

Výskyt biogenních aminů u vybraných fermentovaných potravin

Monika Augustová

Bakalářská práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Monika Augustová

Osobní číslo: T12233

Studijní program: B2901 Chemie a technologie potravin

Studijní obor: Chemie a technologie potravin

Forma studia: prezenční

Téma práce: Výskyt biogenních aminů u vybraných fermentovaných potravin

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část:

- 1. Popište význam sledování obsahu biogenních aminů v potravinách.**
- 2. Charakterizujte obsah biogenních aminů u vybraných fermentovaných potravin rostlinného původu.**

II. Praktická část:

- 1. Stanovte obsah biogenních aminů u vybraných fermentovaných potravin.**
- 2. Výsledky vyhodnoťte a formulujte závěry.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] RABIE, M.A., SILIHA, H., EL-SAIDY S., AL-BADAWY, A.A., MALCATA F.X: Reduced Biogenic Amine Contents in Sauerkraut via Addition of Selected Lactic Acid Bacteria, Food Chemistry, 2011, 129, 1778-1782.

[2] YUECEL, U., JEREN, A.: Biogenic amines in Turkish Type Pickled Cabbage: Effects of Salt and Citric Acid Concentration, Acta Alimentaria, 2008, 37, 115-122.

[3] PENAS, E., FRIAS, J., SIDRO, S.: Impact of Fermentation Conditions and Refrigerated Storage on Microbial Quality and Biogenic Amine Content of Sauerkraut, Food Chemistry, 2010, 123, 143-150.

[4] SPICKA, J., KALAC, P., BOVER-CID, S.: Application of Lactic Acid Bacteria Starter Cultures for Decreasing the Biogenic Amine Levels in Sauerkraut, European Food Research and Technology, 2002, 215, 509-514.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. František Buňka, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. května 2016**

Ve Zlíně dne 2. února 2016



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



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

Příjmení a jméno: AUGUSTOVÁ MONIKA

Obor: CHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 6.4.2016

Augustová

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

beru na vědomí, že odevszáním diplomovobakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 121/2000 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách) ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby.

beru na vědomí, že diplomovobakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupném k nahlédnutí, že jsem výřik diplomovobakalářské práce bude uložena na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výřik bude uložena u vedoucího práce.

byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovobakalářskou 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, zejména § 35 odst. 3.

beru na vědomí, že podle § 60 odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona. beru na vědomí, že podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo - diplomovobakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomovobakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nete výsledky diplomovobakalářské práce využiji ke komerčním účelům.

beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomovobakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevszáním této součásti může být důvodem k neobhajbě práce.

Ve Zlíně 14. 5. 2016
[Signature]

Užiji § 121/2000 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách) ve znění pozdějších právních předpisů, zejména § 35 odst. 3.
(1) Vysoká škola nesvážeje své studenty, diplomovobakalářské a jiné práce, u kterých probíhá obhajoba, včetně poskytnutí a výřiků obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Zároveň zveřejní seznam učitelů obhajob.
(2) Diplomovobakalářské a jiné práce, které jsou obhajovány, mohou být uloženy ve speciálních sítích nebo v jiných obdobných zveřejněných v místě určeném učitelé obhajobou, pokud je to nezbytné pro účely výřiků, a to pouze pro účely výřiků. Pokud je to možné, zveřejněné práce budou uloženy na web stránkách výřiků, pokud je to možné.
(3) Pokud je zveřejněna práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona bez ohledu na výsledek obhajoby.
§ 35 odst. 3.
Zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejména § 35 odst. 3.
(1) Právo autorské má být neoprávněně použito nebo opááno, pokud je zveřejněno nebo opááno v rozporu s oprávněnými zájmy autora nebo opáatele.
(2) Pokud autor souhlasí s tím, že jeho dílo bude zveřejněno nebo opááno v rozporu s oprávněnými zájmy autora nebo opáatele, může se domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu.

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit obsah biogenních aminů v kysaném zelí, kysaných okurkách a fermentovaném ochucovadle Worcesteru. Biogenní aminy, které byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

Biogenní amin s nejvyšší koncentrací byl putrescin. Naopak biogenní amin tryptamin nebyl detekován v žádném vzorku. Největší množství biogenních aminů obsahovalo kysané zelí. Nejmenší množství biogenních aminů bylo detekováno u Worcesteru.

Klíčová slova: Biogenní aminy, kysané zelí, kysané okurky, Worcester, vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the content of biogenic amines in sauerkraut, pickled cucumbers and fermented flavouring agent Worcester. Biogenic amines that have been determined were tryptamine, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermidine and spermine.

Biogenic amine with the highest concentration was putrescine. Conversely biogenic amine tryptamine was not detected in any sample. The largest amount of biogenic amines contained sauerkraut. The smallest amount of biogenic amines was detected in Worcester.

Keywords: Biogenic amines, sauerkraut, fermented cucumber, Worcester, high performance liquid chromatography.

Poděkování

Děkuji vedoucímu své bakalářské práce doc. Ing. Františku Buňkovi, PhD. za odborné vedení a trpělivost při psaní bakalářské práce.

Děkuji Ing. et Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc v praktické části bakalářské práce.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA BIOGENNÍCH AMINŮ	11
1.1 VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ.....	11
1.2 BIOGENNÍ AMINY V POTRAVINÁCH	17
1.2.1 Ryby	17
1.2.2 Maso a masné produkty.....	17
1.2.3 Potraviny rostlinného původu	18
1.2.4 Víno.....	18
1.3 BIOGENNÍ AMINY A JEJICH ÚČINEK NA ČLOVĚKA	19
1.4 MIKROORGANISMY PRODUKUJÍCÍ BIOGENNÍ AMINY.....	21
2 BIOGENNÍ AMINY U FERMENTOVANÝCH POTRAVIN ROSTLINNÉHO PŮVODU	23
2.1 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	24
2.1.1 Vliv bakterií mléčného kvašení na obsah biogenních aminů v potravinách.....	25
2.1.2 Použití bakterií mléčného kvašení jako startovací kultury.....	26
2.2 POUŽITÍ STARTOVACÍCH KULTUR U FERMENTOVANÝCH VÝROBKŮ	27
2.2.1 Použití startovacích kultur ve světě.....	29
2.3 FERMENTOVANÉ OKURKY	31
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
3 CÍL PRÁCE	33
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	34
4.1 POPIS EXPERIMENTU A JEHO ČLENĚNÍ	34
4.2 MATERIÁL A METODY	34
4.3 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	36
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	39
5.1.1 Kysané zelí	40
5.1.2 Fermentované okurky.....	44
5.1.3 Fermentované ochucovadlo Worcester	45
ZÁVĚR	47
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	48
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53
SEZNAM OBRÁZKŮ	54
SEZNAM TABULEK	55

ÚVOD

V posledních letech jsou stále větší obavy ohledně bezpečnosti potravin, přičemž spotřebitelé kladou stále vyšší požadavky na bezpečnější a jakostnější výrobky. Přítomnost biogenních aminů ve fermentovaných potravinách (zelí, ryby, klobásy, maso nebo pivo), získala značný zájem, vzhledem k jejich nežádoucím fyziologickým účinkům na zdraví citlivých lidí [1].

Biogenní aminy jsou netěkavé zásadité organické látky s nízkou molekulovou hmotností. Vznikají převážně dekarboxylací aminokyselin působením bakteriálního enzymu dekarboxylázy [2]. Nejdůležitější biogenní aminy, které se vyskytují v potravinách, jsou histamin, tyramin, putrescin, kadaverin a fenylalanin [3]. Biogenní aminy jsou nezbytnými součástmi živých buněk, kde plní biologické funkce. Jsou důležitým zdrojem dusíku pro syntézu hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a proteinů [2].

Ovšem při požití potravin, nebo nápoje s vyšší koncentrací biogenních aminů, může dojít k alimentární otravě. Otrava se může projevit vyšší teplotou, bolestí hlavy, nevolností, bušením srdce nebo zvýšením krevního tlaku [3].

Biogenní aminy mohou mít také roli v znehodnocení organoleptických vlastností a jsou považovány za indikátory kvality nebo přijatelnosti v některých potravinách. Můžeme zde zařadit biogenní aminy jako je například putrescin, kadaverin nebo histamin [3,4,5].

V této bakalářské práci bylo cílem stanovit obsah biogenních aminů v kysaném zelí, kysaných okurkách a ve Worcesteru. Biogenní aminy byly stanovovány pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie (HPLC).

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA BIOGENNÍCH AMINŮ

Biogenní aminy jsou zásadité organické látky vznikající dekarboxylací aminokyselin, aminací nebo transaminací aldehydů a ketonů [6]. Biogenní aminy mohou být klasifikovány v závislosti na počtu aminových skupin, které mohou být mono - (tyramin, fenylethylamin), di - (histamin, serotonin, tryptamin, putrescin, kadaverin) nebo polyaminy (spermin, spermidin a agmatin). Na základě jejich chemické struktury mohou být alifatické (můžeme zde zařadit putrescin, kadaverin, spermidin, spermin, agmatin), aromatické (tyramin, fenylethylamin) nebo heterocyklické (histamin tryptamin a serotonin). Biogenní aminy mohou být tvořeny a využívány jako výsledek metabolické aktivity u lidí, zvířat, rostlin a mikroorganismů [7].

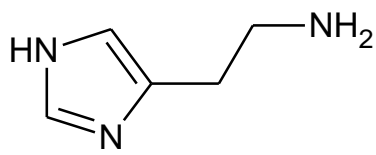
1.1 Vznik biogenních aminů

Nejběžnější biogenní aminy, které lze najít v potravinách jsou histamin, putrescin, kadaverin, tyramin, tryptamin, β - fenylethylamin, spermin a spermidin. [8].

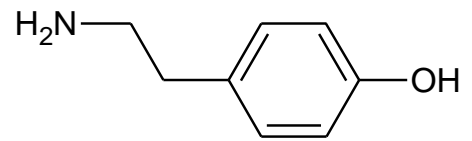
Biogenní aminy obvykle vznikají dekarboxylací volných aminokyselin nebo aminací a transaminací aldehydů a ketonů. K dekarboxylaci aminokyselin dochází odstraněním α -karboxylovou skupinou z prekursoru aminokyselin a toto vede k produkci biogenních aminů. Této reakce se účastní řada enzymů. Pro příklad můžeme uvést enzym zvaný dekarboxylasa (tento enzym produkují bakterie rodu *Enterobacteriaceae* a některé heterofermentativní bakterie mléčného kvašení – tyto bakterie jsou nejvíce relevantní) [8].

Důležité pro vznik biogenních aminů jsou vhodné podmínky pro růst a metabolické aktivity těchto bakterií. Prostředí o nízkém pH a zároveň vysoké koncentraci soli je spojováno s vyšší koncentrací biogenních aminů. Pro prevenci vzniku biogenních aminů můžeme použít pasteraci mléka, například u výroby sýrů. Pokud ošetříme syrové mléko pasterací, můžeme omezit vznik biogenních aminů tím, že zničíme přítomné bakterie v mléce [8].

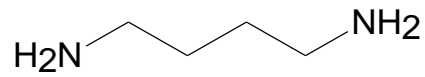
Tvorba biogenních aminů může být spojena s ochrannými mechanismy mikroorganismů proti kyselému prostředí. Například bakterie mléčného kvašení produkují biogenní aminy, které přežívají při fermentaci potravin. Jako příklad můžeme uvést výrobu sýrů, klobás nebo fermentované zeleniny [8].



