

Obsah biogenních aminů ve svalovině vybraných chlazených sladkovodních ryb

Bc. Kamila Šrámková, DiS.

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Kamila ŠRÁMKOVÁ, DiS.

Osobní číslo: T10945

Studijní program: N 2901 Chemie a technologie potravin

Studijní obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

Téma práce: Obsah biogenních aminů ve svalovině vybraných chlazených sladkovodních ryb

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Stručná charakteristika ryb.
2. Technologie zpracování ryb.
3. Význam ryb ve výživě člověka.
4. Charakteristika biogenních aminů, jejich výskyt ve svalovině ryb a potenciální riziko pro konzumenta.

II. Praktická část

1. Založení skladovacího pokusu se svalovinou odebranou z čerstvých sladkovodních ryb.
2. Stanovení obsahu biogenních aminů ve vzorcích sladkovodních ryb.
3. Vyhodnocení výsledků, diskuze s literaturou a vyvození závěrů.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

[1] BREMNER, H. Allan. *Safety and quality issues in fish processing*. 1st published. Cambridge: CRC Press, 2002. ISBN 0-8493-1540-9.

[2] INGR, Ivo. *Jakost a zpracování ryb*. 2. vydání. Brno: MZLU v Brně, 2010. sv. 102. ISBN 978-80-7375-382.

[3] SANTOS, S. M. H. Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, vol. 29, p. 213-231.

[4] RAWLES, D. D., FLICK, G., MARTIN, R. E. Biogenic amines in fish and shellfish. *Advances in Food and Nutrition Research*, 1996, vol. 39, p. 329-365.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

6. ledna 2012

Termín odevzdání diplomové práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 15. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá charakteristikou biogenních aminů, popisem jejich vzniku a proměn během technologických procesů, jako je zpracování, skladování ryb a výroba produktů z nich. Dále se tato práce zabývá toxikologickými aspekty pro člověka a zabránění jejich vzniku.

Hlavním cílem diplomové práce je stanovení biogenních aminů (putrescin, spermin, spermidin, kadaverin, tyramin, histamin) ve svalovině vybraných chlazených sladkovodních ryb.

Stanovené obsahy biogenních aminů v jednotlivých vzorcích svaloviny ryb nebyly detekovány v množstvích, které by mohly negativně ovlivnit zdraví spotřebitele, a to po celou dobu experimentu. Nejvyšší obsah byl naměřen u putrescinu, dále u kadaverinu, spermidinu, tyraminu a nakonec sperminu. Histamin byl detekován ve velmi nízkých množstvích. Žádný ze vzorků nepřekročil limity určené legislativou.

Klíčová slova: Biogenní aminy, ryby, HPLC

ABSTRACT

This thesis deals with the characteristics of biogenic amines, a description of their origin and changes during technological processes such as processing, storage and fish production of the products from them. Furthermore, this work deals with toxicological aspects for human and preventing their occurrence.

The main target of the thesis is to determine biogenic amines (putrescine, spermine, spermidine, cadaverine, tyramine, histamine) in the muscle of selected chilled freshwater fish.

Set contents of biogenic amines in fish muscle samples of each were detected in quantities that could adversely affect the health of consumers, and throughout the experiment. The highest content was measured with putrescine, next cadaverine, spermidine, tyramine and finally spermine. Histamine was detected in very low quantities. None of the samples exceed the limits specified by legislation.

Keywords: Biogenic amines, fish, HPLC

Poděkování

Chtěla bych poděkovat především vedoucí své práce Ing. Vendule Pachlové, PhD., za odborné vedení, za cenné rady, připomínky a za poskytnutí podkladů nezbytných pro moji práci a konzultaci. Dále bych chtěla vyjádřit poděkování za praktickou pomoc při vypracování také Ing. Ludmile Zálešákové za spolupráci v laboratoři. A v neposlední řadě mé rodině za podporu.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 RYBY.....	11
1.1 RYBY SLADKOVODNÍ A MOŘSKÉ.....	13
1.2 KAPR OBECNÝ (<i>CYPRINUS CARPIO</i>)	14
1.3 PSTRUH DUHOVÝ (<i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i>)	15
2 CHOV A ZPRACOVÁNÍ RYB.....	17
2.1 CHOV SLADKOVODNÍCH RYB	17
2.2 LOV MOŘSKÝCH RYB	18
2.3 JAKOST A ZDRAVOTNÍ NEZÁVADNOST SLADKOVODNÍCH A MOŘSKÝCH RYB	19
2.4 PRODEJ SLADKOVODNÍCH RYB	20
2.5 ZPRACOVÁNÍ SLADKOVODNÍCH A MOŘSKÝCH RYB	21
3 RYBY VE VÝŽIVĚ ČLOVĚKA	27
3.1 POZITIVNÍ VLIVY	27
3.1.1 Vitamín D.....	28
3.1.2 Jód	29
3.1.3 Omega 3 a 6 mastné kyseliny	30
3.2 NEGATIVNÍ VLIVY.....	31
3.2.1 Zdravotní rizika z ryb a rybích výrobků.....	31
3.2.1.1 Parazitární onemocnění z ryb.....	32
3.2.1.2 Bakteriální onemocnění z ryb	32
3.2.2 Intoxikace chemickými cizorodými látkami	33
3.2.2.1 Rtuť	33
3.2.2.2 Kadmium a polychlorované bifenyly.....	34
4 BIOGENNÍ AMINY.....	35
4.1 BIOGENNÍ AMINY V POTRAVINÁCH	38
4.1.1 Biogenní aminy v rybách.....	40
4.1.2 Otravy histaminem	43
4.1.3 Otrava tyraminem.....	44
II PRAKTICKÁ ČÁST	45
5 CÍLE PRÁCE	46
6 MATERIÁL A METODIKA	47
6.1 PRŮBĚH EXPERIMENTU	47
6.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ POMOCÍ HPLC	47
6.3 POUŽITÝ MATERIÁL	48
6.4 PŘÍSTROJE	48
7 VÝSLEDKY A DISKUSE	50

ZÁVĚR	66
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	68
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	71
SEZNAM OBRÁZKŮ	72
SEZNAM TABULEK.....	73
SEZNAM PŘÍLOH.....	74

ÚVOD

Současné trendy v kvalitě a bezpečnosti potravin vyhledávají sloučeniny, které mohou ovlivnit lidské zdraví a biogenní aminy do této skupiny látek patří. Biogenní aminy vznikají dekarboxylací aminokyselin, jsou to nízkomolekulární dusíkaté organické látky se značnou biologickou aktivitou, která se uplatňuje v metabolismu zvířat, rostlin a lidí. Mohou způsobit výrazné farmakologické, fyziologické a toxické účinky na organismus.

Biogenní aminy byly prokázány v potravinách, jako jsou ryby, maso, sýr, zelenina a víno. Nejčastěji nalezenými biogenními aminy v potravinách jsou histamin, tyramin, kadaverin, 2-fenyletylamin, spermin, spermidin, putrescin a tryptamin. Původ biogenních aminů je činí vhodnými chemickými ukazateli hygienické kvality a čerstvosti potravin, některé jsou spojeny s mírou kvašení potravin. Rozvoj výroby a vhodných technologií k získání produktů prostých nebo téměř prostých na biogenní aminy je výzvou pro masný průmysl. Poznatky o obsahu biogenních aminů v potravinách jsou potřebné pro vyhodnocení možného rizika alimentární intoxikace při příjmu velkého množství potravin s vysokým obsahem biogenních aminů. Tvorba biogenních aminů v potravinách v důsledku mikrobiální dekarboxylace aminokyselin může vést u spotřebitelů, kteří trpí alergickou reakcí k obtížím při dýchání, ke svědění, vyrážce, zvracení, horečce a hypertenzi. Tvorbě biogenních aminů v potravinách zabráňujeme především omezením mikrobiálního růstu.

Je nesporné, že ryby a rybí výrobky si zasluhují největší pozornost, pokud jde o obsah biogenních aminů.

Ryby byly vždy důležitou a nepostradatelnou složkou potravy lidí. Význam sladkovodních ryb ve výživě člověka je menší oproti významu ryb mořských, avšak není naprosto zanedbatelný. Pro člověka mají ryby především hospodářský význam. Jsou důležitým potravinovým zdrojem pro lidskou výživu a nemalý význam mají také ve volných vodách jako přirozená součást vodního ekosystému.

Množství ryb vylovených každoročně z moří a oceánů dosahuje zhruba 120 milionů tun. Z celkové světové roční produkce ryb připadá 80 % z podílu výlovu na ryby mořské a zbývajících 20 % světové produkce ryb na ryby sladkovodní. Produkční sladkovodní rybářství je v České republice relativně malý obor zemědělské činnosti, ale v naší zemi má dlouholetou tradici a v zahraničí je známý produkcí kvalitních sladkovodních ryb. Hlavní chovanou rybou je kapr obecný, který je i úspěšnou exportní komoditou. Produkce

pstruha duhového má omezený význam z důvodu limitovaných zdrojů kvalitní vody pro jeho chov, a také vzhledem k cenovým relacím pstruha importovaného k nám ze zemí západní Evropy.

Pro ryby a rybí výrobky jsou obecně jakostní požadavky stanoveny v zákoně č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích v platném znění. Ke zpracování ryb a výrobků z nich lze použít pouze surovinu odpovídající zákonným požadavkům.

I. TEORETICKÁ ČÁST

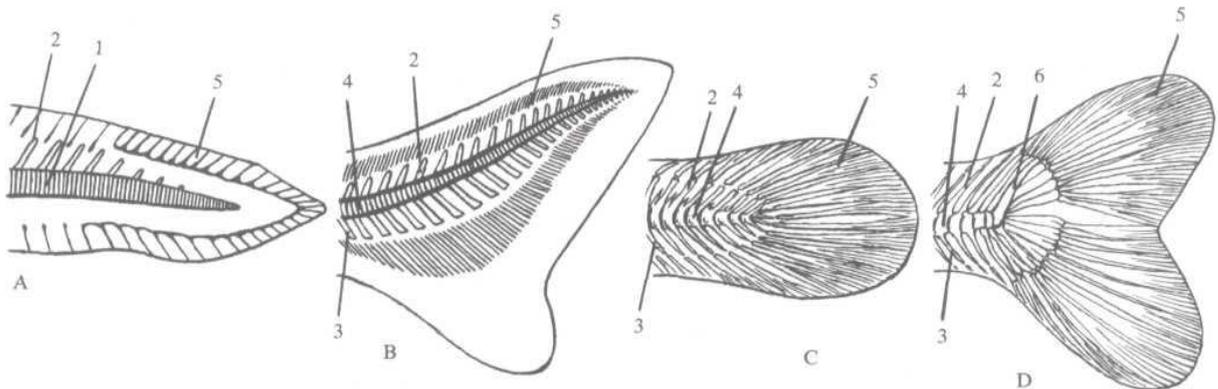
1 RYBY

Pro člověka mají ryby především hospodářský význam. Jsou důležitým potravinovým zdrojem pro lidskou výživu a nemalý význam mají také ve volných vodách jako přirozená součást vodního ekosystému. Díky jejich výskytu, stavu a druhovému složení můžeme posuzovat ekologické zatížení daných lokalit [1].

Třída obratlovců Paprskoploutví (Actinopterygii), dříve uváděna jako třída Ryby (Osteichthyes), zahrnuje kolem 28 500 druhů. Její zástupci jsou nedílnou součástí vodních ekosystémů, mnohé druhy jsou druhy ohroženými a jiné jsou důležitými indikátory stavu životního prostředí. Ryby můžeme rozdělit, podle toho v jakém typu vod žijí, na mořské, sladkovodní, tažné nebo-li diadromní, ty žijí v obou typech vod a ryby brakických vod. Dle rybí migrace, spojené s rozmnožováním ryb, rozeznáváme anadromní ryby táhnoucí z moře do sladkých vod (např. losos obecný), opačně táhnoucí druhy katadromní (např. úhoř říční). Dále rozlišujeme reofilní druhy, které žijí v tekoucích vodách, limnofilní ve vodách stojatých. V blízkosti dna nalezneme druhy bentické a pelagické vyhledávající prostor ve vodním sloupci. Ryby můžeme rozdělit podle preference typu potravy na bentofágní, požírající potravu ze dna, planktonofágní, živící se planktonem (dělíme je na zooplanktonofágní a fytoplanktonofágní) a ryby dravé [2].

Anatomii těla ryb vévodí její tvar přizpůsobený životu ve vodním prostředí. Základní tvar je vřetenovitý, setkáváme se s tvarem hadovitým, laterálně nebo shora zploštělým a výjimkou nejsou ani tvary bizarní. Kosti ryb nemají kostní dřev, kostra bývá více či méně zkostnatělá a tělo je kryto kůží, v níž jsou ve škáře zanořeny kostěné šupiny. Při tvorbě lebky a pásma prsních kostí se uplatňují dermální kosti [2]. Tělo ryb se skládá z hlavy, trupu a ocasu, kdy tyto jednotlivé části těla nejsou vzájemně odděleny, ale plynule do sebe zapadají. Hlava ryb má různý tvar, její variabilita jde od klasického kuželovitého tvaru přes protáhlejší až k ploché. Podobnou variabilitu nalezneme ve tvaru úst, která jsou obvykle uložena na konci hlavy, druhotně i na spodku hlavy, toto uložení odpovídá způsobu života a typu potravy. Ústa bývají opatřena vousy, a to o různém počtu i délce [3]. Orgány hmatu a chuťové orgány jsou umístěny právě v dutině ústní, v okolí úst a na bocích těla. Do smyslové soustavy ryb patří i postranní čára přijímající z vodního prostředí informace o pohybu vody. Charakteristický znak je párový čichový orgán tvořený párem nosních jamek [2]. Oči ryb podléhají modifikacím v závislosti na prostředí. Umístěny bývají po stranách hlavy, u druhů ležících na dně na vrchní straně hlavy, ryby žijící v jeskyních

mají oči překryté kůží nebo degenerované. Ty, které žijí v hlubinách, mají oči velké nebo naopak úplně malé [3]. Rybí oko je tvořeno kulovitou čočkou a zvláštností je způsob zaostřování přitahováním čočky k sítnici pomocí svalu, tzv. Hallerova zvonku. Oči ryb nemají víčka ani slzné žlázy [2]. Hranici mezi hlavou a trupem tvoří skřele. Jsou složeny z několika kostí kryjící žábry, které taktéž podléhají modifikaci dle prostředí. Trup ryb se skládá z části hřbetní, hrudní a břišní. Hřbetní část je vyplněna silným svalstvem, které přechází i do ocasu. Pro trup a ocas jsou charakteristické ploutve [3]. Ploutve slouží jako orgány pohybu, buď nepárové, nebo párové podepřené paprsky. U některých druhů se objevuje tuková ploutvička. Ocasní ploutev lze dle souměrnosti rozlišit na homocerní, dyfycerní a heterocerní. Jednotlivé typy ploutví jsou znázorněny na obrázku 1.



Obrázek 1: Typy ocasních ploutví

A - mihule, B - heterocerní ploutev žraloka, C - dyfycerní ploutev bahníka, D - homocerní ploutev kapra. 1 - struna hřbetní (chorda dorsalis), 2 - horní trnové výběžky obratlů (u mihule tyčkovité chrupavčité útvary), 3 - dolní trnové výběžky obratlů, 4 - těla obratlů, 5 - paprsky ploutevního lemu mihulí, ceratotrichia žraloků a lepidotrichia kostnatých rybí, 6 - urostyl [4]

Páteř je tvořena dvojduťnými obratli, na které se upínají žebra buď pravá anebo nepravá. Pohyb je rybám umožněn svalovinou ploutví a mohutným bočním svalem [2]. Trup obsahuje vnitřní orgány [3]. Trávicí soustava začíná ústy, na čelistech se mohou nacházet polyfiodontní zuby, u některých druhů chybějí. Hltan a jícn jsou krátké, jako vychlípenina jícnu vzniká plynový měchýř, může i chybět. U některých není fyziologicky vytvořen žaludek a trávení probíhá ve střevě. Do střeva ústí vývody z pankreatu a jater, součástí žlučových cest je žlučník. Trávicí trubice končí řitním otvorem. Kloaka bývá

zachována jen výjimečně. Dýchacím orgánem jsou žábry, které jsou kryty skřelemi, u mnoha ryb je významné kožní dýchání. Srdce ryb přečerpává odkysličenou krev do žáber k okysličení a ze žáber je okysličená krev odváděna tepnami a hřbetní aortou do těla. Ryby mají párové ledviny a nemají nadledvinky. Nervová soustava je tvořena centrální nervovou soustavou představovanou pětídílným mozkiem, páteřní míchou a periferní nervovou soustavou. Ryby jsou obvykle gonochoristé a hermafroditismus se vyskytuje výjimečně. Většina rybích druhů je oviparních a oplození je vnější. Ke tření ryb dochází obvykle jedenkrát ročně. Podle nároků na výtěrový substrát rozeznáváme druhy litofilní, ty vytírají jikry na kamenité, štěrkovité dno (např. jelec tloušť), druhy fytofilní na vodní nebo zatopené porosty (např. štika obecná), druhy indiferentní na rostlinný substrát (např. okoun říční), druhy pelagofilní volně do vodního sloupce (např. amur bílý a různé druhy mořských ryb) [2].

Mnohé mořské druhy jsou významnými objekty mořského rybolovu a sladkovodní druhy zase sladkovodního rybářství. Ve střední Evropě má dlouhodobou tradici chov ryb v účelových nádržích - rybnících, tj. rybníkářství. Existence rybníků na území ČR je doložena již v 11. st. a rozhodujícím chovným druhem je kapr obecný (*Cyprinus carpio*), se zaměřením na masnou produkci [2].

1.1 Ryby sladkovodní a mořské

Jediným prostředím, v němž mohou ryby žít trvale, je voda. Ne každá však může vyhovovat všem druhům ryb. Charakter vody, životního prostředí ryb a ostatních vodních živočichů a rostlin, vyplývá z jejich daných chemických a fyzikálních vlastností a závisí i na proměnlivých vnějších vlivech. Voda tvoří nedílný celek s krajinou, kterou protéká nebo v níž se rozléhá. Vhodnost vodního prostředí pro určitý druh ryb závisí na rozlehlosti, hloubkových a proudových poměrech, teplotě, obsahu kyslíku a rozpuštěných nerostných solích, stupni čistoty vody, potravě a podmínkách přirozeného rozmnožování [5]. Z hlediska vztahu k prostředí je možné ryby rozdělit na čtyři skupiny. Do první řadíme ryby mořské, které prožijí celý svůj život ve slané vodě a dostanou-li se do sladké vody, zahynou. V moři žijí ryby jednak volně, plavou ve vodním sloupci (pelagické), dále u dna (bentické), o něž se obvykle opírají. Bentické ryby žijí buď na mělčinách u pobřeží, nebo v hlubinách. Do druhé skupiny řadíme ryby žijící výlučně ve sladkých vodách, pokud se dostanou do vod mořských, po určité době uhynou. Sladkovodní ryby dělíme na říční

(reofilní), ty jsou přizpůsobeny životu v proudící vodě (mohou žít i ve vodě stojaté, ale nikdy se v ní nerozmnožují, např. tloušť), a ryby stojatých vod (limnofilní), u nichž jsou vztahy opačné. I u ryb sladkovodních rozeznáváme druhy pelagické a bentické. Jsou však i druhy, které mohou žít a rozmnožovat se jak ve vodách stojatých, tak i proudících (např. okoun). Do třetí skupiny počítáme druhy ryb, které v dospělosti žijí v moři, ale líhnou se a dospívají ve sladké vodě. Tyto druhy nazýváme anadromní a ryby, u kterých je situace obrácená katadromní. Anadromních ryb je více a patří mezi ně např. losos, mořský pstruh, siven severní, jeseter. Ke katadromním druhům řadíme např. úhoře. Ve čtvrté skupině nalezneme ryby, které mohou žít v sladkých i slaných vodách, přesněji ve vodách smíšených, brakických, v okolí ústí řek nebo v málo slaných vnitrozemských mořích (např. kapr, sumec, štika) [3].

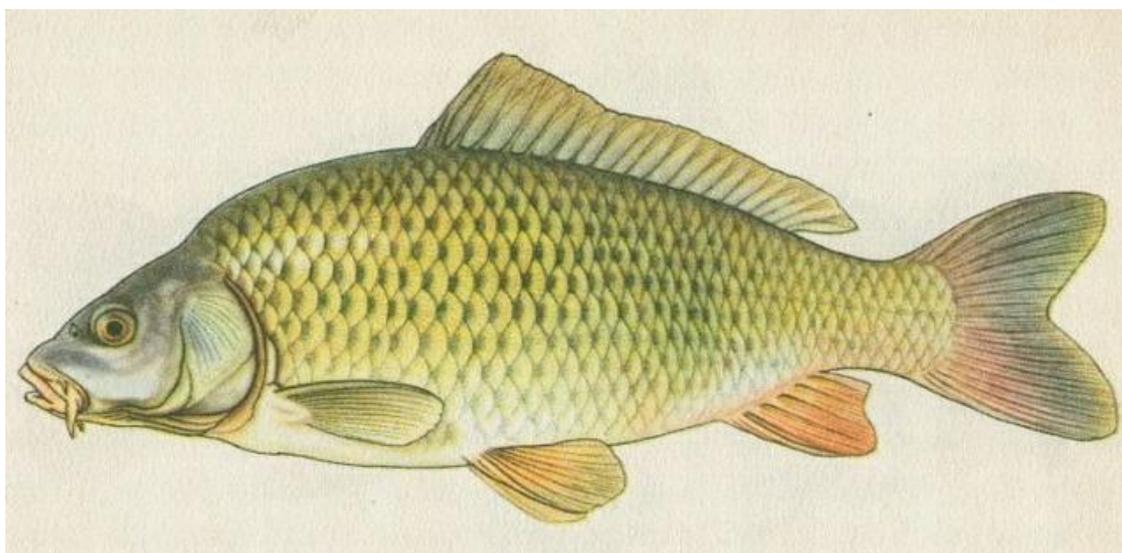
1.2 Kapr obecný (*Cyprinus carpio*)

Řád Máloostní (Cypriniformes) je jedním z nejpočetnějších řádů. Zahrnuje hospodářsky velmi významné sladkovodní druhy. Zástupci mají bezzubá ústa, na pátém žaberním oblouku obvykle vyvinuté požerákové zuby, v kůži mají zapuštěny cykloidní šupiny, které někdy chybějí. Řád obsahuje pět čeledí s více než 2660 druhy [2].

