting Biogenic Amine Content in Foods: A Review. *Frontiers in microbiology* **7**, 1218 (2016).
24. Durak-Dados, A., Michalski, M. & Osek, J. Histamine and other biogenic amines in food. *Journal of veterinary research* **64**, 281–288 (2020).
25. Barbieri, F., Montanari, C., Gardini, F. & Tabanelli, G. Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria: A Review. *Foods* **8**, 17 (2019).

26. Villarinho, J. G., Fachinetto, R., Pinheiro F. de V., Sant'Anna, G., Machado, P., Dombrowski, P. A., Cunha, C., Cabrini, D., Martins, Marcos A. P., Bonacorso, H. G., Zanatta, N., Rubin, M. A., Ferreira, J.. Antidepressant-like effect of the novel MAO inhibitor 2-(3,4-dimethoxy-phenyl)-4,5-dihydro-1H-imidazole (2-DMPI) in mice. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* **39**, 31–39 (2012).
27. Sub Laban, T., Saadabadi, A. *Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOI)*. StatPearls Publishing, 2022. Dostupné online z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539848/>.
28. FDA. Depression medicines. [online cit. 20. 5. 2022] Dostupné z: <https://www.fda.gov/consumers/free-publications-women/depression-medicines#MAOI> (2019).
29. Sathyanarayana Rao, T. S. & Yeragani, V. K. Hypertensive crisis and cheese. *Indian Journal of Psychiatry* **51**, 65-66 (2009).
30. Pawul-Gruba, M., Osek, J. Identification of histamine in fish and fish products in Poland during 2014-2018. *Journal of veterinary research* **65**, 483–486 (2021).
31. Del Rio, B., Redruello, B., Fernandez, M., Martin, M. C., Ladero, V., Alvarez, M. A., The biogenic amine tryptamine, unlike β -phenylethylamine, shows in vitro cytotoxicity at concentrations that have been found in foods. *Food chemistry* **331**, 127303 (2020).
32. Del Rio, B., Redruello, B., Linares, D. M., Fernandez, M., Martin, M. C., Ladero, V., Alvarez, M. A., Ruas-Madiedo, P., The biogenic amines putrescine and cadaverine show in vitro cytotoxicity at concentrations that can be found in foods. *Scientific Reports* **9**, 120 (2019).
33. Linares, D. M., Del Rio, B., Redruello, B., Fernandez, M., Martin, M. C., Ladero, V., Alvarez, M. A., Ruas-Madiedo, P., Comparative analysis of the in vitro cytotoxicity of the dietary biogenic amines tyramine and histamine. *Food Chemistry* **197**, 658–663 (2016).
34. Rauscher-Gabernig, E., Gabernig, R., Werner, B., Grossgut, R., Bauer, F., Paulsen, P. Dietary exposure assessment of putrescine and cadaverine and derivation of tolerable levels in selected foods consumed in Austria. *European Food Research and Technology* **235**, 209–220 (2012).
35. Ly, D., Mayrhofer, S., Schmidt, J. M., Zitz, U., Domig, K. J. Biogenic Amine Contents and Microbial Characteristics of Cambodian Fermented Foods. *Foods* **9**, 198 (2020).
36. Bulushi, I. Al, Poole, S., Deeth, H. C. & Dykes, G. A. Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **49**, 369–377 (2009).
37. Stratta, P., Badino, G. Scombroid poisoning. *CMAJ: Canadian Medical Association journal* **184**, 674 (2012).
38. Naila, A., Flint, S., Fletcher, G., Bremer, P., Meerdink, G. Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches. *Journal of Food Science* **75**, R139–R150 (2010).
39. Raina, R., Mahajan, Z., Sharma, A., Chakraborty, R., Mahajan, S., Sethi, K. S., Kapur, G., Kaelber, D. Hypertensive Crisis in Pediatric Patients: An Overview. *Frontiers in Pediatrics* **8**, 588911 (2020).