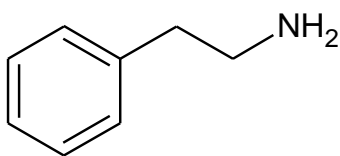
Histamin



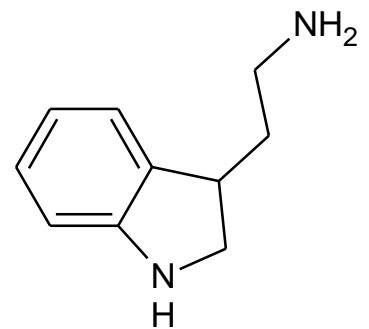
Tyramin



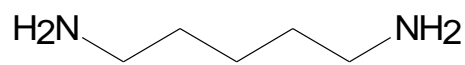
Putrescin



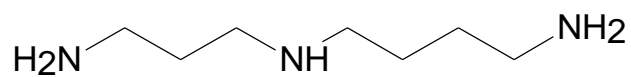
Fenylethylamin



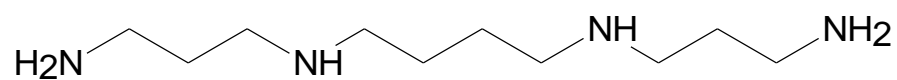
Tryptamin



Kadaverin



Spermidin

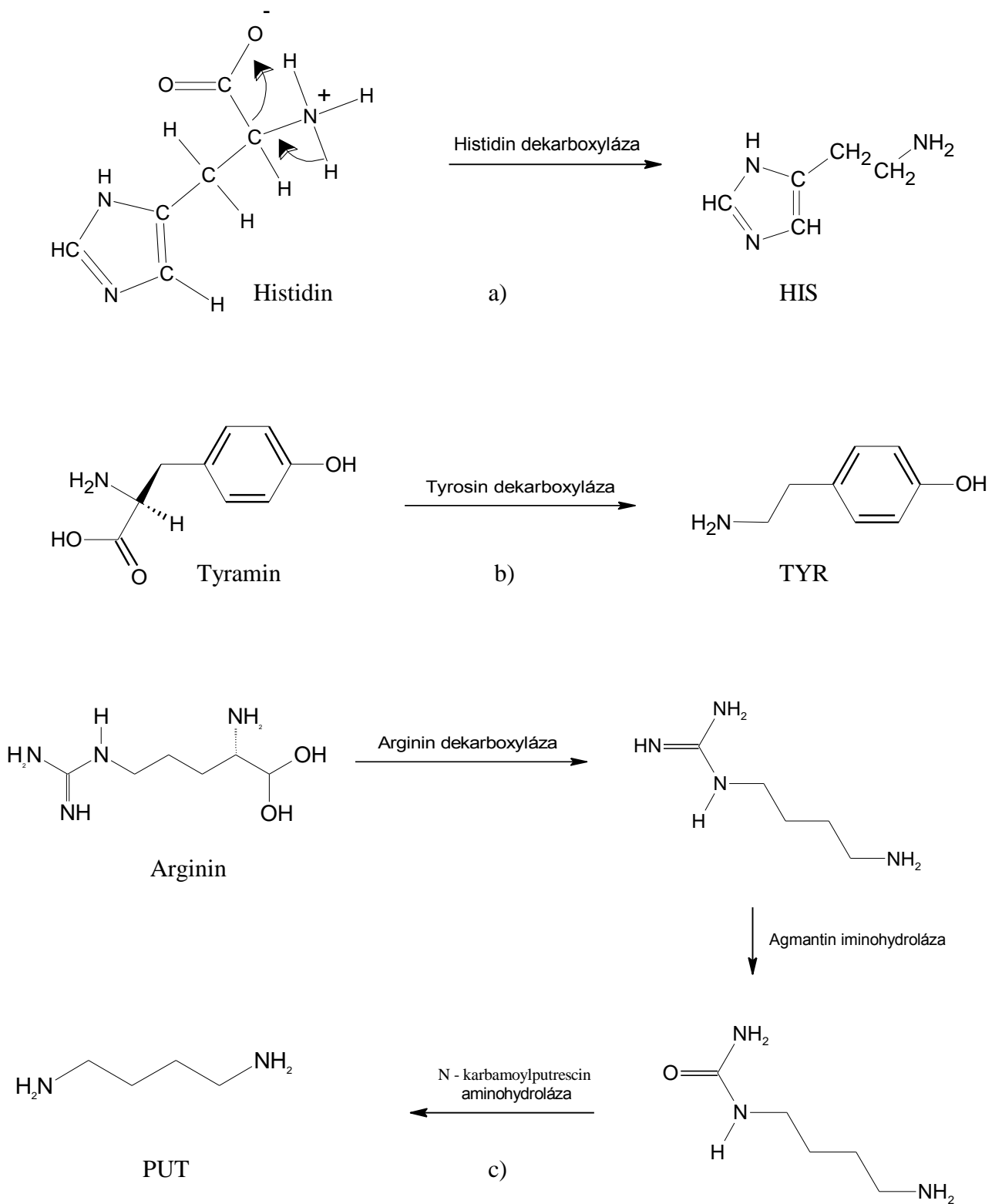


Spermidin

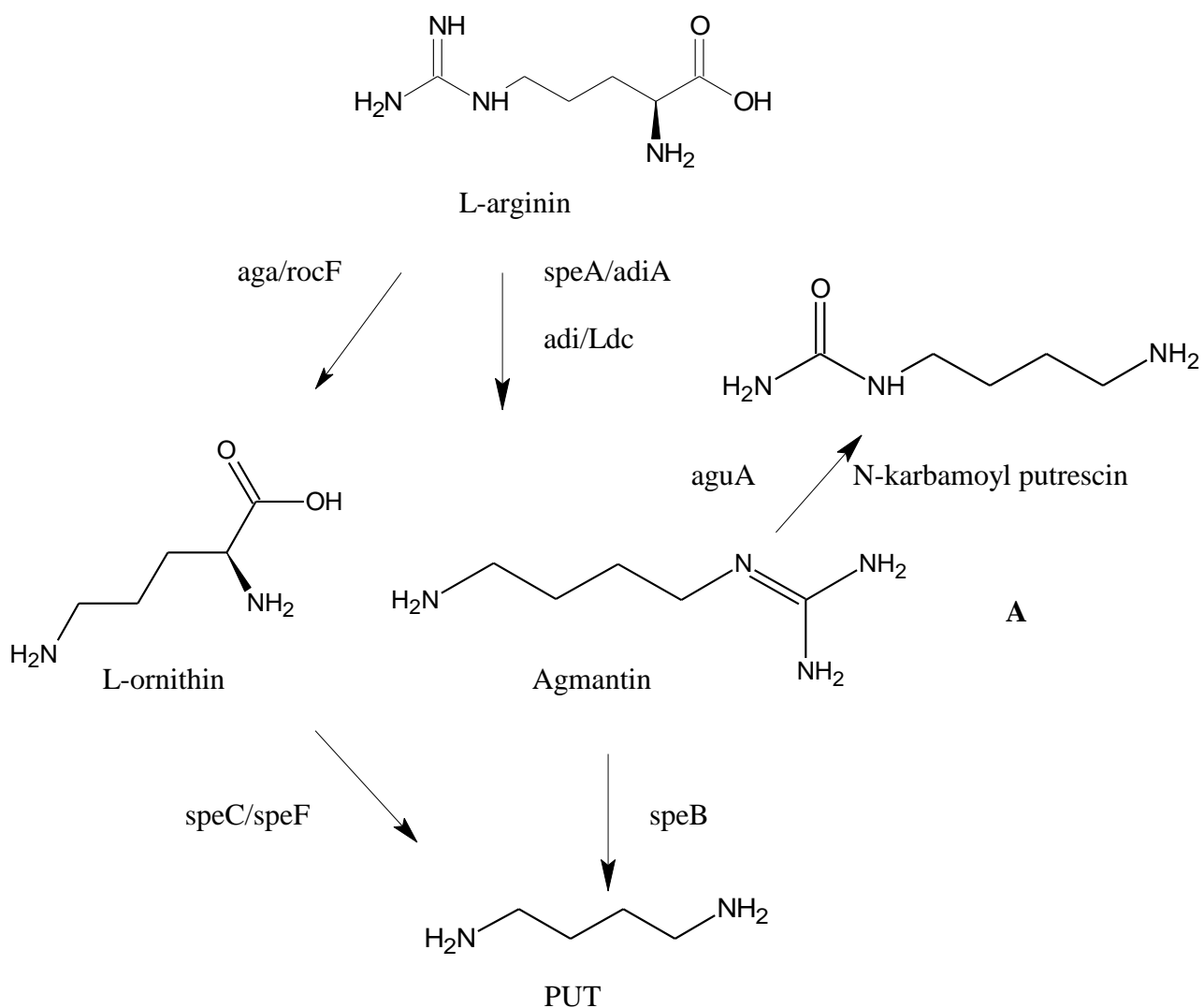
Obr. 1: Vzorci biogenních aminů

Jména mnoha biogenních aminů odpovídají jménům původních aminokyselin, ze kterých vznikly. Například histidin se dekarboxyluje na histamin, tryptofan na tryptamin a z tyrosinu vzniká tyramin. Rostliny a některé mikroorganismy mohou alternativní cestou vyrábět putrescin z argininu. Můžeme zde zařadit například bakterie mléčného kvašení, *Salmonella*, *Pseudomonas* nebo rod *Bacillus* [8,33].

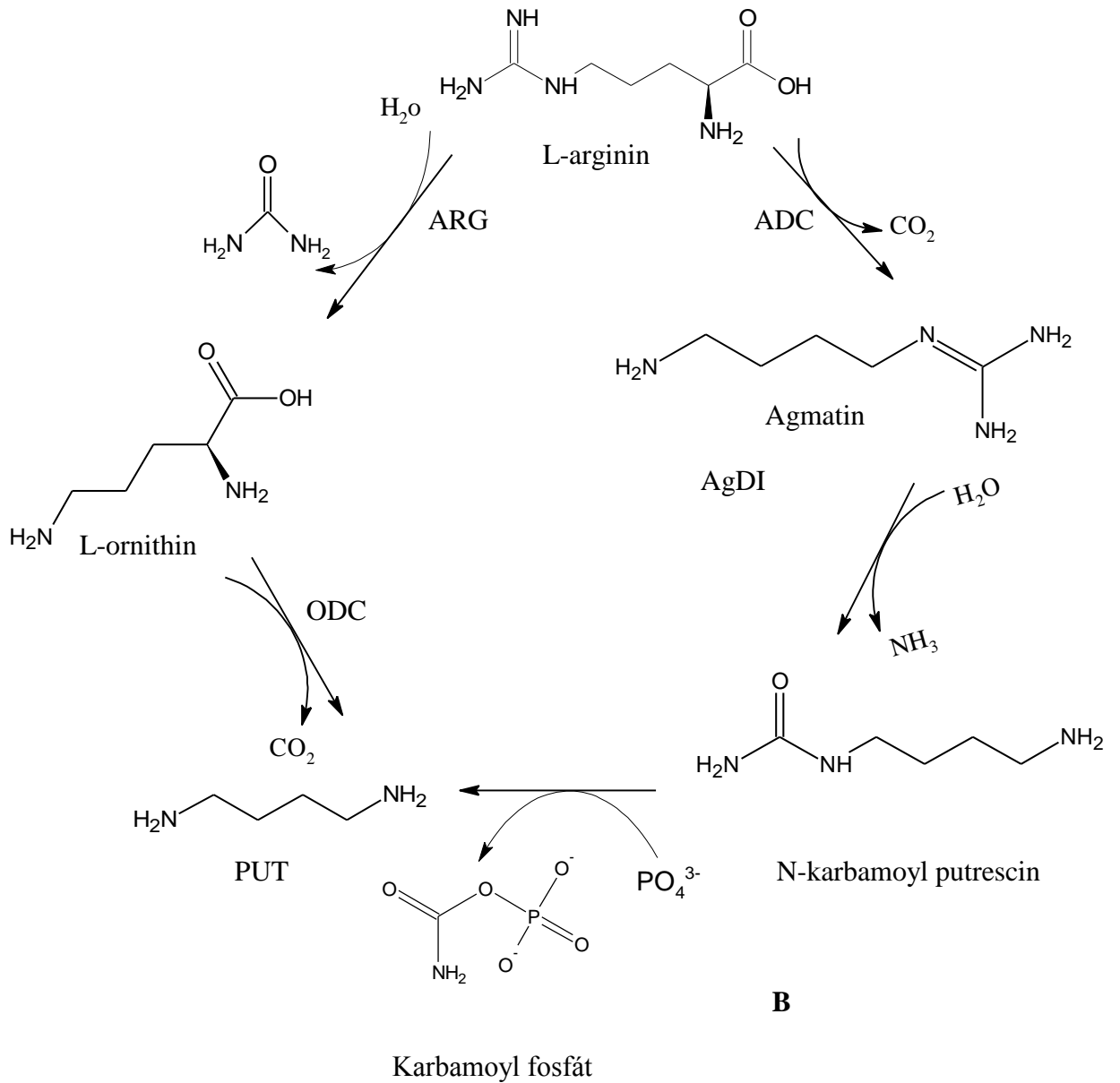
Také teplota ovlivňuje tvorbu biogenních aminů. Při nízkých teplotách dochází k inhibici mikrobiálního růstu a snížení aktivity enzymů. Biogenní aminy se vytvářejí v potravinách a jejich vznik může být ovlivňován tím, že se potravina bude uchovávat při chladírenské teplotě. Při prevenci biogenních aminů je účinnější zmrazování než chlazení [9].