Čeď Kaprovití (Cyprinidae) zahrnuje více než 2200 druhů. Mezi základní znaky patří vysunovatelná ústa vybavená 1 - 2 páry vousků, na pátém žaberním oblouku mají požerákové zuby uložené v 1 - 3 řadách, chybějí jim horní žebra, ale mají mezisvalové kůstky. Nemají vyvinutý žaludek. Tato čeď zahrnuje druhy zooplanktofágní, zoobentofágní, herbivorní i dravé. Vytírají se v jarních měsících a o jikry ani potomstvo nepečují. Kaprovité nalezneme od Severní až po Střední Ameriku, v Africe, Evropě i Asii. Velké množství zástupců má hospodářský význam pro sladkovodní rybařství, mnoho druhů je významných pro akvaristiku. Nejvýznamnějším druhem je kapr obecný [2]. Kapr obecný je znázorněn níže na obrázku 2.

Kapr obecný není na našem území druhem původním. Je všežravec, může dosáhnout hmotnosti 30 kg, délky přes 1 m a dožít se přes 40 let [2]. Je to ryba teplomilná, která se drží v hejnech. Hlava je malá, nesouměrně kuželovitá a zabírá jednu pětinu délky těla. Ústa jsou bezzubá s dolů vysunovatelným rypcem [5]. Po stranách úst má 2 páry vousků a požerákové zuby ve třech řadách [2]. Oči jsou posazeny poměrně vysoko a jsou pohyblivé. Vnitřní orgány tvoří jednoduchá kličkovitá zaživací trubice bez žaludku,

obklopena játry, která se táhnou vedle této trubice v podobě provazců. Ploutve kapra jsou pravidelné, symetricky rozložené. Mohutná hřbetní ploutev a prsní ploutve vyrůstají těsně pod skřelemi, břišní ploutve leží uprostřed délky těla, řitní ploutev je lichoběžníkového tvaru a ocasní ploutev je široká, srdcovitě vykrojená [3]. Vyšlechtěné rybniční formy jsou nápadně hřbetnaté a divoká říční forma má nižší tělo. Jsou chovány formy šupinaté a formy, u nichž je výskyt šupin na těle redukován (kapr lysý, kapr hladký). Kapr je na hřbetě tmavý, boky má žlutozelené a břicho žlutobílé. Jsou však známy i barevné okrasné linie kapra. Běžná tržní hmotnost se pohybuje v rozpětí 1,5 - 5 kg [2].



Obrázek 2: Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) [6]

1.3 Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)

V řádu Lososotvární (Salmoniformes) nalezneme sladkovodní a anadromní mořské ryby severní polokoule. Základními znaky jsou tuková ploutvička, vřetenovité tělo s drobnými šupinami, hlava je bez šupin a postranní čára je přítomna [2].

Čeleď Lososovití (Salmonidae) je v současné době jediná čeleď zahrnující ryby s velkým hospodářským významem [2].

Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) byl do Evropy introdukován z Ameriky, nepatří tedy mezi naše původní ryby. Pstruh je celkově stříbřitý s tmavozeleným hřbetem, má husté černé tečkování a podél postranní čáry se táhne duhově zbarvený pás. Vytírá se většinou na jaře, ale jsou i populace s podzimním výtěrem [2]. Samci jsou v době tření zbarveni velmi intenzivně, někdy jsou šedočerní se sytým leskem a samice jsou světlejší. Kromě

sytější barvy se samci od samic liší hlouběji rozeklanou tlamou a výrazným zakřivením spodní čelisti [3]. Pstruh duhový je na rozdíl od pstruha obecného vyšší a plošší. Má užší tlamu, zuby v čelistech drobnější. Ploutve jsou poměrně malé, pravidelně rozmístěné, kdy mezi ploutví hřbetní a ocasní sedí nápadná ploutvička tuková. Ocasní ploutev je vykrojená [5]. Z lososovitých ryb se pstruh nejlépe přizpůsobil intenzivnímu chovu [2]. Pstruh duhový je znázorněn na obrázku 3.



Obrázek 3: Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) [7]

2 CHOV A ZPRACOVÁNÍ RYB

Množství ryb vylovených každoročně z moří a oceánů dosahuje zhruba 120 milionů tun. Z celkové světové roční produkce ryb připadá 80 % z podílu výlovu na ryby mořské a zbývajících 20 % světové produkce ryb na ryby sladkovodní [8].

2.1 Chov sladkovodních ryb

Produkční sladkovodní rybářství v České republice je relativně malý obor zemědělské činnosti. V naší zemi má dlouholetou tradici a v zahraničí je známý výrobou kvalitních sladkovodních ryb. V České republice nalezneme více než 51 000 hektarů rybníků. Hlavní chovanou rybou (86 %) je tradiční "český kapr", který je i úspěšnou exportní komoditou. Kapr je v rybních doplňován rybami býložravými, línem, síhy a rybami dravými. Produkce pstruha duhového má omezený význam (3 - 4 %) z důvodu limitovaných zdrojů kvalitní vody pro jeho chov, také vzhledem k cenovým relacím pstruha importovaného k nám ze zemí západní Evropy [8].

Intenzivní rybolov na udici i do sítí ryby neustále a ve značném množství odčerpává. Přirozená reprodukce by proto nestačila. Nejen rybníky, ale i volné vody, jako jezera, řeky a přehradní nádrže, musí být proto pravidelně zarybňovány vhodnými druhy ryb. Už od středověku se v Evropě chovají ryby v rybnících, umělých a vypustitelných vodních nádržích. Hlavními objekty chovu v rybnících jsou kapři, štiky, candáti a pstruzi. Dostatečné množství volných násad pro rybníky a volné vody zajišťují rybníkáři umělým nebo poloumělým chovem ryb. Poloumělým chovem ryb rozumíme vysazování matečných ryb do zvláštních mělkých rybníčků s hustým rostlinným porostem na dně, nebo do rybníčků s tvrdším dnem, kam rybníkáři upevňují pro výtěr některých druhů ryb zvláštní hnízda. Když se ryby na rostlinstvo nebo na hnízda vytřou, odloví se a plůdek vylíhlý z jiker se pak postupně vysadí do menších, mělkých, na živiny bohatých plůdkových rybníků. Odtud se rybky často během prvního roku, někdy druhým rokem, vysazují jako tzv. násada do větších rybníků, řek, jezer a přehrad. Touto metodou odchovávají rybníkáři kapry, sumce a candáty. Kapři se vytírají na měkké čerstvě zatopené vodní rostlinstvo, sumcům a candátům se vkládají do třecích rybníčků připravená hnízda. Štiku, lososovité ryby a marénu velkou odchovávají rybáři uměle. Pohlavně zralé matečné ryby, odlovené většinou těsně před třením z volných vod nebo z rybníků, zbavují mírným tlakem na břišní

stěny jiker a mlíčí. Ve zvláštních nádobách pak ve vhodném poměru jikry a mlíčí smísí a ukládají do zvláštních zařízení, kde se pod neustálou kontrolou dále vyvíjejí. Nakonec se líhne drobný plůdek. Pstruhové líhně jsou vybaveny zařízeními nejrůznějších typů pro líhnutí jiker. Nejrozšířenější jsou přístroje na spodní a kroužkový tok vody. U prvního typu protéká voda zespodu sítím, na němž jsou jikry uloženy. Jikry jsou vodou dobře proplachovány a plůdek, který se vylíhne, je zespodu přetékáající vodou nadlehčován, což zabraňuje mechanickému poranění. U druhého typu se voda uvádí do krouživého pohybu, přičemž neustále protéká vrstvou jiker [9].

Umělým a poloumělým chovem člověk napomáhá přírodě. Ztráty při kontrolovaném poloumělém nebo umělém výtěru jsou nepatrné proti ztrátám, k nimž dochází v přírodě. Ve vodách volných čeká na nakladené jikry a na plůdky ryb řada nepřátel a vývoj jiker i potěru je závislý na mnoha dalších faktorech (teplota vody, povodně, kolísání vodní hladiny). Výsledky umělého a poloumělého odchovu ryb jsou téměř stoprocentní. Ryby se do volných vod nasazují buď jako váčkový plůdek, odrostlý tzv. zrychlený plůdek, nebo jako roční či dvouletá násada. Čím větší nasazované ryby jsou, tím větší je naděje, že přežijí všechny nástrahy a vyrostou v kapitální úlovky [9].

Nejdůležitější událostí rybářského roku jsou podzimní výlovy produkčních rybníků. Jeden z nejdůležitějších požadavků na práci spojenou s výlovy je provést přesun ryb rychlým a šetrným způsobem. Vlastnímu výlovu rybníka předchází přípravné práce, jako je strojení rybníka, příprava náradí a vypuštění rybníka na stanovenou výšku hladiny. Pomůcky na lovení rybníků se celkově rozdělují na sítěné náradí, kam patří ruční a mechanické kesery, čeřenky, vrhací sítě, vatky, nevody, podložní sítě a ploty. Dále ostatní náradí, kam řadíme lodě, vaničky, skluzy, třídičky, váhy mechanické nakladače a transportní bedny [8].

2.2 Lov mořských ryb

Rybaření v moři lze provozovat po celý rok, moderní techniky a vybavení povolují rybaření i za nejtěžších podmínek. Vybavení rybářů ze sladkých vod nelze použít, materiály nejsou odolné proti korozi mořské vody, hliníkové součásti se potáhnou bílým povlakem, na šňůrách a vlascích krystalizuje sůl. Bez ohledu na silné korozivní účinky mořské vody podléhá rybářská výbava při lovu v moři větší zátěži. Používají se uhlíkové rybářské pruty, speciálně konstruované navijáky, z materiálů ocel odolná proti působení mořské vody.

Při rybaření v moři se využívá několika technik. Rozeznáváme rybaření v příbojové oblasti a na pobřeží, dále rybaření z lodi, které dělíme na rybolov na hladině, ve středním sloupci vody a na dně. Dle těchto jednotlivých způsobů lovu je rozlišeno i potřebné vybavení, kde se zohledňuje vše od velikosti, délky prutu, typů navijáků, vlasců, až po háčky, zátěže a další vybavení [10].

2.3 Jakost a zdravotní nezávadnost sladkovodních a mořských ryb

Světové výlovy ryb koncem osmdesátých let minulého století překročily 90 miliónů tun za rok. Pro výživu lidí se ze světových výlovů ryb využívá více než 70 % vylovených ryb a tento podíl se stále zvyšuje [11]. V roce 1996 se vylovilo na světě 121,01 miliónů tun ryb [8]. Ryby mořské představují 80 % všech vylovených ryb [11]. Pro tržní spotřebu se získávají mořské ryby lovem a sladkovodní většinou chovem. Tržní význam má ze sladkovodních ryb zejména kapr obecný, dále štika, lín, pstruh, candát, cejn, úhoř, losos, maréna, amur, siven a tolstolobik. Mořské ryby se k nám dovážejí chlazené nebo mrazené, zejména makrela obecná, štikozubec stříbrný, sled' obecný, treska, tuňák obecný a platýz obecný [12]. Spotřeba sladkovodních ryb v ČR v roce 1998 činila 1,2 kg/osobu/rok [8]. Celková spotřeba ryb u nás pro rok 2010 je dle českého statistického úřadu 6,2 kg/obyvatele/rok [13].

Z hlediska chemického složení rybího masa mezi základní složky tělních tkání ryb patří voda (50 - 83 %), bílkoviny (15 - 20 %), tuky (1 - 35 %), sacharidy, minerální látky a vitamíny. Složení je ovlivněno mnoha faktory jako je druh ryby, stádium pohlavního cyklu, prostředí, v němž ryba žije, věk a pohlaví. Obsah vody je nepřímo závislý na obsahu tuku v rybím těle, je rozdílný v jednotlivých partiích svaloviny téže ryby. Během života se zvyšuje a ovlivňuje jakost a údržnost rybího masa. Bílkoviny rybího masa obsahují výhodné podíly esenciálních aminokyselin. Rybí maso obsahuje mezi svalovými vlákny málo vaziva, elastin není obsažen vůbec, čímž je umožněna snadná a rychlá tepelná úprava. Obsah tuku je velmi rozdílný a podle něj se ryby rozdělují na libové, středně tučné a tučné. Libové obsahují tuku méně než 2 % a řadí se k nim většina ryb treskovitých, štika, candát, okoun. Středně tučné obsahují 2 – 10 % tuku, patří k nim ryby platýsovitě, losos, pstruh, kapr, sumec. K rybám tučným, s více než 10 % tuku, náleží sled', makrela, úhoř [11].

Produkce a zpracování ryb je specifickým oborem. V současné době platí v ČR pro hodnocení jakosti sladkovodních tržních ryb ČSN 46 6802 (schválena 1. 2. 1989). Tato norma platí pro nákup, dodávání a prodej celých tržních sladkovodních ryb z tuzemské produkce [8].

Mezi základní pojmy patří např.:

- Hmotnost ryby – hmotnost ryby po odkapání přebytečné vody,
- Výtěžnost – poměr hmotnosti těla ryb k hmotnosti ryby,
- Hmotnost těla – hmotnost ryby bez částí těla, které se do výtěžnosti nezapočítávají,
- Stolní hodnota – výsledek smyslové zkoušky před tepelnou úpravou a po ní.

Ryby se dodávají živé nebo mrtvé, mrtvé musí mít organoleptické znaky čerstvě zabitých ryb, musí splňovat dané požadavky a znaky jakosti. Doprava živých tržních ryb se uskutečňuje ve vhodných přepravních nádobách a zařízeních ve vodě s dostatečným množstvím rozpuštěného kyslíku. Doporučená teplota vody pro transport je 4 - 8°C. Mrtvé ryby se přepravují proloženy šupinovým nebo drceným ledem ve vhodných přepravkách, kdy teplota rybí svaloviny nesmí přesáhnout 5°C. Voda použitá na výrobu ledu musí odpovídat požadavkům pro pitnou vodu [11].

2.4 Prodej sladkovodních ryb

Ryby jsou řazeny mezi hospodářská zvířata, jejichž maso je určeno a využíváno k výživě lidí. Pravidelnou povinností dodavatele je sledování zdravotního stavu rybích obsádek, také hodnocení zdravotního stavu ryb před jejich uvedením do oběhu [11]. Zde platí vyhláška Mze č. 287/1999 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty v platném znění [14]. V případě zjištění poruch zdravotního stavu ryb uvědomí příslušný orgán veterinární správy. Mezi příznaky onemocnění ryb patří změny chování, poruchy pohybu, poruchy příjmu potravy, izolace jednotlivých kusů od hejna, shromažďování přidušených ryb při hladině. Při posuzování povrchu těla ryby, by čerstvá zdravá ryba měla mít charakteristický rybí pach. Kůže by měla být lesklá, vlhká, se slabou vrstvou kožního hlenu. Oko lesklé, vyplňující oční dutinu, konzistence svaloviny pružná [11].

Při prodeji sladkovodních ryb pochází převážný podíl z podzimních výlovů a prodává se těsně před vánočními svátky na tržištích a samostatných prodejních místech [11].

Provozovatel samostatného prodejního místa je musí zajistit tak, aby vyhovovalo platným veterinárně hygienickým požadavkům a řídí se metodickým návodem k sezónnímu prodeji ryb vydaným Státní veterinární správou České republiky [15]. Mezi vybavení patří prodejní pult s omyvatelnou, dobře čistitelnou pracovní deskou s odpadním otvorem. Musí zde být dostatečně velké kádě na úchovu živých ryb, odpovídající welfare. Dále co nejkratší odtok odpadních vod do kanalizace a na místě musí být příslušné dokumenty týkající se ryb, dodací list, doklad o převzetí. Pokud je součástí prodeje i zabíjení, kuchání a jiná úprava ryb, provozovatel je povinen požádat krajskou veterinární správu (KVS) o podmínky pro výkon těchto činností. KVS po provozovateli musí požadovat, aby prodejní místo mělo hygienicky odpovídající váhy, porcovací desku, paličku na omračování, stěrky, uzavíratelné a označené nádoby na odpady, přívod pitné vody, ochranné pomůcky, platný zdravotní průkaz osoby, která činnost vykonává. Při usmrcování se ryby omráčí silným úderem tupým předmětem na temeno hlavy. Omračeným rybám se přetne mícha a cévy řezem vedeným bezprostředně za hlavou, nebo se přetnou žaberní oblouky a ryby se vykrví. K zakázaným úkonům způsobujícím nepřiměřenou bolest se řadí vsouvání prstů pod skřele na žábry, vtlačování prstů do očnic, násilné vytlačování jiker, zbavování ryb šupin za živa a omračování, vykrvování jiným než daným způsobem. Živé ryby v kádích se přechovávají při neustálém přítoku pitné vody. Hustota obsádky v kádích musí respektovat poměr hmotnosti ryb a vody při skutečné teplotě a nejnižším přípustném množství kyslíku ve vodě [11].

2.5 Zpracování sladkovodních a mořských ryb

Sladkovodní ryby jsou po výlovu ošetřeny a udržovány různě dlouho v živém stavu. Musí být dodržovány zásady welfare, dostatek vody o předepsané teplotě a dostatečně okysličené. Živé sladkovodní ryby jsou vyváženy do zahraničí nebo uplatňovány na vnitřním trhu. Pouze desetina ročního výlovu sladkovodních ryb v ČR je průmyslově zpracovávána na rybí polotovary a na rybí výrobky. Mořské ryby jsou v současnosti zpracovávány na moderních, vysoce technicky vybavených rybářských lodích. Tyto lovící továrny mohou na moři setrvat několik měsíců, některé ryby neloví, ale pouze je zpracovávají. Jsou to lodě mateřské a spolupracují s několika loděmi lovícími. Dalším typem lodí jsou lodě mrazírenské, které ulovené ryby přímo zmrazují a dále je nezpracovávají. Zmrazené polotovary jsou předány do přístavů pro obchodování nebo

ke zpracování. Posledním typem rybářských lodí jsou lodě původní, které používají rybáři v pobřežních vodách k výlovu. Úlovky do přístavu předávají v čerstvém stavu. Hlavní zásadou pro zpracování sladkovodních a mořských ryb je rychlé zpracování rybí tkáně, z důvodu zachování kvality a vlastností potraviny. Pro neustálou kontrolu čerstvosti ryb je vhodné hodnocení čichem, ve sporných případech zkouška varem, dále řada doplňujících laboratorních zkoušek, které jsou ovšem časově náročné a nákladné. Příkladem je kontrola obsahu biogenních aminů (problematické obsahu biogenních aminů v rybím masu je věnována samostatná kapitola) pomocí HPLC (High Performance Liquid Chromatography) nebo kontrola rizikových prvků metodou AAS (Atomová absorpční spektrometrie) [11].

V roce 2002 bylo v České republice vyloveno 19,210 tun sladkovodních tržních ryb, z tohoto množství bylo 1,610 tun průmyslově zpracováno. Zpracování sladkovodních ryb neustále stagnuje. Sortiment finálních výrobků průmyslově zpracovaných sladkovodních ryb je velice úzký. Na trh se uvádějí ryby celé, půlené nebo porcované v čerstvém stavu nebo zmrazené, a to ve vakuovém balení, nebo balené v inertní atmosféře. Na trh se uvádějí také sladkovodní ryby uzené [11].

Usmrcení ryb a jejich úprava. Zpracovny ryb musí vyhovovat veterinárním hygienickým požadavkům na podmínky pro práci s touto choulostivou surovinou. Provozovny pro zpracování ryb musí mít oddělené prostory pro chlazení a zpracování suroviny, pro čištění a stahování z kůže, pro pečení, uzení, marinování, porcování balení a v neposlední řadě i pro skladování hotových výrobků. Filetování, plátkování a další zpracování je prováděno na místech oddělených od míst usmrcování, odřezávání hlav a kuchání. Solení je prováděno na místech oddělených od míst, na kterých jsou konány činnosti jiné. Uzení je prováděno v samostatné místnosti tak, aby kouř a teplo neunikaly do míst, kde se zpracovávají jiné produkty rybolovu [11]. Ryby lze v místech zpracování omračovat zařízením využívajícím pulzující elektrický proud o napětí 220 V, plynný oxid uhličitý (CO₂) s následným vykvrvením [8]. V menších zpracovatelských provozech, ve specializovaných provozovnách a při sezónním prodeji ryb lze ryby omračovat silným úderem na hlavu v místě nad očima. Následuje bezprostřední vykvrvení přetnutím céva míchy těsně za hlavou. Ve velkých provozech jsou ryby mechanicky dopraveny a vyklopeny do zařízení, kde jsou elektricky omráčeny a usmrceny [11].

Odstranění šupin. U některých druhů ryb se mohou šupiny ponechat (pstruh, maréna, lín), naopak u ryb určených ke stažení z kůže není třeba šupiny odstraňovat [11]. Ruční

odstranění šupin je namáhavé a časově náročné, proto je vhodné použít mechanické odšupinovací zařízení (zejména pro kapry). Usmrcení kapři jsou hydraulicky a skluzem dopraveni do odšupinovačky. V tomto zařízení typu kovového válce se rybami otáčí a šupiny jsou odstraňovány z kůže proudem vody z trysek. Tímto způsobem je odstraněno 95 % šupin bez poškození kůže a svaloviny. Doba odšupinování trvá 3 - 6 minut. Z dalšího zpracování se vyloučí ryby znehodnocené a poškozené [8].