40. Wang, L., Xu, X.-M., Chen, Y.-S., Ren, J. & Liu, Y.-T. HPTLC-FLD-SERS as a facile and reliable screening tool: Exemplarily shown with tyramine in cheese. *Journal of Food and Drug Analysis* **26**, 688–695 (2018).
41. Farha, K. A., van Vliet, A., van Marle, S., Vrijlandt, P. & Westenbrink, D. Hypertensive crisis-induced electrocardiographic changes: a case series. *Journal of medical case reports* **3**, 7283 (2009).
42. Calvi, A., Fischetti, I., Verzicco, I., Murri, B. M., Zanetidou, S., Volpi, R., Coghi, P., Tedeschi, S., Amore, M., Cabassi, A. Antidepressant Drugs Effects on Blood Pressure. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* **8**, 704281 (2021).
43. Hrubisko, M., Danis, R., Huorka, M. & Wawruch, M. Histamine intolerance—the more we know the less we know. A review. *Nutrients* **13**(7), (2021).
44. Nazar, W., Plata-Nazar, K., Sznurkowska, K. & Szlagatys-Sidorkiewicz, A. Histamine Intolerance in Children: A Narrative Review. *Nutrients* **13**, 2228 (2021).
45. Schnedl, W. J., Schenk, M., Lackner, S., Enko, D., Mangge, H., Forster, F. Diamine oxidase supplementation improves symptoms in patients with histamine intolerance. *Food Science and Biotechnology* **28**, 1779–1784 (2019).
46. Singh, V.P., Pathak, V., Verma, K. A. Fermented Meat Products: Organoleptic Qualities and Biogenic Amines. *American Journal of Food Technology* **7**, 277-288 (2012).
47. Bargossi, E., Gardini, F., Gatto, V., Montanari, CH., Torriani, S., Tabanelli, G. The Capability of Tyramine Production and Correlation between Phenotypic and Genetic Characteristics of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains. *Frontiers in Microbiology* **6**, 1371 (2015).
48. Rodriguez-Jerez, J. J., Lopez-Sabater, E. I., Roig-Sagues, A. X., Mora-Ventura, M. T. Histamine, Cadaverine and Putrescine forming bacteria from ripened Spanish semipreserved anchovies. *Journal of Food Science* **59**, 998–1001 (1994).
49. Schirone, M., Visciano, P., Conte, F., Paparella, A. Formation of biogenic amines in the cheese production chain: Favouring and hindering factors. *International Dairy Journal* **133**, 105420 (2022).
50. Košmerl, T., Radonjic Š., S., Prosen, H. Biogenic amines in red wine: The impact of technological processing of grape and wine. *Acta agriculturae Slovenica* **101**, 249–261 (2013).
51. Milheiro, J., Ferreira, L. C., Filipe-Ribeiro, L., Cosme, F. & Nunes, F. M. A simple dispersive solid phase extraction clean-up/concentration method for selective and sensitive quantification of biogenic amines in wines using benzoyl chloride derivatisation. *Food Chemistry* **274**, 110–117 (2019).
52. Doeun, D., Davaatseren, M., Chung, M.-S. Biogenic amines in foods. *Food science and biotechnology* **26**, 1463–1474 (2017).
53. Kantor, A., Kacaniova, M., Pachlova, V. Biogenic amines content in different wine samples. *Journal of microbiology biotechnology and food sciences* **4**, 37–40 (2015).

54. Poveda, J. M., Ruiz, P., Seseña, S., Palop, M. L. Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria during a craft brewing process. *LWT - Food Science and Technology* **85**, 129–136 (2017).
55. Lorencová, E., Salek R. N., Černíková, M., Buňková L., Hýlková A., Buňka F. Biogenic amines occurrence in beers produced in Czech microbreweries. *Food Control* **117**, 107335 (2020).
56. Buňka, F., Budinský, P., Čechová, P., Drienovský, V., Pachlová, V., Matoulková, D., Kubáň, V., Buňková, L. Content of biogenic amines and polyamines in beers from the Czech Republic. *Journal of the Institute of Brewing* **118**, 213–216 (2012).
