

Výskyt biogenních aminů v ciderech

Šimon Borek

Bakalářská práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Šimon Borek**
Osobní číslo: **T17911**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Výskyt biogenních aminů v ciderech**

Zásady pro vypracování

1. Charakteristika ciderů.
2. Význam biogenních aminů pro člověka.
3. Vliv biogenních aminů na kvalitu a bezpečnost potravin.
4. Biogenní aminy v ciderech.
5. Možnosti stanovení biogenních aminů.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] GARAI, G. et al., 2007. Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider. *Letters in Applied Microbiology*. 45(5), 473-478. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2007.02207.x. ISSN 0266-8254. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1472-765X.2007.02207.x>.
- [2] GARAI-IBABE, Gaizka et al., 2013. Evolution of amino acids and biogenic amines in natural ciders as a function of the year and the manufacture steps. *Letters in Applied Microbiology*. 48(2), 375-381. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2012.03198.x. ISSN 09505423. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2012.03198.x>.
- [3] RUIZ-CAPILLAS, Claudia et al., 2019. Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods*. 8(2), 375-381. DOI: 10.3390/foods8020062. ISSN 2304-8158. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2304-8158/8/2/62>.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Zuzana Míšková, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

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

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na obsah biogenních aminů v ciderech. Tedy se zabývá i charakteristikou samotného alkoholického nápoje cideru. Dále je zde popsán vliv biogenních aminů na lidský organizmus ve smyslu fyziologických funkcí, ale také toxikologických účinků a projevů působení vysokých hladin těchto látek v organizmu člověka. Zároveň se práce věnuje podmínkám, které ovlivňují výskyt a tvorbu biogenních aminů v potravinách, což souvisí také s bezpečností a kvalitou potravin v závislosti na množství biogenních aminů v potravě.

Zmíněny jsou hodnoty biogenních aminů v ciderech prodávaných na českém, španělském a francouzském trhu. Práce se zabývá taktéž možnostmi stanovení biogenních aminů.

Cílem práce bylo vypracovat přehled výskytu biogenních aminů v ciderech, vzhledem k rostoucí oblíbenosti tohoto nápoje, kdy je v České republice sledována každoročně se zvyšující spotřeba ciderů. Navíc množství prací, které by se věnovaly výskytu biogenních aminů v ciderech, je nepoměrně méně oproti pracím, které se věnují výskytu těchto látek v jiných alkoholických nápojích, jako víno či pivo. V již provedených studiích bylo zjištěno, že biogenní aminy, se v ciderech vyskytují. V ciderech jsou evropskou legislativou stanoveny maximální limity pro kontaminující látky, konkrétně patulin, olovo, kadmium a cín. Co se týče biogenních aminů, legislativa určuje maximální limity pouze pro histamin, a to jen v rybách a rybích produktech. Jako nejčastěji se vyskytující biogenní amin v ciderech byl v několika pracích detekován tyramin. Pro tento biogenní amin nejsou v současné době stanoveny limity, i když i tento biogenní amin může způsobit zdravotní potíže. Vzhledem k uvedeným faktům je důležité se problematice výskytu biogenních aminů v ciderech věnovat.

Klíčová slova: cider, biogenní aminy, histamin, tyramin, putrescin, bakterie mléčného kvašení

ABSTRACT

A bachelor thesis is focused on the content of biogenic amines in ciders. It also deals with the characteristics of the cider itself. It also describes the effect of biogenic amines in the human body in terms of physiological functions, but also toxicological effects and manifestations of high levels of these substances in the human body. The work deals with the conditions that affect the occurrence and formation of biogenic amines in food, which is also related to food safety and quality depending on the amount of biogenic amines in food.

The values of biogenic amines in ciders sold on the Czech, Spanish and French markets are mentioned. The work also deals with the possibilities of biogenic amines determination.

The aim of the work was to create an overview of the occurrence of biogenic amines in ciders, due to the growing popularity of this drink, when the annually increasing consumption of ciders is monitored in the Czech Republic. The amount of works that would deal with the occurrence of biogenic amines in ciders is disproportionately less than the works that deals with the occurrence of these substances in other alcoholic beverages, such as wine or beer. In studies already performed, it has been found that biogenic amines are detected in ciders. European legislation sets maximum limits for contaminants in cider, namely patulin, lead, cadmium and tin. The legislation sets maximum levels for biogenic amines only for histamine, and only in fish and fish products. Tyramine has been detected as the most common biogenic amine in ciders in several studies. There are currently no limits for this biogenic amine, although this biogenic amine can cause health problems. Given to the above facts, it is important to follow up the issue of biogenic amines in ciders.

Keywords: cider, biogenic amines, histamine, tyramine, putrescine, lactic acid bacteria

Tímto bych chtěl poděkovat paní Ing. Zuzaně Míškové, Ph.D. za laskavý, trpělivý přístup a odborné vedení při vzniku této práce.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISTIKA CIDERU	12
1.1 HISTORIE CIDERU	12
1.2 ZAČLENĚNÍ CIDERU	14
1.3 OZNAČOVÁNÍ CIDERU	15
1.4 MAXIMÁLNÍ LIMITY KONTAMINUJÍCÍCH A PŘÍDATNÝCH LÁTEK	15
2 VÝZNAM BIOGENNÍCH AMINŮ PRO ČLOVĚKA	17
2.1 FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY BIOGENNÍCH AMINŮ	18
2.1.1 Fyziologické účinky histaminu	18
2.1.2 Fyziologické účinky dalších BA	19
2.2 TOXIKOLOGICKÉ ÚČINKY BIOGENNÍCH AMINŮ	19
2.2.1 Toxikologické účinky histaminu	21
2.2.2 Toxikologické účinky tyraminu	22
2.2.3 Toxikologické účinky putrescinu a polyaminů	23
3 VLIV BIOGENNÍCH AMINŮ NA KVALITU A BEZPEČNOST POTRAVIN	24
3.1 MIKROORGANIZMY PRODUKUJÍCÍ BIOGENNÍ AMINY	24
3.2 BIOGENNÍ AMINY V POTRAVĚ A JEJICH VLIV NA KVALITU POTRAVIN	26
3.2.1 Vznik a výskyt biogenních aminů v potravinách	26
3.2.2 Biogenní aminy a kvalita potravin	28
3.3 BEZPEČNOST POTRAVIN	29
3.3.1 Biogenní aminy a bezpečnost potravin	30
4 BIOGENNÍ AMINY V CIDERECH	32
4.1 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE ŠPANĚLSKÝCH A FRANCOUZSKÝCH CIDERECH	32
4.2 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V CIDERECH DOSTUPNÝCH NA ČESKÉM TRHU	33
4.2.1 Obsah BA v nealkoholických ciderech	34
4.2.2 Obsah BA v ciderech s obsahem alkoholu do 4,5 %	34
4.2.3 Obsah BA v ciderech s obsahem alkoholu v rozmezí 4,6 – 7,7 %	34
4.2.4 Vliv pasterace na obsah BA v ciderech	35
4.2.4.1 Pasterované cidery	35
4.2.4.2 Nepasterované cidery	36
4.3 PRODUKCE BIOGENNÍCH AMINŮ BAKTERIEMI MLÉČNÉHO KVAŠENÍ IZOLOVANÝCH Z CIDERŮ	37
4.4 VLIV ROKU SKLIZNĚ A VÝROBNÍCH KROKŮ NA OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ V CIDERECH	38
5 MOŽNOSTI STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	40
5.1 VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE	40
5.1.1 Příprava a extrakce vzorků	40
5.1.2 Derivatizační reakce	41
5.1.3 Detekce BA	41

5.1.4 RP-HPLC	42
ZÁVĚR	42
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	48
SEZNAM TABULEK	49

ÚVOD

Cider je alkoholický nápoj, který je vyráběn fermentací jablečné šťávy. Obsah alkoholu v ciderech se pohybuje v rozmezí 1,2 – 8,5 % objemových. Tento nápoj je celosvětově populární a i v České republice se v současné době těší velké oblibě. Cider se do povědomí českého spotřebitele dostal až po roce 2010, kdy se začal ve větší míře v ČR prodávat.

Biogenní aminy lze charakterizovat jako nízkomolekulární dusíkaté organické látky se značnou biologickou aktivitou. V lidském těle, těle živočichů a rostlin mají fyziologické funkce, které jsou nepostradatelné pro život a správné fungování organismu. Slouží jako prekurzory pro syntézu hormonů, nukleových kyselin nebo proteinů.

Malé koncentrace biogenních aminů nemají na zdravého jedince významný vliv, ovšem při dlouhodobé konzumaci potravin obsahující vyšší koncentrace biogenních aminů, může dojít ke zhoršení zdravotního stavu daného jedince. Předávkování biogenními aminy se může projevit několika způsoby, např. hypertenzí (zvýšení krevního tlaku), nucení na zvracení, tachykardií (zvýšení srdeční činnosti), bolestí hlavy až anafylaktickým šokem.

Obsah biogenních aminů v potravinách ovlivňuje jejich bezpečnost a kvalitu. Potravin obsahující vysoké hladiny biogenních aminů jsou především ryby a rybí výrobky, mléčné výrobky, maso a masné výrobky, fermentovaná zelenina, sójové výrobky a fermentované alkoholické nápoje. Nejběžnější biogenní aminy v potravinách jsou histamin, tyramin a putrescin. Biogenní aminy se využívají jako ukazatele kvality v potravinách. Charakterizují jejich stupeň čerstvosti, poškození a také umožňují kontrolu zpracování a vývoje potravin.

Obsah biogenních aminů v ciderech se odvíjí od kvality zpracovávané suroviny, technologií výroby (teplota, přístup kyslíku, přítomnost solí, pH, použití startovacích kultur s dekarboxylázovou aktivitou), hygieny výroby a doby skladování.

Cílem práce bylo vypracovat přehled výskytu biogenních aminů v ciderech s ohledem na zvyšující se spotřebu tohoto alkoholického nápoje a poměrně málo prací věnujících se této problematice.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA CIDERU

Cider je alkoholický nápoj s obsahem alkoholu v rozmezí 1,2 – 8,5 %, který je vyráběn z jablečné šťávy pomocí alkoholového kvašení. Jablečná šťáva se nechává zrát ve fermentačních sudech, či nádobách za vhodných podmínek a době kvašení. Poté se šťáva stáčí, čistí, pasteruje a ředí na obsah alkoholu, který je výrobcem požadován.