Odstranění vnitřností, hlavy a ploutví. Odstranění vnitřností z těla usmrcené ryby je závažnou operací. Upravenou okružní pilou se rozřízne dutina břišní a ručně se vyjmou orgány, které se roztřídí. Oddělí se požitelné části k dalšímu zpracování. Nesmí se poškodit žlučový váček a stěny střev z důvodu znehodnocení svaloviny. Hlava se odděluje jako část nekonzumovatelná, u sladkovodních ryb pomocí hydraulické sekačky hlav. Ploutve se z těla ryby odřezávají po vyjmutí vnitřností ručně sekáčkem nebo rotujícími diskovými noži. Dle požadavku odběratele mohou být ploutve i hlava ponechány u požitelných částí [11].

Půlení, porcování, filetování. Půlení opracovaných ryb lze provést různými způsoby. Pokud se řez vede středem páteře, je každá půlka rovnoměrně stejná. Půlicí řez je však častěji veden podél páteře a vznikají dvě rozdílné poloviny. Existuje systém půlení ryb dvěma rotačními noži, ty vyříznou páteř i s ocasní ploutví, ale je nevýhodný, protože vyřízne i část svaloviny. Porcování je dělení nepůlených ryb. Na porcovačce vznikají příčnými řezy nepůlené ryby „podkovy“ a z půlené ryby vznikají „steaky“. Rybími filetami myslíme hřbetní a břišní svalovinu. Při filetování se odděluje svalová část od páteře a žeber, jde o vykostění ryby [11].

Praní. Celý dosavadní proces přivedl rybí svalovinu k mikrobiální kontaminaci. Při mechanizovaném praní ryb se obsah mikrobů sníží o 90 %. Používá se voda pitná. Nejvíce se uplatňují pračky bubnové [8].

Prodlužování údržnosti čerstvého rybího masa. Oprané a okapané ryby je třeba co nejdříve zchladit a udržovat při teplotě 0 - 2°C, nebo je co nejdříve tepelně opracovat. Možným způsobem prodloužení údržnosti rybího masa je uplatnění kyseliny mléčné a jejích derivátů Purac, Purasal a další. Preparáty nahradí chybějící kyselinu mléčnou a vybaví rybí maso schopností inhibovat rozvoj mikroorganismů. Údržnost rybího masa lze prodloužit

jeho balením do směsi inertních plynů. Inertní atmosféra je obranou proti aerobním mikroorganismům [11].

Strojní oddělování rybího masa. Na kostrách a kostech ryb zůstává významné množství svalových a tukových tkání. Strojní oddělení zbytků masa spočívá v destrukci rybích koster i dalších zpracovatelných zbytků. Protlačováním této měli různými systémy se oddělí nezpracovatelné části. Nejpoužívanějšími separátory jsou ty, kde je měl protlačována jemnými otvory v ocelovém válci [11].

Zmrazování sladkovodních ryb. Komoditní vyhláška č. 326/2001 Sb. přísně rozlišuje ryby čerstvé a zmrazené. Čerstvé musí být chlazené tak, aby nedošlo ke zmrznutí svaloviny. Psychroanabióza čerstvého rybího masa, prodlouží údržnost řádově ve dnech, kryoanabióza umožní mrazírenské skladování ryb řádově po několik měsíců. Problémem zmrazování jsou nepříznivé účinky ledu, a to mechanické poškození buněčných tkání ostrými hranami krystalků. Mechanické poškození je tím větší, čím větší jsou krystalky, což hrozí při pomalém zmrazování. Zmrazené ryby musí být zmrazeny na -18°C . Rozmrazování musí být pomalé, aby se obnovily žádoucí vlastnosti [11].

Uzení sladkovodních ryb. Uzení ryb je metodou účinné konzervace působením tepla a kouře, za vzniku typické chuti a vůně. V průmyslových podmínkách se udí zejména opracování kapří, kteří jsou púlení a nasoleni tak, aby svalovina obsahovala nejméně 2 % chloridu sodného. Udí se v udírenských komorách s vyvíječem kouře a registrací teploty [11]. Udící proces má tři fáze. Osušování, kdy se ryba předsouší ($60^{\circ}\text{C}/1$ hodina), ve druhé fázi pečení se tepelně opracovává ($85^{\circ}\text{C}/1$ hodina) a ve třetí fázi barvení a aromatizace se ryby zakuřují a vybarvují hustším kouřem ($50^{\circ}\text{C}/40$ minut). Skladují se v suchém a chladném prostředí [8].

Dovoz živých mořských ryb se stále rozšiřuje a jsou určeni jak k běžnému prodeji v tržní síti, tak pro zpracování. Do České republiky se dováží zmrazená rybí surovina určená ke zpracování na výrobky nebo k přímému prodeji v tržní síti, také polotovary pro přímý prodej a také rybí výrobky [11].

Zpracování zmrazených mořských ryb a rozmrazování. Dovážejí se hotové rybí výrobky (rybí konzervy), rybí polotovary pro přímý prodej (rybí filé), ale i rybí suroviny pro vlastní zpracování. Ryb k nám dovážené jsou zmrazeny a dlouhodobě uchovávány při teplotách -18 až -30°C . Při mrazírenském skladování hrozí dvě nepříjemnosti: ztráta hmotnosti

a oxidační změna tuků [11]. Rozmrazování je základní operací před dalším zpracováním. Rybám by se měla vrátit podoba a vlastnosti, které měly před zmrazením. Je třeba užít příslušnou dávku tepla. Během rozmrazování dochází ke ztrátě hmotnosti, kolem 5-ti %. Rozmrazování se provádí vzduchem, vodou, ve vakuu a elektricky. Každý ze způsobů má několik variant [8].

Praní, třídění, kuchání a filetování. Praní je další přípravnou operací, která zbavuje ryby nečistot a mikroorganismů. Základní podmínkou je pitná voda. Praní musí být provedeno šetrně, aby se vyloučilo mechanické poškození. V praxi se uplatňují talířové pračky a bubnové průchodní. K třídění se používají mechanické třídičky. Ryby jsou dále vykuchány, tedy zbaveny vnitřností, a to buď s ponecháním nebo odříznutím hlavy. U vykuchaných ryb se někdy odřeže i ocasní ploutev [11].

Uzení ryb, solení ryb, marinování ryb. Ryby lze udit dvojím způsobem, a to studeným nebo horkým kouřem. Při uzení studeným kouřem je teplota kouře 17 - 25°C. K uzení za studena se používají ryby solené. Uzení trvá 70 hodin a užívá se suchého kouře. Uzení horkým kouřem probíhá ve třech fázích. Při teplotě kouře 45°C se ryby předsušují, při teplotě 85 - 100°C se pečou a poté se hustým kouřem barví a aromatizují při nižší teplotě. Solení ryb patří k nejstarším způsobům uchovávání ryb. Koncentrace soli a způsob solení se volí dle toho, k jakému účelu jsou ryby soleny. U nás se ze solených výrobků prodávají loupané řezy ze slanečků v oleji, ze solených sardelí sardelová očka. Úprava ryb marinováním má dvě fáze, v první přeměňujeme rybí maso ve stravitelnou formu a současně probíhá první část konzervace. Druhá fáze představuje vlastní úpravu k distribuci. V první fázi ryby zrají ve slané kyselé lázni za normální teploty (studené marinády), nebo vařením či jinou tepelnou úpravou (teplé marinády). Při další úpravě se výrobky studeně marinované ukládají do slabšího slané kyselého nálevu a výrobky označované jako teplé marinády se zalévají slabě kyselým nálevem nebo rosolem. Mohou se použít různé omáčky nebo zálivky, v nichž je sůl a kyselina octová [11].

Rybí polokonzervy a konzervy. Rybí olejové polokonzervy se dovážejí ze zahraničí, u nás se vyrábějí jen výjimečně. K výrobě se užívají ryby solené, někdy uzené studeným kouřem, ty se vkládají do plechovek a zalévají olejem. Rybí konzervy se u nás vyrábějí v několika druzích, většina se však dováží ze zahraničí. Vyrábí se termosterilací [11]. Sterilizace rybích konzerv se provádí v autoklávech při teplotě 121°C a době trvání 20 minut. Do konzerv se zpracovávají především ryby tučné (sleď, sardinka, makrela, tuňák, losos) [8]. Rozlišujeme

tři základní druhy konzerv, a to: v oleji, v zálivce (nejčastěji tomatové) a konzervy ve vlastní šťávě [11].

Na trhu najdeme také speciální rybí výrobky. Patří sem jemné marinády, rybí pasty, rybí salát s majonézou a kaviár [11].

3 RYBY VE VÝŽIVĚ ČLOVĚKA

Dostatečná výživa musí tělu člověka dodávat potřebnou energii, minimální množství bílkovin, sacharidů a minerální látky (včetně stopových prvků), esenciální aminokyseliny a esenciální mastné kyseliny a vitamíny. Člověk také musí přijímat dostatečné množství vody. Potrava musí také obsahovat tzv. balastní látky, tj. nestravitelné součásti rostlin (celulóza, lignin aj.) [16]. Ryby byly vždy důležitou a nepostradatelnou složkou potravy lidí [3]. Význam sladkovodních ryb ve výživě člověka je menší oproti významu ryb mořských, avšak není naprosto zanedbatelný [9]. Čerstvé ryby nesmí vykazovat cizí pachy, povrchové znečištění, mechanické poškození a vůně musí být charakteristická pro daný druh ryb. Konzistence musí vykazovat charakteristické vlastnosti struktury svaloviny a svalovina nesmí obsahovat parazity [17]. Pro ryby a rybí výrobky jsou obecně jakostní požadavky stanoveny v zákoně č. 110/1997 Sb. v platném znění o potravinách a tabákových výrobcích [18]. Ke zpracování ryb a výrobků z nich lze použít pouze surovinu odpovídající zákonným požadavkům. Čerstvé sladkovodní ryby se skladují, přepravují a uvádějí do oběhu při teplotě od - 1°C do + 5°C, čerstvé mořské ryby se skladují, přepravují a nabízejí k prodeji v tajícím ledu při teplotě od - 1°C do + 2°C. Nejvýznamnější požitelnou částí ryb je svalovina, kdy čerstvá rybí svalovina je téměř bezbarvá, případně se slabým oranžovým a načervenalým nádechem. Má charakteristický pach. Kromě svaloviny jsou konzumována i játra. K potravním účelům se používají i produkty pohlavní (jikry a mlíčí). Lipidy ryb se vyznačují vysokým stupněm nenasycenosti a zastoupením polyenových mastných kyselin. Obsah minerálních látek tvoří zhruba 1 - 2 %, nejvýznamnější je jód. Obsah vitamínů je nutričně významný v případě lipofilních vitamínů A a D [17]. Ryby jako potravina jsou vhodné pro všechny věkové skupiny, i pro ty co chtějí snižovat fyzickou hmotnost. Ve 100 g svaloviny kapra nalezneme přibližně tyto hodnoty: 106 kalorií, 16,0 g bílkovin, 4,2 g tuku a ve 100 g pstruha: 98 kalorií, 18,5 g bílkovin, 3,0 g tuku [19].

3.1 Pozitivní vlivy

Postupem času byly prokázány pozitivní vlivy konzumace ryb na zdraví člověka:

- při podávání 650 g makrely denně, byla po týdnu prokázána změna koncentrace mastných kyselin v krevních destičkách

- podáváním stravy s vyšším obsahem ryb bylo docíleno již po krátké době zvýšení obsahu kyseliny eikosapentaenové v krevní plazmě z detekovatelných stop na 2,5 %
- bylo prokázáno, že k příznivým výsledkům vede podávání sladkovodních ryb a to i v menším množství
- byl sledován vliv spotřeby ryb na snížení úmrtnosti v důsledku arterosklerózy u větších pokusných skupin a podrobným rozborem dat byla prokázána nepřímá korelace mezi spotřebou ryb a úmrtností ve sledovaném dvacetiletém období (muži, kteří jedli 30 g ryb za den, tzn. 1 - 2 pokrmy z ryb za týden, měli úmrtnost o polovinu nižší, než ti, kteří ryby nejedli)
- byl zjištěn nízký výskyt rakoviny prsu v zemích s vysokou spotřebou ryb [20].

Významný je obsah vitamínů v rybím masu a tuku. V tuku ryb jsou obsaženy především vitamíny A a D, ve svalovině a vnitřnostech potom vitamíny A, B₁, B₁₂, kyselina nikotinová, kyselina pantotenová, dále vitamíny C, D a E. Rybí maso obsahuje také řadu minerálních látek, zejména vápník, fosfor, draslík, fluor, síru, hořčík, železo mangan a jód. Bohatě jsou zastoupeny i prvky stopové [12].

3.1.1 Vitamín D

Vitamíny jsou organické nízkomolekulární sloučeniny. Jsou syntetizované autotrofními organismy, heterotrofní organismy je syntetizují jen v omezené míře a získávají je jako exogenní látky potravou a některé prostřednictvím střevní mikroflóry. Vitamíny jsou nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Nejsou zdrojem energie, ani stavebním materiálem, mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí a často bývají označovány exogenní esenciální biokatalyzátory. Mají různou chemickou strukturu. Nejběžnější třídění vitamínů je podle společných fyzikálních vlastností, rozpustnosti ve vodě (v polárním prostředí) a v tucích (v nepolárním prostředí). Vitamíny takto dělíme na dvě skupiny, a to vitamíny rozpustné ve vodě, hydrofilní vitamíny a vitamíny rozpustné v tucích, lipofilní vitamíny, kam patří právě vitamín D [21].

Vitamín D je nutný pro dokonalý metabolismus vápníku a fosforu v lidském organismu a pro správnou tvorbu kostní hmoty a její růst. Ovlivňuje také imunitní systém [22]. Vitamín D je společný název pro skupinu blízce příbuzných lipofilních 9,10-sekosteroidů, z nichž nejvýznamnější jsou D₃ cholekalciferol a vitamín D₂ ergokalciferol. Vitamíny D

vznikají působením UV záření z prekurzorů a ty se nazývají provitamíny D. Provitamínem D₃ je 7-dehydrocholesterol a provitamínem D₂ je ergosterol. Nejvýznamnější formou je cholekalciferol. Denní potřeba vitamínu D je 2,5 až 10 µg a je kryta vitamínem D₃ získávaným biosyntézou z provitaminu 7-dehydrocholesterolu, současně v různé míře také vitamínem D₃ nebo D₂ obsaženým v potravě [21]. Hypovitaminosa způsobuje křivici, která se projevuje u malých dětí a osteomalacii u dospělých, pokud nejsou vystaveni slunečnímu záření, nebo pokud nepřijímají dostatek vitamínu D v potravě. Projevem je změknutí kostí v důsledku ztrát vápníku a fosfátu. Mezi dobré zdroje patří např. rybí tuk, který byl v minulém století hojně využíván jako prevence výše popsaných příznaků hypovitaminosy [23]. Naopak dávky vyšší než je denní potřeba (už pětinasobné překročení denní dávky) se negativně projevují různými symptomy, jako např. průjemy, zvracení i poškození ledvin a může dojít až k hyperkalcinemií [22].

Ryby syntetizují cholekalciferol stejným způsobem jako člověk, proto se také přirozeně vyskytuje v potravinách živočišného původu, kde jej doprovází příslušný prekurzor a příslušné metabolity. Pozoruhodné koncentrace cholekalciferolu jsou v jaterních tucích mořských ryb a cenným zdrojem je také maso tučných ryb. Jako všechny lipofilní vitamíny jsou i vitamíny D oxylabilní látky a lze tedy předpokládat vznik autooxidačních produktů. Některé z reakcí je možné očekávat i v potravinách, např. vznik oxidačních produktů a isomerů vitamínu D [21].

3.1.2 Jód

Minerální látky obsažené v potravinách využívá organismus člověka jako stavební hmotu, materiál, z něhož jsou tvořeny tkáně a hrají důležitou roli ve funkčních systémech organismu. Jód je nezbytný pro správnou činnost štítné žlázy. U dětí je potřebný pro rozvoj intelektových schopností a v těhotenství je deficit jódu nebezpečný pro vyvíjející se plod [22]. Tělo dospělého člověka obsahuje 10 - 30 mg jódu. Je součástí hormonů štítné žlázy thyroxinu a trijodthyroninu. Z chemického hlediska se jedná o jodované aromatické aminokyseliny, které jsou odvozeny od tyrosinu. Při metabolismu se ve formě jodidových aniontů, které jsou hlavní formou jódu obsaženého v potravě, v gastrointestinálním traktu člověka snadno a úplně vstřebává. Při příjmu ve formě jodičnanů nejprve dochází k redukci na jodidové ionty. Dochází k rychlému transportu jódu krví do štítné žlázy, která zachytí denně asi 60 µg ve formě jodidu. Obsah jódu v potravinách se obvykle pohybuje v setinách

až desetinách $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Nejvyšší koncentrace nalezneme v mořských rybách a řasách. V případě sladkovodních ryb nalezneme obsah jódu u kapra 21 μg a u pstruha 72 μg v 1 kg. Denní dávka, která zabrání deficitu, se u dospělého člověka pohybuje mezi 50 - 75 μg [21]. Z důvodu nízké koncentrace jodů ve svalovině sladkovodních ryb jsou významnějším zdrojem jódu ryby mořské.

3.1.3 Omega 3 a 6 mastné kyseliny

Z chemického hlediska patří lipidy do několika skupin látek. Většinu tuku v potravinách tvoří triacylglyceroly. Cholesterol a další steroly lipidy v potravinách doprovázejí. Nejdůležitější složkou lipidů jsou mastné kyseliny a na jejich složení závisí vliv lipidů na zdraví [24]. Nasycené mastné kyseliny působí na organismus člověka nepříznivě, a to zvyšováním hladiny cholesterolu v krvi. Jsou obsaženy v živočišných tucích, jako je máslo, sádlo, lůj. Monoenové mastné kyseliny působí příznivě, přestože hladinu celkového cholesterolu nemění, zato snižují jeho negativní LDL frakci a zvyšují pozitivní HDL. Zdrojem je např. olivový olej a ořechy. Polyenové mastné kyseliny musí být přijímány stravou, protože tělo si je nedokáže syntetizovat. Hladinu cholesterolu v krvi většina z nich snižuje, čímž mohou napomoci snížení rizika kardiovaskulárních chorob. Zdrojem jsou rostlinné oleje, ale také tuk obsažený v rybím mase. Polyenové mastné kyseliny dělíme na n-3 a n-6 [22]. Kyselina linolová, esenciální nenasycená mastná kyselina, snižuje hladinu cholesterolu v krevním séru. Pro člověka je skutečně nezbytná, při jejím nedostatku se u lidí vytváří změny na kůži a dochází k poruchám růstu a rozmnožování. Kyselina linolová má 18 uhlíků, dvě dvojně vazby, z nichž první je na šestém uhlíku, počítáno od methylové skupiny, a proto patří do tzv. řady omega-6. Kyselina linolová projde v těle řadou změn a jejím konečným produktem je kyselina arachidonová, která má 20 uhlíků a čtyři dvojně vazby, rovněž patří do řady omega-6. V menším množství je v potravinách zastoupena kyselina linolenová, jež má 18 uhlíků a tři nenasycené vazby. První z nich je na třetím uhlíku a proto je řazena do tzv. řady omega-3. Kyseliny linolová a linolenová se vyskytují v potravinách současně. Dále kyselina eikosapentaenová, která má 20 uhlíků a pět nenasycených vazeb, z nichž první je na třetím uhlíku a patří do řady omega-3. Dále dle Hejda (1987) je úmrtnost na kardiovaskulární choroby nižší u jedinců, kteří konzumují velké množství mastných kyselin řady omega-3, pocházejících z ryb [20].

3.2 Negativní vlivy

Je pochopitelné, že nejlépe se rybám daří ve vodách, které zůstávají v přírodním stavu. Nepříznivě na ryby působí úpravy toků, znečišťování odpadními vodami a vše čím člověk porušuje přirozenou rovnováhu [5]. Znečištěné vody jsou vody, jejichž chemické složení a biologické oživení jsou působením člověka změněny tak, že jejich hospodářská využitelnost je snížena nebo úplně znemožněna. Dle původu rozlišujeme znečištění povrchových vod na přirozené a antropogenní (vznik působením člověka). Přirozeným znečištěním je zakalení vody po silném dešti, silné okyselení v důsledku odtoků sněhových vod, znečištění vyvolané činností rostlin a živočichů nebo rozkladem jejich odumřelých těl. Antropogenním znečištěním je zaústení odpadních vod z průmyslové a zemědělské výroby. V řadě případů je působení přirozených a antropogenních vlivů současné [1]. Dalším důležitým negativním vlivem jsou biogenní aminy. Jsou to dusíkaté látky související s přeměnou aminokyselin. Vznikají dekarboxylací aminokyselin, která probíhá hlavně v tlustém střevě působením bakterií, v živočišných tkáních probíhají v omezené míře. Koenzym dekarboxylas aminokyselin, kromě dekarboxylasy histidinu, je pyridoxalfosfát. Vzniklé proteinogenní aminy jsou farmakologicky velmi účinné. Dále jsou oxidovány aldehydy, případně až kyseliny za působení enzymů aminooxidas a diaminooxidas. Tyto reakce náleží do skupiny reakcí detoxikačních. Z biogenních aminů jsou nejdůležitější tyramin z tyrosinu, serotonin či-li 5-hydroxytryptamin z tryptofanu, histamin z histidinu, putrescin a kadaverin z ornithinu, respektive z lysinu [25]. Na tuto problematiku je zaměřena jedna z dalších kapitol.

