

# **Monitoring obsahu biogenních aminů v rybách získaných z provozů společného stravování**

Bc. Karel Valouch

---

Diplomová práce  
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Karel VALOUCH**  
Osobní číslo: **T090573**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Monitoring obsahu biogenních aminů v rybách získaných z provozů společného stravování**

Zásady pro vypracování:

### V teoretické části:

1. Charakterizujte sladkovodní a mořské ryby, které slouží jako surovina pro výrobu potravin a pokrmů.
2. Blíže charakterizujte vybrané druhy ryb, které budete využívat jako vzorky při zpracování praktické části.
3. Stručně popište technologii zpracování ryb.
4. Charakterizujte biogenní aminy a zaměřte se na jejich potenciální toxicitu pro člověka a jejich výskyt v rybách.

### V praktické části

1. Z podniků společného stravování odeberte vzorky ryb určených pro kulinární úpravu.
2. Stanovte v těchto vzorcích obsah biogenních aminů.
3. Na základě naměřených výsledků formulujte závěry, které diskutujte se soudobou literaturou.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. INGR I.: *Jakost a zpracování ryb*. 2. vyd. Brno, MZLU v Brně, 2010, 102 s. ISBN 978-80-7375-382
2. SVOJTKA a kol.: *Ryby a mořské plody*, 1. vyd. Praha, Svojtka a kol., 2007, 320 s. ISBN 978-80-7352-804-1
3. AL BULUSHI, Ismail, et al.: *Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation ? A Review*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009, 49, s. 369-377
4. SILLA-SANTOS, M.H.: *Biogenic amines: their importance in foods*. *Int. J. of Food Sci.* 29, 1996, p. 213-231

Vedoucí diplomové práce:

**MUDr. Pavel Budinský, Ph.D.**

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

**25. února 2011**

Termín odevzdání diplomové práce:

**20. května 2011**

Ve Zlíně dne 21. března 2011

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Valouch Karel

Obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

## 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 obhajoby <sup>1)</sup>;
- 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. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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, 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.

Ve Zlíně dne 17. května. 2011



.....

<sup>1)</sup> 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 nevydělečně 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.

<sup>2)</sup> 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 vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> 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). Odpirá-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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

V diplomové práci byl monitorován obsah biogenních aminů v rybím mase získaném z restauračních provozů na území Jihomoravského kraje. V teoretické části se uvádí základní charakteristika rybích druhů s přihlédnutím k jejich zpracování a dále charakteristika biogenních aminů s ohledem na jejich výskyt a vliv na zdraví konzumentů. Praktická část se zabývá sběrem vzorků rybího masa a jeho následné analýzy, jež byla provedena iontovýměnou chromatografií pomocí sodno-citrátových pufrů, postkolonové ninhydrinové derivatizace a fotometrické detekce pomocí automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400. Analýzou vzorků bylo zjištěno, že u 14 % vzorků nebyl detekován obsah biogenních aminů, z čehož vyplývá, že 24 vzorků z celkových 28 bylo pozitivních na přítomnost biogenních aminů. Jako nejčastější kombinace biogenních aminů lze uvést kombinaci putrescin, spermindin, spermin, která se vyskytuje u 13 z 28 analyzovaných vzorků. Druhou nejčastější zjištěnou u 6 vzorků, byla kombinace putrescin, kadaverin, spermidin, spermin. Nejhojněji zastoupený biogenní amin s hodnotou až 3400 mg/kg byl stanoven histamin. Při pokusu bylo zjištěno porušení legislativních limitů u 6 vzorků.

Klíčová slova: biogenní aminy, histamin, kadaverin, putrescin, scombroidní ryby

## **ABSTRACT**

In this thesis was focused the content of biogenic amines in fish meat taken from restaurants in South Moravia region. In the theoretical part are described basic characteristics of fish kinds reflecting their processing and also characteristic of biogenic amines reflecting their occurrence and influence on consumer health. Practical part is focused on collection of samples of fish meat and it's analyzing, which was made by using ion-exchange chromatography using sodium-citrate buffers, post-column nitrohydrin derivatization and photometric detection using automatic analyzer of amino acids AAA 400. By analyze of samples was found out that in 14% of samples wasn't detected any biogenic amines content. This indicates that 24 samples of 28 were positive to biogenic amines content. As the most common combination of biogenic amines we can list combination of putrescine, spermindine, spermine, which was found in 13 of 28 analyzed samples. Second most common combination was combination of putrescine, cadaverine, spermindine and spermine which

was found in 6 of 28 analyzed samples. Histamine was signed as the most common biogenic amine with it's value 3400 mg/kg. The legislative limit exceeding was found for 6 samples.