Cider bývá označován jako osvěžující nápoj, který má nasládlou chuť. Svoji tradici má převážně v západní Evropě, kde je hojně konzumován. Cider je také vhodný nápoj pro lidi trpící celiakií, jelikož neobsahuje lepek na rozdíl od piva. Chuť cideru se liší v závislosti na odrůdě jablek, ze kterých je šťáva získávána. Může být suchý, polosuchý, sladký nebo polosladký. Komerční výrobci ciderů často používají méně kvalitní druhy jablek nebo jablečné koncentráty, které mohou obsahovat různá aditiva. Taktéž bývají velice často doslazovány

a mají nasládlou až sladkou chuť. Cidery mohou být perlivé již ze samotné výroby, dosycovány CO₂ nebo zcela bez bublinek. Pro nejlepší sensorické vlastnosti je vhodné podávat cidery vychlazené. Cider se může vyrábět i v nealkoholické formě. [3]

Dle vyhlášky č. 248/2018 Sb. je cider definován jako nápoj vyrobený úplným nebo částečným alkoholovým kvašením čerstvé nebo koncentrované jablečné šťávy nebo sušené jablečné šťávy, ke které byla přidána voda, nebo jejich směsi; přídavek vody, cukru a nejvýše 25 % objemových jiné šťávy, a to před i po kvašení; aromatizace přírodními aromatickými látkami z ovoce je možná; přípustné je též přidání čerstvé nebo koncentrované jablečné šťávy po kvašení a upravení obsahu oxidu uhličitého jeho přidáním nebo částečným či úplným odstraněním; přípustné je rovněž použití sušených nebo koncentrovaných potravin přidávaných v průběhu výroby pro jejich barvicí účinek. [6]

1.1 Historie cideru

Využití fermentace jablečných šťáv k výrobě alkoholických nápojů je praktikováno již více než 2000 let. Keltská mytologie uctívala „posvátné jablko“. Plinius starší, filosof z keltské doby, ve svých dílech odkazoval na nápoj vyráběný z jablečné šťávy. Cider je zaznamenán jako běžný nápoj už v dobách první římské invaze do Anglie v letech 55 a 54 př. n. l. Římané zahájili výsadbu a pěstování jabloní, ovšem až Normané v jedenáctém století vylepšili techniku pěstování a objevili vhodnější odrůdy pro cidery. Také přišli s vylepšenou technikou lisování jablek, která byla efektivnější při získávání jablečné šťávy. [1]

Jablečný nápoj se z Anglie rozšířil napříč Evropou ve třetím století n. l. Ve čtvrtém století n. l. Svatý Jeroným použil k popisu nápojů vyráběných z jablek výraz ‚sicera‘ (z čehož byl pravděpodobně odvozen nám známý název cider. Cider byl v jedenáctém a dvanáctém století v Evropě údajně více populární než pivo. Později se oblíbený nápoj začal rozšiřovat do celého světa. Převážně se vyráběl v zemích mírného podnebného pásu, kde byly vhodné podmínky pro pěstování jabloní. V zemích jako Rakousko, Belgie, Anglie, Francie, Německo, severní pobřežní část Španělska, Švýcarsko a blíže do současnosti také v Argentině, Austrálii, Finsku, Švédsku, Jihoafrické republice, USA a na Novém Zélandu. [1]

Ve spisech ze středověku se nachází velké množství odkazů právě na cidery. Jablečná šťáva byla považována za čistější tekutinu než voda. Ve svých dílech se o ciderech zmiňoval William Langland i William Shakespeare. Daniel Defoe zaznamenal, že lidé z oblasti Hereford se chlubili nejlepším ciderem v Británii. Od sedmnáctého století dále byl nápoj veleben v mnoha povídkách a dalších literárních dílech. Byl popisován jako skvělý pomocník k dobré náladě a také jako prostředek domácí léčby nepříznivého tělesného nebo duševního stavu. [1]

Před dvacátým stoletím byl cider populární venkovský nápoj, levnější a velice často i silnější než pivo (obvykle totiž míval až 7 % obsahu alkoholu). V té době farmáři vyráběli cidery na svých farmách pro své pracovníky, rodinu a hosty. Většina farmářů v Anglii měla své vlastní lisy pro získávání jablečné šťávy. [1]

Výroba ciderů pro komerční využití byla v Anglii zahájena v průběhu devatenáctého století. Mezi nejstarší firmy vyrábějící cider patří např. H. Weston & Sons, 1880; H. P. Bulmer of Hereford, 1887; Whiteways Cyder of Whimple, 1894. V průběhu 20. století se produkce začala přemísťovat z farem do specializovaných výroben. První světová válka ovšem překazila dobře se rozvíjející byznys. Ovocné sady byly zničeny a půda byla rozprodána mocnějším průmyslovým odvětvím. V roce 1920 vznikla v Anglii Národní asociace výrobců ciderů, bohužel kvůli válečným konfliktům a prodejm jabloňových sadů byla výroba velmi omezena. V šedesátých letech se začala výroba opět probouzet. Velcí producenti ovšem používali odrůdy, které nebyly pro výrobu ciderů příliš vhodné. V osmdesátých letech se produkce ciderů opět zvýšila, přestože v té době byl cider považován za ne příliš moderní a společností spíše opovrhovaný nápoj. Byl popisován jako levný jablečný džus pro mladistvé. Přelom nastal až v jednadvacátém století, kdy firma Magners spustila ve Velké Británii poutavé a zajímavé reklamní strategie, které měly pomoci k opětovné slávě ciderů. Firmě se reklama vyplatila a oslovila převážně mladé lidi, ze kterých se stala nová generace

zákazníků. Cidery se překvapivě rychle dostaly do oblíbenosti i v jiných státech a produkce výrazně stoupla. Začaly vznikat firmy po celém světě. V současné době je největší odbyt cideru v Anglii, kde se spotřebuje až 500 milionů litrů cideru a dále v USA, Francii a v Kanadě. [1, 2, 34]

Do České republiky se cider dostal již v roce 1992. Ale v konkurenci piva a vína u Čechů příliš neobstál. Největší rozkvet prodeje ciderů začal až od roku 2010, každým dalším rokem se spotřeba nápoje v České republice navyšuje. Dle dat Spotřebitelského panelu GfK v roce 2014 lidé utratili za cidery přes 100 milionů korun českých. Nárůst prodeje stoupá o stovky procent ročně. V roce 2017 se částka utracená za cidery vyšplhala až přes 500 milionů korun českých. Cidery jsou na českém trhu distribuovány převážně velkými pivovarnickými skupinami. Mezi největší značky v abecedním pořadí patří Frisco, Kingwood, Lišácké jablko, Sommersby a Strongbow. Právě tato pětice drží na trhu 94% podíl na celkových prodejkách. [34, 35]

1.2 Začlenění cideru

Cider se dle vyhlášky č. 248/2018 Sb. člení na jednotný druh cidre (cider) a perry. Z vyhlášky plyne, že v České republice je možné nápoj označovat jako cider nebo cidre. [6]

Tabulka 1: Členění ovocných vín, ostatních vín, cidru, perry a medoviny na druhy a skupiny [6]

druh	skupina
ovocná vína	stolní
	polosladká
	dezertní
	dezertní kořeněná
	perlivá
	likérová
ostatní vína	bylinná
	sladová
cidre (cider) a perry	
medovina (medové víno)	
dezertní medovina	s přídavkem lihu
	s přídavkem cukru
	s přídavkem vína
rýžové víno	

1.3 Označování cideru

V závislosti na Nařízení EU č. 1169/2011, o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, jsou výrobci povinni deklarovat na výrobcích seznam složek, ze kterých jsou vyrobeny, a také je zavedena povinnost uvádět výživové údaje (energetická hodnota, množství tuků, sacharidů, bílkovin, nasycených mastných kyselin a solí). Tato povinnost se ovšem nevztahuje na alkoholické nápoje. U těchto výrobků je povinné uvádět látky či produkty, které jsou schopny vyvolávat alergie nebo nesnášenlivost. Dále se uvádí energetická hodnota výrobků. U alkoholických nápojů s obsahem alkoholu překračující hodnotu 1,2 % objemových je povinné uvádět obsah alkoholu. Dále je povinné označení čistého množství cideru v objemových jednotkách, datum minimální trvanlivosti, jméno nebo obchodní název a adresu provozovatele potravinářského podniku, pod jehož jménem je potravina uváděna na trh. [10]

U ciderů se z látek, které mohou vyvolat alergie či nesnášenlivost na etiketu uvádějí sířičitany. Pod slovy „obsahuje sířičitany“ se vyjadřuje výhradně oxid sířičitý a sířičitany, jejichž koncentrace jsou vyšší než 10 mg/kg nebo 10 mg/l. [10]

1.4 Maximální limity kontaminujících a přídatných látek

Limity kontaminujících látek v ciderech, tedy mykotoxinů a těžkých kovů, stanoví Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. U nápojů vyráběných z fermentované jablečné šťávy se ze skupiny mykotoxinů sleduje pouze patulin, který se může vyskytovat v jablcích napadených plísní *Penicillium expansum*. Jeho maximální povolené množství v cideru je 50 µg/kg. Ze skupiny těžkých kovů se sleduje olovo a kadmium. Tyto prvky se vyskytují ve vyšším obsahu v půdě a dostávají se do ovoce prostřednictvím kořenů. Tyto látky se určují v ovoci, ze kterého je nápoj vyráběn. U olova je limitní množství stanoveno na 0,10 mg/kg čerstvé hmotnosti a u kadmia je tato hodnota 0,050 mg/kg čerstvé hmotnosti. Dále se u konzervovaných nápojů sleduje anorganický cín, který se do nápoje může dostat při dlouhodobém skladování v plechovkách a nekvalitní výrobě, jehož limitní množství je 100 mg/kg hmotnosti. [11]

Přídatné látky, které je možné do ciderů přidávat jsou uvedeny v Nařízení Komise (EU) č. 1129/2011 o potravinářských přídatných látkách. Nařízení taktéž stanovuje maximální množství stanovených přídatných látek. [11]

Povolené přídatné látky v ciderech a jejich maximální množství (mg/l): [11]

- E 200 - 203 k. sorbová a sorbany - 200 mg/l
- E 220 - 228 oxid siřičitý a siřičitany - 200 mg/l
- E 242 dimethyldiuhličitan - 250 mg/l
- E 338 - 452 k. fosforečná, fosfáty a polyfosfáty - 1 000 mg/l
- E 405 propan-1,2-diol-alginát - 100 mg/l
- E 473 - 474 sacharoglyceridy - 5 000 mg/l
- E 900 dimethylpolysiloxan - 10 mg/l
- E 950 acesulfam K - 350 mg/l
- E 951 aspartam - 600 mg/l
- E 954 sacharin - 80 mg/l
- E 955 sukralosa - 50 mg/l
- E 959 neohesperidin DC - 20 mg/l
- E 961 neotam - 20 mg/l
- E 962 sůl aspartamu-acesulfamu - 350 mg/l
- E 999 extrakt z kvillaji - 200 mg/l

Nariadení zakazuje přidávání určitých sladidel:

- E 420 sorbitol
- E 421 mannitol
- E 953 isomalt
- E 965 maltitol
- E 966 laktitol
- E 967 xylitol
- E 968 erythritol

2 VÝZNAM BIOGENNÍCH AMINŮ PRO ČLOVĚKA

Biogenní aminy (BA) jsou definovány jako nízkomolekulární bazické sloučeniny, jejichž výskyt je v potravinách závislý zejména na dekarboxylázové aktivitě přítomných mikroorganismů. BA vznikají z příslušných aminokyselin (Tabulka 2). Výskyt biogenních aminů lze předpokládat v potravinách obsahujících bílkoviny anebo volné aminokyseliny, zvláště pokud poskytují vhodné podmínky pro přítomné mikroorganismy. Biogenní aminy mohou tedy sloužit jako indikátory čerstvosti potravin, pokud se stanoví jejich obsah. Obsah BA v potravinách ovšem nemusí nutně souviset s přítomností nevhodných mikroorganismů. Ve fermentovaných potravinách jsou biogenní aminy vytvářeny především dekarboxylací příslušných aminokyselin substrátově specifickými enzymy bakterií mléčného kvašení, které se využívají jako starterové kultury. Nejvýznamnější biogenní aminy, které můžeme najít v potravinách, jsou histamin, tyramin, putrescin, kadaverin, β -fenylethylamin, agmatin, tryptamin, serotonin, spermidin a spermin. [4]

Tabulka 2: prekurzory a chemická struktura vybraných BA [4]

biogenní aminy	prekurzory	chemická struktura
histamin	histidin	heterocyklická
tyramin	tyrosin	aromatická
kadaverin	lysin	alifatická
tryptamin	tryptofan	heterocyklická
putrescin	ornitin/agmatin	alifatická
agmatin	arginin	aromatická

Biogenní aminy, které se nachází v potravinách, můžeme dělit podle jejich chemické struktury na:

- aromatické aminy – histamin, tyramin, serotonin, β -fenylethylamin, tryptamin
- alifatické diaminy – putrescin, kadaverin
- alifatické polyaminy – agmatin, spermidin, spermin [4]

2.1 Fyziologické účinky biogenních aminů

V lidském organizmu jsou biogenní aminy zastoupeny v celé řadě fyziologických procesů. BA jsou významným zdrojem dusíku, také jsou prekurzory hormonů, proteinů či nukleových kyselin. Ovlivňují mozkovou aktivitu, regulují tělesnou teplotu, sekreci žaludečních kyselin ovlivňují pH v žaludku, také se podílejí na imunitní odpovědi a na růstu a diferenciaci buněk. BA jsou také schopny vychytávat volné radikály, díky čemuž mají antioxidační účinky. Taktéž mají pozitivní vliv při procesu opotřebování a stárnutí buněk. Spermidin a spermin dokáží stabilizovat hydroperoxid a zhaset singletový kyslík. [7]