3.2.1 Zdravotní rizika z ryb a rybích výrobků

Onemocnění člověka z ryb dělíme na onemocnění získaná alimentární cestou a onemocnění získaná dotykem při zacházení s vodními živočichy [8]. Alimentární onemocnění lidí z ryb dělíme na parazitární a bakteriální (bakteriální infekce, bakteriální intoxikace, bakteriální intravitální intoxikace, virové, intoxikace způsobené chemickými sloučeninami, intoxikace způsobené biotoxiny, alergické reakce po požití ryb, a onemocnění s nezjištěnou etiologií) [11].

3.2.1.1 Parazitární onemocnění z ryb

Počet druhů helmintů (cizopasníků x cizopasných červů) parazitujících v rybách narůstá a v případě konzumace ryb syrových nebo nedostatečně tepelně opracovaných jsou člověka schopny nakazit [11]. Zvyk jíst syrové ryby je ve světě velmi rozšířen, a proto je incidence alimentárních parazitóz z ryb a dalších mořských živočichů výrazná [8]. Přičemž s rozmachem vědních disciplín zabývajících se touto problematikou jsou objevováni noví paraziti ryb. Konzumace syrového nebo nedostatečně upraveného masa ze štiky, marény, pstruha i dalších druhů ryb může být zdrojem tasemnice (Cestoidea). Parazit je rozšířen v Podunají a v pobaltských jezerech. Obecnou ochranou před parazitárním onemocněním je dokonalá tepelná úprava ryb [11]. Řada cizopasníků může také způsobit citelné škody v chovech nebo v populacích volně žijících ryb [8].

3.2.1.2 Bakteriální onemocnění z ryb

Ryby a výrobky z nich mohou být zdrojem bakteriální infekce a příčinou onemocnění salmonelózou, břišním tyfem a paratyfem A a B, shigelózou. Ryby nejsou pro člověka významným zdrojem salmonel v porovnání s ostatními potravinami živočišného původu. Ke kontaminaci ryb dochází, žijí-li ve vodě znečištěné, nebo mohou být salmonelami infikovány vodním ptactvem [11]. Při zpracování může dojít ke kontaminaci sekundární. Stálým zdrojem nebezpečí sekundární kontaminace ryb a rybích výrobků jsou domácnosti spotřebitelů, při nedodržení základních hygienických pravidel během kulinární úpravy [8]. V České republice jsou ustanoveny mikrobiologické požadavky na ryby sladkovodní a mořské vyhláškou MZd ČR č. 91/1999 Sb, v platném znění [11].

Nejzávažnější bakteriální alimentární intoxikací je botulismus. Není častým onemocněním, podmínky pro jeho vznik nenastávají často. Má-li *Clostridium botulinum* vhodné podmínky k rozmnožování a růstu, produkuje toxický botulotoxin [11]. Mortalita u tohoto onemocnění může dosáhnout 15 - 60 % [8]. S rybami a rybím masem je ze sedmi typů *Cl. botulinum* spojován typ E. Spory *Cl. botulinum* typ E jsou rozšířeny ve sladkých a mořských vodách, v jejich sedimentech. Mnoho spor je v Baltickém moři, v pobřežních vodách Japonska a v jezerech USA. Rybím masem může být vyvolána také Stafylokoková enterotoxikóza. Původcem onemocnění je enterotoxin A až F produkováný mikroblem *Staphylococcus aureus* [11]. Ryby kontaminuje po jejich ulovení a následně jsou zdrojem onemocnění pro člověka samotné ryby nebo rybí výrobky [8].

Infekční hepatitis patří mezi virová onemocnění. Kontaminace je možná konzumací syrových ryb, ale hlavně konzumací syrových ústřic a jiných mlžů [11].

Intoxikace biotoxiny ryb. Jako jedovaté se označují ty druhy živočichů, které jsou schopné ve svých tělech produkovat toxické látky, které u ostatních živočichů vyvolají patologické změny nebo i smrt [8]. Biotoxiny jsou produkty metabolismu jedovatého živočicha nebo integrální součástí biochemické struktury určitých orgánů, např. jedové žlázy. Toxicita může být buď aktivní, ta je dána možností některých mořských i sladkovodních ryb vpravit toxin v sebeobraně do druhého organismu. Toxicita pasivní v případech, kdy jedovaté organismy postrádají sdělný aparát [11]. Mezi nejedovatější mořské ryby patří čtverzubci, kteří jsou v Japonsku pokládáni za vyhledávanou pochoutku [8]. U nás je nejznámější otrava parmou, patří mezi intoxikace ichtyotoxickými rybami, kdy se toxin tvoří hlavně v gonádách v závislosti na pohlavní aktivitě. Toxické mohou být i ryby jeseterovité [11].

3.2.2 Intoxikace chemickými cizorodými látkami

Výskyt chemických cizorodých látek v potravinách je celosvětovým problémem. U ryb souvisí se znečišťováním tekoucích vod, vodních nádrží, moří a oceánů. Nejzávažnější je kontaminace rtutí, kadmíem a polychlorovanými bifenyly[11].

3.2.2.1 Rtuť

Rtuť je jedním z nejvýznamnějších kovů z hlediska rybářské toxikologie. Do vodního prostředí se dostává především průmyslovými odpadními vodami a atmosférickými srážkami. V neznečištěných vodách, kde je stálým stopovým prvkem, nepřekračuje její koncentrace $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Z vody přechází do sedimentů tekoucích vod a nádrží, kde se hromadí ve formě sulfidu. Elementární rtuť a její organické a anorganické sloučeniny v sedimentech dna podléhají methyloaci (proces vyvolaný činností mikroorganismů). Toxické produkty methylace (methylrtuť) vstupují do potravních řetězců a ve zvýšené míře se akumulují ve vodních organismech. Rtuť se hromadí ve všech orgánech a tkáních a v nejtoxičtější formě, tj. ve formě methylrtuti, se nachází ve svalovině. Veškerá rtuť ve svalovině ryb je vázána ve formě methylrtuti. Pro lidi požívající ryby mohou být následky těchto znečištění tragické. Nejznámějším příkladem je onemocnění označované jako nemoc Minamata. Název této choroby pochází od zátoky pojmenované Minamata, do níž byly vypouštěny průmyslové odpadní vody obsahující rtuť. Pro rybáře žijící v okolí

této zátoky tvořily ryby hlavní složku potravy a následkem konzumace ryb, které byly vysoce kontaminované rtutí, onemocnělo několik desítek lidí. Nemoc Minamata se projevila poruchami funkce centrálního nervstva a vedla v těžkých případech k částečnému nebo celkovému oslepnutí, ke ztrátě sluchu, řeči, k trvalým ochrnutím končetin a k těžkým psychickým poruchám. Pro zhodnocení zdravotního rizika konzumace ryb byla Světovou zdravotnickou organizací (WHO) stanovena AWI (z anglického *acceptable weekly intake* - přijatelný týdenní příjem) pro metylrtuť dávka $1,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ živé hmotnosti/týden. Problematika rtuti v rybách a ve vodním prostředí není závažná pouze z hygienického hlediska, ale i z hlediska chovatelského. Bylo prokázáno, že sloučeniny rtuti poškozují důležité orgány a tkáně ryb a mohou mít také negativní vliv na jejich reprodukci [1]. Koncentrace rtuti se ve většině potravin pohybují v desetitisícinách až setinách $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Tolerovaná denní dávka celkové rtuti pro dospělého člověka činí $50 \mu\text{g}$, tolerovaná denní dávka methylrtuti $33 \mu\text{g}$ (při tělesné hmotnosti 70 kg). Z potravy se resorbuje v tenkém střevě kolem 7 % přítomné rtuti. Vstřebaná rtuť se zachycuje v játrech, ledvinách a mozku. Část rtuti z jater se vyloučí žlučí do střeva. Rtuť se také hromadí ve vlasech a nehtech. Hlavní orgány, které jsou poškozeny při intoxikaci rtutí a jejími sloučeninami, jsou ledviny a mozek. Účinky jednotlivých forem rtuti se liší. Při otravě methylrtutí převažují účinky neurotoxické. Dochází k poruchám smyslových funkcí (sluchu, zraku a rovnováhy), poruchám řeči a polykání. Objevují se mentální poruchy a morfologické změny v mozku. Methylrtuť má i teratogenní účinky. Otrava anorganickými sloučeninami rtuti může vést ke snížení produkce moči a až k selhání ledvin. Současně se dostavují změny psychiky [21].

3.2.2.2 *Kadmium a polychlorované bifenyly*

Z vnějšího prostředí se kadmium kumuluje ve vodě a je koncentrováno v rybách. Závažnější intoxikace kadmíem po požití ryb nebyly dosud zaznamenány. Pouze japonská epidemie nazvaná "itai-itai" a "ouchi-ouchi" z roku 1962, která byla způsobena vyplavováním rudných skládek vodou do rýžových polí. Stanovený ještě tolerovatelný týdenní příjem kadmia je 400 až $500 \mu\text{g}$ na osobu. Rozsáhlé využívání polychlorovaných bifenilů (PCB) vedlo ke kontaminaci odpadních vod, následně i sladkovodních toků a nádrží. U nás byly před časem kontaminovány ryby v Orlické přehradě, a to následkem jednorázového znečištění. Již před několika lety u nás bylo používání PCB zakázáno [11].

4 BIOGENNÍ AMINY

Současné trendy v kvalitě a bezpečnosti potravin vyhledávají sloučeniny, které mohou ovlivnit lidské zdraví. Biogenní aminy patří do této skupiny látek. Mohou způsobit výrazné farmakologické, fyziologické a toxické účinky na organismus. Jejich množství se obvykle zvyšuje v důsledku používání nekvalitních surovin, během řízené nebo spontánní mikrobiální fermentace, nebo znehodnocením potravin. Původ biogenních aminů je číni vhodnými chemickými ukazateli hygienické kvality a čerstvosti potravin, některé jsou spojeny s mírou kvašení potravin. Rozvoj výroby a vhodných technologií k získání produktů prostých nebo téměř prostých na biogenní aminy je výzvou pro masný průmysl [26]. Poznatky o obsahu biogenních aminů v potravinách jsou potřebné pro vyhodnocení možného rizika alimentární intoxikace při příjmu velkého množství potravin s vysokým obsahem biogenních aminů. Biogenní aminy jsou nízkomolekulární dusíkaté organické látky se značnou biologickou aktivitou, která se uplatňuje v metabolismu zvířat, rostlin a lidí [27].

Biogenní aminy vznikají dekarboxylací aminokyselin [28]. Dekarboxylace spolu s transaminací a deaminací spadají do obecného metabolismu přeměny aminokyselin. Na tyto pochody v živočišném organismu navazuje proces detoxikace uvolňovaného amoniaku a další přeměny samotného uhlovodíkového skeletu aminokyselin. Při dekarboxylaci a transaminaci se jako kofaktor uplatňuje pyridoxal-5-fosfát a společným meziproduktem je Schiffova báze. Dekarboxylací se tvoří z aminokyselin primární aminy za odštěpení CO_2 . Jejich struktura se dá snadno odvodit od příslušné aminokyseliny. Tato reakce je katalyzována dekarboxylázami aminokyselin, jejichž prosthetickou skupinou je pyridoxalfosfát. Tuto skupinu látek označujeme jako biogenní aminy. Mnohé z nich mají silné farmakologické účinky. Inaktivace biogenních aminů probíhá za katalytického působení aminoxidas, u nichž rozlišujeme monoaminoxidasy a diaminoxidasy, a to dle substrátové specifity [29]. Metabolismus vybraných biogenních aminů je znázorněn níže na obrázku 4.

Putrescin a kadaverin jsou produkty rozkladu mrtvých těl. Z cyklických biogenních aminů jsou zajímavé histamin, tryptamin a serotonin, působící vasokonstrikčně. Histamin je příčinou různých projevů ve vztahu k alergickým reakcím. Serotonin ovlivňuje i centrální nervový systém, stah hladkého svalstva a působí antidiuretický [28]. Putrescin $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ vzniká dekarboxylací ornithinu. Byl objeven německým lékařem

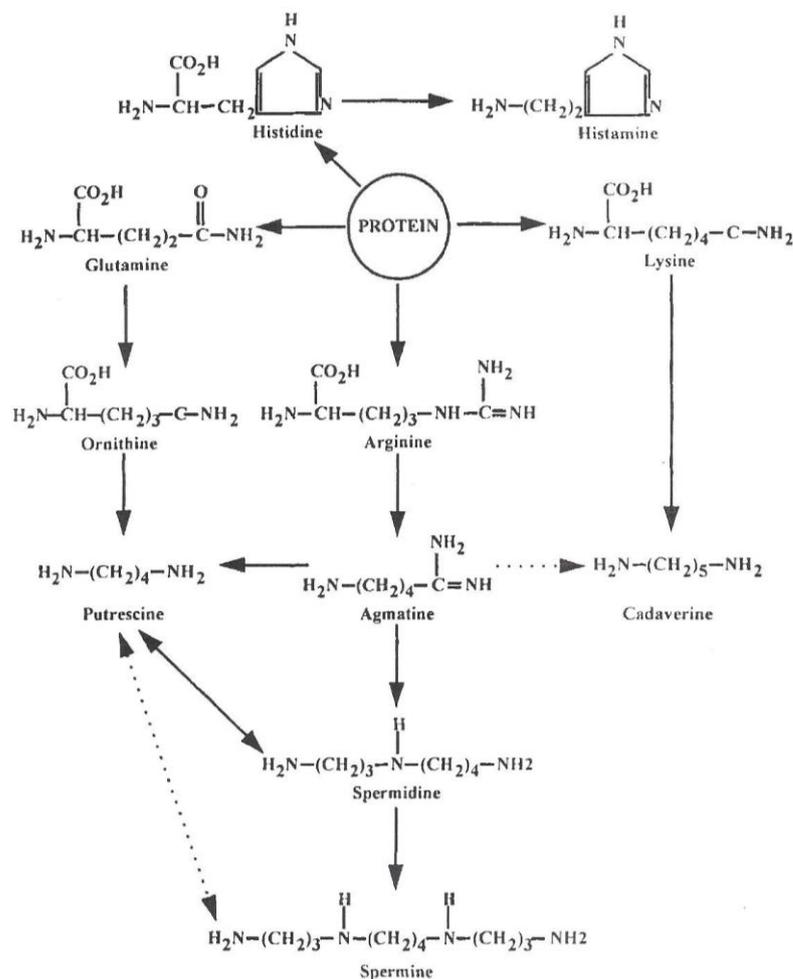
Briegerem roku 1883 v hniјícím mase zvířat, taktěž kadaverin $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$ vznikající z lysinu [30]. Tyramin $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ vzniká dekarboxylací z tyrosinu. Tyramin se vyskytuje v námelu, ve shnilém mase a zralém sýru. Zvyšuje krevní tlak a vyvolává u dělohy těhotných žen zvýšený tonus svalstva, také i jednotlivé kontrakce [25]. Tryptamin vzniká dekarboxylací z tryptofanu, je to jedna z cest odbourávání tryptofanu. Dále tento proces pokračuje oxidací tryptaminu na indolyl- 3-acetaldehyd a dále na andolyl-3-acetát. Ornithin je prekursorem sperminu $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, a taktěž je prekursorem i spermidinu $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$. Na molekulu putrescinu je přenesena propylaminová skupina specifickou dekarboxylasou z dekarboxylovaného S-adenosylmethiononu, čímž se vytvoří spermidin a z něho pak dalším připojením propylaminu spermin [30].

Amin	Prekurzor	Farmakologický účinek
Histamin	Histidin	Uvolňuje adrenalin a noradrenalin, ovlivňuje stahy hladkého svalstva dělohy, střeva a také ovlivňuje dýchání. Stimuluje neurony a řídí sekreci žaludeční kyseliny.
Tyramin	Tyrosin	Zrychluje srdeční tep a dýchání, způsobuje slzení, zvyšuje hladinu cukru v krvi. Uvolňuje noradrenalin z nervového systému a je příčinou migrény.
Putrescin a kadaverin	Ornithin a lysin	Způsobuje hypotenzi, bradykardii, křeče žvýkacího svalu, parézu končetin a podporuj toxicitu jiných biogenních aminů.
β -fenyletylamin	Fenylalanin	Uvolňuje noradrenalin z nervového systému, zvyšuje krevní tlak a je příčinou migrény.
Tryptamin	Tryptofan	Zvyšuje krevní tlak.

Tabulka 1: Biogenní aminy v potravinách a jejich farmakologické účinky [32]

Histamin je biologicky aktivní amin. Vzniká dekarboxylací histidinu a má centrální úlohu v mnoha alergických reakcích [23]. Histidin je pro většinu živočichů esenciální [30]. Histamin je obsažen v lidském organismu, nejvíce v kůži a ve sliznicích. Jednak je vázán

(převážně jako acetylhistamin), jednak je volný, ale zadržován anatomickými strukturami. Většina histaminu uvolněná při alergické reakci pochází z mitochondrií, a to v žírných buňkách. Váže se na heparin tkáňové bílkoviny. Histamin vzniká také působením střevních mikrobů. Uvolní jej vnější zásah, dekarboxylasa, nebo látky zvané deliberátory. Organismus na něj reaguje kontrakcí hladkého svalstva bronchů a trávicího ústrojí, dále dilatací kapilár a zvýšením sekrece žláz v žaludeční sliznici. Klesá počet leukocytů, tělesná teplota a srážlivost krve. Histamin způsobuje anafylaktický šok a alergické reakce. Inhibitorem histaminu je histaminasa, ta je kromě žaludeční sliznice skoro ve všech orgánech. Histidasa v játrech štěpí imidazolový kruh, tedy histamin i histidin. Dále se může část histaminu vázat s bílkovinami krevního séra, tzv. histaminopexe [31]. Tyramin a serotonin zvyšují krevní tlak, histamin a cholin ho naopak snižují [25]. Biogenních aminy vyskytující se v potravinách a jejich farmakologické účinky jsou uvedeny výše v tabulce 1.



Obrázek 4: Vznik histaminu, putrescinu, kadaverinu, spermidinu a sperminu [33]

4.1 Biogenní aminy v potravinách

Biogenní aminy byly prokázány v různých potravinách, jako jsou ryby, maso, sýr, zelenina a víno. Nejčastějšími biogenní aminy nalezenými v potravinách jsou histamin, tyramin, kadaverin, 2-fenyletylamin, spermin, spermidin, putrescin, tryptamin a agmatin. V mase, masných výrobcích a rybách byl nalezen oktopamin a dopamin. Tvorba biogenních aminů v potravinách v důsledku mikrobiální dekarboxylace aminokyselin může vést u spotřebitelů, kteří trpí alergickou reakcí k obtížím při dýchání, ke svědění, vyrážce, zvracení, horečce a hypertenzi. Tvorbě biogenních aminů v potravinách zabráňujeme především omezením mikrobiálního růstu prostřednictvím chlazení a mrazení. Uplatňují se i sekundární ochranná opatření k zamezení tvorby biogenních aminů v potravinách nebo ke snížení jejich hladiny výskytu. Postupy pro omezení růstu mikroorganismů zahrnují hydrostatický tlak, ozařování a balení řízenou atmosférou nebo použití potravinářských přídatných látek. Histamin může být potenciálně degradován použitím bakteriálního aminu nebo aminů oxidáza-negativních bakterií. Pouze některé postupy jsou nákladově efektivní a praktické pro použití v běžném procesu zpracování potravin [34]. Biogenní aminy jsou také obsaženy ve fermentovaných potravinách, např. fermentovaných salámech, v sýrech, pivu, vínu a kysaném zelí. V potravinách připravených fermentační cestou jsou biogenní aminy jejich pravidelnou a přirozenou součástí, u nefermentovaných potravin jsou především indikátorem nežádoucí mikrobiální činnosti. Stanovení biogenních aminů může být využito k posouzení míry rozkladu sledovaného materiálu. V případě skladování potravin může být obsah biogenních aminů ukazatelem jakosti vstupní suroviny a úrovně hygieny během výrobního procesu a skladování [27]. Toxicita biogenních aminů hraje roli ve vlivu na mláďata, v důsledku ztráty hmotnosti a zvýšení úmrtnosti. Toxicita histaminu se zvyšuje přítomností jiných aminů, jako kadaverin, putrescinu a tyramin. Biogenní aminy jsou také považovány za karcinogeny, pro jejich schopnost reagovat s dusitany za vzniku karcinogenních nitrosaminů [32]. Příjem potravin obsahujících vysoké koncentrace těchto sloučenin může u citlivých osob vyvolat alimentární intoxikaci. Histamin způsobuje vazodilataci cév a snížení krevního tlaku, je příčinou otravy z ryb (scombroid poisoning). Tyramin je příčinou migrén a hypertenzních krizí, tzv. reakce na sýr (cheese reaction), zejména u pacientů užívajících antidepresiva. Pro negativní vliv biogenních aminů na lidské zdraví je žádoucí, aby se tyto aminy v potravinách vyskytovaly v minimálním množství [27]. Biogenní aminy plní řadu rolí v buněčném metabolismu, jsou

zdrojem dusíku a prekurzory pro syntézu hormonů. Mohou také ovlivnit procesy v organismu jako je regulace tělesné teploty, příjem výživy a kontrola krevního tlaku [26]. Normální příjem biogenních aminů je metabolizován ve střevním traktu velmi výkonným detoxikačním systémem založeným na aktivitě enzymů monoaminoxidázy (MAO), diaminoxidázy (DAO) a histidinmethyltransferázy (HMT). Při nadměrném příjmu biogenních aminů potravou však detoxikační kapacita tohoto systému nemusí stačit. Toxicita histaminu a tyraminu je zvyšována současnou konzumací alkoholu a potravin obsahujících jiné biogenní aminy, zejména diaminy a polyaminy. Jejich negativní působení spočívá v odčerpání detoxikační kapacity enzymů MAO, DAO a HMT a v následném zesílení účinku toxičtějších biogenních aminů. U skupiny polyaminů (sperminu, spermidinu) a diaminu kadaverinu byly však za určitých okolností pozorovány i jejich příznivé účinky jako je podpora regenerace a hojení tkání [27]. Tyramin a histamin také působí jako hormonální mediátory u lidí a zvířat. Psychoaktivní aminy, jako je dopamin a serotonin, jsou neurotransmitery v centrálním nervovém systému. Zvláště vzhledem k jejich specifické biologické roli v eukaryotických buňkách se stávají odlišnou skupinou polyaminů. Hrají důležitou roli ve fyziologických funkcích lidí a zvířat. Bylo prokázáno, že polyaminy brání oxidaci polynenasycených mastných kyselin, a jejich antioxidační účinek koreluje s počtem aminosloučenin u skupin polyaminů. Účastní se stabilizace, proliferace a diferenciací buněk, neboť jsou součástí DNA, RNA a proteinů. Lze je pozorovat uvnitř organismu, odebrané ze stravy, v buňkách a v rychle se dělících tkáních, jako jsou nádorové buňky. Kontrola obsahu polyaminů v jídelníčku pacientů s rakovinou je proto velmi důležitá [26].