Keywords: biogenic amines, histamine, kadaverine, putrescine, scombroid fish

Chci poděkovat svému vedoucímu diplomové práce, MUDr. Pavlu Budinskému, Ph.D. a panu doc. Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D., za cenné připomínky a velkou dávku trpělivosti.

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

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků, je-li uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně dne 17. května. 2011





# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA RYB</b> .....	<b>13</b>
<b>2 DRUHY RYB</b> .....	<b>17</b>
2.1 ROZDĚLENÍ RYB .....	17
2.1.1 Kostnaté ryby (Osteichthyes) .....	17
2.1.2 Chrupavčité ryby (Chondrichthyes) .....	17
2.2 SYSTEMATICKÉ DĚLENÍ RYB .....	18
<b>3 ZPRACOVÁNÍ RYB</b> .....	<b>24</b>
3.1 ZÁKLADNÍ TECHNOLOGICKÉ OPERACE PŘI ZPRACOVÁNÍ RYB.....	26
3.2 SEPARACE MASA .....	27
3.3 ZPRACOVÁNÍ MOŘSKÝCH RYB .....	28
<b>4 BIOGENNÍ AMINY</b> .....	<b>29</b>
4.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ TVORBU BIOGENNÍCH AMINŮ A VÝSKYT V POTRAVINÁCH .....	30
4.2 VÝZNAM BIOGENNÍCH AMINŮ V ORGANISMU .....	33
4.3 BIOGENNÍ AMINY A LEGISLATIVA .....	35
4.4 BIOGENNÍ AMINY V RYBÁCH .....	36
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>39</b>
<b>5 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>40</b>
<b>6 MATERIÁL A METODIKA</b> .....	<b>41</b>
6.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ .....	41
6.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ .....	43
<b>7 VÝSLEDKY</b> .....	<b>45</b>
7.1 VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ OBSAHU U SKUPINY A.....	45
7.2 VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ OBSAHU U SKUPINY B .....	46
7.3 VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ OBSAHU U SKUPINY C.....	47
7.4 VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ OBSAHU U SKUPINY D.....	48
<b>8 DISKUZE</b> .....	<b>50</b>
<b>9 ZÁVĚR</b> .....	<b>53</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>54</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>59</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>60</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>61</b>

<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>62</b>
---------------------------	-----------

## ÚVOD

Obliba ryb jako pokrmu a zejména dostupnost mnoha druhů mořských ryb u nás v posledních několika desetiletích pozvolna stoupá, byť by se jejich konzumace měla ještě zvýšit. Ryby a to zejména mořské, vynikají vysokou výživnou a biologickou hodnotou, jsou bohaté na cenné bílkoviny, minerální látky a vitaminy. Výživová doporučení pro většinu evropské populace předpokládají týdenní konzumaci jedné nebo dvou porcí energeticky bohatšího rybího masa (losos, makrela). Tato doporučení jsou založena na poznatech, že tučné ryby jsou vynikajícím zdrojem omega-3 mastných kyselin, které příznivě ovlivňují kardiovaskulární zdraví a rovněž i vývoj plodu. Ryby patří k posledním živočichům, kteří jsou loveni ve volné přírodě. Tímto však dochází k úbytku přírodních zdrojů, jelikož podíl ryb chovaných na rybích farmách je vůči podílu lovu divoce žijících druhů stále menší. Mezi nejčastěji chované druhy ryb patří například losos, pstruh duhový, kapr, okoun či tilapie, zatímco většinu ryb lovených tvoří sled, tuňák a makrela. V současné době tvoří dvě třetiny ryb dovážených do EU, ryby odlovené v mořích. Biogenní aminy mají důležitou fyziologickou roli u savců, ale vysoké množství některých exogenních aminů v lidské stravě může vyvolat široké spektrum toxických účinků. Tyto aminy jsou běžně k nalezení v mnoha potravinách, zejména ve fermentovaných, jako jsou sýry, masné výrobky, pivo, víno a také ryby. Intoxikace histaminem je hlavním zdravotním problémem spojeným s vysokým obsahem biogenních aminů v rybách, přičemž i další aminy, jako je putrescin nebo kadaverin, mohou být nebezpečné, protože zvyšují toxicitu histaminu. Vznik biogenních aminů v rybách je spjat se způsobem zpracování a skladování ryb podávaných v provozech společného stravování.