Nicméně konzumace potravin, které obsahují vysoké koncentrace biogenních aminů, mohou vyvolat nežádoucí účinky, jako je nevolnost, bolest hlavy, vyrážka a změny krevního tlaku. Nashromáždění BA v potravine, kterou konzumujeme, je převážně způsobeno výskytem bakterií, které jsou schopny dekarboxylace určitých aminokyselin. [5]

2.1.1 Fyziologické účinky histaminu

Histamin je přítomen v mnoha živých tkáních jako přirozená součást. Jeho účinky se projevují v tělech savců i bezobratlých. U lidí se histamin vyskytuje v různých koncentracích v mozku, plicích, žaludku, tenkém a tlustém střevě a také v děloze a močovodu. Je produkován a ukládán převážně v žírných buňkách (mastocytech). Podle interakcí se specifickými receptory histaminu, které se nachází na cílových buňkách, ovlivňuje a podporuje různé funkce. Jmenovitě jsou to receptory H1, H2 a H3. [5, 8]

Receptory H1 se nachází v mozku, kde jsou zapojeny do kontroly a správné funkce např. cirkadiálního rytmu, pozornosti, poznávání a periferního nervového systému, kde zprostředkovávají reakce vaskulárních a dýchacích svalů při alergických reakcích způsobené histaminem. [5, 8]

Receptory H2 jsou široce rozšířené v tělních tkáních. Jejich hlavní funkcí je regulace vylučování žaludeční kyseliny. Reagují na přítomnost histaminu sekrecí žaludečních šťáv a kontrakcemi hladkého svalstva ve střevech. [5, 8]

Receptory H3 se vyskytují v parakrinních buňkách, v buňkách imunitního systému a v hladké svalovine, kde bývají spojovány s okamžitou hypersenzitivní odpovědí organismu na alergii. Pokud se histamin naváže na tyto receptory, dojde k ovlivnění kontrakcí buněk hladké svaloviny, dále k rozšíření krevních cév, a proto dochází k výtoku krevního séra

do okolních tkání (včetně sliznice). Tímto způsobem dochází k zahájení zánětlivého procesu. [5, 8, 11]

2.1.2 Fyziologické účinky dalších BA

Tyramin a β -fenylethylamin jsou zahrnuty do skupiny stopových biogenních aminů, které se řadí k endogenním sloučeninám se silnou strukturální podobností s monoaminovými neurotransmitery, avšak endogenní hladina těchto sloučenin je nejméně o dva řády nižší, než u neurotransmiterů. Účinky těchto nízkých fyziologických koncentrací bylo obtížné prokázat, ale bylo navrženo, že slouží k udržení neurální aktivity monoaminových neurotransmiterů v rámci definovaných fyziologických limitů. Zájem o prozkoumání jejich účinků vzrůstá v posledních desetiletích zejména díky objevům nové skupiny GPCR (G Protein – Coupled Receptor). Některé receptory z této skupiny jsou speciálně aktivovány stopovými biogenními aminy. Tato specifická vedla vědce k návrhu nové nomenklatury pro tyto receptory. Skupina má název Trace Amine-Associated Receptors (TAARs). Určité receptory ze skupiny TAARs se nacházejí v krevních cévách, což by mohlo vysvětlovat účinek tyraminu na krevní tlak. Tyramin a oktopamin, dokáží vytěsnit noradrenalin z mozkových váček. Část vytlačených noradrenalinů difunduje z nervu a reaguje s receptory. Tato reakce může způsobit vysoký tlak a další sympatomimetické účinky. [5, 9, 11]

2.2 Toxikologické účinky biogenních aminů

Vzhledem k jejich důležitosti v buněčné fyziologii jsou koncentrace BA přítomných v buňkách a tkáních přísně regulovány na úrovni biosyntézy, katabolizmu a absorpce. Požití potravin bohatých na biogenní aminy může narušit přirozenou rovnováhu výskytu těchto látek v organismu člověka. Studie prováděné na dospělých jedincích krysy obecně ukázaly, že BA se po požití velmi rychle objevují ve střevech, krvi a ostatních orgánech. Několik studií navíc zdůraznilo toxikologické účinky některých BA i ve velmi malém množství. Příjem těchto toxických sloučenin může vyvolat mnoho zažívacích, oběhových i respiračních příznaků. [5]

Po požití BA jsou tyto látky odbourávány pomocí enzymů a oxidace. Do detoxikace histaminu je zapojena i methylace a acetylace. Detoxikační oxidace je prováděna specifickými aminooxidázami. Tyto enzymy jsou klasifikovány jako mono- (MAO) a diaminooxidázy (DAO) v závislosti na počtu aminoskupin, které jsou přednostně oxidovány. MAO enzymy se dále dělí podle jejich inhibitorů na MAO-A a MAO-B enzymy. Enzymy skupiny

MAO-A deaminují serotonin v centrálním nervovém systému a také pomáhají s monoaminy v gastrointestinálním traktu. Enzymy MAO-B se převážně nacházejí v játrech a svalech, kde deaminují dopamin a β -fenylethylamin. Histamin a putrescin jsou deaminovány pomocí DAO enzymů ve střevech, kde poskytují ochranu proti normálním koncentracím BA přítomných v potravinách. [12, 13]

Závažnost klinických příznaků způsobených BA závisí na množství a rozmanitosti přijatých látek, na vnímavosti jedince a na úrovni detoxikační aktivity ve střevech. Tato aktivita se může lišit genetickými dispozicemi a také vlivem inhibičních sloučenin (MAOI a DAOI). Tyto sloučeniny jsou inhibitory enzymů MAO a DAO. Některé druhy antidepresiv a isoflavony (a jejich metabolity) působí jako MAOI. Skupiny látek označované jako MAOI způsobují zpomalení metabolismu neurotransmiteru serotoninu a dalších látek, čímž dojde ke zvýšení hladiny těchto látek v těle, což může způsobovat vedlejší, zdraví škodlivé účinky. Přestože jsou antidepresiva užívány v kombinaci s dietou, která omezuje přísun stopových biogenních aminů, dochází především u starších žen k problémům s vysokým tlakem, způsobeným vyšší koncentrací serotoninu v těle. Koncentrace putrescinu, tyraminu a β -fenylethylaminu v těle je také ovlivněna aktivitou MAOI a DAIO látek. Význam těchto inhibičních látek byl prokázán při pokusech na potkanech a morčatech, kde kadaverin, putrescin a tyramin zvyšují toxicitu histaminu, jelikož tělo začne odbourávat i tyto BA a hladina histaminu klesá v těle pomaleji. [13]

Kouření cigaret se považuje za další rizikový faktor, který zvyšuje pravděpodobnost výskytu symptomů spojených s BA. U kuřáků může dojít ke snížení aktivity enzymů MAOA a MAOB až o 30 %. Alkohol a acetaldehyd zvyšují toxicitu BA prostřednictvím zvýšení propustnosti střevní stěny pro tyto sloučeniny. Tomuto účinku je kladen vyšší důraz, pokud jsou fermentované alkoholické nápoje kontaminovány vysokými koncentracemi BA nebo pokud jsou potraviny obsahující BA konzumovány společně s alkoholickými nápoji. [13]

Příjem potravin s vysokou koncentrací BA nebo nedostatečná schopnost odbourávání BA, může vést k jejich vstupu do systémového oběhu, kde mohou vyvolat uvolnění adrenalinu, noradrenalinu a také vyvolat sekreci žaludeční kyseliny. Dále BA mohou ovlivňovat zvýšenou srdeční aktivitu, migrény, tachykardii, zvýšenou hladinu cukru v krvi a vyšší krevní tlak. Nejzávažnější toxické účinky potravin bohatých na BA byly zkoumány u pacientů, kteří podstupují léčbu MAOI látkami. Toxické účinky některých BA byly poprvé objeveny u pacientů léčených MAOI, kteří po konzumaci většího objemu sýrů trpěli bolestmi hlavy. V závislosti na závažnosti příznaků jsou účinky BA popsány jako reakce, intolerance,

intoxikace nebo otrava. Reakční příznaky zahrnují nevolnost, pocení, vyrážky, mírné změny krevního tlaku a mírné bolesti hlavy. Jestliže je přijímané množství BA příliš velké na to, aby bylo možné účinné odbourání nebo pokud je detoxikační systém silně inhibován, příznaky se zhoršují. Dochází ke zvracení, průjmům, zrudnutí obličeje, výskytu vyrážky, tachykardii a migréně. Ve výjimečných případech může dojít k otravě BA, která zahrnuje hypertenzní krizi (krevní tlak > 180/120 mm Hg), která může vést k poškození orgánů či centrální nervové soustavy. [5]

2.2.1 Toxikologické účinky histaminu

Konzumace potravin s vysokou koncentrací histaminu může vyvolat stejné příznaky jako u alergických reakcí, což často vede k nesprávné diagnóze. Intoxikaci histaminem však lze odlišit od alergie, pokud v minulosti nedošlo k žádné takové alergii. Dále pokud se příznaky objeví u více lidí v krátkém časovém období a kdy je podezření, že konzumovaná strava je bohatá na histamin. Pokud se hladina histaminu v potravinách pohybovala v rozmezí 6 – 25 mg v pokrmu, nebyl zjištěn žádný toxikologický účinek. Uvádí se, že u zdravých lidí dochází k příznakům intoxikace, pokud pokrm obsahuje více než 75 mg histaminu. Pravidelná konzumace potravin s koncentrací histaminu vyšší než 400 mg/kg je považována za zdraví škodlivou. Příjem histaminu vyšší než 1000 mg/kg je spojen s těžkými otravami. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí od několika minut do několika hodin, přičemž příznaky jsou patrné obvykle po dobu několika hodin. [13]

Po požití se histamin nejdříve dostane do gastrointestinálního traktu, pokud není přirozeně odbourán, váže se na specifické receptory. Prvním účinkem je kontrakce hladkého svalstva střeva a rozšíření okolních krevních cév. Posléze následují příznaky, které se podobají těm z alergických reakcí. Kromě bolesti hlavy mohou nastat i gastrointestinální příznaky zahrnující bolest žaludku, koliku, plynatost a průjmy. Mohou se objevit příznaky tachykardie, extrasystoly, hypotenze a také otoky (především očních víček) a kopřivka. Vysoké koncentrace histaminu a snížená aktivita DAO souvisejí s řadou zánětlivých a neoplastických onemocnění, jako jsou Crohnova nemoc a ulcerózní kolitida. [13]

2.2.2 Toxikologické účinky tyraminu

První účinky tyraminu spojené s hypertenzí byly neurology objeveny u pacienta, který byl léčen MAOI látkami a konzumoval značné množství sýrů. Zvýšený krevní tlak způsoboval u pacienta bolesti hlavy. Toto pozorování bylo potvrzeno studiemi, které ukázaly, že vyšší koncentrace tyraminu v organismu mohou způsobovat migrény. [9]

V laboratorních podmínkách bylo zjištěno, že u zdravých mužů je zapotřebí ke zvýšení systolického krevního tlaku o 30 mm Hg průměrně 500 mg perorálně podaného tyraminu. Ženy jsou na tyramin citlivější, a tedy množství potřebné k dosažení stejného účinku jako u mužů je u nich nižší. V dalších studiích autoři uvádějí, že je zapotřebí koncentrace tyraminu minimálně 125 mg/kg v dané potravíně, aby bylo možné pozorovat jakýkoli účinek u normálních jedinců. Zároveň však varují, že v kombinaci s MAOI může být potenciálně toxická již koncentrace 6 mg/kg. [9, 15]