Toxické dávky biogenních aminů je obtížné stanovit. Velmi záleží na individuálních rozdílech mezi lidmi, zastoupení jednotlivých biogenních aminů v potravě, množství konzumované potravy a přítomnosti jiných potencujících složek, jakými jsou například alkohol nebo léky [27]. Za normálních podmínek, během příjmu potravy, jsou absorbována nízká množství exogenních biogenních aminů a jsou metabolizovány na fyziologicky méně aktivní produkty rozkladu. Tento detoxikační systém poskytuje ochranu před malým množstvím biogenních aminů obvykle přijímaných v potravě. V případě alergicky reagujících jedinců nebo příjmu vysokého množství biogenních aminů v potravě, detoxikační systém není schopen odstranit biogenní aminy dostatečně. Pokud je detoxikace neúčinná, jsou biogenní aminy snadno absorbovatelné a dostávají se do krevního oběhu,

což vede toxickým účinkům. Jedinci s dýchacími problémy a s hypertenzí jsou citliví na nižší dávky biogenních aminů. Lidé s problémy zažívacího traktu, jsou také ve větším ohrožení, protože činnost oxidáz v jejich střevech je obvykle nižší než u zdravých jedinců. Další látky jako je alkohol může také podpořit toxický potenciál biogenních aminů, protože podporuje prostup do krevního oběhu přes střevní stěnu. Toxický potenciál těchto aminů je ještě více alarmující pokud uvážíme, že přibližně 20 % evropské populace pravidelně konzumuje léky jako antidepresiva, které inhibují aktivitu aminoxidasy. Polyaminy, jako putrescin, kadaverin, spermidin a spermin, i když neprojevují přímý toxický účinek, působí jako podpora toxicity histaminu nebo tyraminu.

Z hlediska toxikologie biogenních aminů, nejběžnější příznaky konzumace vysokých dávek jsou zvracení, dýchací obtíže, pocení, bušení srdce, hypo nebo hypertenze a migréna. Některé aromatické aminy (tyramin, tryptamin a β -fenyletylamin) způsobují vazokonstrikční poruchy, zatímco jiné (histamin a serotonin), způsobují negativní změny v krvi, kapilárách a cévách, což může způsobit bolesti hlavy, hypotenzi, návaly horka, gastrointestinální úzkost a otoky. Tyramin může vyvolat krvácení do mozku a srdeční selhání. Nežádoucí účinky v důsledku požití biogenních aminů jsou často klasifikovány jako alimentární otravy, určitá forma přecitlivělosti, která není zprostředkována imunitním systémem, na rozdíl od alergických reakcí. Nejčastější intoxikací způsobenou biogenními aminy je otrava histaminem [26]. Limitní hodnota obsahu histaminu, která může způsobit intoxikaci je 100 mg.kg^{-1} vzorku, u tyraminu jsou rizikové hodnoty v rozpětí $100 - 800 \text{ mg.kg}^{-1}$ a 30 mg.kg^{-1} 2-fenylethylaminu může způsobit migrénu. Česká legislativa do roku 2004 obsahovala legislativní limity pro vybrané biogenní aminy v rybách, sýrech, pivu a vínu, ale dnes je v ČR platný jen hygienický limit pro histamin v rybách a výrobcích z ryb uváděný v Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ve výši 100 mg.kg^{-1} . Tento limit může být ve dvou vzorcích z devíti z jedné šarže překročen až do hodnoty 200 mg.kg^{-1} . Legislativa neurčuje výrobcům deklarovat obsah biogenních aminů na obale [27].

4.1.1 Biogenní aminy v rybách

Je nesporné, že ryby a rybí výrobky si zasluhují největší pozornost, pokud jde o obsah biogenních aminů. Ryby obsahují svalovinu, která je bohatá na volný histidin v rozmezí od 1 g.kg^{-1} u sledě a 15 g.kg^{-1} u tuňáka, histidin může být dále v dekarboxylačním procesu

převeden na histamin. Vznik histaminu je sám o sobě bakteriálního původu, a proto se přiřazuje ke kritériím kažení nebo zhoršení stavu produktů rybolovu. Ryby obsahující velké množství histaminu mohou mít normální vzhled i pach. Bylo provedeno několik studií zkoumajících vliv skladovacích teplot na biogenní aminy a jejich tvorbu v rybách [32]. Yoshida a Nakamura (1982) zjistili, že v čerstvých rybách nebyla zjištěna žádná stopa histaminu, ale když čerstvé makrely ponechali stát při pokojové teplotě, hladina histaminu se zvýšila až na 28,4 ppm (parts per million) po 24 hodinách a na 1540 ppm po 48 hodinách. Histamin narostl o 37,8 % (38°C) a byl závislý na mikrobiální činnosti. Skladování při nízké teplotě snižuje rychlost tvorby biogenních aminů v rybách. Obsah biogenních aminů v sardinkách skladovaných v chladničce (nebo v drceném ledu) se sice postupně zvyšoval, ale toxická úroveň histaminu byla vyvinuta pouze tehdy, když byly sardinky v pokročilém stádiu rozkladu. Putrescin, kadaverin a histamin byly zjištěny v syrových rybách (tuňák) vlivem špatných hospodářských podmínek po 36 h při 21°C, kdy tempo růstu obsahu biogenních aminů bylo extrémně rychlé [35]. Shalaby (1996) uvádí, že existuje obecný úbytek koncentrace spermidinu a sperminu ve vztahu k ostatním biogenním aminům. U kadaverinu, putrescinu a především histaminu byl vznik ovlivněn podmínkami, nikoliv druhem ryb. Vakuové balení neprokázalo žádný příznivý účinek při kontrole růstu bakterií a vzniku histaminu. Nízká teplota skladování je účinnější než vakuové balení. Při kontrole vzniku histaminu vzorky (skladovány při teplotě 10°C) vykazaly významný růst bakterií a měly vyšší hladinu histaminu ($> 2 \text{ g.kg}^{-1}$), než vzorky skladovány při teplotě 2°C. Histamin se často používá jako ukazatel rozkladu. Tvorba putrescinu, kadaverinu a histaminu, také ztráta spermidinu a sperminu byly pozorovány při rozkladu tuňáka. Při analýze biogenních aminů, metodou HPLC, výsledky ukázaly více proměnných při hodnocení kvality vzorků ryb. Biogenní aminy lze najít ve svalovině makrel a sardinek, při skladování za mrazírenských teplot -20°C. Histamin byl nalezen ve všech mražených testovaných rybách (52 vzorků) [32]. Naopak Hardy a Smith (1976) uvádí mnohem meší míru vzniku histaminu v mražených makrelách, kde nebyl zjištěn histamin po 72 týdnech skladování při -14, -12, -29°C. Obsah biogenních aminů v tuňákově a makrelách se neměnil během skladování v -18°C. Během rozmrazování mražených ryb, obsah biogenních aminů kolísal. Míra vzniku, závisí na endoenzymech rybích tkání a činnosti enzymů mikroorganismů. Histamin byl sotva zaznamenán při solení, díky inhibičnímu účinku soli na histidin dekarboxylázy. Naopak, halotolerantní bakterie produkují biogenní aminy v mase sardinek obsahujících 12 % NaCl. Histamin vznikající

při skladování ryb, byl částečně odbourán v průběhu konzervářského procesu, ale tyto ztráty jsou považovány za nepodstatné [36]. Obsah biogenních aminů v rybích výrobcích není při sterilizaci v průběhu konzervářského procesu významně snižován (po sterilizaci bylo indentifikováno v tuňákově a makrele asi 90% z biogenních aminů). Opačným případem je tepelné zpracování konzerv tuňáka, kdy byly významně sníženy hladiny biogenních aminů. Obecně platí, že obsah rybí konzervy je ovlivněn čerstvostí ryb, rybích druhů, chlazením a podmínkami přepravy. Vzhledem k tomu, že aminy jsou tvořeny z bakteriální flóry potravin, prevence bakteriálního růstu je velmi důležitá pro bezpečnost potravin [32].

Rybí pasta Rihaakuru (produkt z Malediv) s nízkou aktivitou vody má nutriční výhody, protože je bohatá na bílkoviny a omega 3 mastné kyseliny, ale přesto je zdrojem zdravotních problémů. Je potenciálním původcem otravy díky vysokému obsahu biogenních aminů. Jednou z možností k zajištění bezpečnosti těchto výrobků, jako jsou Rihaakuru, je odbourání nebo inhibice vzniku biogenních aminů ve výrobku. Většina postupů k regulaci histaminu v potravinách, jako je právě Rihaakuru, se zaměřuje na pozastavení produkce biogenních aminů. U metod likvidace biogenních aminů, především histaminu, jsou zvažovány nežádoucí smyslové změny a změny kvality potravin. Vysoké obsahy biogenních aminů jsou často nepřijatelné a biogenní aminy jsou používány jako indikátor čerstvosti v mnoha potravinách. V případě Rihaakuru, konečný výrobek je mikrobiologicky stabilní a biogenní aminy se vytvořily v rybách již před zpracováním a nezdají se být v souvislosti se smyslovými vadami v konečném výrobku. Přísady a konzervační látky mohou snížit tvorbu biogenních aminů v rybích produktech, a to inhibicí bakteriálního růstu. Bylo zjištěno, že kyselina citronová, kyselina jantarová, D-sorbitol a kyselina jablečná inhibovali dekarboxylaci a výsledný obsah histaminu v makrelách, které byly uloženy po dobu 10 dní při 25 °C. Sorban draselný prodloužuje životnost mořských plodů. Účinek vysokého hydrostatického tlaku (HHP) prodloužuje životnost potravin při zachování původní chuti a vlastnostech, a to prostřednictvím inaktivace mikroorganismů. Potraviny ošetřené HHP jsou komerčně dostupné ve Spojených státech (například ústřice), v Japonsku (džem) a Španělsku (vařená a vakuově balená šunka). HHP byl aplikován na mnoha dalších potravinách včetně sýrů, klobás, ryb a zelí. Je-li aplikován HHP na suroviny nebo na fermentované výrobky, může snížit počty bakterií a následně inhibuje vznik biogenních aminů. Činnost bakterií tvořících histamin a histidin

dekarboxylázy v tuňákoví žlutoploutvém lze snížit použitím HHP mezi 300 a 400 MPa bez vlivu na kvalitu ryby [34].

4.1.2 Otravy histaminem

Histamin je silně biologicky aktivní a může v těle působit v mnoha reakcích. Ačkoli žírné buňky a krevní bazofily obsahují velké množství histaminu, účinek histaminu je navozen až po jeho uvolnění. Histamin se váže na receptory v buněčných membránách, které se nacházejí v kardiovaskulárním systému a na různých sekrečních žlázách. Histamin může přímo stimulovat srdce a to tím, že ovlivňuje uvolňování adrenalinu a noradrenalin z nadledvinek, dále má také vliv na hladké svaly dělohy, střeva a cesty dýchací. Stimuluje i smyslové a motorické neurony a řídí sekreci žaludeční kyseliny. Otrava histaminem se projevuje celou řadou příznaků. Mezi charakteristické příznaky ovlivňující kožní systém patří vyrážka, kopřivka, otok a zánět. Dále jsou typická gastrointestinální postižení, která bývají charakterizována nevolností, zvracením, průjemem a abdominálními křečemi. Mezi další příznaky patří hypotenze, bolesti hlavy, bušení srdce, návaly horka a mravenčení končetin. Objevuje se i udušení a vážné dýchací potíže. Histamin v potravinách nemusí být nutně nebezpečný. Mnohé potraviny obsahují malé množství histaminu, které lze tolerovat. V zažívacím traktu nalezneme detoxikační systém metabolizující požitý histamin a také histamin, který byl vytvořen střevními bakteriemi. Detoxikační systém se skládá ze dvou odlišných enzymů, diaminoxidázy a histamin-N-methyl transferázy. Tyto enzymy konvertují histamin na netoxické produkty. Tento detoxikační systém je schopný inaktivovat běžný příjem histaminu. Nicméně, nedokáže detoxikovat velké množství histaminu. Účinky histaminu mohou být podporovány příjmem jiných biogenních aminů, např. putrescinu a kadaverinu, které se vyskytují v nezanedbatelném množství v rybách. Účinky těchto látek na histaminovou toxicitu byly pozorovány u morčete a jeho tkáně. Po 40-ti minutové prodlevě byla zvířeti podána směs putrescinu a kadaverinu, přičemž perorální toxicita histaminu se zvýšila desetinásobně ve srovnání s kontrolním vzorkem, kdy byl podán histamin 40 minut po perorálním podání putrescinu a kadaverinu. Další biogenní aminy, které mohou působit synergicky s histaminem, jsou tyramin, tryptamin, spermine a spermidine [32].

Při intoxikaci histaminem, po zjištění typických příznaků popsaných výše, je doporučeno užití antihistaminik, a úleva nastává také po vyvolaném zvracení a projímadlech [31].

Ve Francii byla popsána hromadná otrava tuňákem. Jednalo se o 500 lidí ze 4000 stravovaných v kantýnách, kteří pozřeli maso tuňáka z téže zásilky. Otravu způsobil histamin, který byl přítomen v mase kontaminovaným *Bacillus aminophilus*, *Escherichia coli* a určitými anaeroby. Mikroorganismy dekarboxylovaly histidin na histamin, který byl přítomen v koncentraci 2,4 % ve svalech a 8 % v hemoglobinu tuňáka [37]. Kontaminace mikroorganismy může nastat při nehygienickém kuchání a zpracování ryb, nebo není-li maso ihned uskladněno a chlazeno až do okamžiku prodeje.

4.1.3 Otrava tyraminem

Tyramin spolu s tryptaminem, a 2-fenyletylamine patří do skupiny aminů, které jsou vazoaktivní. Význam tyraminu v potravinách je důležitý kvůli jeho toxikologickému dopadu. Kromě toho, že je mírně toxický, tyramin reaguje s inhibitory monoaminoxidázy, což vede k hypertenzní krizi. Tyramin působí zejména nepřímo tím, že uvolňuje noradrenalin z nervového systému, který způsobuje zvýšení krevního tlaku a tím srdeční námahu. Tyramin také způsobuje slzení a slinění, zrychluje dýchání a zvyšuje krevní cukr. U potravin, jako jsou nakládání sledi a masné výrobky byla prokázána souvislost s hypertenzními stavy [32].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo sledování obsahu jednotlivých biogenních aminů ve svalovině vybraných chlazených sladkovodních ryb, konkrétně kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*).

V teoretické části bylo cílem:

- stručně charakterizovat ryby,
- rozebrat technologii zpracování ryb,
- popsat význam ryb ve výživě člověka,
- charakterizovat biogenní aminy, jejich výskyt ve svalovině ryb a potenciální riziko pro konzumenta.

Cíle praktické části lze shrnout do následujících bodů:

- založení skladovacího pokusu se svalovinou odebranou z čerstvých sladkovodních ryb,
- stanovení obsahu biogenních aminů ve vzorcích sladkovodních ryb,
- vyhodnocení výsledků a vyvození závěrů a doporučení.

6 MATERIÁL A METODIKA

6.1 Průběh experimentu

K experimentu byla použita svalovina ryb kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Ryby byly získávány v průběhu 5-ti týdnů, v období od 16. 12. 2011 do 13. 1. 2012 a odběr byl vždy jednou týdně v pravidelných intervalech. Ryby pocházely od dvou stabilních dodavatelů. Jednalo se o hypermarket, kde byly ryby získávány chlazené a o rybárnu, kde byly ryby usmrceny v den odběru. V den odběru byly získány vždy 4 ryby, a to od obou dodavatelů. Vždy 2 ryby, jeden kapr a jeden pstruh z hypermarketu a jeden kapr a jeden pstruh z rybárny. Celkem tedy 20 ks ryb za celé odběrové období.

Z jednotlivých těl byly odebrány křížovým odběrem odpovídající vzorky o hmotnosti cca 20 g, a to vždy 4 vzorky z jedné ryby, celkem tedy 80 vzorků. Vzorky byly pečlivě označeny, uskladněny a uchovávány při teplotě $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. V průběhu skladování, které trvalo 7 dní, docházelo ve stanovené dny (den 1., den 3., den 5. a den 7.) postupně k lyofilizaci jednotlivých vzorků, aby bylo později možno sledovat nátůst biogenních aminů v časové ose. Po lyofilizaci následovala příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů pomocí HPLC.

6.2 Příprava vzorků pro stanovení biogenních aminů pomocí HPLC

Vzorek rozmělněný po lyofilizaci byl navážen v hmotnosti 1 g do zkuševky o objemu 15 ml. Ke vzorku bylo dále přidáno 10 ml 0,6 M HClO_4 . Následovalo promíchání pomocí vortexu, třepání na třepačce po dobu 30 minut a odstředění na odstředivce při 6000 otáčkách po dobu 20-ti minut. Supernatant byl přelit do odměrné baňky s celkovým objemem 25 ml. K sedimentu bylo přidáno 7 ml 0,6 M HClO_4 a byla provedena další extrakce. Takto byl vzorek třikrát extrahován. Následovala filtrace extraktu přes papírový filtr. Z filtrátu byl 1 ml vzorku odpipetován do vialky k derivatizaci. Postupně bylo ke vzorku přidáno 100 μl vnitřního standardu (1,7-heptandiamin v koncentraci $500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), poté 1,5 ml karbonátového pufru s pH 11,1 - 11,2 a nakonec 2 ml čerstvě připraveného roztoku dansylchloridu o koncentraci $5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ v acetonu. Vialky byly dobře uzavřeny a protřepány na třepačce v temnu po dobu 20-ti hodin. Dále bylo

přidáno 200 µl roztoku prolinu, opět byly vialky uzavřeny a protřepávány 1 hodinu na třepačce. Do vzorků byly přidány 3 ml heptanu, následovalo ruční třepání po dobu 3 minut a poté byl 1 ml heptanové vrstvy odpipetován do čisté vialky. Po odpaření do sucha pod proudem dusíku při teplotě 60°C byl suchý odparek zředěn 1,5 ml acetonitrilu. Takto připravený vzorek byl uchováván do doby analýzy v mrazícím zařízení při teplotách pod -18°C. Bezprostředně před analýzou byl přefiltrován přes filtr s porozitou 0,22 µm. Následovalo dávkování do chromatografického systému.

6.3 Použitý materiál

Chemikálie:

- Standardy: Histamin 97%, 2-fenylethylamin, tyramina 99% (T) putrescin dihydrochlorid, kadaverin, agmatin sulfát, spermidin, spermin, tryptamin, 1,7-diaminoheptan (SIGMA - ALDRICH)
- Kyselina chloristá 70-72% pro analýzu ACS, ISO, Reag. Ph Eur (MERCK)
- Hydrogenuhličitan sodný pro analýzu ACS, Reag. Ph Eur (MERCK)
- Uhličitan sodný bezvodý pro analýzu ACS, Reag. Ph Eur (MERCK)
- Uhličitan draselný pro analýzu ACS, ISO, Reag. Ph Eur (MERCK)
- Dansyl chlorid BioReagent, suitable for amino acid labeling, powder and chunks, ≥99% (HPLC) (SIGMA - ALDRICH)
- L-Proline for biochemistry (MERCK)
- Heptan CHROMASOLV®, for HPLC, ≥99% (SIGMA - ALDRICH)
- Acetonitril CHROMASOLV® Plus, for HPLC, ≥99% (SIGMA - ALDRICH)

6.4 Přístroje

Chromatografické stanovení:

- Analytické váhy A&D GH-200 EC (LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc)
- Laboratorní třepačka LT2

- Odstředivka EBA 21 (Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen)
- stolní pHmetr EUTECH INSTRUMENTS pH510 (BioTech a.s., Praha),
- Termoblok EVATERM
- systém HPLC (binární pumpa LabAliance, USA, autosampler LabAliance, USA, kolona s termostatem; UV/VIS DAD detektor ($\lambda = 254 \text{ nm}$); a degaser 1260 Infinity, Agilent Technologies)

Lyofilizace:

- Analytické váhy A&D GH-200 EC (LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc)
- Hluboko mrazící box MDF-U3286S, SANYO (Schoeller instruments, ČR, Praha)
- Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST (LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc)



Obrázek 5: Průběh experimentu – systém HPLC [38]

V textu jsou jednotlivá těla kryta kódováním ve tvaru např. KH1 nebo PR2. První písmeno uvádí, zda se jedná o kapra – K, nebo pstruha – P, další písmeno uvádí původ ryby, a to buď hypermarket – H, nebo rybárnu – R. Pod čísla 1 – 5 jsou ukryty jednotlivé odběrové dny (1 – 16. 12. 2012, 2 – 23. 12. 2011, 3 – 30. 12. 2011, 4 – 6. 1. 2012, 5 – 13. 1. 2012). Z kódu KH1 tedy zjistíme, že se jedná o kapra z hypermarketu odebraného dne 16. 12. 2011.