Obr. 2: Vznik histaminu a), tyraminu b) a putrescinu c)



speA – arginin dekarboxylasa biosyntetická, *adiA* – arginin dekarboxylasa biodegradativní, *Ldc*, *adi* – Orn, Lys, Arg protein dekarboxylasa, *speB* – agmatinasa, *aguA* – agmatin deiminasa, *speC* – ornithin dekarboxylasa biosyntetický, *speF* – ornithin dekarboxylasa biodegradativní, *aga*, *rocF* – arginasa.



ADC – arginin dekarboxylasa, AgDI – agmantin deiminasa, ARG – arginasa, ODC – ornithin dekarboxylasa, PTC – putrescin karbamoyltransferasa.

Obr. 3: Metabolismus putrescinu u gramnegativních bakterií (A), metabolismus putrescinu u grampozitivních bakterií (B).

1.2 Biogenní aminy v potravinách

Předpoklady pro tvorbu biogenních aminů v potravinách je dostupnost volných aminokyselin, přítomnost dekarboxylázy a příznivé podmínky pro růst bakterií. Volné aminokyseliny se vyskytují jako takové v potravinách, ale mohou být také uvolněné z proteinů v důsledku proteolytické aktivity [7].

Mezi potraviny, které by mohly obsahovat vysoké hladiny biogenních aminů, patří ryby, výrobky z ryb, maso, mléčné výrobky a ze zástupců fermentovaných potravin (zelenina, pivo nebo víno). Nejdůležitější biogenní aminy nacházející se v potravinách jsou histamin, tyramin, putrescin, kadaverin a fenylethylalanin [3].

1.2.1 Ryby

Za normálních fyziologických podmínek rybí svalovina obsahuje vysoké množství spermidinu a sperminu, ale naopak nízké množství histaminu a putrescinu. Při skladování dochází ke snížení množství sperminu a spermidinu. Množství putrescinu a histaminu je vyšší. K tvorbě biogenních aminů běžně dochází v průběhu rozkladných procesů nebo znehodnocením v důsledku přítomnosti volných aminokyselin pomocí proteolýzy spolu s bakteriální produkcí a působením dekarboxylasy aminokyselin. Některé výzkumy prokázaly, že skladovací teplota je kritickým faktorem, který ovlivňuje množství histaminu a dalších biogenních aminů v rybí svalovině [7].

1.2.2 Maso a masné produkty

Biogenní aminy putrescin, spermin a spermidin se přirozeně vyskytují v mase, kde slouží jako růstové faktory a jsou zapojeny v řadě důležitých procesů. Ve srovnání s rybím masem, maso obsahuje vyšší množství sperminu. Masné výrobky jsou náchylné k proteolýze pomocí enzymů (endogenních nebo z mikrobiálních kontaminantů), osvobození aminokyselin a tvorbou aminů dekarboxylací aminokyselin. Během skladování a zrání vepřového masa dochází k výraznému zvýšení putrescinu a kadaverinu [7].

1.2.3 Potraviny rostlinného původu

V ovoci a zelenině se vyskytují různé biogenní aminy. Tyramin můžeme najít v zelí, hlávkovém salátu, čekance, ředkvičkách, rajčatech, bramborách, cibuli a špenátu. Histamin se vyskytuje v zelí, rajčatech nebo v červené řepě. Rajčata a lilek obsahují biogenní aminy serotin a tryptamin. Fermentovaná zelenina (zelí, stolní olivy, sójová omáčka) obsahuje biogenní aminy tyramin a histamin [7].

U rostlin se putrescin, spermin a spermidin podílí na řadě fyziologických procesů, jako je buněčné dělení, kvetení, vývoj plodu, reakce na stres nebo stárnutí. Je známo, že polyaminy stimulují růst a inhibují produkci ethylenu, a proto inhibují stárnutí. Biogenní aminy jsou také meziprodukty při syntéze alkaloidů [7].

Polyaminy putrescin, agmatin, spermidin a spermin jsou často detekovány v rostlinách, přičemž převládající biogenní amin je spermidin, který se vyskytuje v semenech a v tkáních, kde probíhá růst. Fenylethylamin, serotin, tryptamin a histamin mohou být přítomny v některých rostlinách, kde slouží jako ochrana proti predátorům. Biogenní aminy tryptamin a fenylethylamin jsou prekurzory růstových látek [7]. Toto téma bude později popsáno v kapitole druhé.

1.2.4 Víno

Biogenní aminy se mohou vyskytovat také v alkoholických nápojích, například ve víně. Hlavní biogenní aminy, které se ve víně vyskytují, jsou histamin, tyramin a putrescin. Ostatní aminy, jako je například methylamin, ethylamin, fenylethylamin, isoamylamin a nebo diaminopentan (kadaverin) se vytvářejí v hroznovém moštu, kde se degradují během vinifikace. Největší problém ve výrobě vína ve spojitosti s biogenními aminy je, že neexistuje žádné obecné pravidlo pro vývoj a přítomnost biogenních aminů [10].

Biogenní aminy se vytvářejí dekarboxylací aminokyselin, a proto se předpokládá, že bakterie ve víně mají všechny prostředky nutné pro enzymatické reakce (dekarboxylasy) a že aminokyseliny jsou ve víně přítomny v dostatečném množství. Nadbytek aminů souvisí s přítomnou mikroflórou, ale také na složení aminokyselin po alkoholovém kvašení. Bakterie mléčného kvašení se vyvíjí až po kvasinkách. Kvasinky svou biochemickou činností (produkci oxidu uhličitého a ethylalkoholu) potlačí nežádoucí

bakterie. Pokud je víno udržováno v delším kontaktu s vinným kalem, mohou bakterie mléčného kvašení, peptidy a volné aminokyseliny hydrolyzovat nebo dekarboxylovat. To vysvětluje, vyšší množství biogenních aminů u některých vín. Zároveň může dojít k pomnožení nežádoucích mikroorganismů [10].

Hodnota pH je důležitým faktorem, který určuje nejen biologickou aktivitu bakterií ve víně, ale také jejich rozmanitost. Čím vyšší je hodnota pH, tím složitější je mikroflóra bakterií, protože pH působí jako selektivní faktor mikroorganismů ve víně. Při vyšším pH jsou biogenní aminy vždy tvořeny ve vysokém množství. Bílá vína jsou obecně mírně kyselější. [10].

1.3 Biogenní aminy a jejich účinek na člověka

Účinky biogenních aminů lze klasifikovat jako reakce, intolerance, intoxikace nebo otravy v závislosti na závažnosti symptomů. Mezi reakční příznaky patří nevolnost, pocení, vyrážka, mírné změny krevního tlaku a mírné bolesti hlavy. Příznaky intolerance jsou vážnější, včetně zvracení, průjmu, zrudnutí obličeje, zářivě červená vyrážka, bronchospasmus, tachykardie, orální pálení, hypotenze nebo hypertenze a migrény. Výjimečně může dojít k hypertenzi, která může způsobit nevratné poškození srdce nebo centrálního nervového systému [11].

Biogenní aminy se vyskytují v různých potravinách a jsou proto široce studovány vzhledem k jejich potenciálním toxickým účinkům na člověka. Jako příklad můžeme uvést tyramin nebo β -fenylethylamin. Tyto biogenní aminy jsou spojovány s hypertenzní krizí, která se projevuje zvýšením krevního tlaku a to může vést k selhání srdce nebo mozkovému krvácení [12].

Potraviny, které jsou kontaminované mikroorganismy (například *Salmonella*, *Clostridium*, *Proteus*, *Lactobacillus*), obsahují zpravidla více než jeden biogenní amin. Proto další důležitý problém, který vyžaduje další výzkum, jsou jejich synergické účinky. Je známo, že putrescin a kadaverin hrají hlavní roli jako inhibitory monoamino-oxydáz-diaminu, a proto působí jako aktivátory toxicity histaminu. Největší riziko pro spotřebitele je, pokud se do těla dostane větší množství biogenních aminů. V důsledku nekontrolované mikrobiální aktivity se mohou hromadit ve vysokých koncentracích v některých

potravinách, které přesahují kapacitu detoxikačních mechanismů, a tím se projevuje jejich toxický účinek na spotřebitele, který kontaminovanou potravinu snědl [11].

Biogenní amin histamin působí jako vazodilatační a neurotransmitter v centrálním nervovém systému a kardiovaskulárním systému. Nežádoucí účinky biogenních aminů se projevují jako tzv. nemoci z potravin, které mohou mít různé příznaky, jako jsou například alergické reakce, které mohou způsobit dýchací potíže, svědění, vyrážku, zvracení, horečku a hypertenzi [12].

Histamin, tryptamin, fenylethylamin a tyramin jsou biologicky aktivní biogenní aminy, které mají důležité fyziologické účinky na člověka. Mohou mít na člověka účinek, buď psychoaktivní nebo vazoaktivní. Psychoaktivní aminy ovlivňují nervový systém tím, že působí na nervové vysílače, zatímco vazoaktivní aminy působí na cévní systém [13].

Tryptamin má toxický účinek na člověka, který podporuje zvýšení krevního tlaku. Polyaminy, jako jsou například putrescin, spermin, spermidin a kadaverin, se vyskytují v potravinách a podílejí se na růstu buněk a proliferaci, avšak nejsou spojovány s nepříznivými účinky na lidský organismus. Avšak mohou v lidském těle reagovat s dusitany a tvořit karcinogenní nitrosaminy, které mohou být možným mutagenním prekurzorem [12].

Abnormální vysoké hladiny tyraminu v mozku jsou spojeny s depresí, schizofrenií, Parkinsonovou chorobou nebo také Reyerem syndromem. Účinky příjmu tyraminu jsou známy jako tzv. „sýrová reakce“ protože první potravina, která byla na tuto problematiku zkoumána byl sýr, což je potravina, která může dosáhnout vysoké koncentrace tohoto biogenního aminu [11].

Sekundární aminy, jako jsou putrescin nebo kadaverin mohou také reagovat s dusitany, za vzniku karcinogenních nitrosaminů. Kromě toho existuje stále více důkazů, že putrescin by mohl mít úlohu při podpoře maligní transformaci buněk. Dále byla zjištěna zvýšená koncentrace putrescinu u žaludečních karcinomů způsobených *Helicobacter pylori*. Hladiny putrescinu jsou obnoveny v případě, že mikrobiální infekce je eliminována [11].

Za normálních podmínek jsou biogenní aminy, které požeme, tělem rychle detoxikovány aminovými oxidasami, nacházející se ve střevní sliznici. Tyto enzymy jsou klasifikovány jako mono (MAO) nebo diaminové oxidasy (DAO). Záleží na tom, která aminoskupina se přednostně zoxiduje. Také histamin může být detoxikován, a to enzymy

metyl nebo acetyl-transferasou. Pokud však tyto enzymy jsou dysfunkční buď geneticky, nebo v důsledku příjmu inhibitorů, jako je například alkohol nebo to mohou být některé antidepressiva. Biogenní aminy se mohou dostat do oběhového systému, kde mohou mít toxický účinek na různé orgány, což může způsobit vážné zdravotní problémy. Spotřeba potravin s vysokou koncentrací histaminu, může vyvolat u jednotlivců, kteří mají nízkou aktivitu DAO (diaminooxydasa) zánětlivá onemocnění. Mezi tyto onemocnění patří například Crohnova choroba, ulcerativní kolitida nebo dokonce až kolorektální nádor [11].

Většina výzkumů toxicity biogenních aminů se zaměřuje na histamin. Biogenní aminy mohou v potravinách dosáhnout koncentrace vyšší než 1000 mg.kg^{-1} , což nepochybně představuje zdravotní riziko pro spotřebitele. Kromě toho je třeba uvést, že úroveň intolerance závisí na vlastnostech jedince. U zdravého jedince se předpokládá, že po příjmu potravin, která má koncentraci histaminu vyšší než 400 mg.kg^{-1} je tato koncentrace pro zdraví člověka nebezpečná. Je dokázáno, že 75 mg histaminu, který byl požit orálně, vyvolal příznaky u 50 % zdravých žen, které neměly v minulosti zaznamenány potravinovou intoleranci. Pokud člověk požije asi 1000 mg histaminu, tak toto je již spojováno s těžkou intoxikací [11].