Přebytek tyraminu v gastrointestinálním traktu (GIT), který nelze rychle odbourávat MAO, může vést k jeho vstupu do systémového oběhu, ve kterém se může dostat až k nervovému zakončení, kde může být hydroxylován na oktopamin. Ten se ukládá v cévách a postupně nahrazuje noradrenalin. Právě tato reakce vede k přechodnému zvýšení krevního tlaku. Stimulace nervů vede k uvolňování relativně malého množství noradrenalinu a určitého množství oktopaminu, což způsobuje funkční poškození přenosu nervového vzruchu. Tento problém vyúsťuje k bolestem hlavy, migrénám, nevolnosti a zvracení. V ojedinělých případech má zvýšení krevního tlaku způsobené tyraminem za následek hypertenzní krizi, kdy dochází ke kritickému zvýšení tlaku (> 180/120 mm Hg). To může způsobit poškození srdce nebo centrální nervové soustavy. [9, 15]

Kromě systémových toxikologických účinků tento biogenní amin má také účinky na střevní mikroflóru. Tyramin zvyšuje přilnavost enteropatogenů *Escherichia coli* O157:H7 k epitelovým buňkám, což může způsobit ničení částí sliznice tlustého střeva a vést až ke krvavým průjmům. Dlouhodobě zvýšená hladina tyraminu v mozku bývá spojena s neurologickými poruchami, jako je schizofrenie, Parkinsonova choroba, deprese a Reyesův syndrom. [9, 15]

2.2.3 Toxikologické účinky putrescinu a polyaminů

Potřeba sledovat hladinu putrescinu v potravinách byla prokázána experimentem, při kterém byl podán putrescin přímo do žaludku potkanů. Po třiceti minutách byla detekována radioaktivita ve všech segmentech střeva, v krvi a v různých orgánech. Bakterie ve střevech syntetizují putrescin, který hraje klíčovou roli v regulaci celkové homeostázy. Přestože byly pro putrescin popsány nepřímé toxické účinky, jeho role v regulaci buněčného růstu a ve vývoji GIT je zásadní. Přijímané množství je třeba přísně regulovat, narušená rovnováha může vést k dysregulaci některých fyziologických funkcí. [16]

Polyaminy a jejich metabolizující enzymy jsou pevně spojeny s bujením nádorových buněk v GIT a existuje více důkazů, že putrescin a spermidin mají roli při podpoře transformace tkáňových buněk, kdy se začínají nekontrolovatelně dělit, měnit jejich povrch a neregagují na řídicí mechanismy. Tím vznikají zhoubné nádory. Buňky jsou ovlivněny několika biochemickými změnami, také dochází ke změně obsahu polyaminů v buňkách. Nádorové buňky mají vyšší obsah polyaminů než sousední sliznice nebo ekvivalentní normální tkáň, což zdůrazňuje možný význam exogenního putrescinu v jejich vývoji. [17]

Transport putrescinu ze střeva do krve se zvyšuje s jeho vysokými koncentracemi. Zvýšené koncentrace putrescinu byly také detekovány v žaludečních vředech způsobených gramnegativní patogenní bakterií *Helicobacter pylori*. Hladina putrescinu je obnovena, pokud je mikrobiální infekce odstraněna. [18]

Putrescin také může interagovat s určitými patogenními mikroorganismy, protože je nezbytnou součástí jejich vnější struktury. Také je spojován s virulenčními faktory u mnoha grampozitivních a gramnegativních patogenů. [17, 18]

Kromě přímého účinku na podporu transformace buněk mohou putrescin a polyaminy, pokud jsou vystaveny teplu vést ke vzniku sekundárních aminů, které se mohou kombinovat s dusitany, jejichž soli vytvářejí nitrosaminy, které jsou známy pro svoji karcinogenní, mutagenní a teratogenní aktivitu. Tyto účinky jsou zvláště důležité u některých fermentovaných masných výrobků, do nichž se přidávají dusitanové solící směsi jako konzervační látky. [16, 17]

3 VLIV BIOGENNÍCH AMINŮ NA KVALITU A BEZPEČNOST POTRAVIN

Biogenní aminy jsou přítomny v mnoha různých potravinách a nápojích. Jejich koncentrace se výrazně liší mezi jednotlivými druhy a typy potravin a dokonce i uvnitř nich. Kromě toho nemusí být rovnoměrně distribuovány v upravených potravinách. Existují jako endogenní složky čerstvých potravin. Potraviny obsahující vysoké hladiny BA jsou především ryby a rybí výrobky, mléčné výrobky, maso a masné výrobky, fermentovaná zelenina, sójové výrobky a alkoholické nápoje. Nejběžnější BA v potravinách jsou histamin, tyramin, putrescin a kadaverin. [19]

Syntéza a akumulace BA v potravinách vyžaduje přítomnost substrátových aminokyselin, bakterií s příslušnou dekarboxylázovou aktivitou a také vhodné podmínky prostředí, které umožňují jak nezbytný enzymový účinek, tak i bakteriální růst. Kombinace těchto faktorů ovlivňuje množství a druh BA přítomných v potravinách. [19]

Ryby a některé druhy sýrů obsahují nejvyšší množství histaminu (1000 - 2000 mg/kg) a jsou to potraviny, které bývají nejčastěji spojovány s případy otravy histaminem. Maso a sýry obsahují nejvyšší koncentrace tyraminu. U dlouho zrajících sýrů vyrobených ze syrového mléka může hladina tyraminu dosáhnout více než 1000 mg/kg. [20]

3.1 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Jedním z faktorů při tvorbě BA v potravinách je přítomnost bakteriálních kmenů, které mají schopnost dekarboxylovat aminokyseliny (tabulka 3). Tato schopnost byla popsána u různých rodů, druhů a kmenů bakterií grampozitivních i gramnegativních. U ryb a rybích výrobků, které obsahují vysoké koncentrace histaminu, hraje roli rod bakterií *Pseudomonas*. Jedná se o rod gramnegativních bakterií. Gramnegativní bakterie byly navrženy jako indikátory špatné kvality nebo následků špatných výrobních postupů. [21, 22]

U fermentovaných produktů jsou hlavními producenty BA bakterie mléčného kvašení (BMK). Ty lze nalézt v základních surovinách pro výrobu fermentovaných potravin, mohou být součástí startovací kultury nebo mohou kontaminovat produkt během jeho výroby. Schopnost produkovat BA je řazena k negativním vlastnostem při výběru startovací, sekundární nebo doplňkové kultury, která je použita při výrobě fermentovaných produktů. [21]

Jedním z druhů bakterií, který byl původně považován za hlavní bakteriální druh zodpovědný za akumulaci histaminu ve víně, byl *Oenococcus oeni*. Studie však prokázaly, že viníky mohou být i kmeny *Lactobacillus hilgardii* a *Pediococcus parvulus*. [22]

Tyramin je nejhojnějším a nejčastěji detekovaným BA v sýrech a fermentovaných masných výrobcích, u nichž jsou hlavním producentem kmeny bakterií mléčného kvašení *Enterococcus* a *Lactobacillus*. Syntéza putrescinu byla zpočátku spojena s gramnegativními bakteriemi, zejména členy druhu *Enterobacteriaceae*. Výzkumy prokázaly, že bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus brevis* izolovány z vína, *Lactobacillus curvatus* a *Enterococcus faecalis*, které byly izolovány ze sýrů, produkují putrescin deaminací agmatinu místo ornitinového dekarboxylačního cyklu. Nelze proto vyloučit jejich příspěvek k produkci putrescinu v potravinách. BMK jsou hlavním zdrojem produkce putrescinu ve víně. [22]

Tabulka 3: Mikroorganismy produkující biogenní aminy [5]

potravina	biogenní amin	produkující mikroorganismus
ryby	histamin	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Serratia fonticola</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Citobacter freundii</i> , <i>Clostridium sp</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Aeromonas spp.</i> , <i>Pleisomonas shigelloides</i> , <i>Photobacterium spp</i>
sýry	histamin	<i>Lactobacillus buchneri</i>
	tyramin	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus durans</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i>
	putrescin	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i>) <i>Lactobacillus brevis</i>
víno	kadaverin	<i>Enterobacteriaceae</i>
	histamin	<i>Oenococcus oeni</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>Pediococcus parvulus</i>
	tyramin	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Enterococcus faecium</i>
	putrescin	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>O. Oeni</i> , <i>Lb. buchneri</i> , <i>Lactobacillus zeae</i>
maso	histamin	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus capitis</i>
	tyramin	<i>Staphylococcus carnosus</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Lactobacillus bavaricus</i> , <i>Carnobacterium divergens</i> , <i>Carnobacterium piscicola</i>
	putrescin	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>M. morganii</i> , <i>S. liquefaciens</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Enterococcus</i>
	kadaverin	<i>Enterobacteriaceae</i>

3.2 Biogenní aminy v potravě a jejich vliv na kvalitu potravin

3.2.1 Vznik a výskyt biogenních aminů v potravinách

Tvorba BA v potravě je ovlivněna několika faktory, které jsou rozděleny do skupin: [23]

- chemické a fyzikální vlastnosti potravin – chemické složení, pH, iontová síla, atd.
- vhodné prekurzory – arginin, lysin, tyrosin, histidin atd.
- mikroorganismy – schopnost dekarboxylázové aktivity mají především rody *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Micrococcaceae*, BMK, aj.
- výrobní a skladovací podmínky

Tyto faktory nepůsobí izolovaně, ale mají kombinované účinky, které určují konečnou koncentraci BA v potravinách. Aby byla zajištěna kvalita potravin z pohledu BA, je nezbytné používat vhodné suroviny, které mohou omezit přítomnost BA v konečném výrobku. Tímto omezením můžeme zajistit lepší kvalitu potravin. Převážná většina BA aminů vyskytujících se v potravinách má termostabilní povahu. Jinými slovy, jakmile jsou tyto biogenní aminy naprodukovány, je velmi obtížné je zničit následným zpracováním produktů (pasterace, vaření, atd.), což znamená, že pokud jsou BA přítomny v základní surovině nebo produktu, budou stále přítomny i v konečném produktu. [19, 23]

Monoaminy a diaminy mohou být v surovinách vytvořeny endogenní aminokyselínovou dekarboxylázovou aktivitou nebo růstem mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou, které vyžadují příznivé podmínky pro produkci a aktivitu enzymu. Polyaminy mohou být také tvořeny metabolickou cestou, která spočívá v začlenění aminopropylových skupin pocházejících z metioninu. Polyaminy se vzhledem k jejich původu a specifické fyziologické úloze v současné době začínají zařazovat do odlišné skupiny látek. Putrescin má shodné vlastnosti se skupinou biogenních aminů i polyaminů. [23]

Mikroorganismy, které produkují BA, jsou jeden z faktorů kvality potravin. Je nutné kontrolovat nejen mikrobiální zátěž ve výrobku, ale také typ mikrobu představující tuto zátěž, která opět závisí na faktorech spojených se surovinou a podmínkami zpracování a skladování. Tyto podmínky přímo nebo nepřímo ovlivňují koncentraci substrátů a enzymů. Také

určují přítomnost dalších sloučenin nebo podmínek, které zvýhodňují či znevýhodňují aktivitu dekarboxylázy (pH, teplota, kofaktory, atd.). Proto je třeba zvážit mnoho faktorů, zejména v souvislosti s použitou technologií zpracování (tepelné zpracování, přísady, kvašení, chlazení, balení, atd.). Nestáčí pouze vybrat vhodné suroviny k omezení tvorby BA. Podmínky zpracování musí být optimalizovány, protože jsou odpovědné za výskyt BA v různých produktech. Fermentace podporuje vznik BA a fermentované masné výrobky jsou jednou ze skupin potravin, která obsahuje nejvíce BA. [19]

Vysoké koncentrace BA ve fermentovaných masných výrobcích souvisí taktéž s několika faktory, jako jsou stav syrového masa, ze kterého jsou vyráběny, teplota média (zajištění příznivých podmínek pro startovací kultury), přítomnost a množství přísad (cukr, sůl, konzervační látky) a přítomné mikroorganismy. Velké množství obsažených mikroorganismů v těchto produktech, doprovázené proteolýzou, vede ke vzniku vysokých koncentrací aminokyselin, které tvoří živiny vyžadované bakteriemi a substrátem, ve kterém fungují enzymy dekarboxylázy. Vysoká koncentrace BA ve fermentovaných výrobcích je přičítána nízké kvalitě výchozích surovin a špatnému technologickému zpracování. [24]