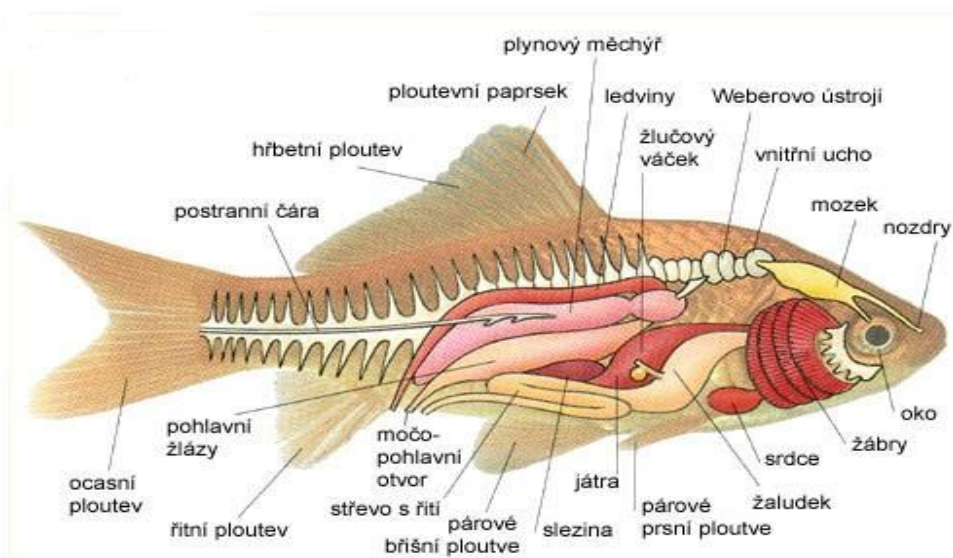
Hlavním cílem této práce bylo zmonitorovat obsah vybraných biogenních aminů ve vzorcích rybího masa získaných z provozoven společného stravování. Teoretická část spočívala v charakterizaci sladkovodních a mořských ryb, které slouží jako surovina pro výrobu potravin a pokrmů. Charakterizaci vybraných druhů ryb, které byly použity jako vzorky při zpracování praktické části a stručný popis technologie zpracování ryb. V neposlední řadě byla důležitá charakteristika biogenních aminů s přihlédnutím k jejich potenciální toxicitě pro člověka a jejich výskyt v rybách.

V praktické části byly získány vzorky sladkovodních a mořských ryb a některých dalších živočichů. V těchto produktech byl stanoven obsah vybraných biogenních aminů. Výsledky byly diskutovány s literárními údaji a vyvozeny závěry.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA RYB

Ryby jako tržně nejvyužívanější zástupci vodních živočichů představují vývojově nejstarší a současně nejpočetnější skupinu obratlovců na zemi. Ryby se dokáží tak dokonale přizpůsobit různým podmínkám prostředí, že je nalezneme ve všech typech vod, snad s výjimkou horkých vřidelných pramenů [45]. Rybí maso má obecně vynikající nutriční vlastnosti [36]. Ryby slouží jako zdroj vysoce kvalitních bílkovin, vitaminů a zdravých polynenasycených mastných kyselin. Navíc je mnoho druhů komerčně výhodných z důvodu jejich nízké ceny [6]. Sladkovodní a mořské rybářství spolu s akvakulturou dodávají lidstvu ročně 100 – 140 milionů tun ryb ke konzumním účelům, což podle údajů FAO představuje pro více než 2,6 miliardy lidí pokrytí přinejmenším 20% jejich průměrného příjmu živočišných bílkovin [11]. Produkční rybářství v ČR činilo v roce 2009 24 tisíce tun tržních ryb ročně, přičemž hrubá produkce rybářství v roce 2009 dosahovala podle českého statistického úřadu hodnoty 1,2 mld. Kč. Spotřeba rybího masa v ČR na osobu a rok činí k roku 2009 podle Českého statistického úřadu 5,9 kg/os/rok. V posledních 3 letech se tržní produkce nijak výrazně nemění. Dominantní na domácím trhu je kapr a z hlediska spotřeby je druhým nejvýznamnějším druhem pstruh. Ryby a výrobky z nich patří k nejvýznamnějším surovinám živočišného původu [18]. Obrázek 1 vyobrazuje anatomii sladkovodních ryb, za jejichž zástupce jsme zvolily kapra obecného.



Obr. 1. Schéma anatomie kapra obecného [59]

Kostra rybího těla sestává z lebky, páteře a z velkého počtu různě velkých a různě tvarovaných kostí a kůstek, které vyztužují celé tělo a ploutve [18].

Hlava je velmi výraznou částí rybího těla a postavením čelisti, velikostí a pozicí očí, přítomností trnů, pancířů, chapadel a vousků předurčuje charakter života a způsob výživy [14]. Hranici mezi hlavou a trupem tvoří rovina proložená koncem skřelového víčka, hranici mezi trupem a ocasním násadcem rovina před bází anální ploutve. Poměr mezi délkou hlavy, trupu a ocasu je druhově rozdílný, většinou je 1 : 2 : 1 [46]. Zuby mohou vznikat na nejrůznějších kostech ústní oblasti a u kostnatých ryb se vyskytují v různých tvarech [14].