S ohledem na nepříznivé zdravotní dopady, vyšší hladina biogenních aminů například kadaverinu a putrescinu o koncentraci $50 - 100 \text{ mg.l}^{-1}$ mohou mít značný vliv i na senzorické vlastnosti, například u fermentovaných potravin nebo ve víně [11].

1.4 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Mikroorganismy, které produkují biogenní aminy, musí splňovat důležitou podmínku pro jejich vznik. Touto podmínkou je schopnost mikroorganismů produkovat mikrobiální enzym dekarboxylasu. Mikroorganismy mohou produkovat například histamin, tyramin, tryptamin nebo kadaverin. Mikrobiální enzym histidin dekarboxylasa se podílí na tvorbě histaminu, ornitin dekarboxylasa na tvorbě putrescinu, lysin dekarboxylasa na tvorbě kadaverinu a arginin dekarboxylasy na tvorbě agmatinu [14].

Mikrobiální enzym dekarboxylasu mohou produkovat vybraní zástupci rodu *Pseudomonas*, čeleď *Enterobacteriaceae*, jako jsou například kmeny *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*. Dále sem řadíme čeleď *Micrococcaceae*, jako jsou například bakterie *Staphylococcus*, *Micrococcus* a *Kocuria*. Dále mnoho bakterií mléčného

kvašení (BMK), včetně bakterií rodu *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* a *Leuconostoc* [2,14].

Potraviny obsahují různé bakterie. V potravinách můžeme nalézt například gramnegativní bakterie, do kterých lze zařadit bakterie *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas* nebo *Serratia*. Tyto bakterie mají schopnost tvořit biogenní aminy. Nicméně přítomnost těchto druhů bakterií v potravinách představuje značný problém v bezpečnosti potravin, který je třeba vyřešit pomocí správné výrobní praxe zahrnující odpovídající hygienická opatření. U potravin, které nejsou fermentované, se koncentrace biogenních aminů používá jako indikátor mikrobiálního kažení. Naopak u fermentovaných potravin jsou gramnegativní bakterie často inhibovány samotným procesem fermentace [11].

Grampozitivní bakterie, a to zejména bakterie mléčného kvašení jsou rovněž odpovědné za produkci biogenních aminů. Bakterie mléčného kvašení tvoří přirozenou mikroflóru fermentovaných potravin. Biogenní aminy mohou být tedy přítomné ve startérech i v pomocných kulturách, které se používají při výrobě fermentovaných potravin [11].

Histamin se může vyskytovat u syrových ryb, rybích výrobců, fermentovaného masa nebo v sýru. Zatímco histamin u fermentovaných mléčných výrobků (například: víno, sýr, vinné omáčky) je produkován gram-positivními bakteriemi mléčného kvašení (BMK), ale v syrových rybích výrobcích je produkce histaminu způsobena gram-negativními střevními bakteriemi [15].

Při rozkladu ryb jako je například tuňák nebo makrela se histamin vytváří dekarboxylací z histidinu, který je přítomen ve svalové tkáni. Proto je důležitá rychlá detekce histaminu, který je produkován těmito bakteriemi, aby se zabránilo mikrobiální kontaminaci a tím zvýšení hladiny histaminu při zpracování těchto výrobků [15].

Vzhledem k tomu, že histamin je produkt dekarboxylace histidinu, který je katalyzován specifickým enzymem histidin-dekarboxyláza, je možné vyvinout molekulární metodu, která by detekovala přítomnost genu kódující tento enzym [15].

2 BIOGENNÍ AMINY U FERMENTOVANÝCH POTRAVIN ROSTLINNÉHO PŮVODU

Biogenní aminy se nacházejí poměrně ve velkém množství v některých fermentovaných rostlinných potravinách, v důsledku činností kvasících nebo kontaminujících mikroorganismů, které vykazují dekarboxylasovou aktivitu. Jejich obsah v potravinách může ovlivnit řada faktorů. Například teplota, pH, obsah soli a podmínky skladování [16].

Podle vyhlášky č. 157/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jako i další způsoby jejich označování je zelenina mléčně kvašená definovaná jako výrobek konzervovaný působením bakterií mléčného kvašení. Konzervace je technologický proces, který vede k zachování požadované jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin. Mléčně kysaná zelenina dosahuje hodnoty pH nejvýše 4,1. Mléčně kvašená (kysaná) zelenina obsahuje nejméně 0,8 hmot. % kyseliny mléčné, nejvýše 0,6 hmot. % těkavých kyselin a nejvýše 1,5 hmot. % ethanolu [17].

Jedná se o potraviny, které jsou obrazem kultury, historie a životního stylu. Mají také zdravotní vlastnosti. Kysané zelí obsahuje nejen velké množství vitaminů a minerálních látek, ale také vysoké hladiny glukosinolátů, hydrolytických produktů, které mají důležitou antikarcinogenní aktivitu [16].

Fermentace je prostředek, který umožňuje uchovávat zelí v požadované kvalitě. Dochází také k prodloužení jeho trvanlivosti, protože bakterie mléčného kvašení (BMK) produkují organické kyseliny, které inhibují růst nežádoucích mikroorganismů. Ovšem vysoká mikrobiální populace může produkovat měřitelné toxické metabolity, například biogenní aminy. Vysoký počet bakterií mléčného kvašení (BMK) může způsobit zvýšenou kyselost produktu, což může snížit jeho přijatelnost. Hodnota pH kysaného zelí by měla být mezi 3,8 a 4,1. Kysané zelí obvykle obsahuje mezi 0,6 a 2,0 hmot. % soli. [16].

Fermentované zelí se opírá o přirozenou bakteriální mikroflóru a je iniciováno heterofermentativními bakteriemi mléčného kvašení (BMK), jako je například *Leuconostoc mesenteroides*, které produkují kyselinu mléčnou a kyselinu octovou. Tyto kyseliny jsou v pozdější fázi procesu nahrazeny bakteriemi, které jsou tolerantní vůči kyselému prostředí. Tyto bakterie produkují heterofermentativní mléčné kvašení. Patří mezi ně například *Lactobacillus plantarum*, která produkuje kyselinu mléčnou téměř výhradně. Avšak rozdíly

mikroflóry mohou vést ke značné variabilitě kvality zelí. Proces fermentace můžeme řídit tím, že přidáme startovací kultury, které nám zajistí rovnoměrnou kvalitu produktu [16].

V Africe, ale i jiných zemích, kde jsou potravinářské technologie málo rozvinuté, jsou potraviny fermentované prostřednictvím primitivních prostředků. Očkování je nejčastěji dosaženo použitím mikroorganismů z prostředí. V některých případech se pro fermentaci používá fermentovaná surovina po předchozí fermentaci. Mezi mikroorganismy, které se nacházejí ve fermentovaných potravinách rostlinného původu, jsou druhy bakterií mléčného kvašení (BMK). Mezi tyto mikroorganismy patří *Lactobacillus plantarum* a *Pediococcus acidilactici*. Mezi mikroorganismy, které se účastní fermentace, můžeme řadit i některé kvasinky (například *Torulaspora delbrueckii*) [18].

Sdružení mikroorganismů ve fermentačním procesu poskytuje mnoho výhod. Tento postup zvyšuje produktivitu a zlepšuje organoleptické a hygienické vlastnosti fermentovaných výrobků [18].

2.1 Bakterie mléčného kvašení

V dřívějších dobách se fermentované potraviny vyráběly pomocí tzv. spontánních fermentací, kde její vývoj byl závislý na vývoji mikroflóry, která se přirozeně vyskytovala v surovině. Konečný produkt byl závislý na obsahu mikroflóry, a na tom o jak kvalitní surovinu se jedná. Spontánní fermentace byla optimalizována pomocí tzv. backslopping (nebo také česky reinokulace). Backslopping je inokulace surového materiálu s malým množstvím fermentovaného materiálu, který pochází z dřívější úspěšné fermentace. Proto se backslopping vyrábí z nejlépe upravených kmenů [20].

Z tohoto důvodu se začaly používat startovací kultury. Tyto kultury zkrátí proces fermentace a zároveň se sníží riziko selhání fermentace. Avšak backslopping se používá například k výrobě kysaného zelí, nebo kvásku [20].

Backslopping a spontánní fermentace je v současné době při výrobě potravin a nápojů levnou a spolehlivou metodou uchování potravin v méně rozvinutých zemích. V západních zemích se velkovýroba fermentovaných potravin stala důležitým odvětvím potravinářského průmyslu. Spotřebitel oceňuje u tradičně fermentovaných potravin jejich vynikající gastronomickou kvalitu [20].

Původní průmyslové startovací kultury byly udržovány v denním množení. Později byly k dispozici ve zmrazeném koncentrátu, sušené nebo lyofilizované přípravky, které jsou vyrobeny v průmyslovém měřítku. Některé z nich umožňují přímé očkování suroviny. Původní startovací kultury byly směsí několika nedefinovaných mikrobů, což vedlo k vymizení některých kmenů [20].

Naopak, fermentace tradičních fermentovaných potravin je často způsobena přírodními bakteriemi mléčného kvašení, které se vyskytují v původní surovině. Mohou být také závislé na procesu řízení, životním prostředí nebo také na tom, zda jsme použili startovací kulturu či ne. Navíc mnoho tradičních výrobků může získat chuť z non-startovacích bakterií mléčného kvašení, které nejsou součástí běžné startovací flóry, ale vyvíjejí se ve výrobku, a to zejména v průběhu zrání [20].

Čisté kultury izolované z komplexních ekosystémů tradičních fermentovaných potravin se projevují velkou rozmanitostí metabolických aktivit, které pocházejí z různých srovnatelných kmenů, které se používají jako hromadné startéry. Patří mezi ně rozdíly v rychlosti růstu a konkurenčního chování růstu ve smíšených kulturách. Dále přizpůsobení konkrétního substrátu nebo suroviny, antimikrobiální vlastnosti, chuť, aroma a kvality [20].

Divoké kmeny, jsou mikroorganismy, které jsou přítomny v přírodní surovině. Aby mohly přežít v prostředí jiných nepříznivých organismů, často produkují antimikrobní látky, jako jsou například bakteriociny [20].

2.1.1 Vliv bakterií mléčného kvašení na obsah biogenních aminů v potravinách

Zelenina hraje velmi důležitou roli v lidské výživě a zdraví člověka, protože nám poskytuje minerály, stopové prvky, vitamíny, antioxidanty, fytoosteroly nebo vlákninu. Jedním z nejznámějších příkladů je zelí, kterého se ročně vyprodukuje na celém světě asi 55 miliónů tun [25].

Nicméně zelí je potravina, která podléhá rychlé zkáze, proto se tradičně používá kvašení, k prodloužení trvanlivosti, prostřednictvím snížení pH. Navíc tento způsob přispívá k lepší stravitelnosti [25].

Kvašená syrová zelenina obsahuje vysokou mikrobiální rozmanitost, ale nemůže být pasterovaná, aniž by byla ohrožena kvalita konečného produktu. Toto je riziko, které je spojováno zejména s biogenními aminy. Z tohoto důvodu se vyžadují specifické přístupy

nejen k omezení růstu nežádoucích bakterií, ale také snížit koncentraci těchto produktů [25].

Obsah volných aminokyselin a biogenních aminů se může zredukovat spontánně pomocí kvašení nebo inokulací specifickými kmeny bakterií mléčného kvašení. Byly použité bakterie mléčného kvašení *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei subsp. a Lactobacillus curvatus* [25].

Hodnota jednotlivých biogenních aminů se pohybovala pod hodnotou 100 mg.kg⁻¹ po přidání startovacích kultur. Vzorokly kysaného zelí byly pozorovány po dobu 45 dní. Celkový obsah aminokyselin se během skladování zvyšoval – převládali kyselina asparagová, arginin a kyselina glutamová [25].