Teplota skladování konečných produktů je také jeden z kritických faktorů při tvorbě BA. Teploty v mrazírnách (-18 až -35 °C) zpravidla inhibují mikrobiální růst v produktech a tím i zamezují produkci BA. Oproti tomu vyšší teploty v chladírnách ($t > 5$ °C pro maso a ryby) nebo špatná regulace teploty podporují růst mikroorganismů v produktech, což má za následek zvýšení proteolýzy ve svalové tkáni a zvýšení hladiny enzymů a aktivity dekarboxylázy. Nízké teploty skladování mohou přispět ke zlepšení kvality a delší trvanlivosti výrobků. Zvýšení koncentrace BA také souvisí s podmínkami balení (upravená atmosféra, vakuum, vysoký hydrostatický tlak, ozáření atd.), které mají významný vliv na mikrobiální flóru. [24]

Řízení všech těchto faktorů zlepšuje kvalitu a trvanlivost potravin. Soudobý životní styl a globální trh vede k masivní spotřebě potravin a tím i k vývoji nových výrobních a konzervačních systémů. Utváří se komplexní potravinový řetězec, který v mnoha případech vyžaduje hlubší znalost toho, jak se s těmito potravinami zachází a nutí nás čelit novým výzvám a problémům v poskytování bezpečných potravin. [23, 24]

3.2.2 Biogenní aminy a kvalita potravin

Je velmi důležité kontrolovat a sledovat BA v potravinách nejen z toxikologických a zdravotních důvodů (viz Kapitola 2), ale také proto, že hrají důležitou roli jako ukazatele kvality daných potravin. Výskyt a koncentrace BA je jeden z indikátorů přijatelnosti určitých potravin. Kvalita potravin se týká hlavních charakteristik souvisejících s bezpečností, výživou, dostupností, integritou a čerstvostí. [25]

Biogenní aminy se často používají jako ukazatele kvality v různých potravinách (maso, ryby, vína, fermentované výrobky atd.). Charakterizují jejich stupeň čerstvosti, poškození a také umožňují kontrolu zpracování a vývoje potravin. Jako index kvality jsou využívány jednotlivé BA, jako jsou histamin, tyramin, kadaverin nebo kombinace různých aminů (putrescin-kadaverin, spermidin-spermin atd.). Využívají se také různé indexy kvality založené na BA. Tradiční index kvality, který vyvinuli vědci J. L. Mietz a E. Karmas se využívá jako indikátor rozkladu ryb. Tento index je založen na zvýšení hladin putrescinu, kadaverinu a histaminu a snížení hladin spermidinu a sperminu během procesu skladování ryb. Ryby, které dosáhnou hodnocení 0 nebo 1 jsou kvalifikovány jako ryby o dobré kvalitě. Hodnocení 1-10 je tolerováno a hodnocení nad 10 prokazuje rozklad ryb a špatnou kvalitu. [26]

V případě jiných potravin, jako jsou sýry, maso a masné výrobky se tento index nepoužívá. Index nepřinesl dobré výsledky hlavně proto, že nezahrnuje obsah tyraminu, který je hlavním biogenním aminem v těchto výrobcích. U masa a masných výrobků byl navržen alternativní index biogenních aminů (BAI), který se skládá ze součtu putrescinu, kadaverinu, histaminu a tyraminu. Vědecká skupina kolem T. Hernandéze Jovera navrhla rozmezí kvality pro tento index: $BAI < 5 \text{ mg/kg}$ značí čerstvé maso dobré kvality, $BAI 5 - 20 \text{ mg/kg}$ značí přijatelné maso, ale se známkami počátečního kažení, $BAI 20 - 50 \text{ mg/kg}$ značí nízkou kvalitu masa a $BAI > 50 \text{ mg/kg}$ značí zkažené maso. [26]

Užitečnost BA jako indexu kvality závisí na mnoha faktorech, zejména na povaze produktu (čerstvý, konzervovaný, balen v upravené atmosféře, fermentovaný atd.) Indexy BAI prokazují vyšší efektivitu v čerstvém masu a masných výrobcích a také v tepelně ošetřených masných výrobcích, než ve fermentovaných výrobcích. Částečně je to způsobeno tím, že koncentrace BA se u fermentovaných produktů liší mnohem více než u čerstvých a tepelně upravených masných výrobků z důvodu různých faktorů, které se podílejí na fermentačním zpracování. [25, 26]

Stanovení indexu biogenního aminu, který spolehlivě určuje kvalitu produktu, není jednoduchá záležitost. Některé potraviny s toxickými koncentracemi BA (histamin, tyramin), se často jeví jako organolepticky „normální“. Nepodléhají viditelnému kažení a nedochází ke změně struktury a chuti. Nejčastěji k tomu dochází u tuňáka, lososa nebo u fermentovaných salámů, kde jsou před konzumací nepřijatelné a toxické koncentrace histaminu nezjistitelné. Spotřebitelé proto neodmítnou produkt na základě senzorických parametrů. To je důležitý důvod ke kontrole těchto sloučenin u daných potravin. [23]

3.3 Bezpečnost potravin

Bezpečnost potravin je jeden z hlavních zájmů spotřebitelských a zdravotnických agentur po celém světě. Mezi tyto organizace patří např. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA), Světová zdravotnická organizace (WHO), Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) atd. Podle WHO je více než 200 nemocí přenášeno potravou a naprostá většina populace přišla během nějaké fáze svého života do kontaktu s nemocí způsobenou potravinami. [23]

Dle dat z dokumentů FDA ve Spojených státech amerických trpí nemocí spojenou s potravinami přes 48 miliónů lidí každý rok. Z tohoto množství musí být 128 000 lidí hospitalizováno a přes 3000 lidí z těchto důvodů zemře. Reálná čísla jsou ovšem daleko vyšší, jelikož mnoho případů otravy z potravin není správně rozpoznáno. Lidé s lehkými příznaky potravinové otravy běžně nenavštíví svého lékaře a tyto případy nemohou být zaznamenány. [23]

Je důležité zajistit, aby jídlo, které konzumujeme, nebylo v žádném okamžiku potravinového řetězce kontaminováno potenciálně škodlivými prvky. Potravina může být kontaminována v kterémkoli bodě globálního dodavatelského řetězce během výroby, distribuce a také během přípravy a spotřeby. Každý jednotlivec v tomto řetězci, od výrobce ke spotřebiteli, hraje roli při zajištění toho, že jídlo, které konzumujeme, není kontaminováno a nezpůsobuje žádné onemocnění. Kromě toho, pokud chceme takovým onemocněním zabránit, je nutné získat hlubší pochopení původu nemocí přenášovaných potravinami a způsobu, jak je kontrolovat. [23]

Původci nemocí přenášovaných potravinami mohou být bakterie, viry, paraziti, plísňe, kovy, alergeny, pesticidy, přírodní toxiny atd. Obecně je většina nemocí přenášovaných potra-

vinami způsobena bakteriemi, viry a parazity. Nicméně existují také případy otrav z potravin, jejichž původci jsou chemické nebo přírodní toxiny. Z těchto toxinů FDA a EFSA věnují zvláštní pozornost mykotoxinům, např. aflatoxinům a právě biogenním aminům. [23]

3.3.1 Biogenní aminy a bezpečnost potravin

Stanovení rozmezí toxicity BA je velmi obtížné vzhledem k zahrnutým faktorům. Vzhledem k dvojí důležitosti BA (kvalita potravin a zdravotní důsledky) se vynakládá úsilí na kontrolu BA v potravinářských výrobcích a převážná většina zemí již uzákonila právní předpisy, které stanovují povolené koncentrace BA v potravinách. Zvláštní právní předpisy se však vztahují pouze na histamin v produktech rybolovu a nebyla stanovena žádná kritéria pro jiné BA nebo pro jiné potravinářské výrobky. Pro maso, mléčné výrobky nebo jiné výrobky, a to i přes přítomnost značných koncentrací BA, zatím nebyla stanovena potřebná kritéria. Tyto nedostatky jsou prozatím řešeny tím, že se na tyto produkty obecně vztahují stejné právní předpisy, které se vztahují na ryby. [23]

Nařízení Evropské komise (2073/2005, 144/2001, 365/2010) stanovují kritéria bezpečnosti potravin pro histamin v rybách. Tato legislativa se vztahuje na konkrétní druhy mořských ryb z čeledí makrelovitých, sledřovitých, sardelovitých, lufarovitých, zlakovitých a rohoretkovitých. Zahrnuje limity určené pro čerstvé ryby během skladování. Během skladování ryb se odebírá devět vzorků, které se podrobí měření. Dva vzorky mohou obsahovat koncentraci histaminu v rozmezí 100 - 200 mg/kg a žádný z nich nesmí překročit hranici 200 mg/kg. Dále tato legislativa zahrnuje hladiny histaminu při následném zpracování. Během těchto procesů se odebírá dalších devět vzorků, které se podrobí měření. Dva vzorky mohou obsahovat koncentraci histaminu v rozmezí 200 - 400 mg/kg a žádný z nich nesmí překročit hranici 400 mg/kg. V Austrálii a na Novém Zélandu legislativa všeobecně stanovuje limity histaminu pro ryby. Tato legislativa se vztahuje na skladování i následné zpracování. Australský a novozélandský standardní kodex má stanovené koncentrace obsažené v odebraných vzorcích na hladině 100 - 200 mg/kg a žádný z odebraných vzorků nesmí překročit hranici 200 mg/kg. Ve Spojených státech amerických FDA stanovila limity histaminu v potravinách obecně na 50 mg/kg. Tyto legislativy jsou vyspělejší než v EU, pokud se vztahují na všechny potravinářské výrobky. [27]

Česká, evropská, australská i americká legislativa je určena pouze pro jediný biogenní amin, který je sice jedním z nejdůležitějších aminů z toxikologického hlediska, ale není jedinou příčinou toxicity. Limity by měly být stanoveny i pro jiné aminy, které mají

toxické účinky, zejména tyramin. Zároveň by měly být brány v potaz faktory, které výrazně ovlivňují toxicitu biogenních aminů (individuální vnímavost jedince, užívání MAIO látek nebo současná konzumace různých potravin obsahující BA) s cílem zavést v určitých případech restriktivnější právní předpisy. Je skutečně obtížné tyto aspekty řešit, měly by být prozkoumány a zahrnuty do budoucích předpisů, aby byla zaručena bezpečnost potravin a zdraví spotřebitelů. [27]

4 BIOGENNÍ AMINY V CIDERECH

Dekarboxylace aminokyselin, jako jsou histidin, tyrozin a ornitin vede k tvorbě odpovídajících biogenních aminů, tedy histaminu, tyraminu a putrescinu. Tyto BA jsou nejčastěji přítomny ve fermentovaných výrobcích (sýry, víno, pivo, cidery). Bakterie mléčného kvašení jsou mikroorganismy, jejichž určité kmeny mají dekarboxylázovou aktivitu a tím i schopnost produkce biogenních aminů. BMK jsou obvykle spojovány s produkty, jejichž zpracování zahrnuje zrání nebo fermentační proces. Předpokládá se, že vznik BA je výsledkem mikrobiální dekarboxylace jejich prekurzorových aminokyselin. U fermentovaných nápojů, jako je víno, pivo a cidery, vyžaduje tvorba BA nejen prekurzory a bakterie mléčného kvašení s dekarboxylázovou aktivitou, ale je také ovlivněna několika faktory, jako je pH, množství ethanolu a oxidu siřičitého, kvalita surovin, doba skladování, fermentační a technologické podmínky. [28]