Ploutve jsou kožní útvary zpevněné tvrdými (nevětvené) a měkkými (větvené) kostěnými paprsky, které u ryb nahrazují končetiny. Prsní ploutve jsou umístěny kaudálně nebo kaudovětrálně od žáber, udržují tělo v rovnováze. Břišní ploutve mají různou polohu v závislosti na ryším druhu a slouží k udržování rovnováhy. Hřbetní ploutev slouží hlavně k malým změnám směru pohybu, její velikost je druhově rozdílná. Řitní ploutev slouží jako směrové kormidlo. Ocasní ploutev tvoří společně se svalovinou trupu a ocasu hlavní lokomoční aparát ryby. Tuková ploutev je kožní řasa bez kostěných paprsků, umístěná mezi dorzální a anální ploutví.

Pohyb ryby probíhá pomocí vlnivého pohybu celého těla a pomocí ploutví. Pohyb je horizontální, začíná u hlavy a přechází až k ocasu [45].

Kůže ryb má mnoho funkcí. Ochraňuje organizmus ryb nejen mechanicky před možností poranění, ale vylučováním slizu vytváří ochrannou vrstvu vůči parazitům, zmenšuje též třecí odpor. Má funkci osmotické bariéry, vytváří ochranné zbarvení a obsahuje četné smyslové orgány [14]. Kůže se skládá, tak jako u všech obratlovců, ze tří základních vrstev: pokožky, škáry a podkoží [20]. Kůže je zpravidla nejsilnější na břiše a nejtenčí na skřelích [14].

Šupiny jsou ploché kostěné útvary, které zpevňují kůži a představují pro rybu povrchovou mechanickou ochranu. Šupiny jsou produktem sekrece skleroblastů ve škáře, které vylučují tvrdou sklovitou hmotu [45].

Zbarvení ryb vzniká jednak prostřednictvím fyzikálních jevů spojených s lomem světla, jednak pigmentovými barvivy [14]. Změny zbarvení ryb souvisejí s fyziologickým stavem ryby, probíhají pomocí přemísťování pigmentových zrn a jsou velmi rychlé [45].

Svalstvo zaujímá největší část rybího těla [14]. Rybí svalovina je tvořena symetricky rozloženými svaly na obou stranách těla. Rybí svalovina obsahuje jen velmi malé množství pojivových bílkovin a zcela jí chybí elastin, což umožňuje velmi krátkou tepelnou úpravu

rybího masa. Soudržnost rybí svaloviny je ve značné míře zabezpečena soustavou drobných kůstek, které nahrazují pojivové tkáně [18]. Svalstvo rybího těla dělíme na kosterní (somatické) a útrobní (viscerální) [45].

Mozek a nervová soustava slouží k řízení funkcí [14]. Nervová soustava ryb je tvořena centrální nervovou soustavou a periferní nervovou soustavou [46]. Pozoruhodná rozmanitost ryb se samozřejmě výrazně odráží i na struktuře jejich mozku [14]. Mezi smyslovými orgány ryb má originální funkci tzv. smyslová čára na obou stranách rybího těla. Tento orgán podporuje zrak, umožňuje poznat směr a rychlost proudění vody a směr tlakových vln [18].