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

Dle Shalabyho (1996) je nesporné, že ryby a rybí výrobky si zasluhují největší pozornost, pokud jde o obsah biogenních aminů [32]. V průběhu experimentu, konkrétně během skladování, vzrostl v jednotlivých vzorcích svaloviny čerstvých sladkovodních ryb obsah všech biogenních aminů. Pomocí chromatografického systému byly detekovány tyto biogenní aminy: putrescin, spermin, spermidin, kadaverin, tyramin a histamin, který se vyskytoval pouze v omezené míře. Právě detekované biogenní aminy, patří dle Naila (2010) mezi biogenní aminy nejčastěji nacházené v potravinách [34]. Stanovení biogenních aminů může být dle Beyera (1956) využito k posouzení míry rozkladu sledovaného materiálu. V případě skladování potravin může být obsah biogenních aminů ukazatelem jakosti vstupní suroviny a úrovně hygieny během výrobního procesu a skladování [37]. Stanovené obsahy biogenních aminů v jednotlivých vzorcích svaloviny ryb nebyly detekovány v množstvích, které by mohly negativně ovlivnit zdraví spotřebitele, limitní hodnoty nebyly překročeny u žádného z detekovaných biogenních aminů.

V tabulce uvedené níže je popsán rozsah nárůstu celkového obsahu biogenních aminů v jednotlivé oběrové dny u kapra obecné a pstruha duhového z hypermarketu a rybárny za období od 16. 12. 2011 do 13. 1. 2012. Nejvyšší nárůst biogenních aminů byl porozován u kapra získaného v hypermarketu a naopak nejnižší u pstruha získaného také v hypermarketu.

Vzorek	Celkový obsah biogenních aminů [mg.kg ⁻¹]			
	Den 1	Den 3	Den 5	Den 7
Kapr - Hypermarket	26,5 - 52,8	28,4 - 60,5	29,7 - 90,4	33,5 - 151,1
Pstruh - Hypermarket	15,1 - 37,5	13,5 - 33,1	17,7 - 26,1	24,8 - 36,9
Kapr - Rybárna	20,7 - 65,5	24,9 - 57,6	25,7 - 58,6	29,1 - 84,1
Pstruh - Rybárna	17,5 - 36,8	17,8 - 38,4	24,3 - 49,9	20,0 - 51,0

Tabulka 2: Celkový obsah biogenních aminů [mg.kg⁻¹] v jednotlivě odebraných vzorcích.

V další tabulce uvedené níže je popsán rozsah nárůstu koncentrace biogenních aminů v jednotlivé odběrové dny u kapra obecné získaného z hypermarketu za období od 16. 12. 2011 do 13. 1. 2012. Nejvyšší nárůst byl pozorován u putrescinu a kadaverinu, naopak nejnižší u sperminu. Zajímavý je nárůst koncentrace histaminu, který je pouze u kapra získaného z hypermarketu a u ostatních vzorků ryb byl nulový nebo téměř nulový.

Kapr Hypermarket	Obsah biogenních aminů [mg.kg ⁻¹]			
	Den 1	Den3	Den 5	Den7
Biogenní amin				
Putrescin	1,7 – 19,8	3,8 – 27,0	3,5 – 51,3	5,9 – 50,6
Spermin	0,6 – 3,5	1,0 – 4,3	1,2 – 4,9	0,8 – 6,1
Spermidin	13,0 – 44,2	10,0 – 42,4	8,8 – 48,7	11,2 – 38,7
Kadaverin	0 – 6,5	0 – 7,6	0 – 26,6	0 – 50,5
Tyramin	0,3 – 2,6	0,3 – 6,0	0,2 – 8,8	0,1 – 33,1
Histamin	0 – 1,1	0 – 0,8	0 – 0,8	0 – 23,4

Tabulka 3: Obsah biogenních aminů [mg.kg⁻¹] ve svalovině kapra obecného získaného v hypermarketu v průběhu experimentu.

Dle Silla (1996) se hodnoty histaminu, putrescinu a kadaverinu obvykle zvyšují během znehodnocení ryb [39]. Toxicita histaminu se dle Shalabyho (1996) zvyšuje přítomností jiných aminů, jako kadaverinu, putrescinu a tyraminu [32]. Putrescin, kadaverin a histamin byly zjištěny dle Yoshida a Nakamura (1982) v syrových rybách vlivem špatných hospodářských podmínek po 36 h při 21°C, kdy tempo růstu obsahu biogenních aminů bylo extrémně rychlé [35].

V tabulce 4 je popsán rozsah nárůstu koncentrace biogenních aminů v jednotlivé odběrové dny u pstruha duhového získaného z hypermarketu za období od 16. 12. 2011 do 13. 1. 2012. Nejvyšší nárůst byl pozorován u putrescinu a nejnižší u sperminu. Histamin zde detekován nebyl.

Pstruh Hypermarket	Obsah biogenních aminů [mg.kg ⁻¹]			
	Den 1	Den 3	Den 5	Den7
Biogenní amin				
Putrescin	6,0 – 27,5	6,9 – 20,5	10,7 – 18,0	13,4 – 25,4
Spermin	0,9 – 2,8	0,9 – 4,1	1,1 – 2,4	0,8 – 3,1
Spermidin	1,6 – 11,1	1,3 – 7,9	0,9 – 8,1	0,9 – 7,3
Kadaverin	0 – 1,3	0 – 9,5	0 – 3,7	0 – 5,8
Tyramin	0,1 – 1,7	0,2 – 1,6	0,2 – 2,2	0,3 – 4,4
Histamin	0	0	0	0

Tabulka 4: Obsah biogenních aminů [mg.kg⁻¹] ve svalovině pstruha duhového získaného v hypermarketu v průběhu experimentu.

Yoshida a Nakamura (1982) zjistili, že v čerstvých rybách nebyla zjištěna žádná stopa histaminu, ale pokud čerstvé makrely ponechali stát při pokojové teplotě, hladina histaminu se zvýšila až na 28,4 ppm po 24 hodinách a na 1540 ppm po 48 hodinách. Obsah histaminu byl ve srovnání s kontrolním vzorkem o 37,8 % vyšší a vzrůstající trend byl závislý na mikrobiální činnosti. Naopak skladování při nízké teplotě snižuje rychlost tvorby biogenních aminů v rybách [35]. U pstruha duhového byl dle Silla (1996) izolovaný kadaverin, putrescin, spermin a spermidin ve vyšších hodnotách během doby skladování. Právě tyto ryby jsou nejčastěji spojovány s intoxikací histaminem. Tvorba histaminu v těchto a dalších rybách vzniká zejména vlivem mikrobiálního růstu [39].

V následující tabulce 5 je popsán rozsah nárůstu koncentrace biogenních aminů v jednotlivé oběrové dny u kapra obecné získaného z rybárny za období od 16. 12. 2011 do 13. 1. 2012. Nejvyšší nárůst byl pozorován u spermidinu a putrescinu a naopak nejnižší u tyraminu. Histamin zde opět nebyl detekován.

Kapr Rybárna	Obsah biogenních aminů [mg.kg⁻¹]			
	Den 1	Den 3	Den 5	Den 7
Biogenní amin				
Putrescin	2,9 – 24,1	3,9 – 14,6	3,2 – 20,1	4,4 – 29,5
Spermin	1,1 – 6,0	1,4 – 8,0	1,5 – 6,7	1,7 – 7,1
Spermidin	16,1 – 34,5	13,5 – 41,0	18,0 – 37,7	20,4 – 37,7
Kadaverin	0 – 2,6	0 – 2,0	0 – 4,3	0 – 15,3
Tyramin	0,2 – 0,9	0,2 – 1,0	0,3 – 2,2	0,7 – 5,4
Histamin	0	0	0	0

Tabulka 5: Obsah biogenních aminů [mg.kg⁻¹] ve svalovině kapra obecného získaného v rybárně průběhu experimentu.

Shalaby (1996) uvádí, že existuje obecný úbytek koncentrace spermidinu a sperminu ve vztahu k ostatním biogenním aminům. U kadaverinu, putrescinu a především histaminu byl vznik ovlivněn podmínkami, nikoliv druhem ryb [32]. Limitní hodnota obsahu tyraminu je dle Standarové (2008) v rozpětí 100 – 800 mg.kg⁻¹ a její překročení může způsobit migrénu [27].

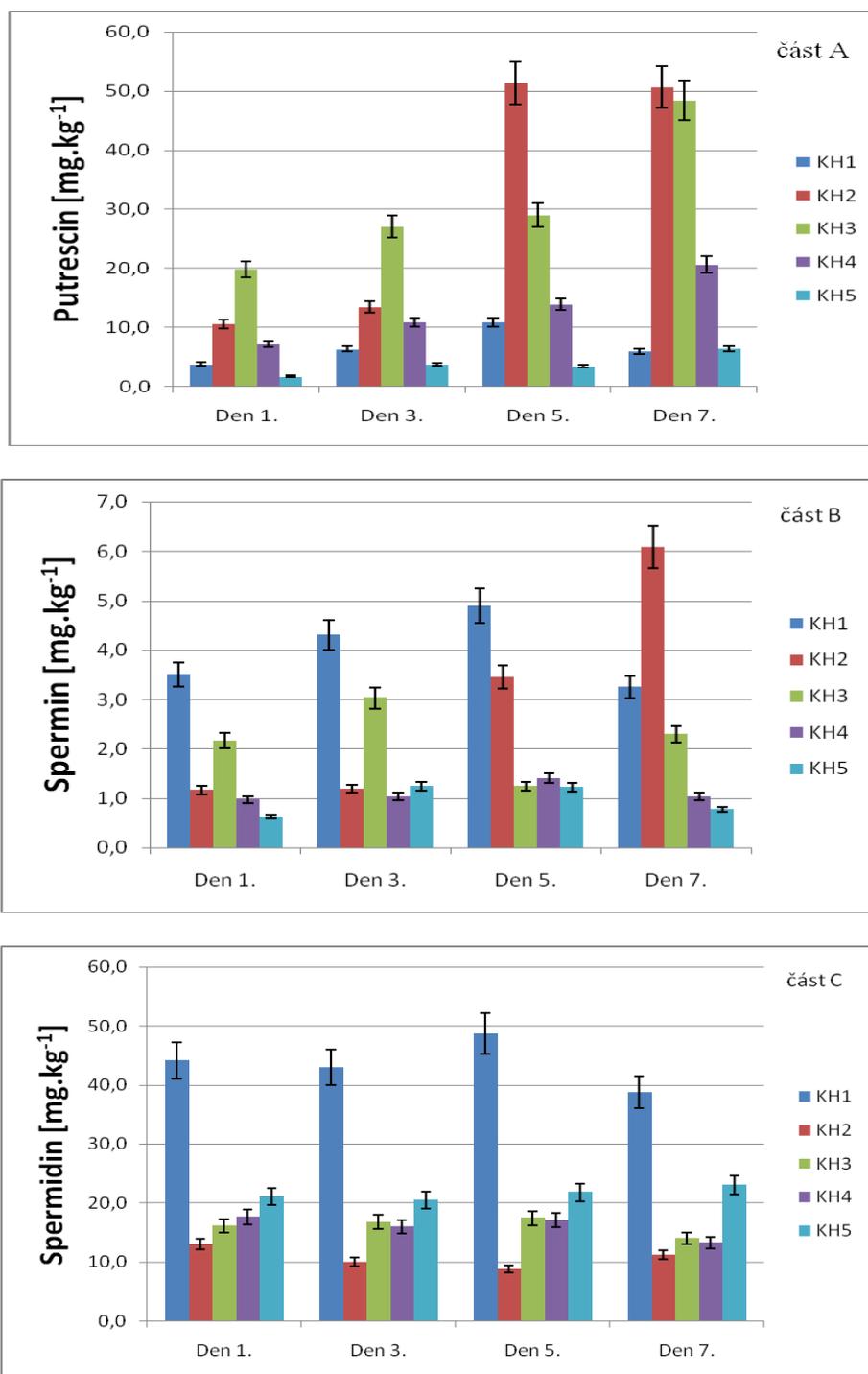
V tabulce 6 je popsán rozsah nárůstu koncentrace biogenních aminů v jednotlivé odběrové dny u pstruha duhového získaného z rybárny za období od 16. 12. 2011 do 13. 1. 2012. Nejvyšší nárůst byl pozorován u putrescinu a tyraminu, nejnižší u sperminu. Zajímavý je nárůst koncentrace histaminu v první den odběru a jeho následná nulová koncentrace. To lze pravděpodobně vysvětlit možným vlivem jednotlivých částí rybiho těla, které se navzájem mohou lišit chemickým složením, popřípadě také rizikovější kontaminací při zpracování.

Pstruh Rybárna	Obsah biogenních aminů [mg.kg ⁻¹]			
	Den 1	Den 3	Den 5	Den 7
Biogenní amin				
Putrescin	8,6 – 12,8	7,0 – 17,1	10,1 – 19,2	10,5 – 23,2
Spermin	1,1 – 4,0	1,1 – 4,0	1,1 – 2,5	1,0 – 2,9
Spermidin	1,8 – 19,9	2,1 – 16,9	1,7 – 10,8	2,0 – 13,7
Kadaverin	0 – 1,3	0 – 4,1	0 – 11,5	0 – 6,0
Tyramin	0,2 – 1,0	0,2 – 0,5	0,3 – 4,9	0,3 – 18,3
Histamin	0 – 1,6	0	0	0

Tabulka 6: Obsah biogenních aminů [mg.kg⁻¹] ve svalovině pstruha duhového získaného v rybárně v průběhu experimentu.

Hardy a Smith (1976) uvádí menší míru vzniku histaminu v mražených makrelách, kde nebyl zjištěn histamin po 72 týdnech skladování při -14, -12, -29°C. Obsah biogenních aminů v tuňákově a makrelách se neměnil během skladování při -18°C. Během rozmrazování mražených ryb, obsah biogenních aminů kolísal. Autoři také uvádějí, že míra vzniku závisí na endoenzýmech rybiích tkání a činnosti enzymů mikroorganismů. Studie dále poukázala na možnou degradaci histaminu v průběhu konzervářského procesu. Tyto ztráty však byly velmi nízké [36].

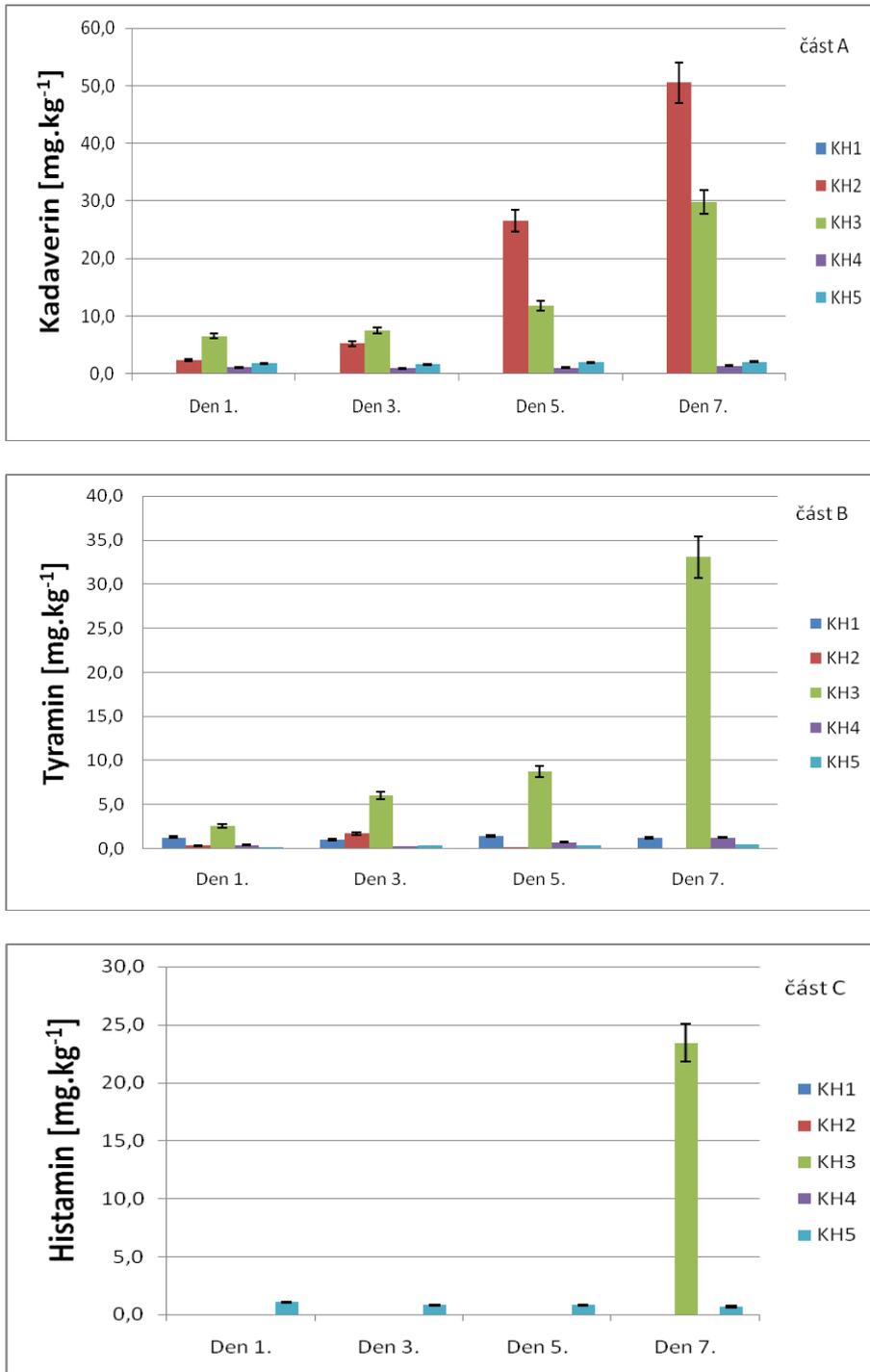
Graf 1 znázorňuje vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z hypermarketu.



Graf 1: Vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z hypermarketu v průběhu skladování za chladírenské teploty $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (část A – obsah putrescinu; část B – obsah sperminu; část C – obsah spermidinu).

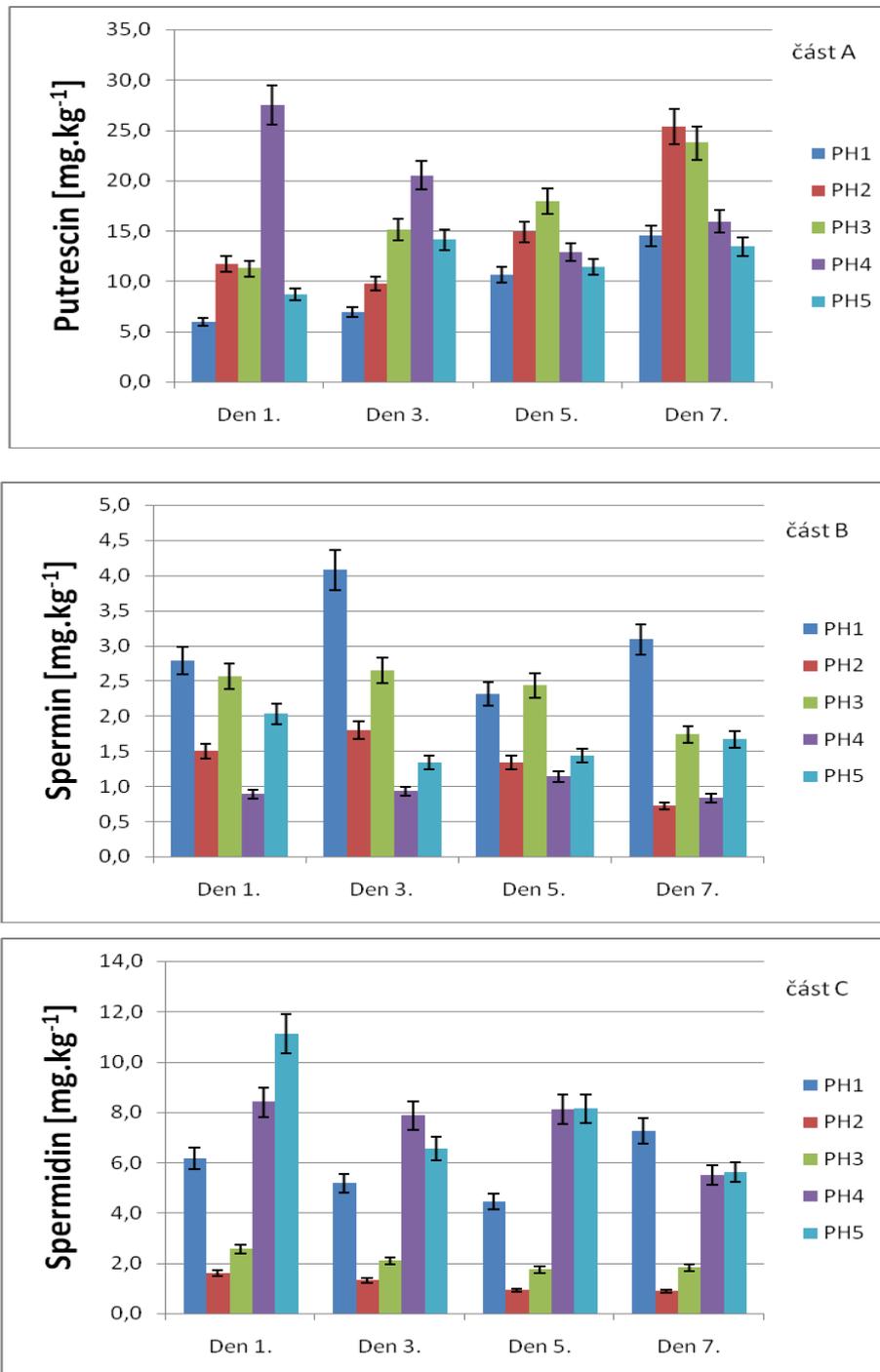
Obsah putrescinu měl rostoucí trend v průběhu skladování u vzorků KH2, KH3, KH4. Odchylný vývoj měly vzorky KH1 a KH5, kde nárůst obsahu putrescinu byl velmi pozvolný a dokonce v případě těchto vzorků došlo v průběhu skladování k poklesu obsahu putrescinu. Obsah putrescinu klesal v 7. dni skladování u vzorku KH1, respektive v 5. dni skladování u vzorku KH5. V případě obsahu sperminu, měl rostoucí trend v průběhu skladování vzorek KH2, u kterého obsah sperminu dosáhl nejvyšší hodnoty v této sérii vzorků. U vzorků KH1, KH4 a KH5 byl zaznamenán pozvolný nárůst v průběhu skladování a v 7. dni u těchto vzorků došlo k následnému poklesu obsahu sperminu. Vzorek KH3 měl odchylný vývoj, nejprve nárůst, poté pokles a v 7. dni opět nárůst obsahu sperminu. U spermidinu byl výrazný obsah zaznamenán ve vzorku KH1, který převyšoval ostatní pozvolna narůstající obsahy spermidinu ve zbývajících vzorcích.