2.1.2 Použití bakterií mléčného kvašení jako startovací kultury

V současné době spotřebitel věnuje velkou pozornost vztahu mezi potravinou a zdravím. Z tohoto důvodu jsou potraviny, které podporují zdraví na pozoruhodném vzrůstu v posledních letech. V dnešní době jsou potravinářsky přídavné látky nedílnou součástí potravin. Existují lidé, kteří použití potravinářských přídavných látek považují za nepřirozený a nebezpečný. Spotřebitelé, kteří preferují tento názor, mají omezený přístup k informacím o těchto látkách. Důvod proč je zapotřebí některá aditiva přidat je prevence znehodnocení nebo zlepšení organoleptických vlastností [20].

Proto ve výrobě kvašených potravin je jedním z klíčových bodů použití startovací kultury. Bohužel průmyslovým startovacím kulturám chybí potřebné vlastnosti pro rozlišování produktů a komerční dostupnost nových zajímavých startovacích kultur je omezená. Prostřednictvím molekulární biologie je nyní možné potlačit žádoucí a nežádoucí vlastnosti startovacích kultur. V poslední době, využití funkčních startovacích kultur v potravinářském průmyslu je předmětem zkoumání [20].

Funkční startovací kultury jsou spouštěče, které mají alespoň jednu vlastní funkční vlastnost. Ty mohou přispět k bezpečnosti potravin a/nebo nabízet jeden nebo více organoleptických, technologických, výživných nebo zdravotních výhod [20].

Bakterie mléčného kvašení jsou schopny produkovat antimikrobní látky, polymery cukru, sladidla, aromatické sloučeniny, užitečné enzymy a potravinové doplňky. Mohou mít také vlastnosti, které podporují zdraví, tzv. probiotické kmeny [20].

2.2 Použití startovacích kultur u fermentovaných výrobků

Startovací kultura může být definována jako mikrobiální příprava velkého počtu buněk alespoň jednoho mikroorganismu, které se přidávají do suroviny, za účelem urychlení nebo řízení jeho fermentace. Použití startovací kultury je znakem průmyslového kvašení potravin. K příkladům požadovaných vlastností u startovacích kultur patří odolnost při výrobě, rychlý růst, vysoký přínos biomasy, výtěžek produktu a specifické organoleptické vlastnosti [19,20].

Fermentační procesy zahrnují smíšené kultury bakterií mléčného kvašení, kvasinky, plísně. Fermentované potraviny jsou bohatým zdrojem kvasných mikroorganismů, přičemž některé z nich mohou mít i probiotické vlastnosti. Při výrobě kysaného zelí se spoléhá na autochtonní bakterie mléčného kvašení (BMK), které jsou přítomné v surovém zelí [31].

Některé moderní potravinářské fermentace jsou stále zahajovány pomocí původních bakteriálních mikroflór surového substrátu, označované také jako spontánní fermentace. Nicméně, postindustriální (rozvíjení intelektuálních technologií) a rozsáhlé potravinářské fermentace stále více spoléhají na koncentrované bakteriální kultury [21].

Výběr bakteriálních kmenů a následné využívání při výrobě startovacích kultur je drahé, ale je nezbytné pro získání bakteriální směsi, která bude produkovat požadovanou charakteristiku v produktu kvašení, stejně jako nejlepší výnos produktivity [21].

Skupina bakterií mléčného kvašení (BMK) zaujímá ústřední roli v těchto procesech, má dlouhou historii, bezpečné použití a potřeby při výrobě fermentovaných potravin a nápojů. Způsobují rychlé okyselení suroviny prostřednictvím tvorby organických kyselin, zejména kyseliny mléčné. Rovněž jejich tvorba kyseliny octové, ethanolu, aromatických sloučenin, bakteriocinů, exopolysacharidů a některých enzymů. Tímto způsobem se zvyšuje trvanlivost výrobku a mikrobiální bezpečnost. Dochází ke zlepšení jeho textury a přispívají k příjemnému smyslového profilu konečného produktu [20].

Bakterie mléčného kvašení jsou široce používány již desítky let jako startovací kultury při výrobě fermentaci okurků, zelí a dalších produktů. Některé bakterie mléčného kvašení včetně *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum* a *Lactobacillus plantarum* byly navrženy jako startovací kultury pro rozvoj kvality v rostlinné fermentaci [32].

Ačkoli existuje celá řada studií pro výrobu nových startovacích kultur k výrobě fermentovaných sýrů a salámů, stále ale není nedostatek komerčních funkčních startovacích kultur vhodných pro fermentaci zelí a ostatní zeleniny. Funkční startovací kultury s probiotickými vlastnostmi mohou nabídnout velké výhody ve srovnání s klasickými startovacími kulturami a představují zajímavý přístup ke zlepšení fermentace a k dosažení chutnějších, bezpečnějších a zdravějších výrobků [31].

Hlavním úkolem pro vývoj takových startovacích kultur je nejen zvýšení bezpečnosti fermentovaných výrobků, ale také zachování jejich typických sensorických vlastností. Výroba probiotických startovacích kultur z autochtonních bakterií mléčného kvašení tradičního fermentovaného zelí může být optimální alternativou, protože tyto kmeny se nejen dobře přizpůsobí životnímu prostředí přítomnému v zelí, ale také se dobře vypořádají s nežádoucími mikroorganismy [31].

Z tohoto důvodu je cílem některých studií izolovat autochtonní bakterie mléčného kvašení, během spontánní fermentace vysoce kvalitního chorvatského bílého zelí *Brassica oleracea var. capitata*, s probiotickými vlastnostmi, které by mohly být použity jako funkční startovací kultury k výrobě kysaného zelí [31].

Při fermentaci zelí a jiných fermentovaných potravin vznikají biogenní aminy. Tvorba vysokých hladin biogenních aminů, zejména histaminu, u fermentovaných výrobků, závisí na množství mikroorganismů, které se podílejí na procesu fermentace. Tvorba biogenních aminů vyžaduje volné aminokyseliny nebo proteiny. Tvorbu biogenních aminů mohou způsobit mikroorganismy, které mají dekarboxylasovou aktivitu. Volné aminokyseliny se vyskytují buď ve fermentovaných potravinách, nebo mohou vznikat proteolysou během kvašení. Mikrobiální kmeny mohou svou proteolytickou aktivitou potencionálně zvýšit vznik biogenních aminů, tím že vznikne více volných aminokyselin. Na druhou stranu, některé mikroorganismy mohou produkovat toxické biogenní aminy. Mezi něž patří například *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Photobacterium* a bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Pediococcus* anebo *Streptococcus*). Je dokázáno, že tyto bakterie mají schopnost produkovat nebezpečné množství histaminu ($\geq 500 \text{ mg.kg}^{-1}$) ve velmi krátkém časovém období. Proto je nezbytné, aby přítomnost biogenních aminů nebyla překročena přes nebezpečnou hranici (1000 mg.kg^{-1}) [22].

Kromě biogenních aminů mohou vznikat další zdraví škodlivé látky. Mykotoxiny jsou skupina extrémně toxických houbových metabolitů produkovaných některými druhy *Aspergillus*, jako je například *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* nebo *Aspergillus nomius*. *Aspergillus flavus* produkuje pouze aflatoxiny B, zatímco ostatní dva druhy (*Aspergillus parasiticus* a *Aspergillus nomius*) produkují aflatoxiny B a G. Tyto toxiny mohou významně ohrozit zdraví lidí a zvířat, vzhledem k jejich silným karcinogenním a mutagenním schopnostem [22].

2.2.1 Použití startovacích kultur ve světě

V Koreji se vyrábí jako tradiční potravinářský výrobek sójová pasta nazývaná Doenjang. Tento produkt je vyráběný fermentací sójových bobů s přirozeně se vyskytujícími bakteriemi a plísněmi. V Koreji se tento produkt vyrábí po staletí, jako bohatý zdroj bílkovin a aroma. Na začátku výroby se sója zkvasí pomocí startovací kultury (Meju) a bakterie rodu *Bacillus*. Následuje kvašení pomocí převažující mikroflóry z *Aspergillus* (zejména *Aspergillus oryzae* a *Aspergillus niger*), který se vyskytuje, ve startovací kultuře Meju [22].

Tvorba biogenních aminů a aflatoxinů v Doenjang závisí na různých faktorech, včetně poměru sóji v surovině, mikrobiální flóry, fermentačních podmínek a obsahu soli [22].

Obsah biogenních aminů – jako je putrescin a histamin (29,53 – 429,23 mg/100g a 26,79 – 279,48 mg/100g) [22].

Dále můžeme zmínit Caper bobule, které jsou pěstované například v Turecku, Maroku, Španělsku nebo v Řecku. Jedná se o plody druhu *Capparis* (hlavně *Capparis spinosa* L.). Jedná se o středomořský keř, který se pěstuje pro své pupeny a ovoce. Tato rostlina má léčivé a aromatické vlastnosti [23].



Obr. 4: *Capparis spinosa* [24].

Kapary mají světlou barvu, pevnou strukturu a jedinečnou charakteristickou hořkou chuť, kterou můžeme částečně přičíst isothiokyanátům vytvořeným po hydrolyse glucocapperinu, hlavním glukosinolátem z kapary [19].

Jedním z nedostatků fermentovaných Caper bobulí je nedostatek specifických startovacích kultur. Tyto fermentované výrobky se nemohou pasterovat, protože by ztratily svou charakteristickou chuť a vůni. Je zde také riziko, že by při pasteraci vznikla nepříjemná vařivá chuť. Proto někteří výrobci do těchto výrobků přidávají konzervační látky [23].

Bylo by zajímavé vytvořit startovací kulturu, která by měla metabolickou aktivitu speciální pro dostupné živiny ze substrát a schopnou dosáhnout rychlé acidifikaci. Použití startovací kultury s antimikrobní aktivitou, může poskytnout další příznivé účinky, jako je například selektivní výhoda proti konkurenci při fermentaci. Dále snižuje riziko při znehodnocení a přispívá ke stabilitě produktu [23].

Lactobacillus plantarum je vhodný pro použití startovací kultury pro kvašení bobulí Kapary. Tato bakterie je schopná ovládat bakterie mléčného kvašení přítomné v surovině a dokáže urychlit okyselení výrobku, který rovněž zajistí jeho bezpečnost [23].

2.3 Fermentované okurky

Fermentované okurky (lidově kvašáky) jsou surovinou pro výrobu mnoha běžně konzumovaných marinovaných produktů. Okurky obvykle kvasí v solných roztocích ve velkých otevřených nádržích. Bakterie mléčného kvašení, která se přirozeně vyskytuje ve fermentovaných okurkách, je *Lactobacillus plantarum*. Jejím hlavním úkolem je přeměnit cukr (přítomný v okurce) na kyselinu mléčnou. Tato tvorba kyseliny mléčné způsobí snížení pH. Při tomto procesu může dojít k sekundární kontaminaci. Ta může být způsobená fermentací, která probíhá během skladování, zvláště když je koncentrace soli příliš nízká [26].

Dále se může vyskytovat bakterie *Lactobacillus buchneri*. *Lactobacillus buchneri* snižuje koncentraci kyseliny mléčné, zvyšuje pH a snižuje koncentrace kyseliny octové a kyseliny propionové. *Lactobacillus dioliverans*, který je schopen degradovat 1,2 – propandiol na kyselinu propionovou [26].

Bakteriociny jsou bílkovinné sloučeniny produkované bakteriemi s antimikrobiální aktivitou. Bakteriociny, které produkují bakterie mléčného kvašení, se používají ke konzervaci potravin. V posledních letech bakteriociny produkují bakterie mléčného kvašení, včetně *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* a *Pediococcus*, které byly izolovány z různých potravin [27].

Čínská fermentovaná okurka je široce rozšířený pokrm, který je vyrobený ze zelené okurky. Tyto okurky kvasí pomocí spontánní fermentace, která je závislá na různých bakteriích mléčného kvašení. Některé bakteriociny produkují bakterie mléčného kvašení, jako jsou například *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus casei* nebo *Pediococcus pentosaceus*, byly izolovány z kvašených okurek [27].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části v této bakalářské práci bylo popsat význam sledování biogenních aminů v potravinách a charakterizovat obsah biogenních aminů ve fermentovaných potravinách rostlinného původu.