Velká spousta literatury se zabývá obsahem biogenních aminů v různých fermentovaných potravinách, jako několik druhů sýrů, vín, ryb, masných výrobků a piv. O obsahu biogenních aminů v jablečném moštu a ciderech je dostupných podstatně méně informací. Přítomnost biogenních aminů v ciderech byla poprvé popsána v roce 1983 ve studii V. D. Zeea a kol. Až nedávno byly histamin, tyramin a putrescin prokázány jako nejvíce převládající biogenní aminy v různých komerčních přírodních ciderech. Navíc, v ciderech se objevují v nižších koncentracích i fenylethylamin, kadaverin, spermidin a spermin. [28]

4.1 Obsah biogenních aminů ve španělských a francouzských ciderech

V roce 2006 proběhla studie, ve které byl analyzován obsah BA ve 43 komerčních ciderech. Čtrnáct ciderů pocházelo ze Španělska a dvacet devět z Francie. Jako nejčastější BA ve zkoumaných ciderech byly popsány histamin, tyramin a putrescin. Navíc, ve třinácti vzorcích byl detekován také kadaverin, a to ve třech vzorcích ze Španělska (28 - 34 mg/l) a v nízkých koncentracích u deseti francouzských ciderů (1 - 3 mg/l). Celkově byla zjištěna nejvyšší koncentrace u kadaverinu a putrescinu (34 mg/kg) s průměrnou koncentrací a směrodatnou odchylkou (SD) $2,74 \pm 8,11$ mg/l pro kadaverin a $3,49 \pm 8,89$ mg/l pro putrescin. Následoval histamin, u kterého byla naměřena nejvyšší hodnota 16 mg/l a průměrná hodnota byla $1,28 \pm 3,07$ mg/l. Pro tyramin byla nejvyšší naměřená hodnota 14 mg/l a průměrná hodnota byla $3,30 \pm 4,63$ mg/l. Tyramin byl nejčastěji detekovaným BA (přítomen v 53,5 % vzorků), jeho koncentrace však byly nízké. Histamin byl přítomen ve 26 % vzorků, ale jeho koncentrace byly taktéž velice nízké. Průměrné množství celkového objemu BA zjištěné

u 43 komerčních jablečných ciderů bylo 10,58 mg/l s rozmezím od 0 až po 34 mg/l. Pouze v pěti testovaných ciderech nebyl přítomen tyramin, histamin, kadaverin či putrescin. [29, 38]

Zmíněné vzorky byly také analyzovány s ohledem na jejich zemi původu. Byly pozorovány určité rozdíly v rozšíření a koncentraci BA. Vzorky ciderů ze Španělska obsahovaly nejvyšší koncentrace putrescinu, maximální naměřená hodnota byla 34 mg/l a průměrná $10,57 \pm 13,19$ mg/l. Ve španělských ciderech byl putrescin převládající BA, byl přítomen v 57 % produktů. Následován tyraminem a kadaverinem, které byly přítomny v 21 % produktů a histaminem, který se objevil v 14 % produktů. Kadaverin byl detekován v nejvyšší koncentraci 34 mg/l a průměrná koncentrace byla 6,78 mg/l. Tyramin byl detekován v nejvyšší koncentraci 7 mg/l a jeho průměrná koncentrace byla 0,7 mg/l. Histamin byl detekován pouze u dvou analyzovaných vzorků, ale s maximální hodnotou 16 mg/l, což je hodnota, která je nad doporučenou hladinou histaminu stanovenou v některých zemích EU pro víno. Průměrný celkový počet detekovaných BA ve španělských ciderech byl 19,21 mg/l. [29, 38]

U francouzských komerčních ciderů byly pozorovány určité rozdíly v obsahu BA. V testovaných francouzských produktech byl putrescin detekován pouze ve dvou vzorcích a ve velmi nízkých koncentracích (1,00 mg/l). Histamin byl detekován u devíti francouzských ciderů a také v nízkých koncentracích. Průměrná koncentrace histaminu byla naměřena $1,00 \pm 1,71$ mg/l a nejvyšší koncentrace byla naměřena 5,00 mg/l. Nejčastějším BA obsaženým v ciderech byl tyramin, který byl detekován v 69 % francouzských ciderů. Průměrná koncentrace tyraminu činila $4,55 \pm 5,05$ mg/l. Průměr zjištěného celkového obsahu BA činil 6,41 mg/l a pohyboval se v rozmezí 1 – 14 mg/l. [29]

4.2 Obsah biogenních aminů v ciderech dostupných na českém trhu

Touto tematikou se zabývala studie provedená Marii Szczybrochovou v roce 2019. Studii bylo podrobena 74 vzorků, ve kterých byl stanoven obsah biogenních aminů. K určení jednotlivých druhů biogenních aminů byla využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Každý vzorek byl zakoupen dvakrát. Jeden vzorek byl měřen ihned po zakoupení a druhý po skončení minimální doby trvanlivosti. [30]

4.2.1 Obsah BA v nealkoholických ciderech

Byly analyzovány 3 vzorky. V nealkoholických ciderech nebyl přítomen histamin, spermidin a tryptamin. Ve všech vzorcích byla zjištěna přítomnost kadaverinu. Ten se objevil v koncentracích 0,7 - 0,8 mg/l na začátku skladování. Průměrná hodnota putrescinu činila 0,5 mg/l, taktéž se objevil ve všech vzorcích. Tyramin se také vyskytoval ve všech vzorcích v rozmezí 0,2 - 0,5 mg/l.

Při druhém měření po uplynutí minimální doby trvanlivosti se obsah BA ve vzorcích zvýšil. Množství kadaverinu se průměrně zvětšilo o 0,8 mg/l. Množství tyraminu se u jednoho vzorku zvýšilo na 1,6 mg/l. Spermin na počátku měření nebyl vůbec detekován a po době skladování se objevil ve všech vzorcích s maximální hodnotou 2,6 mg/l. Množství putrescinu se u jednoho vzorku zvýšilo z 0,9 na 2,2 mg/l. [30]

4.2.2 Obsah BA v ciderech s obsahem alkoholu do 4,5 %

Bylo analyzováno 40 vzorků, u kterých se obsah alkoholu pohyboval v rozmezí 3,1 – 4,5 %. Množství BA se pohybovalo v rozmezí 0,01 mg/l – 41,0 mg/l. [30]

Putrescin byl detekován v 31 vzorcích. Obsah putrescinu se pohyboval v rozmezí 0,3 – 41 mg/l. Kadaverin byl detekován v 29 vzorcích a jeho koncentrace se pohybovala v rozmezí 0,3 – 22,8 mg/l. V devíti případech byla koncentrace putrescinu vyšší než 10 mg/l. Tyramin byl detekován v 37 vzorcích v rozmezí 0,1 – 38,5 mg/l. Histamin se vyskytoval pouze ve třech vzorcích v rozmezí 7,4 – 13,4 mg/l. [30]

Při měření po uplynutí minimální doby trvanlivosti se obsah putrescinu snížil na hodnoty v rozmezí 0,1 – 7,7 mg/l, obsah kadaverinu se zvýšil a pohyboval se v rozmezí 0,2 – 32,5 mg/l. Histamin se po době skladování vyskytoval v 7 vzorcích a v rozmezí 0,1 – 9 mg/l. Množství tyraminu ve vzorcích po skladování bylo 0,2 – 40,3 mg/l. U tří vzorků došlo ke snížení obsahu tyraminu u zbývajících naopak ke zvýšení. [30]

4.2.3 Obsah BA v ciderech s obsahem alkoholu v rozmezí 4,6 – 7,7 %

Bylo analyzováno 31 vzorků, u kterých se obsah alkoholu pohyboval v rozmezí 4,6 – 7,7 %. Množství BA se pohybovalo v rozmezí 0,1 mg/l – 20,2 mg/l. [30]

Putrescin byl detekován ve všech vzorcích. Přítomnost putrescinu se pohybovala v rozmezí 0,7 – 20,2 mg/l. Kadaverin byl detekován v 28 vzorcích a jeho množství se pohybovalo v rozmezí 0,2 – 9,3 mg/l. Přítomnost histaminu byla prokázána u 6 vzorků a jeho

množství se pohybovalo v rozmezí 0,3 – 8,4 mg/l. Tyramin byl detekován ve 28 vzorcích v rozmezí 0,1 – 12,1 mg/l. [30]

Při druhém měření byl obsah putrescinu u všech vzorků nižší a pohyboval se v rozmezí 0,1 – 7,7 mg/l. Po uplynutí doby minimální trvanlivosti se obsah kadaverinu u většiny vzorků zvýšil. 3 vzorky obsahovaly množství kadaverinu větší než 10 mg/l. U jednoho vzorku došlo k nárůstu množství ze 1,4 mg/l až na 17,1 mg/l. Obsah histaminu se u vzorků nepatrně zvýšil, s výjimkou vzorku, u kterého došlo k nárůstu z 8,4 mg/l až na 18,3 mg/l. Hodnoty tyraminu po skladování vzorků se také zvýšily. Nejvyšším naměřeným množstvím bylo 24,4 mg/l. [30]

Cidery, které byly nealkoholické, obsahovaly nejmenší množství biogenních aminů (max. 2,6 mg/l). V ciderech s obsahem alkoholu do 4,5 % bylo celkové množství BA změněno v rozmezí 0,1 – 41 mg/l. U 24 vzorků byla naměřena hodnota vyšší než 10 mg/l. V ciderech s obsahem ethanolu nad 4,5 % bylo detekováno celkové množství BA v rozmezí 0,1 – 24,4 mg/l. A víc než 10 mg/l bylo naměřeno u 10 vzorků. Vzhledem k poměru testovaných vzorků je tedy patrné, že vyšší hodnoty ethanolu v ciderech nemají zásadní vliv na tvorbu BA v ciderech. [30]

4.2.4 Vliv pasterace na obsah BA v ciderech

Bylo analyzováno 38 vzorků, které byly během výrobního procesu ošetřeny pasterací. 13 vzorků pasterováno nebylo a u 23 vzorků nebyly informace o pasteraci dostupné. Celkové množství BA v pasterovaných ciderech se pohybovalo v rozmezí 0,1 – 38,5 mg/l. Po uplynutí doby skladování se množství BA pohybovalo v rozmezí 0,1 – 40,3 mg/l. [30]

4.2.4.1 Pasterované cidery

Putrescin byl detekován v 31 vzorcích pasterovaných ciderů. Ihned po zakoupení a následném měření byla hodnota putrescinu v ciderech v rozmezí 0,2 – 20,2 mg/l. Po uplynutí minimální doby trvanlivosti se množství putrescinu u všech vzorků snížilo. U jednoho vzorku proběhlo razantní snížení hodnoty z 20,2 mg/l až na 0,1 mg/l. [30]

Kadaverin byl při prvním měření obsažen téměř ve všech vzorcích v rozmezí 0,2 – 22,8 mg/l. Během skladování se obsah kadaverinu nezvýšil pouze u dvou vzorků. Jeho obsah se pohyboval v rozmezí 0,2 – 32,5 mg/l. [30]

Histamin byl při prvním měření přítomen pouze ve 3 vzorcích. Po ukončení skladování byl přítomen v 6 vzorcích. Množství histaminu se lehce zvýšilo, ale nepřekročilo hodnotu 5 mg/l. [30]

Tyramin se ihned po zakoupení vyskytoval ve 30 vzorcích a jeho obsah se pohyboval v rozmezí 0,1 – 38,5 mg/l. S výjimkou tří vzorků se obsah tyraminu po uplynutí minimální doby trvanlivosti v ciderech zvyšoval. [30]

4.2.4.2 *Nepasterované cidery*

Putrescin byl při prvním měření na počátku skladování v každém vzorku v rozmezí 0,7 – 5,6 mg/l. U nepasterovaných ciderů došlo u 4 vzorků k navýšení hodnot putrescinu. Byla to jediná skupina, u které aspoň v části vzorků došlo k navýšení množství putrescinu. U 5 vzorků došlo ke snížení těchto hodnot. [30]

Kadaverin se ihned po zakoupení vyskytoval v 11 nepasterovaných vzorcích a jeho množství bylo v rozmezí 0,2 – 1,4 mg/l. Po uplynutí doby skladování došlo k navýšení hodnot kadaverinu v každém vzorku. Maximální detekované množství bylo 17,1 mg/l.