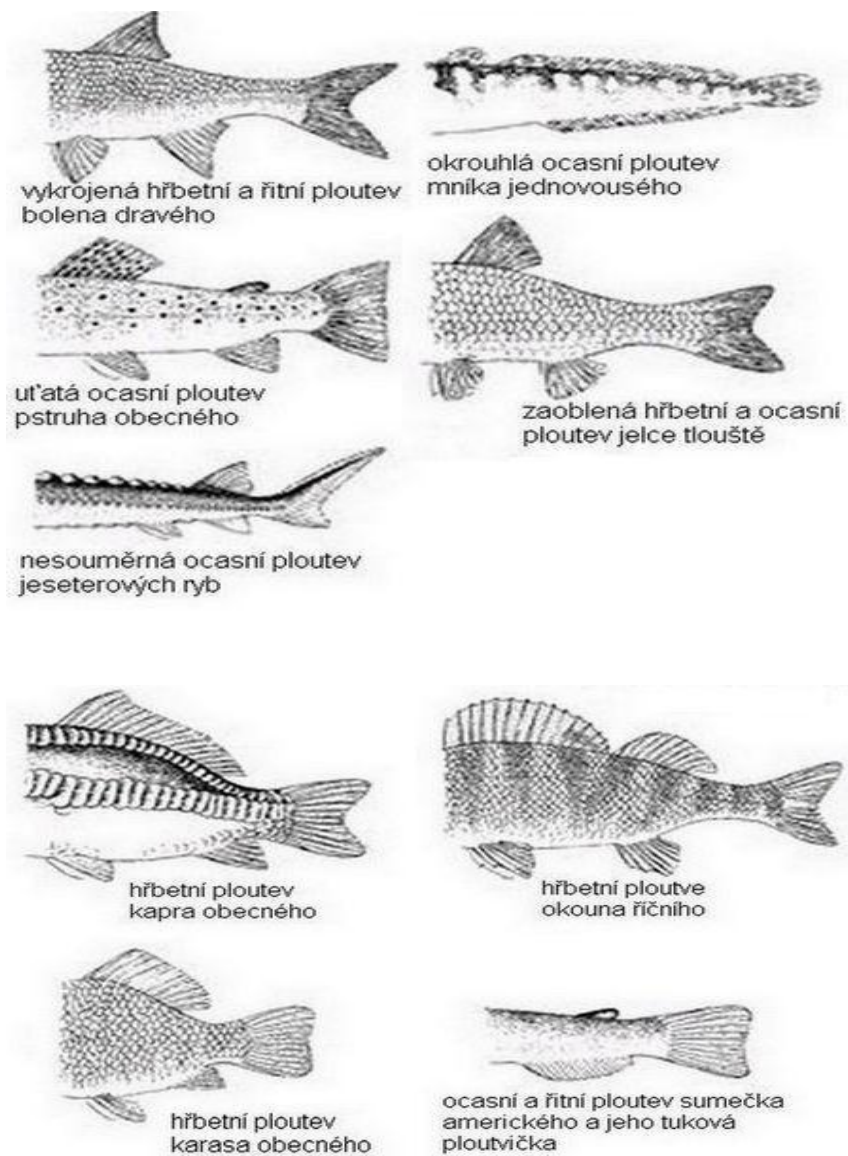
Trávicí soustava zaujímá největší část tělní dutiny u ryb [14]. Začíná ústním otvorem obklopeným čelistmi, pokračuje ústní dutinou, hltanem a jícnem, který u některých ryb přechází v žaludek, u jiných přímo ve střevo [45]. Trávicí trakt se člení do několika oddílů, které kromě trávení potravy slouží i k dýchání a vnitřní sekreci.

Dýchací orgány a krevní oběh, typickým dýchacím orgánem ryb jsou žábry. Kostnaté ryby mají zpravidla čtyři páry žáber. Systém krevního oběhu ryb je uzavřený. To znamená, že krev protéká cévami, které jsou v pevném spojení s orgány. Krev ryb se v zásadě morfologicky neliší od krve ostatních obratlovců.

Pohlavní orgány ryb (gonády) plní dvě funkce – vytvářet pohlavní buňky a produkovat pohlavní hormony [14]. Kostnaté ryby se rozmnožují mimotělně, to znamená, že samice kladou jikry do vody, kde jsou teprve oplozeny mlíčím samců. U chrupavčitých ryb, stejně jako u savců, jsou vajíčka oplozena v těle samice [35].

Složení rybího těla je velmi variabilní v závislosti na druhu ryb, na fázi pohlavního cyklu a na dalších vlivech. Přibližně lze uvést, že základní složky rybího těla jsou zastoupeny takto: voda 50 – 83 %, tuk 1 – 35 %, bílkoviny 15- 20 % z celkové hmotnosti. Při hodnocení chemického složení jde většinou jen o požitelný podíl rybího těla [18].

Tvar rybího těla vychází z prostředí, ve kterém daný druh žije. Ryby žijící v proudech mají zpravidla tvar těla vřetenovitý (pstruh, lipan, bolec, jelec) [18]. Ryby žijící ve stojatých vodách mají tvar těla kaprovitý (kapr, cejn, karas), který vytváří minimální odpor při pohybu vpřed [14], u ryb žijících ve větších hloubkách je zploštělý [18]. Dále se vyskytuje také tvar torpédovitý (dravé ryby), úhořovitý, vysokotělý. Tvar rybího těla dokresluje ploutve [14]. Příklady tvaru rybího těla zobrazuje obrázek 2.



Obr. 2. Tvary rybiho těla dle postavení ploutví [8]



## 2 DRUHY RYB

Ve vodách České republiky žije asi 60 druhů ryb. Tržními sladkovodními rybami je však jen 28 druhů, jak to stanoví ČSN 46 6802 „sladkovodní tržní ryby“, která platí pro nákup, dodávání a prodej celých tržních sladkovodních ryb z tuzemské produkce, a která vešla v platnost v roce 1989. Mimo normu ČSN 46 6802 dohlíží na produkci ryb také zákon o rybníkářství č. 99/2004 Sb. a prováděcí vyhláška k tomuto zákonu č. 197/2004 Sb. Rokem 2010 nabývá účinnosti vyhláška 122/2010 Sb., kterou se mění vyhláška č. 197/2004 Sb., k provedení zákona č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybníkářství), ve znění pozdějších předpisů. Dále také s účinností od ledna roku 2010 platí vyhláška 20/2010 Sb., kterou se mění vyhláška č. 197/2004 Sb., k provedení zákona č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybníkářství), ve znění vyhlášky č. 239/2006 Sb.