Cílem praktické části v této bakalářské práci bylo stanovit obsah biogenních aminů v kysaném zelí, fermentovaných okurkách a ve fermentovaném ochucovadle Worcester. Získané výsledky poté vyhodnotit a zformulovat závěry.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Popis experimentu a jeho členění

Vzorky, u kterých jsem stanovovala obsah biogenních aminů, bylo kysané zelí, kvašené okurky a fermentované ochucovadlo Worcester. Celkem bylo odebráno 34 vzorků. Kysaného zelí bylo odebráno celkem 25 vzorků. Z nichž 14 (A1 – A14) vzorků pocházelo z obchodního řetězce a 11 (A15 – A25) vzorků pocházelo z domácí produkce. Kvašených okurek byly odebrány celkem 3 vzorky (B26 – B28), z nichž 1 vzorek byl odebrán z domácí produkce (B_x). Fermentovaného ochucovadla Worcesteru bylo celkem odebráno celkem 6 (C29 – C34) vzorků. Všechny vzorky byly odebrány z obchodního řetězce. Vzorky byly derivatizovány a následně byl stanoven obsah biogenních aminů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Biogenní aminy, které byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

4.2 Materiál a metody

Chemikálie, které byly použity pro stanovení biogenních aminů:

- Standardy biogenních aminů
 - histamine, approx. 97%, SIGMA - ALDRICH, Německo
 - 2-phenethylamine, puriss, p. a. standard for GC \geq 99,5% (GC), FLUKA, Buchs, Německo
 - tyramine 99% (T), SIGMA - ALDRICH, Německo
 - putrescine dihydrochloride, \geq 98,0% (TLC), SIGMA – ALDRICH, Švýcarsko
 - cadaverine, 95%, SIGMA – ALDRICH, Švýcarsko
 - agmatine sulfate, purum \geq 99% T FLUKA, USA
 - spermidine for molecular biology \geq 98% (GC), SIGMA – ALDRICH, Švýcarsko
 - spermine, \geq 99,0% FLUKA, Švýcarsko
 - tryptamine, \geq 98,0% (NT) FLUKA, Švýcarsko
 - 1,7 – diaminoheptane, \geq 98,0% (TLC) SIGMA – ALDRICH, Ššvýcarsko

- Kyselina chloristá 70-72 % pro analýzu ACS, ISO, Reag. Ph Eur – MERCK, Německo
- Hydrogenuhlíčitán sodný pro analýzu ACS, Reag, Ph Eur – MERCK, Německo
- Uhlíčitán sodný bezvodý pro analýzu ACS, Reag, Ph Eur – MERCK, Německo
- Uhlíčitán draselný pro analýzu ACS, ISO, Reag. Ph Eur – MERCK, Německo
- Dansyl chloride BioReagent, suitable for amino acid labeling, powder and chunks, $\geq 99\%$ (HPLC) – SIGMA - ALDRICH, Švýcarsko
- L- Proline for biochemistry – MERCK, MERCK, Německo
- Heptane CHROMASOLV[®], for HPLC, $\geq 99\%$ - SIGMA – ALDRICH
- Acetonitrile CHROMASOLV Plus, for HPLC, $\geq 99,9\%$ - SIGMA –ALDRICH
- Dusík 5,0, tlaková láhev, Linde Gas a. s., Otrokovice

Použité přístroje pro stanovení biogenních aminů

Chromatografické stanovení:

- Analytické váhy A&D GH-200 EC, Helago
- Laboratorní třepačka LT2, KAVALIERGLASS, a. s., Sázava
- Odtředivka EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen
- EUTECH INSTRUMENTS pH 510 zakoupaný u firmy BioTech a. s., Praha, stolní pH – metr
- Termoblok BENCHMARK DIGITAL BLOCK, BioTech
- Systém HPLC (binární pumpa LabAlliance, USA, autosampler LabAlliance, USA, kolona s termostatem; UV/VIS DAD detektor ($\lambda = 254$ nm); a degaser 1260 Infinity, Agilent Technologies)

Lyofilizace:

- Hlubokomrazicí box MDF-U3286S, SANYO, Japonsko
- Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST, Německo

4.3 STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ

Většina biogenních aminů nevykazuje absorpci UV záření ani fluorescenci. Z tohoto důvodu většina metod vyžaduje, aby biogenní aminy byly před detekcí derivatizovány. Protože biogenní aminy řadíme mezi silné organické báze, je vhodné využít tuto vlastnost pro jejich separaci z matrice vzorku. U tohoto stanovení se pro separaci využívá kyselina chloristá, která se široce využívá jako extrakční činidlo. Aminy jsou výhradně odděleny jako deriváty, při použití kapalinové chromatografie. Pro derivaci biogenních aminů se nejčastěji používá dansylchlorid. Tento způsob se nadále používá kvůli jeho rychlosti, jednoduchosti a možnosti prověření několika vzorků najednou [28].

Příprava vzorku:

Vzorek, který byl rozmělněný po lyofilizaci (Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC) o hmotnosti 1 g se navážil do 15 ml zkumavky a přidalo se 10 ml $0,6 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HClO}_4$. Tato směs byla promíchána a byla třepána na třepačce po dobu 30 minut. Tato suspenze byla centrifugována po dobu 20 minut, při 6000 otáčkách. Směs se přelije do 25 ml odměrné baňky a bylo přidáno 7 ml $0,6 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HClO}_4$, promíchá se a byla třepána na třepačce po dobu 20 minut. Tato suspenze byla centrifugována po dobu 20 minut, při 6000 otáčkách. Směs se opět přelije do 25 ml odměrné baňky a bylo přidáno 7 ml $0,6 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HClO}_4$. Směs byla opět promíchána a byla třepána na třepačce po dobu 20 minut. Tato směs byla centrifugována po dobu 20 minut, při 6000 otáčkách. Směs se přelije do 25 ml odměrné baňky a doplní se po rysku $0,6 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HClO}_4$. Suspenze byla zfiltrována přes papírový filtr a bylo přidáno 100 μl vnitřního standardu (1, 7 – heptandiaminu v koncentraci 500 mg/l).

U kapalných vzorků byl vzorek smíchán s $1,2 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HClO}_4$ v poměru 1:1. Poté byla provedena derivatizace, která je popsána níže.

Derivatizace:

Z připraveného roztoku, který obsahoval analyzovaný vzorek a vnitřní standard bylo odpipetován 1 ml do derivatizační nádoby a bylo přidáno 1,5 ml karbonátového pufru s pH 11,1 – 11,2. Bylo přidáno 2 ml čerstvě připraveného roztoku dansylchloridu o koncentraci 5 g.l^{-1} v acetonu. Derivatizační nádoby byly dobře uzavřeny a byly třepány v temno po dobu 20 hodin. Bylo přidáno 200 μl roztoku prolinu a byly opět třepány další jednu hodinu. Byly přidány 3 ml heptanu a byly třepány 3 minuty ručně. Byl odpipetován 1 ml heptanové

vrstvy do vialky. Vialky byly odpařovány při 60 °C do sucha pod proudem dusíku a suchý odparek byl zředěn 1,5 ml acetonitrilu.

Výběr nejlepšího postupu pro derivatizaci se provádí tak, že se zkoumají vlivy derivatizační teploty, času a koncentrace dansylchloridu na výstupu reakce. Je možnost provádět derivatizaci při vyšší teplotě, protože vysoká teplota podporuje derivatizační reakci a proces je ukončen v kratší době [29].

Vzhledem k tomu, že deriváty jsou citlivé na světlo, měla by být reakce provedena ve tmě. Je možné použít alkalický pufr o pH 11,0, která probíhá při pokojové teplotě. Účinnost reakce je tedy vyšší a riziko rozkladu derivátů je nízký při teplotě 20 °C [29].

Množství dansylchloridu, který se přidal, bylo 4 – 12 mg na 1 – 2 ml z vyrovnávací paměti extraktu vzorku. Optimální množství pro reakci je 8 mg dansylchloridu na 1 – 2 ml [29].

Příprava uhličitanového pufru:

Padesát mililitrů roztoku A (NaHCO_3 o koncentraci $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) se smísí s 12 ml roztoku B (Na_2CO_3 o koncentraci $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$). Hodnota pH se potom upraví na 9,2 přidáním malého objemu (cca 0,5 ml) roztoku B [28].

Před derivatizací 16,65 g K_2CO_3 se rozpustí v 50 ml předem připraveného pufru (pH 9,2). Hodnota pH se tím zvýší na 11,0 až 11,1. Tento uhličitanový pufr musí být pro derivatizaci připraven čerstvý [28].

Eluce:

Vlastní chromatografická separace byla provedena s použitím mobilních fází A (100 % acetonitril) a B (10 % acetonitril) a gradientové eluce podle následujícího programu:

Tab.: 1: Eluce 10 % a 100 % acetonitrilu v ml

Čas [min]	10 % ACN	100 % ACN
0	39	61
0,1	39	61
1,4	30	70
3,5	17	83
4,0	0	100
9,5	0	100
11,5	39	61
15,5	39	61

Kolona: Agilent Eclipse Plus C18 RRHD a rozměr 3,0 x 50 mm.

Rychlost průtoku mobilní fáze byla $0,45 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ a během analýzy byla konstantní. Teplota kolony se udržovala pomocí termostatu na $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Objem nástřiku vzorků byl $5 \mu\text{l}$. Jednotlivé analyty byly detekovány při vlnové délce 254 nm (Dadáková a kol., 2009).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Ze směsi standardů byly biogenní aminy detekovány v následujícím pořadí: tryptamin, fenylethylalanin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

V tabulkách, které jsou níže uvedené (Tabulky 2 – 5) jsou zapsány průměrné obsahy jednotlivých biogenních aminů a k nim příslušná směrodatná odchylka u vzorků kysaného zelí, kvašených okurků a Worcesteru. Tabulky 2 – 7 jsou v jednotkách $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ získané hmoty. Tabulky 8 – 9 jsou v jednotkách mg/l v získané hmotě.

Biogenní aminy byly zjišťovány v různém množství a širokém rozpětí. Nejčastěji a nejvíce detekovaný byl biogenní amin putrescin, přičemž nejvíce ho obsahovalo kysané zelí, které bylo získáno z obchodních řetězců. Toto mohlo být způsobeno obsahem soli, hodnotou pH nebo teplotou).

Vzorek, který obsahoval nejméně biogenních aminů, byl Worcester. U těchto vzorků byly detekovány biogenní aminy putrescin, tyramin, spermidin a spermin. Naopak biogenní aminy tryptamin, fenylethylamin, kadaverin a histamin nebyly detekovány.

5.1.1 Kysané zelí

Celkem bylo odebráno 25 vzorků zelí, přičemž 14 vzorků bylo odebráno z tržní sítě a 11 vzorků z domácí produkce. Tyto vzorky byly uschovány v lednici při 4 ± 1 °C po dobu 4 měsíců a následně byly lyofilizovány.

Vzorky kysaného zelí A (A1 – A14) pocházejí z různých obchodních řetězců. U těchto vzorků byly stanovovány koncentrace 8 biogenních aminů. Biogenní aminy, které byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

Tab. 2: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaného z obchodních řetězců

Vzorky	TRM	PEA	PUT	CAD
A 1	ND	15,9±0,6	1732,0±57,1	233,7±14,8
A 2	ND	17,4±0,6	693,5±34,2	55,8±2,2
A 3	ND	9,7±0,4	1800,7±128,9	224,9±14,0
A 4	ND	21,4±1,3	1667,3±101,0	51,7±1,6
A 5	ND	19,0±1,3	4011,3±216,4	76,5±4,2
A 6	ND	13,4±0,8	2351,8±78,8	226,2±9,2
A 7	ND	4,7±0,2	438,3±22,8	123,3±7,5
A 8	ND	3,5±0,2	383,6±20,1	6,2±0,3
A 9	ND	10,7±0,4	1606,0±101,4	220,3±7,6
A 10	ND	4,6±0,3	1020,7±36,5	204,5±6,0
A 11	ND	14,6±0,8	419,4±34,5	29,1±1,0
A 12	ND	6,0±0,2	229,3±12,8	41,8±1,9
A 13	ND	ND	661,3±29,5	114,1±5,9
A 14	ND	5,3±0,2	1211,6±63,6	21,7±1,6

TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, ND – nedetekovaný.