57. Pradenas, J., Galarce-Bustos, O., Henríquez-Aedo, K., Mundaca-Uribe, R. & Aranda, M. Occurrence of biogenic amines in beers from Chilean market. *Food Control* **70**, 138–144 (2016).
58. Houicher, A., Bensid, A., Regenstein, J. M., Özogul, F. Control of biogenic amine production and bacterial growth in fish and seafood products using phytochemicals as biopreservatives: A review. *Food Bioscience* **39**, 100807 (2021).
59. Viji, P., Venkateshwarlu, G., Ravishankar, C. N. Role of plant extracts as natural additives in fish and fish products. *Fishery Technology* **54**, 145–154 (2017).
60. Bedia Erim, F. Recent analytical approaches to the analysis of biogenic amines in food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **52**, 239–247 (2013).
61. Roselino, M. N., Maciel, L. F., Sirocchi, V., Caviglia, M., Sagratini, G., Vittori, S., Taranto, M. P., Cavallini, D. Analysis of biogenic amines in probiotic and commercial salamis. *Journal of Food Composition and Analysis* **94**, 103649 (2020).
62. Moret, S., Smela, D., Populin, T., Conte, L. S. A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chemistry* **89**, 355–361 (2005).
63. Wojnowski, W., Namieśnik, J., Płotka-Wasyłka, J. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry for in situ determination of biogenic amines in meat: Estimation of meat's freshness. *Microchemical Journal* **145**, 130–138 (2019).
64. Angulo, M. F., Flores, M., Aranda, M., Henríquez-Aedo, K. Fast and selective method for biogenic amines determination in wines and beers by ultra high-performance liquid chromatography. *Food Chemistry* **309**, 125689 (2020).
65. Niwa, M. Derivatization and Labeling Techniques. *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)* 210–213. Academic Press, 2019. ISBN 9780081019849. Dostupné online z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095472139708>.
66. Gattu, S., Carihfield, C. L., Lu, G., Bwanali, L., Veltri, M. L., Holland, L. A. Advances in enzyme substrate analysis with capillary electrophoresis. *Methods* **146**, 93–106 (2018).
67. Nollet, L. M. L., Toldra, F. *Food Analysis by HPLC*. Taylor & Francis, 2012. ISBN 9781439830840. Dostupné online z: https://books.google.cz/books?id=yBEeEqzGCnsC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

68. Shiono, K., Tsutsumi, T., Nabeshi, H., Ikeda, A., Yokoyama, J., Akiyama, H., Simple and rapid determination of biogenic amines in fish and fish products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using 2,4,6-triethyl-3,5-dimethyl pyrylium trifluoromethanesulfonate as a derivatization reagent. *Journal of Chromatography A* **1643**, 462046 (2021).
69. Ordóñez, J. L., Callejón, R. M., Morales, M. L. & García-Parrilla, M. C. A survey of biogenic amines in vinegars. *Food Chemistry* **141**, 2713–2719 (2013).
70. Srivastava, M. *High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)*. Springer Science & Business Media, 2010. ISBN 3642140254. Dostupné online z: https://books.google.pn/books?id=vQ41B4iZZuAC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.
71. Merck. HPTLC, 2021 [online cit. 20. 6. 2022]. Dostupné z: <https://www.merckmillipore.com/CZ/cs/analytics-sample-preparation/learning-center-thin-layer-chromatography/hptlc/NGub.qB.fCoAAAFVpJDx07N,nav>.
72. Zlatkis, A., Kaiser, R. E. *HPTLC - High Performance Thin-Layer Chromatography*. Elsevier Science, 2011. ISBN 9780080858098. Dostupné online z: https://books.google.cz/books?id=MMKQF9j9Jo4C&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.
73. Karasek, F. W., Clement, R. E. *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Principles and Techniques*. Elsevier Science, 2012. ISBN 9780080929064. Dostupné online z: https://books.google.cz/books?id=_WVDqDII63cC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.