Histamin byl na začátku měření obsažen pouze ve 3 vzorcích a v nízkých hodnotách. Po skladování se obsah histaminu navýšil a maximální hodnota byla 7,3 mg/l.

Tyramin se v prvním měření vyskytoval ve 12 vzorcích v rozmezí 0,1 – 3,1 mg/l. Ve všech vzorcích se po uplynutí minimální doby trvanlivosti jeho množství zvýšilo. Tyramin se vyskytoval v rozmezí 1,9 – 12,8 mg/l. [30]

Výsledkem tohoto měření byla možnost porovnání množství BA v pasterovaných a nepasterovaných ciderech. Nepotvrdil se předpoklad, že by u nepasterovaných ciderů mohlo docházet ke zvětšenému výskytu BA, kvůli zvýšenému počtu mikroorganismů. Je možné, že u nepasterovaných ciderů došlo k jinému druhu mikrobiologického ošetření např. filtrace nebo síření. [30]

4.3 Produkce biogenních aminů bakteriemi mléčného kvašení izolovaných z ciderů

Studie Garai a kol. z roku 2007 se zabývala vlivem bakterií mléčného kvašení, které jsou schopny dekarboxylace, na produkci biogenních aminů v ciderech. Studie se zaměřila na zkoumání dekarboxylázové aktivity několika kmenů BMK izolovaných z ciderů, které byly vyrobeny ve Španělsku. [28]

Do výzkumu byly zahrnuty druhy *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus suebicus*, *Oenococcus oeni* a *Pediococcus parvulus*. Při měření nebyla pozorována žádná produkce histaminu kulturami *Oenococcus oeni*, které byly ve výzkumech Coton a kol. 1998 a Landete a kol. 2005 popsány jako nejdůležitější producenti histaminu ve víně. [28, 36, 37].

Důvody této neshody mezi autory by mohly být zapříčiněny tím, že tvorba BA je spojena se specifickými kmeny bakterií, ale nikoli s druhy. Také mohlo u předešlých studií docházet k falešně pozitivním reakcím při určování dekarboxylázové aktivity BMK, kvůli tvorbě různých alkalických sloučenin. Studie jako první prokázala pozitivní účinek druhů *Lactobacillus diolivorans* a *Lactobacillus collinoides* při tvorbě BA. Mezi druhy BMK nalezených v ciderech se druh *Lactobacillus diolivorans* zdá být hlavním producentem histaminu a v menší míře i tyraminu. Druh *Lactobacillus collinoides* byl na základě měření vyhodnocen jako producent histaminu. Tyto výsledky naznačují, že rod *Lactobacillus* je zodpovědný za produkci histaminu v ciderech. [28, 36, 37]

Pediokoky jsou obvykle považovány za producenty BA ve vínech, sýrech a pivech. U zkoumaného druhu *Pediococcus parvulus* izolovaného z cideru ovšem nebyla zjištěna žádná tvorba biogenních aminů. Schopnost syntézy histaminu a tyraminu byla potvrzena u kmenů, které byly kultivovány v nápojích při pH 4,0 a 5,2. V cideru s pH 5,2 byla produkce BA vyšší, než u cideru s pH 4,0 což značí určitý vliv pH na tvorbu BA. [28, 36]

4.4 Vliv roku sklizně a výrobních kroků na obsah biogenních aminů v ciderech

Studie vydaná roku 2011 se zabývala změnami obsahu BA během období zpracování přírodních ciderů ve dvou po sobě jdoucích letech a také se zaměřila na změny obsahu BA při použití dvou různých typů lisování jablečné šťávy. Měření bylo prováděno se 76 vzorky, které byly odebrány v letech 2005 a 2006 od čtrnácti španělských výrobců ciderů. Výběr odrůd jablek byl prováděn výrobcí ciderů, kteří také kontrolovali jejich původ a hygienickou kvalitu. Převážná většina vzorků pocházela z Baskicka, Asturie či Galicie. Byly použity dva typy lisů (mechanický a pneumatický). Vzorky byly odebírány v různých fázích výroby (čerstvá jablečná šťáva, během aktivního alkoholového kvašení, po konci alkoholového a malolaktického kvašení, před plněním do lahví, 3 měsíce po plnění do lahví a 4-5 měsíců po plnění do lahví) a vždy přepravovány v chladu. Všechna analytická a mikrobiologická měření byla provedena alespoň dvakrát. Výsledky prokázaly, že obsah většiny BA nebyl výrazně ovlivněn typem lisování. [31]

Putrescin byl hlavním a jediným aminem přítomným ve všech ciderech z roku 2005 i 2006. Statistické analýzy ukázaly významné rozdíly v obsahu putrescinu v závislosti na roku sklizně. V ciderech vyrobených z jablek, které byly sklizeny v roce 2005, byl průměrný obsah putrescinu 6,65 mg/l. V ciderech z roku 2006 průměrná hodnota putrescinu činila 2,70 mg/l. U ciderů z roku 2005 se počáteční množství putrescinu, téměř 7 mg/l, udržovalo během prvních čtyř fází výroby, ale po pěti měsících od provedení lahvování obsah putrescinu klesl téměř o polovinu. Tento pokles může být způsoben začleněním tohoto polyaminu do metabolismu kvasinek jako prekurzoru sperminu a spermidinu. Obsah putrescinu by také mohl klesat oxidační degradací nebo reakcemi s jinými látkami přítomnými v ciderech. V roce 2006 byl během zpracovatelského procesu zjištěn zanedbatelný pokles množství putrescinu a u všech finálních ciderů byly zjištěny koncentrace v rozmezí 2,47 až 2,92 mg/l. Tyto výsledky jsou v souladu s předchozími studiemi Garai a kol. 2006 a Ladero a kol. 2011, kde bylo zjištěno, že putrescin je nejvíce převládající BA v komerčních španělských ciderech. [29, 31, 38]

Histamin byl druhým nejčastěji zastoupeným BA v ciderech z roku 2005 (1,03 mg/l) a 2006 (1,55 mg/l). Histamin nebyl nalezen v čerstvé jablečné šťávě z roku 2005, ale byl detekován až po konci alkoholového a malolaktického kvašení. Nicméně v čerstvé jablečné šťávě z roku 2006 byly detekovány nízké hodnoty histaminu (1,55 mg/l). Tyto rozdíly byly

částečně vysvětleny s přihlédnutím k tomu, že kmeny bakterií mléčného kvašení, které způsobují dekarboxylaci histidinu, se zdají být v ciderech vzácné. Tyramin byl detekován pouze v jednom vzorku a to o koncentraci 1,36 mg/l. Co se týče ostatních BA, byly fenylethylamin a kadaverin detekovány pouze ve velmi malém počtu vzorků z roku 2005 v koncentracích 4,00 a 6,00 mg/l. [31, 38]

Aminokyseliny (histidin, tyrozin a ornitin), které jsou prekurzory hlavních BA v ciderech byly také nalezeny ve vzorcích v malém množství. Hladiny histidinu v rozmezí 0,36 – 3,21 mg/l byly zjištěny v devíti ze třinácti ciderů z roku 2006 a v rozmezí 2,4 – 2,7 mg/l ve čtyřech vzorcích z roku 2005. Hladiny aminokyselin v ciderech postupem výrobních fází klesají, to je způsobeno růstem kvasinek a BMK. [29, 31]

5 MOŽNOSTI STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ

Kontrola biogenních aminů v potravinách v dnešní době nabývá na důležitosti. Hodnotami biogenních aminů v potravinách je možné posuzovat správnost kroků výrobního procesu, můžeme hodnotit jejich kvalitu a hlavně sledovat bezpečnost potravin. Počet a možnosti analýzy BA se v posledních letech zvýšil. BA jsou syntetizovány hlavně v potravinách a nápojích dekarboxylací aminokyselin. Fermentované nápoje tvoří složitou matici, která zvyšuje obtížnost stanovení BA. Složitost různých potravinářských matic je kritickým hlediskem, které je třeba vzít v úvahu při získávání přiměřených výtěžků pro všechny BA. Stanovení BA ve fermentovaných produktech není jednoduché vzhledem k rozmanitosti jejich chemických struktur, jakož i jejich přítomnosti v nízkých koncentracích v komplexních maticích. Pro analýzu BA se využívá řada metod, jako je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), ultra účinná kapalinová chromatografie (UPLC), plynová chromatografie (GC), chromatografie na tenké vrstvě (TLC), iontová kapalinová chromatografie (IPLC) aj. [32]

5.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Nejčastěji používanou technikou pro stanovení BA je HPLC využívající kolony C18 s reverzní fází, a to kvůli vysoké rozlišovací schopnosti a citlivosti. Před měřením je potřebné vzorek připravit. Příprava je obvykle nutná k odstranění dalších sloučenin, které mohou interferovat v chromatografické analýze, nebo můžeme zvýšit koncentraci analytů, které jsou předmětem zájmu. Stanovení BA pomocí HPLC obvykle vyžaduje chemickou derivatizaci, jelikož tyto sloučeniny nemají absorpční vlastnosti ve viditelných, ultrafialových nebo fluorescenčních vlnových délkách. Derivatizace snižuje polaritu BA, čímž zlepšuje separaci v reverzní fázi a činí je citlivějšími k detektorům, než jejich odpovídající nederivatizované aminy. [32]

5.1.1 Příprava a extrakce vzorků

Obecně platí, že se používají různé typy přípravy vzorků, jako je filtrace, odplynění, přidání sloučenin k odstranění nechtěných látek a extrakce. K odstranění látek, které mohou ovlivnit výsledky měření (polyfenoly a příbuzné látky přítomné ve fermentovaných výrobcích) se využívá polyvinylpyrrolidon, který byl efektivní, pokud se používají činidla s nízkou specifitou (danzylchlorid, benzoylchlorid). Kromě toho se přidáním kyselin nebo organických rozpouštědel, jako je kyselina 5-sulfoacilová nebo kyselina trichloroctová, přispívá

k vysrážení proteinů přítomných ve vzorcích. Několik metod extrakce je široce používáno pro zkoncentrování analytů a čištění vzorků, čímž se zlepšují limity detekce. [32, 33]

Extrakce kapalina – kapalina je tradiční extrakční technika, která se používá při zpracování vzorků potravin za použití široké škály organických rozpouštědel, jako je toluen, chloroform, dichlormethan, ethanol nebo isohexan. Tato technika má několik nevýhod, jelikož potřebuje velké množství nebezpečných organických rozpouštědel a také je časově náročná. Alternativou může být využití extrakce pomocí iontových kapalin. Tato technika využívá relativně velké organické kationty a anorganické anionty a poskytuje médium, které zlepšuje derivatizaci BA. Dalším způsobem extrakce pro stanovení BA v nápojích je extrakce na pevné fázi. Má však také některé nevýhody, jako je časová náročnost a relativně vysoká cena. [32]

5.1.2 Derivatizační reakce

Derivatizační reakce může být provedena před vstupem na kolonu nebo po výstupu z kolony. Častěji využívaná je metoda prováděná před vstupem na kolonu. Většina derivatizačních činidel má optimální pH vyšší než 7,5. V posledních letech jsou nejčastěji využívány činidly o-ftalaldehyd, dansylchlorid a benzoylchlorid. Reagují s aminovými skupinami a jsou používány pro stanovení aminokyselin a BA. Doba derivatizace se může lišit a závisí na teplotě. [32]

5.1.3 Detekce BA

Metoda HPLC odděluje analyty na základě různé polarity. Umožňuje separaci a analýzu vzorku v krátké době pomocí vysokého tlaku. Mobilní fáze unáší vzorek analytickou kolonou. Vzorek je mobilní fází přiváděn na stacionární fázi, kde dochází k separaci. Fyzikální a chemické vlastnosti látek způsobují distribuci mezi mobilní a stacionární fází. Stacionární fázi bývají polární či nepolární sorbenty (silikagel). Výsledkem je rozdělení jednotlivých složek vzorku při průchodu kolonou. [32, 33]