Tab. 3: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaného z obchodních řetězců

Vzorky	HIM	TYM	SPD	SPM
A 1	319,7±20,1	322,8±14,2	26,4±1,6	15,0±1,1
A 2	295,1±9,4	437,9±23,5	28,1±0,9	19,4±0,8
A 3	330,9±14,1	359,1±15,3	21,0±1,3	18,6±1,0
A 4	330,6±18,0	395,4±14,8	33,1±2,1	16,0±0,9
A 5	390,5±19,4	428,8±19,5	22,3±0,8	15,2±1,1
A 6	251,4±17,2	336,5±20,1	22,7±0,7	17,2±0,7
A 7	179,3±10,5	243,9±11,7	31,3±1,4	19,5±1,1
A 8	120,6±2,7	153,3±6,4	17,3±1,3	14,3±0,4
A 9	224,6±15,2	296,4±14,2	27,3±2,3	16,4±0,8
A 10	168,8±8,2	237,9±7,9	32,6±1,4	24,2±1,2
A 11	168,1±7,1	741,1±39,2	14,8±0,7	12,0±0,6
A 12	49,3±2,0	231,6±9,9	7,6±0,4	18,9±1,2
A 13	190,8±8,9	218,8±9,5	9,3±0,5	9,0±0,2
A 14	310,0±9,9	324,8±12,7	13,3±0,5	4,6±0,3

HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, ND – nedetekovaný.

V tabulce 2 a 3, které je uvedené výše, jsou znázorněny obsahy biogenních aminů v kysaném zelí z obchodních řetězců. Z biogenních aminů byl nejvíce zastoupen putrescin u vzorku A5 (4011,3 mg.kg⁻¹). Tato hodnota je velmi vysoká. Můžeme tedy říct, že tento biogenní amin může způsobit zdravotní problémy. Například toxicitu, při konzumaci kysaného zelí ve větším množství.

Druhý nejvíce zastoupený biogenní amin byl tyramin u vzorku A5 (428,8 mg.kg⁻¹). Tato hodnota je výrazně nižší než hodnota putrescinu, ovšem je stále vysoká.

Největší množství histaminu bylo u vzorku A5 (390,5 mg.kg⁻¹). Toto množství je nižší, než u biogennímu aminu tyraminu. Ale přesto je toto množství dostatečně vysoké aby mohl způsobit zdravotní obtíže. Největší množství kadaverinu bylo u vzorku A1 (233,7 mg.kg⁻¹).

Nejméně zastoupený biogenní aminy byly tryptamin, fenylethylamin, spermidin a spermin. Biogenní amin tryptamin nebyl u žádného vzorku detekován. Spermidin byl detekován v nejvyšším množství u vzorku A 10 ($32,6 \text{ mg.kg}^{-1}$). Spermin byl detekován v nejvyšším množství u vzorku A 10 ($24,2 \text{ mg.kg}^{-1}$). Fenylethylamin byl detekován v nejvyšším množství u vzorku A4 ($21,4 \text{ mg.kg}^{-1}$). Všechny zmíněné vzorky byly detekovány v malých množstvích. Toto množství by nemělo být pro člověka nebezpečné.

Vzorky kysaného zelí A (15 – 25) pocházejí z domácí produkce. Vzorky byly vyrobeny v domácnostech a byly fermentovány bez použití startovacích kultur. Toto zelí bylo fermentováno za pomoci přirozené mikroflóry, soli, kmínu a cibule. U těchto vzorků bylo stanoveno 8 biogenních aminů. Biogenní aminy, které byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

Tab. 4: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaných z domácí produkce

Vzorky	TRM	PEA	PUT	CAD
A 15	ND	$3,4 \pm 0,2$	$880,6 \pm 55,9$	$154,3 \pm 3,9$
A 16	ND	$2,3 \pm 0,1$	$196,4 \pm 10,7$	$16,6 \pm 0,6$
A 17	ND	$6,7 \pm 0,3$	$575,5 \pm 23,5$	$7,7 \pm 0,4$
A 18	ND	$18,6 \pm 0,8$	$646,8 \pm 16,8$	$132,4 \pm 11,4$
A 19	ND	$13,6 \pm 0,7$	$438,1 \pm 14,0$	$11,3 \pm 0,6$
A 20	ND	$3,1 \pm 0,2$	$139,2 \pm 10,9$	$39,3 \pm 2,0$
A 21	ND	$29,1 \pm 1,9$	$984,4 \pm 38,0$	$258,7 \pm 10,5$
A 22	ND	$3,3 \pm 0,1$	$452,3 \pm 25,8$	$35,9 \pm 2,0$
A 23	ND	$1,9 \pm 0,1$	$32,2 \pm 1,2$	$16,6 \pm 1,4$
A 24	ND	$2,5 \pm 0,1$	$796,3 \pm 13,3$	$102,5 \pm 5,8$
A 25	ND	$12,3 \pm 0,4$	$735,8 \pm 13,0$	$45,2 \pm 1,9$

TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, ND – nedetekovaný.

Tab. 5: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaných z domácí produkce

Vzorky	HIM	TYM	SPD	SPM
A 15	206,3±10,0	329,3±19,5	6,8±0,3	8,7±0,7
A 16	270,1±16,1	87,4±5,6	6,4±0,3	36,7±1,3
A 17	331,9±15,6	363,4±17,8	6,4±0,3	21,9±1,6
A 18	312,9±6,1	721,7±24,7	16,5±0,6	10,6±0,6
A 19	63,1±2,3	413,0±14,5	12,9±1,1	15,1±1,0
A 20	177,7±8,2	162,5±6,4	5,8±0,3	30,1±0,9
A 21	696,8±35,5	862,2±30,5	15,3±0,5	13,1±0,7
A 22	181,6±8,6	193,7±9,9	6,8±0,4	7,3±0,3
A 23	240,1±9,6	34,9±2,1	4,5±0,1	50,3±4,9
A 24	54,0±1,7	90,7±4,6	8,8±0,4	44,1±2,1
A 25	689,9±33,0	561,3±34,6	14,8±0,5	25,7±1,6

HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, ND – nedetekovaný.

Tabulky 4 a 5 znázorňují obsahy biogenních aminů v kysaném zelí z domácí produkce. Z biogenních aminů je nejvíce zastoupený putrescin u vzorku A 21 (984,4 mg.kg⁻¹), tyramin A 21 (862,2 mg.kg⁻¹) a histamin A 21 (696,8 mg.kg⁻¹). Tyto množství jsou vysoké a mohou způsobit různé zdravotní komplikace. Například bušení srdce. Vysoké množství může být způsobeno vyšším pH nebo vyšší teplotou při skladování.

Nejméně zastoupený biogenní amin byl spermin A 24 (44,1 mg.kg⁻¹), fenylethylamin A 21 (29,1 mg.kg⁻¹) a spermidin A 18 (16,5 mg.kg⁻¹). Biogenní amin tryptamin nebyl detekován v žádném vzorku. Toto množství biogenních aminů je nízké a u zdravého člověka by neměli vyvolat zdravotní problémy [11]. Vliv na obsah biogenních aminů, může mít také ethanol. Ethanol snižuje tvorbu biogenních aminů tak, že inhibuje přítomné mikroorganismy.

Výsledky byly srovnány s literaturou Kalače a kolektiv, zabývající se studiem obsahu biogenních aminů v kysaném zelí během skladování po dobu dvanácti měsíců. Některé hodnoty v bakalářské práci jsou velmi rozdílné oproti již zmíněné literatuře. Podle Kalač

a kolektiv jsou například hodnoty histaminu a sperminu nedetekované, zatímco v bakalářské práci jsou hodnoty detekované ve všech vzorcích. Hodnoty putrescinu jsou v bakalářské práci mnohonásobně vyšší než podle Kalač a kolektiv. Podle literatury Kalač a kolektiv tryptamin nebyl detekován. Tyto výsledky se shodují s výsledky v bakalářské práci. Hodnoty tyraminu a spermidinu jsou v bakalářské práci detekovány v širokém rozmezí. Podle literatury Kalač a kolektiv byly zjištěny přibližně stejné hodnoty.

5.1.2 Fermentované okurky

Vzorky A (26 – 27) pochází z obchodních řetězců. Vzorek B_x pochází z domácí produkce. U těchto vzorků bylo stanoveno 8 biogenních aminů. Biogenní aminy, které byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

Tab. 6: Obsah biogenních aminů vzorků fermentovaných okurek

Vzorky	TRM	PEA	PUT	CAD
B 26	ND	ND	25,1±1,3	ND
B 27	ND	ND	14,3±0,7	ND
B_x	ND	ND	38,8±1,8	ND

TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, ND – nedetekovaný.

Tab. 7: Obsah biogenních aminů vzorků fermentovaných okurek

Vzorky	HIM	TYM	SPD	SPM
B 26	ND	24,7±0,8	15,4±0,7	19,7±0,9
B 27	ND	152,6±7,3	5,4±0,3	13,5±0,6
B_x	ND	ND	31,6±2,3	68,1±5,1

HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, ND – nedetekovaný.

Tabulky 6 - 7 znázorňují obsah biogenních aminů ve fermentovaných okurkách. Biogenní aminy tryptamin, fenylethylamin, kadaverin a histamin nebyly detekovány. Z biogenních aminů byl nejvíce zastoupený tyramin u vzorku B 27 (152,6 mg.kg⁻¹).

Nejvyšší obsah sperminu bylo u vzorku B 28 ($68,1 \text{ mg.kg}^{-1}$). Nejvyšší obsah putrescinu bylo u vzorku B 28 ($38,8 \text{ mg.kg}^{-1}$). Spermidin byl detekován v nejnižším množství B 28 ($31,6 \text{ mg.kg}^{-1}$). Nízký obsah biogenních aminů může být způsobený nízkým pH. Vliv na nízké množství biogenních aminů může mít obal, ve kterém byly vzorky uschovány. Obal byl hermeticky uzavřen. Tento obal mohl zabránit kontaminaci nežádoucími bakteriemi, které by produkovaly enzym dekarboxylasu a tento enzym by přispěl k rozvoji biogenních aminů.

5.1.3 Fermentované ochucovadlo Worcester

Vzorky C (29 – 34) pocházejí z obchodních řetězců. U těchto vzorků bylo stanovení 8 biogenních aminů. Biogenní aminy, byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin. Worcester je tekuté dochucovadlo, které se používá k dochucení různých pokrmů.

Tab. 8: Obsah biogenních aminů vzorků Worcesteru

Vzorky	TRM	PEA	PUT	CAD
C 29	ND	ND	$2,5 \pm 0,0$	ND
C 30	ND	ND	$4,2 \pm 0,2$	ND
C 31	ND	ND	$4,1 \pm 0,2$	ND
C 32	ND	ND	$4,4 \pm 0,1$	ND
C 33	ND	ND	$2,9 \pm 0,2$	ND
C 34	ND	ND	$2,0 \pm 0,1$	ND

TRM – tryptamin, PEA – fenylethylamin, PUT – putrescin, CAD – kadaverin, ND – nedetekovaný.

Tab. 9: Obsah biogenních aminů vzorků Worcesteru

Vzorky	HIM	TYM	SPD	SPM
C 29	ND	4,0±0,3	2,7±0,1	1,8±0,1
C 30	ND	8,4±0,3	5,2±0,3	6,9±0,3
C 31	ND	3,0±0,1	5,5±0,3	7,9±0,3
C 32	ND	2,0±0,1	4,1±0,3	4,3±0,2
C 33	ND	1,7±0,1	2,9±0,2	3,6±0,1
C 34	ND	5,6±0,3	5,1±0,2	4,5±0,1

HIM – histamin, TYM – tyramin, SPD – spermidin, SPM – spermin, ND – nedetekovaný.

Tabulky 8 - 9 znázorňují obsah biogenních aminů ve fermentovaném ochucovadle Worcesteru. Ze všech výše zmíněných vzorků obsahoval nejnižší množství biogenních aminů. Biogenní aminy tryptamin, fenylethylamin, kadaverin a histamin nebyly ve vzorcích detekovány. Z uvedených biogenních aminů byl nejvíce zastoupený tyramin u vzorku C 30 (8,4 mg.kg⁻¹). Naopak nejméně zastoupený byl putrescin u vzorku C 32 (4,4 mg.kg⁻¹). Podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 331/1997 Sb., v platném znění studená omáčka musí mít nejvýše pH 4,5. Hodnota pH výrazně ovlivňuje produkci biogenních aminů. Nízké pH inhibuje růst mikroorganismů, zároveň stimuluje produkci enzymu dekarboxylasy. Fermentované ochucovadlo Worcester obvykle obsahuje max. 6 - 16 % soli. Chlorid sodný také ovlivňuje aktivitu enzymu dekarboxylasy [30]. Nebyly nalezeny publikace pojednávající o obsahu biogenních aminů u fermentovaných ochucovadel Worcester, proto srovnání s literaturou nebylo provedeno.