### 2.1 Rozdělení ryb

Do současné doby je známo okolo 22 000 druhů ryb, z nichž poměrně málo se těší pozornosti rybářů. Ryby je všeobecně možné rozdělit do dvou skupin: ryby kostnaté, jejichž kostra je z kostí, a ryby chrupavčité, které mají kostru z chrupavky [35].

#### 2.1.1 Kostnaté ryby (Osteichthyes)

Typická kostnatá ryba má dvě dvojice párových ploutví (prsí a břišní) a několik vertikálních ploutví nepárových (hřbetní, anální a ocasní). Většina kostnatých ryb má plovací měchýř, který je naplněn plynem. Chrupavčité ryby nemají plovací měchýř a musí neustále plavat. Jsou-li bez pohybu, klesnou na dno [8].

#### 2.1.2 Chrupavčité ryby (Chondrichthyes)

Jedná se především o mořské druhy – patří sem rejnoci, chiméry a žraloci. Většina rejnoků má zploštělé tělo a prodloužené – křídlo podobné prsí ploutve. Tlamu a žaberní otvory mají na spodní části těla. Žraloci mají stejné uspořádání ploutví jako kostnaté ryby, ale jejich žaberní otvory jsou jednoduché štěrbinové a jejich trávicí soustava má svinutou střevní řasu. Tím je zvětšen povrch pro vstřebávání potravy [35].

Potravinářsky významné druhy sladkovodních a mořských ryb patří do skupiny ryb kostnatých (Osteichthyes), která je nejpočetnější skupinou ryb [17].

## 2.2 Systematické dělení ryb

Systematické rozdělení ryb je velmi složitou věcí. Je mnoho teorií a ani sami vědci nejsou za jedno.

Rozdělení třídy ryb:

Ryby (Osteichthyes) – zahrnují 3 podtřídy:

- dvojdyšné ryby (Dipnoi)
- paprskoploutvé ryby (Actinopterygii)
- lalokoploutvé ryby (Crossopterygii)

Podtřídy dvojdyšných zahrnuje většinu již vymřelých druhů, z žijících sem řadíme dva řády bahníků.

Podtřída lalokoploutvých zahrnuje dva nadřády a jediným žijícím představitelem je Latimerie podivná, jejíž nález v roce 1938 vzrušil tehdejší zoology a poskytl významný materiál pro studium evoluce obratlovců.

Podtřída paprskoploutvých je rozsáhlá a rozmanitá skupina, velmi početná a zahrnuje čtyři nadřády:

- násadoploutvé ryby (Brachiopterygii), kam patří rod bichir
- chrupavčité ryby (Chondrostei), kam patří řád jeseterů (Acipenseriformes)
- mnohokostnaté ryby (Holostei), kam patří řády: kostlíni a kaprouni
- kostnaté ryby (Teleostei), které tvoří rozsáhlou skupinu řádů, čeledí a druhů ryb, mezi které patří většina našich i cizích tržních ryb. Mezi kostnaté ryby zahrnujeme řády:
  - Bezostní – obsahuje čeledě
    - sled'ovití (sled' obecný, sardinka, šproty)
    - sardelovití (sardel, ančovička)

- lososovití (losos obecný, pstruh obecný, hlavatka, pstruh duhový, si-ven, síh)
- lipanovití (lipan podhorní)
- štikovití (štika obecná)
- blatňákovití (blatňák tmavý)
- Rypouni
- Máloostní
  - trnobřiší (tetry)
  - piraňovití (piraňa dravá)
  - paúhořovití (paúhoř elektrický)
  - kaprovití (kapr obecný, plotice obecná, jelec tloušť, karas obecný, perlín ostrobřichý, amur bílý, bolen dravý, lín obecný, ostroretka stěhovavá, parmaobecná, tolstolobik obecný a další, mezi nimiž jsou i akvarijní ryby – Danio, Labeo, Barbus)
  - sekavcovití (piskoř pruhovaný)
  - sumcovití (sumec velký)
  - sumečkovití (sumeček americký)
- Ďasové (ďas mořský)
- Hrdloploutví / měkkoploutví (tresky, mník mořský, mník jednovousý)
- Holobřiští (úhoř říční, muréna)
- Gavůni
  - letouni
  - halančící (gupka, mečovka)
- Volnoostní (koljuška tříostná)
- Lalůčkožabří (jehla mořská, koníček mořský)
- Ropušnice (ropušnice obecná, okouník mořský)

- Ostnoploutví
  - okounovití (okounek pstruhový)
  - okounovití (okoun říční, candát obecný, ježdík)
  - vrubozobcovití (cichlidy, skaláři, tlamovci)
  - hlaváčovití
  - ledovití
  - vrankovití (vranka obecná, vranka pruhovaná)
  - makrelovití (makrela obecná, tuňák obecný)
  - lezounovití
- Platýsi (platýs bradavičnatý, kambala) [20].