Biogenní aminy stanovené pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie se nejčastěji detekují pomocí: hmotnostně-spektrometrického detektoru, dále spektrofotometrického detektoru v oblasti UV-VIS nebo je možné pro analýzu biogenních aminů využít fluorimetrický detektor. Mezi nejpoužívanější detektory ve spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií patří spektrofotometrický detektor v oblasti UV-VIS. Princip tohoto detektoru je založen na interpretaci změn, které nastávají v molekulách při absorpci záření

v rozmezí vlnových délek od 190 do 800 nm. K vyhodnocení velikosti absorpce slouží fotosobič nebo detektor diodového pole. [32, 33]

5.1.4 RP-HPLC

Kapalinová chromatografie s obrácenými (reverzními) fázemi je typ rozdělovací chromatografie, kdy proti běžnému provedení je stacionární fází nepolární kapalina a mobilní fází kapalina polární. Dnes používané stacionární nepolární fáze (uhlovodíkové řetězce C4 - C18) jsou chemicky vázané na nosič (grafitové nebo uhlíkem potažené silikagely, kopoly-mery styrenu a divinylbenzenu atd.). Ve většině aplikací této metody slouží jako mobilní fáze směs vody a organického rozpouštědla (acetonitrilu, isopropanolu, methanolu ap.). Vzhledem k nepolárnímu charakteru stacionární fáze k ní mají větší afinitu látky s vyšším obsahem hydrofobních oblastí, tedy méně polární. Na počátku pokusu jsou obvykle dělené látky rozpuštěny ve vodě a svými hydrofobními skupinami se zachytí na kolonu; poté se postupně z kolony elují rostoucím gradientem koncentrace organického rozpouštědla. Chromatografie s reverzní fází se uplatňuje zejména v uspořádání HPLC. Při této metodě se uplatňuje jak princip rozdělovací chromatografie, tak princip chromatografie s hydrofobní interakcí. [32, 33]

Tato metoda je využívána při stanovení obsahu BA v potravinách na Ústavu technologie potravin ve Zlíně, stejně jako byla použita ve studii pro stanovení biogenních aminů v ciderech dostupných na českém trhu. [30] Pro následující studie lze tedy popsanou metodu stanovit také obsah BA v ciderech vyrobených na tomtéž ústavu.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo vypracovat přehled výskytu biogenních aminů v ciderech, vzhledem k rostoucí oblíbě tohoto nápoje, kdy je v České republice každoročně sledován vzrůstající trend spotřeby ciderů. Navíc množství prací, které by se věnovaly výskytu biogenních aminů v ciderech, je nepoměrně méně oproti pracím, které se věnují výskytu těchto látek v jiných alkoholických nápojích, jako víno či pivo.

V roce 2019 proběhla studie, která se zabývala obsahem BA v ciderech na českém trhu. V každém ze 74 vzorků, které byly odebrány ze ciderů prodávaných na území České republiky se vyskytovaly biogenní aminy, které byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Nejčastěji se vyskytovaly putrescin, tyramin, kadaverin a histamin. Zároveň bylo zjištěno, že obsah alkoholu nemá zásadní vliv na tvorbu BA v ciderech. V práci zabývající se výskytem biogenních aminů ve francouzských a španělských ciderech byl nejčastěji detekován tyramin, poté putrescin, histamin a kadaverin. Ve francouzských a španělských ciderech se hodnoty biogenních aminů téměř shodují s českými. Studie, která proběhla roku 2006, prokázala nejčastější obsah tyraminu, putrescin, histamin a kadaverin.

V ciderech jsou evropskou legislativou stanoveny maximální limity pro kontaminující látky, konkrétně patulin, olovo, kadmium a cín. Co se týče biogenních aminů, legislativa určuje maximální limity pouze pro histamin, a to jen v rybách a rybích produktech. V provedených studiích však byl potvrzen výskyt nejen histaminu, ale i dalších biogenních aminů v ciderech. I když zjištěné koncentrace biogenních aminů v ciderech by pro zdravého člověka neměly představovat zdravotní riziko, faktorů, které ovlivňují toxikologické působení biogenních aminů na organismus člověka, je více, a je proto složité určit limity pro jednotlivé biogenní aminy. Tedy koncentrace biogenního aminu, která může pro zdravého jedince znamenat bezpečnou hladinu, by naopak mohla pro citlivého jedince znamenat zdravotní komplikace až ohrožení na životě.

Z výše uvedených důvodů je důležité sledovat výskyt biogenních aminů nejen v ciderech, aby mohly být poskytnuty co nejlepší podklady pro případnou úpravu legislativních požadavků týkající se limitních hladin biogenních aminů v potravinách a byla tak zajištěna bezpečnost a kvalita potravinářských produktů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MACRAE, R., R. K. ROBINSON a M. J. SADLER. *Encyclopaedia of food science, food technology, and nutrition*. 2. San Diego: Academic Press, 2003. ISBN 978-0-12-227055-0.
- [2] KOSSEVA, M R., V. K. JOSHI a P. S. PANESAR. *Science and technology of fruit wine production*. Tokyo: Academic Press is an imprint of Elsevier, 2017. ISBN 978-0-12-800850-8.
- [3] BUGLASS, Alan J. *Handbook of alcoholic beverages: technical, analytical and nutritional aspects*. Chichester, West Sussex, England: John Wiley, 2011. ISBN 9780470512029
- [4] BUŇKOVÁ L., BUŇKA F., HLOBILOVÁ M., DRÁB V. a KRAČMÁR S.: Komparace různých metod detekce dekarboxylásové aktivity u bakterií mléčného kvašení. *Potravinářstvo*, 2010, s. 372–380. ISSN 1337-0960.
- [5] LADERO V., CALLES M., FERNÁNDEZ M. a ALVAREZ M. Toxicological effects of dietary biogenic amines. *Current Nutrition and Food Science*. 2010, ISSN 1573-4013.
- [6] Vyhláška č. 248/2018 Sb., o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: *Sbírka zákonů České republiky*. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248>
- [7] KALAČ P., a P. KRAUSOVÁ. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*. 2005, (90), 219-230.
- [8] JØRGENSEN EA., KNIGGE U., WARBERG J a KJÆR A., Histamine and the regulation of body weight. *Neuroendocrinology* 2007; (86), 210-214.
- [9] BERRY MD., The potential of Trace amines and their receptors for treating Neurological and Psychiatric Diseases. *Reviews on Recent Clinical Trials* 2007; (2): 3-19.
- [10] EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX3A32011R1169>

- [11] EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32006R1881>
- [12] PASSANI MB., GIANNONI P., BUCHERELLI C., BALDI E., BLANDINA P.. Histamine in the brain: beyond sleep and memory, *Biochemical Pharmacology*. 2007; (73): 1113-22.
- [13] WOHL S., HEMMER W., FOCKE M., RAPPERSBERGER K., JARISCH R., Histamine intolerance-like symptoms in healthy volunteers after oral provocation with liquid histamine. *Allergy & Asthma Proceedings* 2004; 25: 305–11.
- [14] MCCABE-SELLERS B. J., STAGGS C. G., BOGLE M. L., Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge. *Journal of Food Composition and Analysis* 2006; 19: 58–65
- [15] KHWANCHUEA R., MULVANY M. J., JANSAKUL C., Cardiovascular effects of tyramine: Adrenergic and cholinergic interactions. *European Journal of Pharmacology* 2008; 579: 308–17
- [16] BARDOCZ S., GRANT G., BROWN D. S., RALPH A., PUSZTAI A., Polyamines in food: implications for growth and health. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 1993; 4: 66-71.
- [17] GERNER E. W., MEYSKENS F. L., Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. *Nature Reviews Cancer* 2004; 4: 781-92.
- [18] SHAH P., SWIATLO E., A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. *Molecular Microbiology* 2008; 68: 4-16.
- [19] SILLA-SANTOS M. H., Biogenic amines: their importance in foods. *International J Food Microbiology* 1996; 29: 213-31
- [20] TAYLOR S. L., Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. Report VPH/FOS/85.1. *WHO press* 1985; 1-48.
- [21] KONINGS W. N., LOLKEMA J. S., BOLHUIS H., VANVEEN H. W., POOLAN B., DRIESSEN A. J. M., The role of transport processes in survival of lactic acid bacteria. Energy transduction and multidrug resistance. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1997; 71: 117-28.

- [22] MORENO-ARRIBAS M. V., POLO M. C. Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines. *Food Microbiology* 2008; 25: 875-81
- [23] RUIZ-CAPILLAS C., HERRERO A., Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods*. 2019 8. 62. 375-81
- [24] TRIKO M., HERRERO A. M., JIMÉNEZ-COLMENARO F., RUIZ-CAPILLAS C., Quality Assessment of Fresh Meat from Several Species Based on Free Amino Acid and Biogenic Amine Contents during Chilled Storage. *Foods* 2018, 7, 132–148
- [25] HERRERO A. M., Raman spectroscopy a promising technique for quality assessment of meat and fish: *Food Chemistry*. 2008, 107, 1642–1651.
- [26] MIETZ J. L., KARMAS E., Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*. 1978, 61, 139–145.
- [27] TEN BRINK B., DAMINK C., JOOSTEN H. M., Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1990, 11, 73–84
- [28] GARAI G., DUENAS M. T., IRASTORZA A., MORENO-ARRIBAS M. V., Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider. *Letters in Applied Microbiology*. 2007, 45(5), 473-478
- [29] LADERO V., COTON M., FÉRNANDEZ M., BURON N., CRUZ MARTÍN M., GUICHARD H., COTON E., ALVAREZ A. M., Biogenic amines content in Spanish and French natural ciders: Application of qPCR for quantitative detection of biogenic amine-producers. *Food Microbiology*. 2006, 28, 554-561
- [30] SZCZYBROCHOVÁ, Marie. Obsah biogenních aminů v ciderech na českém trhu. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2019 [cit. 2020-05-18], 83 s.. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/43843>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [31] GARAI-IBABE G., IRASTROZA A., DUENAS M. T., MARTIN-ÁLVAREZ P. J., MORENO-ARRIBAS V. M, Evolution of amino acids and biogenic amines in

- natural ciders as a function of the year and the manufacture steps, *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 48, 375-381
- [32] DADÁKOVÁ E., KRÍŽEK M., PELIKÁNOVÁ T., Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC), *Food chemistry*, 2009, 116, 365-370
- [33] High Performance Liquid Chromatography, HPLC. VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE. [online]. [cit. 2020-05-16]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/hplc/HPLC/hplc.html
- [34] The history and origins of cider. *Great british chefs* [online]. 2019 [cit. 2020-04-23]. Dostupné z: <https://www.greatbritishchefs.com/features/cider-history-origins>
- [35] Cidery stále rostou. *Zboží a prodej* [online]. 2018 [cit. 2020-04-24]. Dostupné z: <https://www.zboziaprodej.cz/2018/05/19/cidery-prodeje-rust/>
- [36] COTON E., ROLLAN G., BERTRAND A., LONVAUD-FUNEL A., Histamine-producing lactic acid bacteria in wines: early detection, frequency, and distribution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1998, 49, 199-204
- [37] LANDETE J. M., FERRER S., POLO L., PARDO I., Which lactic acid bacteria are responsible for histamine production in wine, *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 99, 580-586
- [38] GARAI G., DUENAS M. T., MARTIN-ALVAREZ P. J., IRASTORZA A. MORENO-ARRIBAS M.V., Biogenic amines in natural ciders, *Journal of Food Protection*, 2006, 69, 3006–3012

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BA	biogenní aminy
BMK	bakterie mléčného kvašení
MAO	monoaminoxidáza
DAO	diaminoxidáza
MAOI	inhibitor monoaminoxidázy
DAOI	inhibitor diaminoxidázy
mm Hg	1 milimetr rtuťového sloupce, jednotka tlaku užívaná v lékařství
GIT	gastrointestinální trakt
BAI	index biogenních aminů

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Členění ovocných vín, ostatních vín, cidru, perry a medoviny na druhy a skupiny	14
Tabulka 2: prekurzory a chemická struktura vybraných BA	17
Tabulka 3: Mikroorganismy produkující biogenní aminy	25