ZÁVĚR

Byl stanoven obsah biogenních aminů u fermentovaných potravin rostlinného původu. Analyzované vzorky, které byly použity v této bakalářské práci, bylo kysané zelí, fermentované okurky a fermentované ochucovadlo Worcester. Biogenní aminy, které byly stanovovány, byly tryptamin, fenylethylamin, putrescin, kadaverin, histamin, tyramin, spermidin a spermin.

- BA tryptamin nebyl detekován u žádného ze vzorků
- BA putrescin se vyskytoval v největším množství ze všech biogenních aminů
- obsah BA sperminu a spermidinu byl detekován v malém množství u všech vzorků
- BA fenylethylamin byl detekován pouze u vzorků zelí
- kysané zelí obsahovalo nejvyšší množství putrescinu
- BA kadaverin se vyskytl pouze u vzorků kysaného zelí a to v poměrně širokém rozmezí
- U kysaných okurek a Worcesteru se BA tyramin vyskytoval v malém množství
- BA kadaverin se u kysaných okurek a Worcesteru nevyskytoval

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Yongmei, L., Xiaohong, Ch., Mei, J., Chao, L., Mingsheng, D.: A survey of biogenic amines in Chinese rice wines, *Food chemistry* [online], 2007, vol. 100, issue 4, p. 1424 – 1428 [cit. 2015-04-29]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.11.035

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814605010782>

[2] Gabriela Zorníková, Biogenní aminy v potravinách, Vědci pro průmysl a praxi [online] [15-05-05].

Dostupný z: <http://www.chempoint.cz/biogenni-aminy-v-potravinach>

[3] Alvarez, M. A., Arribas, M. V. M.: The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganism as a solution, *Trends in Food Science & Technology*, [online]. 2014, vol. 39, issue 2, p. 146 – 155 [cit. 2015-02-03]. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.07.007

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224414001599>

[4] Informační centrum Ministerstva zemědělství, A-Z Slovník pro spotřebitele [online] 5. 5. 2015 [cit. 2015-05-05]

Dostupný z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76472.aspx>

[5] Loret, S., Deloyer, P., Dandrifosse, G.: Levels of biogenic amines as a measure of the quality of the beer fermentation proces: Data from Belgian samples, *Food chemistry* [online], 2005, vol. 89, issue 4, p. 519 – 525 [cit. 2015-04-23]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.010

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814604002365>

[6] Silla Santos, M.H.: Biogenic amines: their importance in foods, *International Journal of Food Microbiology* [online], 1996, vol. 29, issue (2–3), p. 213–231 [2016-02-02]. DOI: 10.1016/0168-1605(95)00032-1

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/0168160595000321>

[7] Glória M.B.A.: Amines, *Encyclopedia of food sciences and nutrition* (Second edition) [online], 2003, p. 173 – 181 [2016-02-04]. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/00037-7

Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/B012227055X000377>

[8] Ercan S. S., Bozkurt H., Soysal C.: Significance of biogenic amines in Foods and Their Reduction Methods, *Journal of Food Science and Engineering* [online], 2013, vol. 3, p. 395-410 [cit. 2015-02-05]

Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1465374443?pq-origsite=summon>

[9] Naila A., Flint S., Fletcher G., Bremer P., Meerdink G.: Control of Biogenic Amines in Food – Exciting and Emerging Approaches, *Journal of food science* [online], 2010 vol. 75, issue 7, p. 139 – 150 [cit. 2015-02-05]. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01774.x

Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2010.01774.x/full>

[10] Lonvaud-Funel A.: Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Letters* [online], 2001, vol. 199, issue 1, p. 9-13 [cit. 20 15-03-05]. DOI: 10.1016/S0378-1097(01)00157-4

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378109701001574>

[11] Alvarez M. M., Moreno-Arribas M. V.: The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganism as a solution, *Trends in Food Science & Technology* [online], 2014, vol. 39, issue 2, p. 146-155 [cit. 2015-03-06]. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.07.007

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224414001599>

[12] Regianne, M. L. R., ATKINSON S.: Performance of the local health system and contingent influences in Northeast-Brazil: breaking vicious and virtuous circles. *Ciência & Saúde Coletiva* [online], 2013, vol. 18, issue 11, p. 3431-3442 [cit. 2015-02-06] DOI: 10.1590/s1413-81232013001100032.

Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232014000401123&lng=pt&nrm=iso&tlng=en

[13] Park, J. S., Lee, C. H., Kwon, E. Y., Lee, H. J., Kim, J. Y., Kim, S. H.: Monitoring the contents of biogenic amines in fish and fish products consumed in Korea, *Food Control* [online], 2010, vol. 21, issue 9, p. 1219-1226 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.02.001

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713510000435>

[14] Gounadaki, A., Skandamis, P. N., Nychas G. J.: Fermented meats, *Department of Food Science* [online], p. 129 – 155, [cit. 15-04-25],

Dostupný z:

https://app.knovel.com/web/view/swf/show.v/rcid:kpMHMPE002/cid:kt00AAWHV2/viewerType:pdf/root_slug:microbiology-handbook-

2?cid=kt00AAWHV2&page=26&q=formation%20biogenic%20amines%20microorganism
&b-q=formation%20biogenic%20amines%20microorganism&sort_on=default&b-
subscription=TRUE&b-group-by=true&b-search-type=tech-reference&b-sort-on=default

[15] Landete J. M., de las Rivas B., Marcobal A., Munoz R.: Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods, *International Journal of Food Microbiology* [online], 2007, vol. 117, issue 3, p. 258-269 [cit. 2015-03-05]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.05.001

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507002644>

[16] Penas E., Frias J., Sidro B., Vidal-Valverde C.: Impact of fermentation conditions and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut, *Food chemistry* [online], 2010, vol. 123, issue 1, p. 143-150 [cit. 2015-03-07]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.021

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610004772>

[17] Vyhláška č 157/2003 Sb., která stanovuje požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovnou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označení.

Dostupný z:

<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006197&docType=ART&nid=11816>

[18] Kamda, A. G. S., Ramos, C. L., Fokou, E., Duarte, W. F., Mercy, A., Germain, K., Dias, D. R., Schwan, R. F.: In vitro determination of volatile compound development during starter culture-controlled fermentation of Cucurbitaceae cotyledons, *International Journal of Food Microbiology* [online], 2015, vol. 192, p. 58-65 [cit. 2015-03-09]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.030

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160514004930>

[19] Bachmann, H., Pronk, J. T., Kleerebezem, M., Teusink, B.: Evolutionary engineering to enhance starter culture performance in food fermentations, *Current Opinion in Biotechnology* [online], 2015, vol. 32, p. 1-7 [cit. 2015-03-07].

DOI: 10.1016/j.copbio.2014.09.003

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166914001633>

[20] Leroy, F., De Vuyst, L.: Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology* [online], 2004, vol. 15, issue 2, p. 67-78 [cit. 2015-02-28]. DOI: 10.1016/j.tifs.2003.09.004

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224403002085>

[21] SABOUR, P., M., GRIFFITHS, M.: *Bacteriophages in the control of food- and waterborne pathogens*. Washington [Wash.]: ASM Press, c2010. ISBN 978-1-55581-502-8. ISBN 9781555815028.

Dostupné z: <https://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpBCFWP006/viewerType:toc>

[22] Shukla, S., Park, H., Lee, J., Kim, J., Kim, M.: Reduction of biogenic amines and aflatoxins in Doenjang samples fermented with various Meju as starter cultures, *Food Control* [online], 2014, vol. 42, p. 181-187 [cit. 2015-03-01]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.02.006

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514000656>

[23] PALOMINO, J. M., ÁRBOL J. T., BENOMAR, N., ABRIOUEL, CAÑAMERO H., M. M., GÁLVEZ, A., PULIDO R. P.: Application of *Lactobacillus plantarum* Lb9 as starter culture in caper berry fermentation. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2015, vol. 60, issue 2, s. 788-794 [cit. 2015-03-02]. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.09.061

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814006173>

[24] Al-Safadi, B., Elias, R.: Improvement of caper (*Capparis spinosa* L.) propagation using in vitro culture and gamma irradiation, *Scientia Horticulturae* [online], 2011, vol. 127, issue 3, p. 290-297 [cit. 2015-03-10]. DOI: 10.1016/j.scienta.2010.10.014

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423810004784>

[25] Rabie, M. A., Siliha, H., El-Saidy, S., El-Badaway, A. A., Maltaca, F. X.: Reduced biogenic amine contents in sauerkraut via addition of selected lactic acid bacteria, *Food chemistry* [online], 2011, vol. 129, issue 4, p. 1778-1782 [cit. 2015-03-08]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.05.106

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611008090>

[26] Johanningsmeier, S. D., McFeeters, R. F.: Metabolism of lactic acid in fermented cucumbers by *Lactobacillus buchneri* and related species, potential spoilage organism in reduced salt fermentations, *Food Microbiology* [online], 2013, vol. 35, issue 2, p. 129-135 [cit. 2015-02-26]. DOI: 10.1016/j.fm.2013.03.004

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002013000543>

[27] Gao, Y., Li, D., Liu, S., Zhang, L.: Garviecin LG34, a novel bacteriocin produced by *Lactococcus garvieae* isolated from traditional Chinese fermented cucumber, *Food Control* [online] 2015, vol. 50, p. 896-900 [cit. 2015-03-01]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.10.040

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514006227>

[28] Dadáková, E., Křížek, M., Pelikánová, T.: Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC), *Food chemistry* [online], 2009, vol. 116, p. 365 – 370. [cit. 2015-04-26]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.02.018

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814609002040>

[29] Yongmei, L., Xiaohong, Ch., Mei, J., Chao, L., Mingsheng, D.: A survey of biogenic amines in Chinese rice wines, *Food chemistry* [online], 2007, vol. 100, issue 4, p. 1424 – 1428 [cit. 2015-04-29]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.11.035

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814605010782>

[30] Vyhláška č.331/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č.110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, pro koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky a ochucovadla a hořčici.

Dostupný z:

<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1007472&docType=ART&nid=11816>

[31] Beganovic, J., Kos, B., Pavunc, A. L., Uroic, K., Jokic, M., Šuškovc, J.: Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures, *Microbiological Research* [online], 2014, vol. 169, issues 7 – 8, p. 623 – 632, [cit. 16-04-01].

DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.015

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0944501313001687>

[32] Xiong, T., Li, X., Guan, Q., Peng, F., Xie, M.: Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses, *Food control* [online], 2014, vol. 41, p. 122 – 127, [cit. 2016-04-01]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.12.033

Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0956713514000036>

[33] Wunderlichová, L., Buňková, L., Koutný, M., Jančová, P., Buňka, F.: Formation, degradation, and detoxification of putrescine by foodborne bacteria: A review, *Food science and food safety* [online], 2014, vol. 13, issue 5, p. 1012-1030 [cit. 2016-04-02].

DOI: 10.1111/1541-4337.12099

Dostupný z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12099/abstract>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MAO	Monoaminoxidáza
DAO	Diaminoxidáza
°C	Stupeň Celsia
LAB	Bakterie mléčného kvašení
tzv.	Tak zvané
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie
TRY	Tryptamin
PEA	Fenylethylamin
PUT	Putrescin
CAD	Kadaverin
HIS	Histamin
TYR	Tyramin
SPD	Spermidin
SPM	Spermin
ND	Nedetekovaný

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Vzorce biogenních aminů.....	12
Obr. 2: Vznik histaminu a), tyraminu b) a putrescinu c)	14
Obr. 3: Metabolismus putrescinu u gramnegativních bakterií (A), metabolismus putrescinu u grampozitivních bakterií (B)	15
Obr. 4: <i>Capparis spinosa</i>	30

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Průtok 10 % a 100 % a acetonitrilu v ml	38
Tabulka 2: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaného z obchodních řetězců	40
Tabulka 3: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaného z obchodních řetězců	41
Tabulka 4: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaných z domácí produkce...	42
Tabulka 5: Obsah biogenních aminů vzorků kysaného zelí získaných z domácí produkce...	43
Tabulka 6: Obsah biogenních aminů vzorků fermentovaných okurek	44
Tabulka 7: Obsah biogenních aminů vzorků fermentovaných okurek	44
Tabulka 8: Obsah biogenních aminů vzorků Worcesteru	45
Tabulka 9: Obsah biogenních aminů vzorků Worcesteru	46