Z velkého počtu druhů mořských ryb jsou známy zejména ty, které jsou k nám dováženy ke zpracování na rybí výrobky nebo již hotové výrobky z nich [18]. V dnešní době je obliba konzumace potravin již připravených ke spotřebě nebo tepelně opracovaných. Ve skutečnosti, by mohly být čerstvé ryby zpracovávány a používány jako produkty se snadnou kulinární úpravou, poskytující značnou jednoduchost přípravy [6]. V následujícím textu jsou stručně charakterizovány druhy ryb, které reprezentují vzorky použité v praktické části této práce.

Treska obecná (*Gadus morhua*) je rozšířena v severním ledovém Atlantiku při evropském i při americkém pobřeží. Dorůstá 110 cm a váhy 10 kg ve stáří 20 let. Ojediněle jsou známy úlovky jedinců až 150 cm dlouhých a vážících 40 kg [12]. Treska obecná je hejnová ryba žijící spíše při dně do hloubky 200 m. Tresky patří k hospodářsky nejdůležitějším rybám. V Atlantském oceánu se jich ročně uloví 1,5 milionu tun [50].

Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) ze severní Ameriky pocházející pstruh duhový byl do Evropy importován kolem roku 1880. Délka 25 – 50 cm, řidčeji až 70 cm při hmotnosti do 7 kg. Jeho rozšíření je západní oblast severní Ameriky [14]. Pstruh duhový není naší původní rybou, ale dokonale zdomácněl. Je hospodářsky i sportovně velmi cenným druhem [34].

Makrela obecná (*Scomber scombrus*) má dlouhé vřetenovité tělo se špičatým rypcem a širokými ústy. Žije v severním Atlantiku na východě od severního Norska a Islandu

po západní Afriku a Azory [51]. Ačkoliv může dorůst až do hmotnosti 3,4 kg, průměrná hmotnost dospělého jedince je kolem 680 g [8].

Losos obecný/atlantický (*Salmo salar*) dravá ryba volných vod. Oblíbená kořist sportovních rybářů [50]. Vyskytuje se od Bílého moře až po Portugalsko. Losos je hospodářsky velmi významná ryba [33], která dorůstá 1,2 m vzácně však až 1,5 m a hmotnosti 36 kg vzácně až 50 kg.

Kambala velká (*Psetta maxima*) obývá vody severního Atlantiku, areál jejího rozšíření se rozprostírá od Britských ostrovů k jižnímu až západnímu Norsku, jižnímu Švédsku a Dánsku. Vyskytuje se v místech s kamenitým, písčitém nebo smíšeným dnem, kde se zdržuje v hloubkách od 20 do 70 metrů. Kambaly dosahují maximálně délky 100 cm a hmotnosti 25 kg. Exempláře, které přesahují u samců 50 cm a u samic 79 cm jsou vzácné [19].

Tilápie nilská (*Oreochromis niloticus*) u nás nepůvodní druh, který byl introdukovan v roce 1985 ze Súdánu k průmyslovému chovu v oteplených vodách. Dorůstá až 60 cm s hmotností okolo 3,5 kg. Tilápie nilská patří společně s dalšími druhy k hospodářsky významným druhům, intenzivně chovaným v subtropických a tropických oblastech (Afrika, Izrael, Střední Amerika, Filipíny a další) [45].

Candát obecný (*Stizostedion lucioperca*) v současnosti se vyskytuje na území Francie, Španělska a Velké Británie, jako důsledek umělého vysazování. Je rozšířen v celé střední Evropě, včetně méně slaných oblastí Baltského moře a kanálu spojujícího Baltské a Severní moře. Candát dorůstá v průměru do délky 40 až 70 cm, při dostatku potravy může dosahovat až délky 1,3 m a vážit kolem 15 kg. Patří k nejcennějším a hospodářsky velmi významným druhům [19].

Platýs obecný neboli Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) je rozšířen od severního Norska a Islandu po Biskajský záliv a západní Atlantik. Je největším druhem platýsovitých ryb, který dosahuje váhy více než 110 kg [9].

Tuňák makrelovitý (*Auxis rochei*) je rozšířen ve všech mořích tropického, subtropického a mírného pásu po celém světě. Patří mezi dravé ryby se schopností velmi rychlého růstu. Dorůstá délky většinou 60 cm, občas až 2,5 m s hmotností okolo 500 kg [10].