Graf 2 znázorňuje vývoj obsahu kadaverinu, tyraminu a histaminu ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z hypermarketu. V případě kadaverinu nebyl tento biogenní amin detekován ve vzorku KH1. U vzorků KH2 a KH3 byl zaznamenán pozvolný a vysoký nárůst oproti velmi nízkému nárůstu u vzorků KH4 a KH5. Tyramin byl ve významném narůstajícím množství detekován pouze ve vzorku KH3. Obsah histaminu byl detekován pouze u vzorků KH3 a KH5. U vzorku KH3 to byl prudký nárůst v den 7. Tato hodnota byla nejvyšší zjištěnou hodnotou obsahu histaminu v celém experimentu, a to $23,4 \text{ mg.kg}^{-1}$. Českou legislativou vymezený limit pro histamin v rybách a výrobcích z ryb je uváděný ve výši 100 mg.kg^{-1} , obsah histaminu je tedy v pořádku, protože nepřekročil limitní hodnotu. Tento výkyv lze vysvětlit možným delším skladováním rybího těla před samotným prodejem spotřebiteli. U vzorku KH5 byl zaznamenán velmi pozvolný nárůst po všechny dny. V ostatních vzorcích v průběhu celého skladování nebyl obsah histaminu detekován.



Graf 2: Vývoj obsahu kadaverinu, tyraminu a histaminu [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z hypermarketu v průběhu skladování za chladírenské teploty $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (část A – obsah kadaverinu; část B – obsah tyraminu; část C – obsah histaminu).

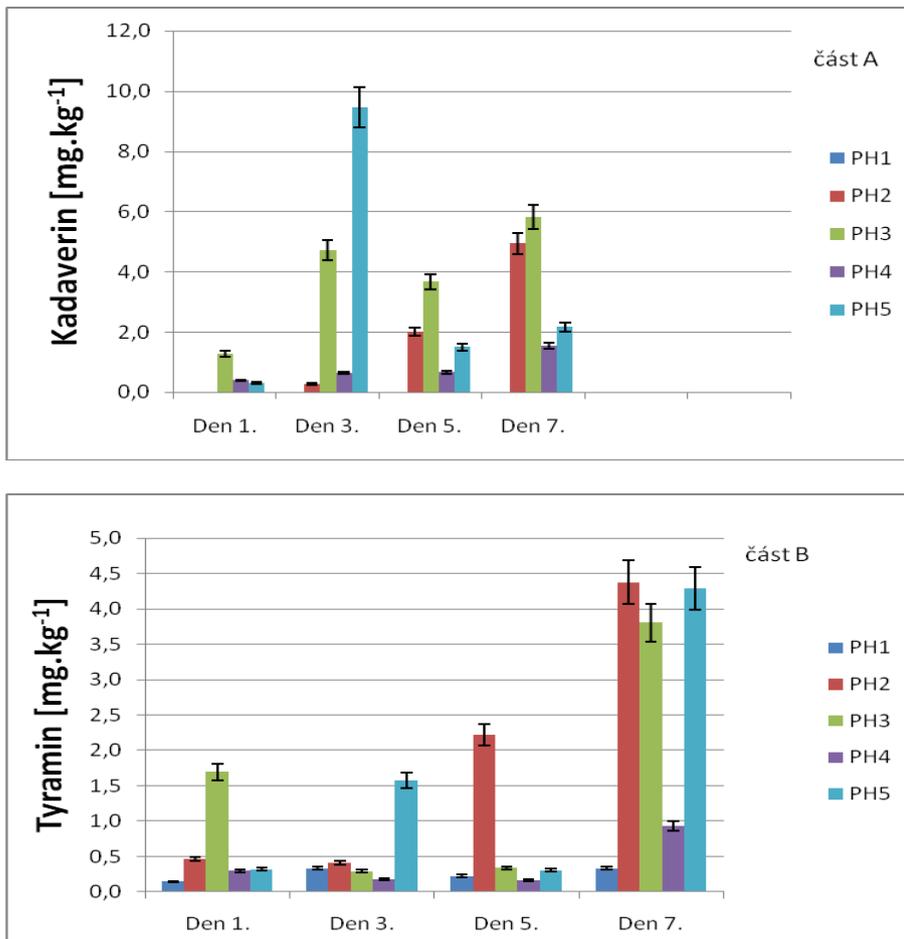
Graf 3 znázorňuje vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z hypermarketu.



Graf 3: Vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z hypermarketu v průběhu skladování za chladírenské teploty $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (část A – obsah putrescinu; část B – obsah sperminu; část C – obsah spermidinu).

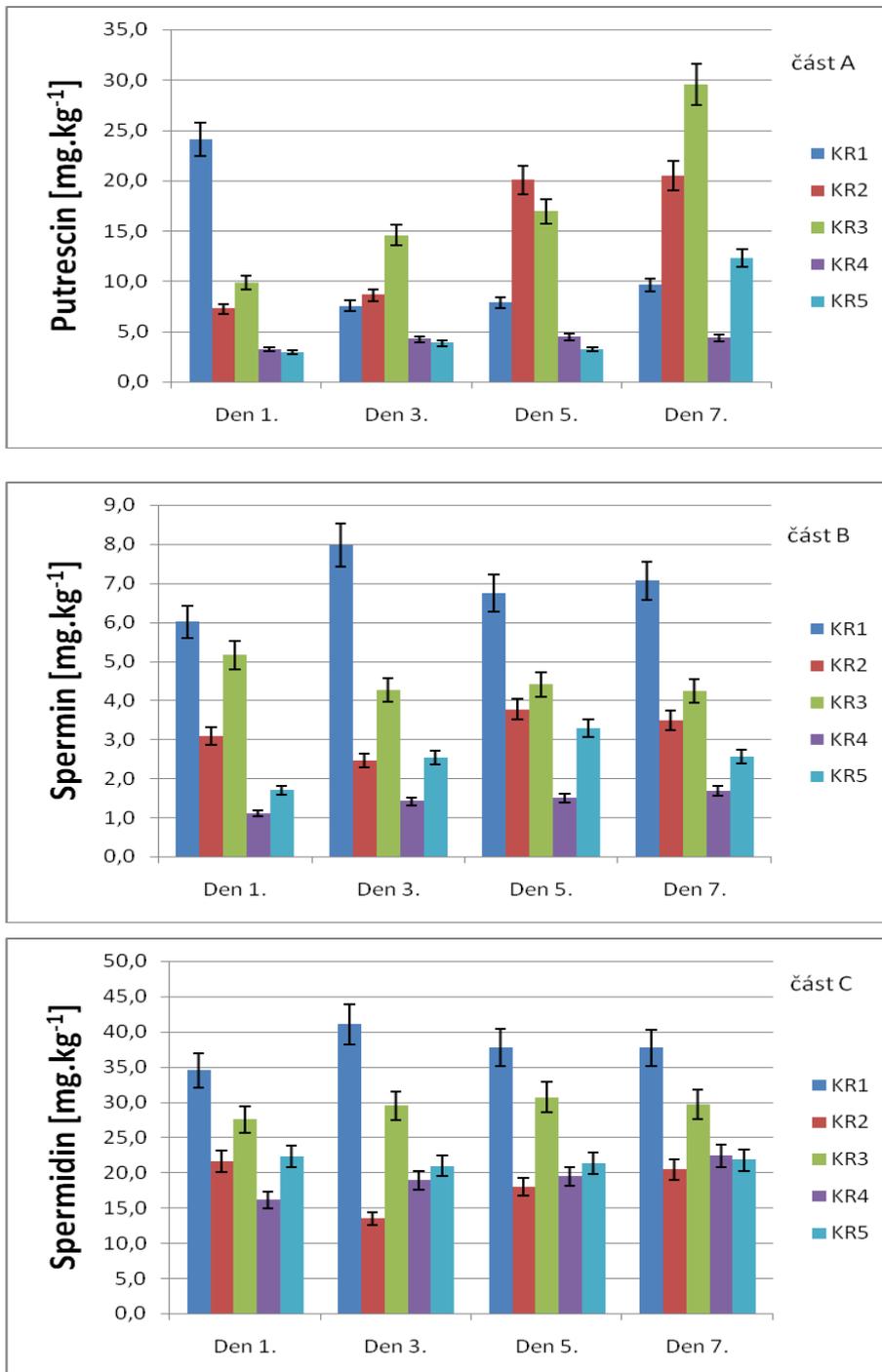
Obsah putrescinu měl u vzorků PH1, PH2, PH3 a PH5 pozvolný a vyrovnaný rostoucí trend v průběhu skladování. Naopak vzorek PH4 v průběhu skladování klesal. Obsah sperminu u všech vzorků kolísal, u většiny vzorků vyšší obsah v průběhu skladování poklesl. V případě spermidinu byl zaznamenán také klesající trend obsahu, v případě vzorků PH1, PH4 a PH5 i výrazně vyšší obsah spermidinu. Pokles byl pravděpodobně z důvodu částečného odbourávání sperminu a spermidinu, jak popisuje Shalaby (1996).

Graf 4 znázorňuje vývoj obsahu kadaverinu a tyraminu ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z hypermarketu. V případě kadaverinu nebyl jeho obsah detekován ve vzorku PH1 a rostoucí trend byl zaznamenán u vzorků PH2, PH3 a PH4. Vysoký nárůst tyraminu byl v 7. den skladování zaznamenán ve vzorcích PH2, PH3 a PH5. Obsah histaminu zde nebyl detekován.



Graf 4: Vývoj obsahu kadaverinu a tyraminu [mg.kg^{-1}] ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z hypermarketu v průběhu skladování za chladírenské teploty $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (část A – obsah kadaverinu; část B – obsah tyraminu).

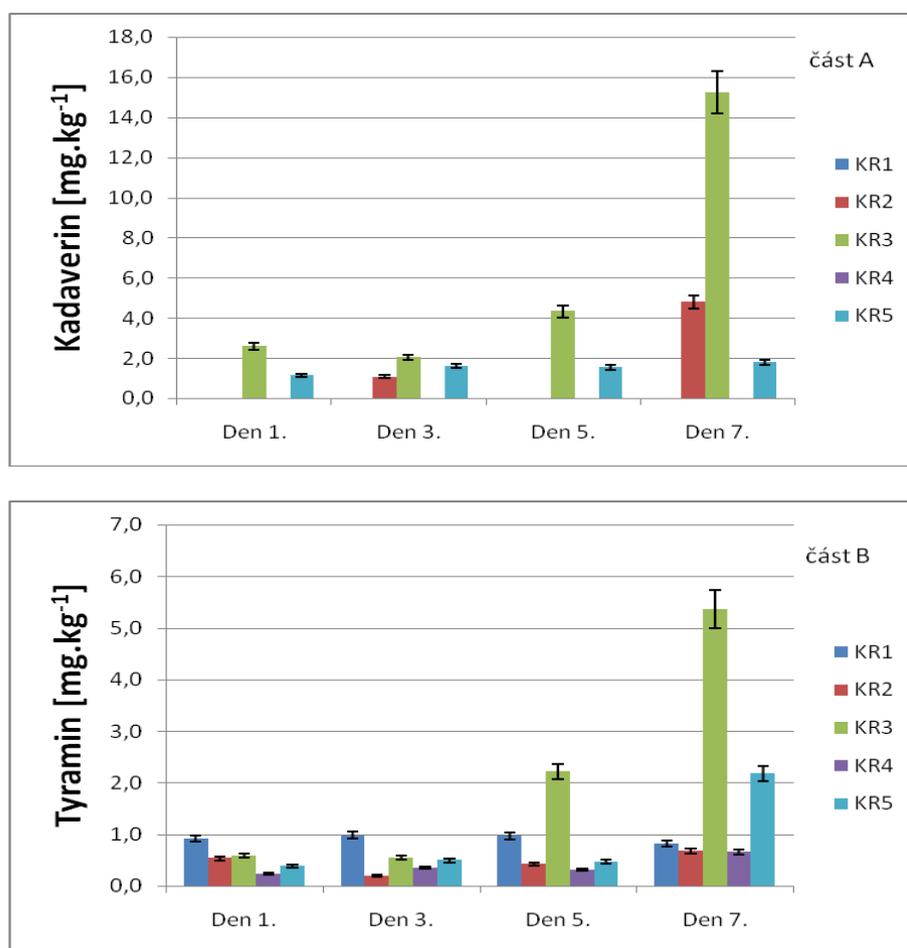
Graf 5 znátornuje vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z rybárny.



Graf 5: Vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z rybárny v průběhu skladování za chladírenské teploty $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (část A – obsah putrescinu; část B – obsah sperminu; část C – obsah spermidinu).

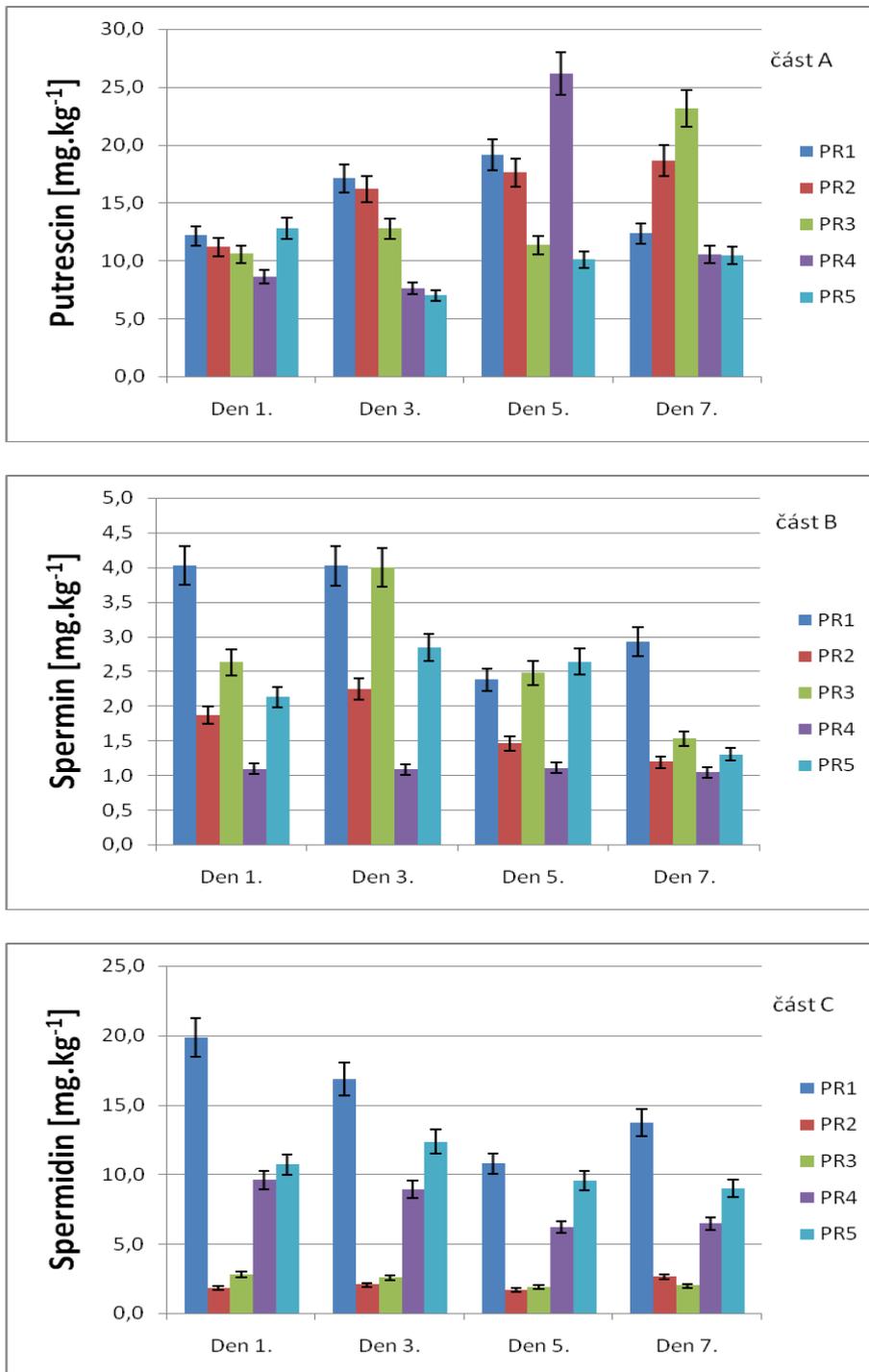
Obsah putrescinu měl klesající trend v průběhu skladování u vzorku KR1 a naopak vysoký nárůst u vzorků KR2 a KR3. V případě sperminu hodnoty narůstaly velmi pozvolně u všech vzorků a výrazně vyšší hodnoty byly sledovány u vzorků KR1, KR2 a KR3. Hodnoty spermidinu byly v pozvolném růstu během skladování vyrovnané až na vzorek KR1, který byl výrazně vyšší, než ostatní vzorky.

Graf 6 znázorňuje vývoj obsahu kadaverinu a tyraminu ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z rybárny. V případě kadaverinu a tyraminu byl vysoký nárůst zaznamenán u vzorku KR3. Obsah kadaverinu nebyl detekován ve vzorcích KR1 a KR4. Obsah histaminu zde opět detekován nebyl.



Graf 6: Vývoj obsahu kadaverinu a tyraminu [mg.kg⁻¹] ve svalovině kapra obecného (*Cyprinus carpio*) získaného z rybárny v průběhu skladování za chladírenské teploty 5°C ± 2°C (část A – obsah kadaverinu; část B – obsah tyraminu).

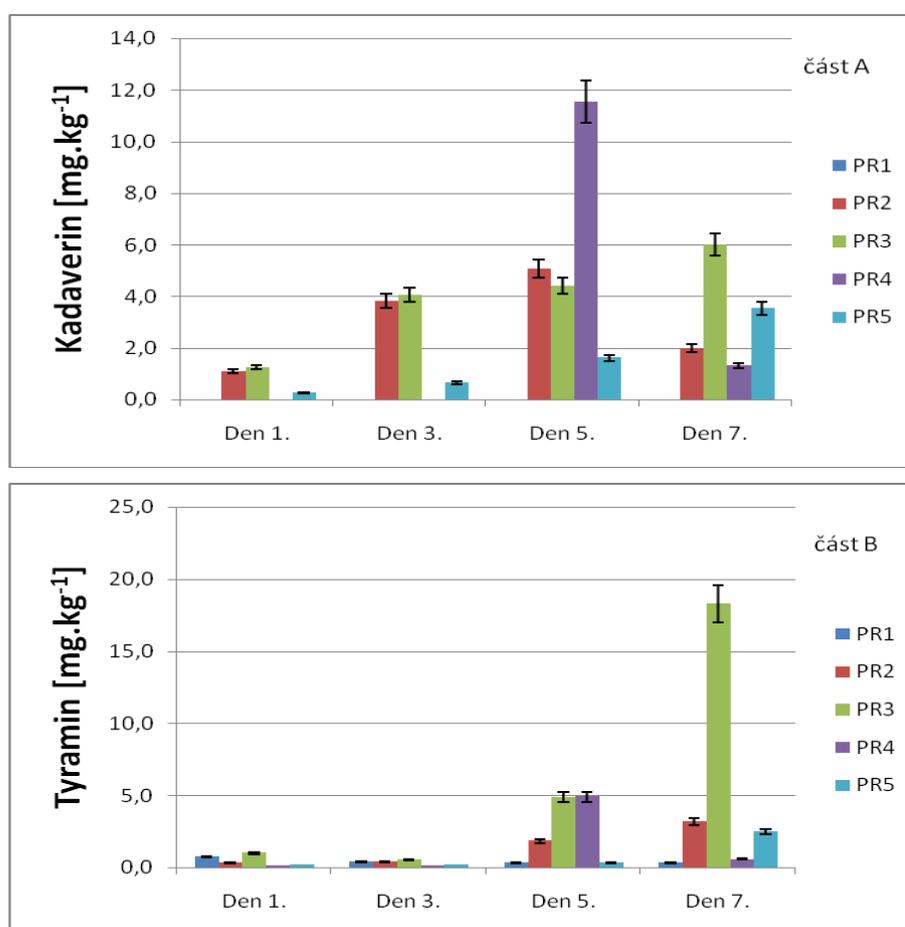
Graf 7 znázorňuje vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z rybárny.



Graf 7: Vývoj obsahu putrescinu, sperminu a spermidinu [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z rybárny v průběhu skladování za chladírenské teploty $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (část A – obsah putrescinu; část B – obsah sperminu; část C – obsah spermidinu).

Obsah putrescinu měl rostoucí trend v průběhu skladování u vzorků PR2 a PR3 a naopak klesající u vzorku PR5. V případě sperminu, byly hodnoty velice nevyrovnané s klesajícím trendem u všech vzorků. U spermidinu je zajímavý také klesající trend u všech vzorků a výrazně vyšší hodnoty u vzorků PR1, PR4 a PR5. Shalaby (1996) uvádí, že existuje obecný úbytek koncentrace spermidinu ve vztahu k ostatním biogenním aminům [32].

Graf 8 znázorňuje vývoj obsahu kadaverinu a tyraminu ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z rybárny.



Graf 8: Vývoj obsahu kadaverinu a tyraminu [mg.kg⁻¹] ve svalovině pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) získaného z rybárny v průběhu skladování za chladírenské teploty 5°C ± 2°C (část A – obsah kadaverinu; část B – obsah tyraminu).

Obsah kadaverinu nebyl detekován u vzorku PR1, u další vzorků v nízkých hladinách, jen v 5. dni byl detekován vyšší nárůst u vzorku PR4. Obsah tyraminu se pohyboval po celou dobu skladování ve velmi malých množstvích, jen v 7. den skladování výrazně vzrostl obsah u vzorku PR3. Obsah histaminu byl detekován pouze v den 1. u vzorků PR2 a PR5. V ostatních vzorcích v průběhu celého skladování nebyl obsah histaminu detekován. Nízký, respektive nulový obsah histaminu byl pravděpodobně způsoben dodržáním vysoce hygienických zásad při opracování rybího těla a důsledným zachováním chladírenského řetězce.

Ryby jsou významnou složkou lidské stravy a hlavními cíly, v celé technologii zpracování ryb jsou dle Bremmera (2002) bezpečnost a kvalita finálního produktu. Kombinace veškerých technologických postupů představuje při nedodržení jejich správnosti velká rizika a dopad na konečného spotřebitele. Proto pro ryby a rybí výrobky existují pravidla technologického procesu zpracování a jejich kontroly, které se provádějí z důvodu zajištění bezpečnějších a stabilnějších výrobků [40]. Dle Shalabyho (1996) je nesporné, že ryby a rybí výrobky si zasluhují největší pozornost, pokud jde o obsah biogenních aminů [32]. Standarová (2008) uvádí, že poznatky o obsahu biogenních aminů v potravinách jsou potřebné pro vyhodnocení možného rizika alimentární intoxikace při příjmu velkého množství potravin s vysokým obsahem biogenních aminů [27]. Dle Naila (2010) patří námi zjištěné biogenní aminy (putrescin, spermin, spermidin, kadaverin, tyramin a histamin) mezi nejčastěji nalezené v potravinách. Tvorba biogenních aminů v potravinách v důsledku mikrobiální dekarboxylace aminokyselin může vést dle Naila (2010) u spotřebitelů, kteří trpí alergickou reakcí k obtížím při dýchání, ke svědění, vyrážce, zvracení, horečce a hypertenzi [34]. Stadnik (2010) tvrdí, že původ biogenních aminů je činí vhodnými chemickými ukazateli hygienické kvality a čerstvosti potravin [26]. Námi stanovené obsahy biogenních aminů v jednotlivých vzorcích svaloviny ryb nebyly detekovány v množstvích, které by mohly negativně ovlivnit zdraví spotřebitele, byla tedy dodržena veškerá hygienická opatření během technologického zpracování i distribuce, kdy dle Naila (2010) zabránujeme tvorbě biogenních aminů v potravinách především omezením mikrobiálního růstu prostřednictvím chlazení a mrazení [34]. Dle Standarové (2008) je obtížné stanovit toxické dávky biogenních aminů a velmi záleží na individuálních rozdílech mezi lidmi a zastoupení jednotlivých biogenních aminů v potravině. Také záleží na množství konzumované potraviny a přítomnosti jiných složek [27]. V rybách a rybích

výrobci se nejčastěji objevuje histamin. Vznik histaminu je dle Shalabyho (1996) sám o sobě bakteriálního původu, a proto se přiřazuje ke kritériím kažení nebo zhoršení stavu produktů rybolovu. Ryby obsahující velké množství histaminu mohou mít normální vzhled i pach. V námi sledovaných vzorcích se histamin pohyboval v rozmezí 0 - 23,4 mg.kg⁻¹. Ovšem limitní hodnota obsahu histaminu, která může způsobit intoxikaci je 100 mg.kg⁻¹ vzorku, což je jedním z důkazů, že byla dodržena hygienická opatření během technologického zpracování i distribuce. Dle Buchtové (2001) rybí svalovina patří mezi rychle se kazící a tedy jen velmi málo údržné suroviny a potraviny. Základním technologickým požadavkem pro zpracování, distribuci a skladování čerstvé rybí svaloviny je její uchovávání při nízkých teplotách. Dodržení tohoto chladírenského řetězce umožňuje bezpečný prodej chlazené ryby po celou dobu její spotřeby garantované výrobcem [8]. V hypermarketu byla garantována doba spotřeby do 5-ti dnů od odkupu při správném skladování. V experimentu byly vzorky skladovány po 7 dní při teplotě 5°C ± 2°C a i přes delší dobu skladování, než byla garantována výrobcem, byl obsah biogenních aminů detekován na méně než 1/3 limitní koncentrace danou legislativou ČR. Pokud by tedy distributor/spotřebitel chtěl déle svalovinu ryb skladovat, pak pouze za výrazně vysokých hygienických podmínek získání svaloviny a také dalšího skladování se striktním zachováním chladírenského řetězce.

Shalaby (1996) uvádí, že účinky histaminu, mohou být podporovány příjmem jiných biogenních aminů, např. putrescinu a kadaverinu, které se vyskytují v nezanedbatelném množství v rybách [32]. V námi prověřovaných vzorcích byly naměřeny jen nízké hodnoty, jak putrescinu, nejvýše 50,6 mg.kg⁻¹, tak kadaverinu, nejvýše 50,5 mg.kg⁻¹. Další biogenní aminy, které mohou působit synergicky s histaminem, jsou dle Shalabyho (1996) tyramin, spermin a spermidin [32]. V případě těchto biogenních aminů, byly ve vzorcích svaloviny ryb naměřeny opět jen nízké hodnoty a to u tyraminu nejvýše 33,1 mg.kg⁻¹, u sperminu nejvýše 6,1 mg.kg⁻¹ a u spermidinu nejvýše 48,7 mg.kg⁻¹. Dalším důkazem, že byla dodržena hygienická opatření během technologického zpracování i distribuce je obsah tyraminu v rozmezí 0,1 – 33,1 mg.kg⁻¹, kdy u tyraminu jsou rizikové hodnoty v rozpětí 100 – 800 mg.kg⁻¹. Podle Shalabyho (1996) je význam tyraminu v potravinách důležitý kvůli jeho toxikologickému dopadu, protože kromě toho, že je mírně toxický, tyramin reaguje s inhibitory monoaminoxidázy, což vede k hypertenzní krizi a zvýšení krevního tlaku.

ZÁVĚR

V teoretické části diplomové práce byly stručně charakterizovány ryby, technologie zpracování ryb a byl popsán význam ryb ve výživě člověka s upozorněním na pozitivní a negativní vlivy. Větší pozornost byla věnována charakterizování biogenních aminů, se zaměřením na jejich výskyt ve svalovině ryb a potenciálnímu riziku pro konzumenta. Biogenní aminy jsou nízkomolekulární dusíkaté organické látky se značnou biologickou aktivitou, vznikající dekarboxylací aminokyselin a uplatňující se v metabolismu zvířat, rostlin a lidí. Mohou způsobit výrazné farmakologické, fyziologické a toxické účinky na organismus, což může u spotřebitelů, kteří trpí alergickou reakcí vést k obtížím při dýchání, ke svědění, vyrážce, zvracení, horečce a hypertenzi.

Praktická část byla zaměřena na založení skladovacího pokusu se svalovinou odebranou z čerstvých sladkovodních ryb, konkrétně kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a stanovení obsahu biogenních aminů ve vzorcích svaloviny vybraných chlazených sladkovodních ryb, pomocí chromatografického systému. Ve vzorcích byly detekovány tyto biogenní aminy: putrescin, spermin, spermidin, kadaverin, tyramin a histamin, přičemž histamin se vyskytoval pouze v omezené míře. Největší množství biogenních aminů bylo detekováno ve svalovině kapra obecného získaného v hypermarketu, limitní hodnoty však překročeny nebyly.

Stanovené obsahy biogenních aminů v jednotlivých vzorcích svaloviny ryb nebyly detekovány v množstvích, které by mohly negativně ovlivnit zdraví spotřebitele. Byla dodržena hygienická opatření během technologického zpracování, hygiena zařízení, prostředí, výroby i distribuce. Důkazem je obsah histaminu v rozmezí 0 - 23,4 mg.kg⁻¹, přičemž limitní hodnota obsahu histaminu, která může způsobit intoxikaci je 100 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty. Dalším potvrzením vhodných podmínek zpracování i skladování je obsah tyraminu v rozmezí 0,1 – 33,1 mg.kg⁻¹, kdy u tyraminu jsou rizikové hodnoty v rozpětí 100 – 800 mg.kg⁻¹.

Rybí svalovina patří mezi rychle se kazící a málo údržné suroviny a potraviny. Základním technologickým požadavkem pro zpracování, distribuci a skladování čerstvé rybí svaloviny je její uchovávání při nízkých teplotách. Dodržení tohoto chladírenského řetězce umožňuje bezpečný prodej chlazené ryby po celou dobu její spotřeby garantované výrobcem. Pokud

bude rybí svalovina získána a následně také skladována za vysoce hygienických podmínek a vhodné teploty, tak pravděpodobně může být nabízena k prodeji v řádu několika dní.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SVOBODOVÁ, Z a kol. *Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb*. 4. vyd. Praha: Informatorium, 2007, 264 s. ISBN 978-80-7333-051-4
- [2] KLIMEŠ, J. a kol. *Zoologie pro veterinární mediky*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2004, 192 s. ISBN 80-7305-489-2
- [3] HOLČÍK, J., MIHÁLIK, J. *Sladkovodní ryby*. 2847. vyd. Praha: Artia, 1971, 133 s.
- [4] web.natur.cuni.cz/uzp/data/RybyEvr1.doc
- [5] ŠIMEK, Z. *Ryby našich vod*. 1. vyd. Praha: Orbis, 1959, 142 s.
- [6] http://www.guh.cz/edu/bi/biologie_obratlovci/html01/foto_019.html
- [7] http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Oncorhynchus_mykiss_mid_res_150dpi.jpg
- [8] BUCHTOVÁ, H. *Hygiena a technologie zpracování ryb a ostatních vodních živočichů Alimentární onemocnění z ryb Mrazírenství*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2001, 164 s. ISBN 80-7305-401-9
- [9] ČIHAŘ, J., MALÝ, J. *Sladkovodní ryby*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1978, 189 s.
- [10] TEROFAL, F. a kol. *Mořské ryby*. 1. vyd. Praha: Ikar, 1996, 287 s.
ISBN 80-7202-009-9
- [11] INGR, I. *Jakost a zpracování ryb*. 2.vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010, 102 s. ISBN 978-80-7375-382-5
- [12] PIPEK, P. *Hodnocení jakosti, zpracování a zbožíznalství živočišných produktů Část III. Hodnocení a zpracování masa, drůbeže, vajec a ryb*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2001, 125 s.
ISBN 80-7040-490-6
- [13] http://www.czso.cz/csu/tz.nsf/i/vychazi_elektronicka_publikace_spotreba_potravin_v_roce_2009
- [14] Vyhláška Mze č. 287/1999 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty v platném znění

- [15] Vet. hygienické podmínky vydané MěVS v Brně pro sezónní prodej živých ryb v období vánoc 1999 na území města Brna. 400/99 v platném znění
- [16] SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A. *Atlas fyziologie člověka*. 6. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2004, 448 s. ISBN 80-247-0630-X
- [17] HRABĚ, J. a kol. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně Fakulta technologická, 2007, 186 s.
- [18] Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů v platném znění
- [19] KŘÍKAVA, L. a kol. *Výživa pracujících*. 1. vyd. Praha: Avicenum- zdravotnické nakladatelství, 1978, 100 s.
- [20] HEJDA, S. a kol. *Výživa a zdravotní stav člověka*. 1. vyd. Praha: Avicenum-zdravotnické nakladatelství, 1987, 200 s.
- [21] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. 1. vyd. Tábor: Osis, 1999, 328 s. ISBN 80-902391-4-5
- [22] KUNOVÁ, V. *Zdravá výživa*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2004, 136 s. ISBN 80-247-0736-5
- [23] MURRAY, R. a kol. *Harperova biochemie*. 4. vyd. Jinočany: H+H, 2002, 872 s. ISBN 80-7319-013-3
- [24] KOHOUT, P. a kol. *Potraviny-součást zdravého životního stylu*. Interní Med.2010, suppl.B, Olomouc: Solen, 2010, 108 s. ISBN 978-80-87327-39-5
- [25] WAGNER, O., RICHTER, A. F. *Biochemie II. část*. 1.vyd. Praha: Karlova univerzita v Praze - Státní pedagogické nakladatelství, 1961, 548 s.
- [26] STADNIK, J., DOLATOWSKI, Z., J. *Biogenic amines in meat and fermented meat products*, 2010, Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 9(3) 2010, 251-263
- [27] STANDAROVÁ, E., BORKOVCOVÁ, I., VORLOVÁ, L. *Obsah biogenních aminů v sýrech z české obchodní sítě*, 2008, Veterinářství 2008;58:735-739.
- [28] VEČEŘA, M. *Biochemie - příklady a cvičení*. 1.vyd. Pardubice: Vysoká škola chemickotechnologická v Pardubicích, 1979, 131 s.

- [29] PAVEL, J. *Biochemie* 1. vyd. Brno: Vysoká škola zemědělská v Brně, 1989, 217 s.
- [30] KOŠTÍŘ, J. *Biochemie* 1. vyd. Praha: Avicem - zdravotnické nakladatelství, 1974, 568 s.
- [31] RIEDL, O., VONDRÁČEK, V. *Klinická toxikologie Toxikologie léků, potravin, jedovtých živočichů a rostlin aj.* 5. vyd. Praha: Avicem - zdravotnické nakladatelství, 1980, 820 s.
- [32] SHALABY, A., R. *Significance of biogenic amines to food safety and human health Food Research International*, 1996, Vol. 29, No. 7, pp. 675-690
- [33] RAWLES. D., D., FLICK, G. *Biogenic amines in fish and shellfish*, 1996, Advances in food and nutrition research, vol. 39
- [34] NAILA, A., FLINT, S., FLETCHER, G., BREMER, P., MEERDINK, G. *Control of Biogenic amines in food – Existing and Emerging Approaches Journal of Food Science*, 2010, Vol. 75, Nr. 7.
- [35] YOSHIDA, A., NAKAMURA, A. *Quantitation of histamine in fishes and fishes products by high performance liquid chromatography*, 1982, J. Food Hyg. Soc. Jpn. 23, 339.
- [36] HARDY, R., SMITH, J. G. M. *The storage of mackerel *Scomber scomberus*, development of histamine and rancidity*, 1976, J. Sci. Food Agric. 27, 595.
- [37] BEYER, J., DEPIERRE, F., TISSLER, M., JACOB, J. *Hromadné histaminové otravy tuňákem* Presse méd. 64, 1956, č. 43, 1003 s.
- [38] Fotografie pořízené autorem v průběhu experimentu.
- [39] SILLA - SANTOS, M., H. *Biogenic amines: their importace in food*, 1996, International Journal of Food Microbiology 29 (1996) 213-231
- [40] BREMMER, A. *Safety and quality issues in fish processing*, 2002, Woodhead Publishing Limited, Cambridge

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HPLC	High Performance Liquid Chromatography
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
KVS	Krajská veterinární správa
HDL	High density lipoprotein
LDL	Low density lipoprotein
WHO	Světovou zdravotnickou organizací
AWI	Accetable weekly intake
MAO	Monoaminoxidáza
DAO	Diaminoxidáza
HMT	Histidinmethyltransferáza
HHP	Vysoký hydrostatický tlak

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Typy ocasních ploutví	12
Obr. 2: Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>)	15
Obr. 3: Pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	16
Obr. 4: Vznik histaminu, putrescinu, kadaverinu, spermidinu a sperminu	37
Obr. 5: Průběh experimentu – systém HPLC	49

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Biogenní aminy v potravinách a jejich farmakologické účinky	36
Tab. 2: Celkový obsah biogenních aminů [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] v jednotlivě odebraných vzorcích	50
Tab. 3: Obsah biogenních aminů [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině kapra obecného získaného v hypermarketu v průběhu experimentu	51
Tab. 4: Obsah biogenních aminů [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině pstruha duhového získaného v hypermarketu v průběhu experimentu	52
Tab. 5: Obsah biogenních aminů [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině kapra obecného získaného v rybárně průběhu experimentu	53
Tab. 6: Obsah biogenních aminů [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] ve svalovině pstruha duhového získaného v rybárně průběhu experimentu	54

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Průběh experimentu – odebrané a označené vzorky [38]

Příloha 2: Průběh experimentu – filtrace [38]

Příloha 3: Průběh experimentu – vzorky před odběrem heptanové vrstvy [38]

Příloha 4: Průběh experimentu – odpařování pod proudem dusíku při teplotě 60°C [38]

Příloha 5: Ukázka chromatogramu vzorku KH5 odebraného po 7 dnech skladování při teplotě $5 \pm 2^\circ\text{C}$

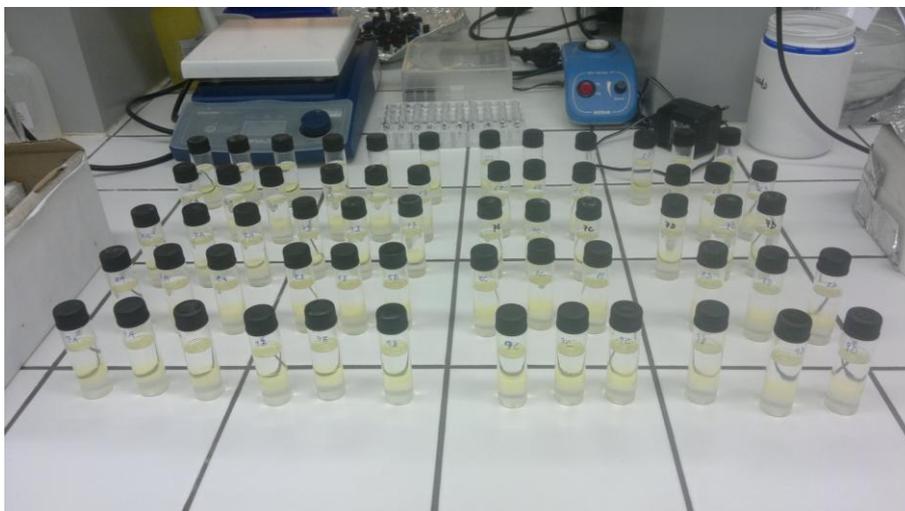
Příloha 1: Průběh experimentu – odebrané a označené vzorky [38]



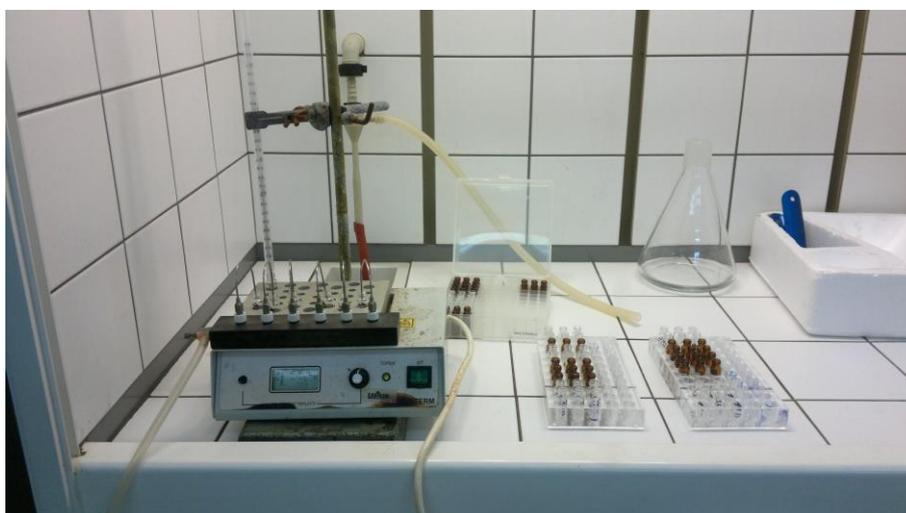
Příloha 2: Průběh experimentu – filtrace [38]



Příloha 3: Průběh experimentu – vzorky před odběrem heptanové vrstvy [38]



Příloha 4: Průběh experimentu – odpařování pod proudem dusíku při teplotě 60°C [38]



Příloha 5: Ukázka chromatogramu vzorku KH5 odebraného po 7 dnech skladování při teplotě $5 \pm 2^\circ\text{C}$