Modrohlov/máslová ryba (*Poronothus triacanthus*) je tuňákovitá ryba s plochým oválným tělem, kovově modře zbarvená. Dosahuje délky 60 cm, přitom na výšku měří asi

40 cm. Žije nejhojněji v amerických vodách, ale loví se také v evropských vodách. Má chutné maso a často se objevuje na jídelních listech restaurací všude na světě, také v Česku [58].

Pangas spodnooký (*Pangasius hypophthalmus*), pro nějž lze použít i synonymum *Pangasius* či Sumeček siamský je sladkovodní ryba, která patří dle svého vzhledu a způsobu plavání do rodiny „žraločích sumců“. Obývá vody Thajska, Laosu, Vietnamu a Kambodži. Dospělý pangas může dorůst až do délky 1,5 m a hmotnosti 44 kg. Je hospodářsky významný, nejvíce se chová ve Vietnamu. Jeho hlavními spotřebiteli jsou země Evropské Unie [60].

Mušle svatého Jakuba neboli Hřebenatka svatojakubská (*Pecten jacobaeus*) je rozšířena v celém Středozezemním moři a stejně tak podél atlantského pobřeží Španělska, Portugalska a Maroka. Schránky hřebenatek mají výrazná žebra s ostrými hranami. Tento druh hřebenatek dorůstá maximálně do délky 15 cm. Mají velmi lahodnou chuť (zejména smažené na másle).

Pražma obecná (*Brama brama*) se vyskytuje ve východním Atlantickém oceánu od Madeiry až po severní Norsko a Island, v Lamanšském průlivu, v severních částech Severního moře a centrálních oblastech Středozezemního moře. Dorůstá v průměru do délky kolem 50 – 70 cm a hmotnosti 6 kg.

Pražman zlatý neboli Doráda (*Sparus aurata*) je rozšířený od Britských až po Kapverdské ostrovy a také ve Středozezemním moři. Pražman zlatý dorůstá maximálně do délky 70 cm a hmotnosti okolo 2,5 kg.

Oliheň obecná (*Loligo vulgaris*) neboli Kalmar, je rozšířena především ve Středozezemním moři, jiné velmi podobné druhy se vyskytují ve všech mořích planety. Dorůstá do délky 30 – 50 cm a může dosáhnout hmotnost až 2 kg.

Tygří kreveta obrovská (*Panaeus monodon*), nazývaná také černý tygří garnát, je rozšířena v asijských vodách. Významný výlov probíhá také v Indii, v Indopacifiku a na Dálném východě. Samice dorůstají až 30 cm. V mraženém stavu hrají tyto krevety důležitou roli na světovém trhu.

Kreveta čínská (*Panaeus chinensis*) je rozšířena v mořích podél čínského a korejského pobřeží, v Číně a Jižní Koreji se chová také uměle. Z komerčního hlediska patří

k nejdůležitějším krevetám. Samice dorůstají až do délky 18 cm. Vyznačují se velmi chutným masem a v Evropě se prodávají mražené [49].

Mořský vlk či Evropský mořský okoun (*Dicentrarchus labrax*) je předním druhem středomořské akvakultury, obývající příbřeží a ústí řek bohatých na mikroorganismy. Dnes je rozmnožování mořského vlka zcela řízeno v líhni, počínaje výběrem plemenných ryb v chovu. Jeho tělo velkých rozměrů je relativně vysoké s hřbetní ploutví výraznější než u okounů. Dorůstá až 80 cm s hmotností okolo 10 kg, nicméně ryby nabízené na trhu měří v průměru 40 cm a váží 1,5 kg. Má velice chutné maso [54].

### 3 ZPRACOVÁNÍ RYB

Zpracování ryb by mělo:

- zajistit nejvyšší kvalitu výrobku, určeného pro trh
- nabídnout vhodnější formu předpřípravy finálního výrobku
- zaručit zdravotní nezávadnost výrobku
- aplikovat nejefektivnější metodu zpracování suroviny
- redukovat odpad na možné minimum

Ryby dodávané jako tržní musí být zdravotně nezávadné, bez cizího pachu, bez zjevných deformací těla s čistou pokožkou, bez poranění zasahujícího do svaloviny nebo kostí hlavy, bez mechanického poškození, které nepřesahuje 10% povrchu těla a bez onemocnění. Po usmrcení ryb dochází v celém organismu k výrazným změnám jak z hlediska fyziologického, tak návazně z pohledu účinku na další tržnost masa. Přejechy mezi jednotlivými fázemi post a částečně premortálních stádií jsou však u ryb málo zřetelné. Znalost postmortálních změn v mase jatečných zvířat je velmi důležitá pro jeho spolehlivé uchování. S cílem redukovat bakteriální a autolytické procesy, nastupující ihned po usmrcení ryby, se doporučuje bezprostředně rybu vyvrhnout, zbavit hlavy, propláchnout vodou a zchladit. Dalším aspektem zpracování je dát rybě takovou formu, která je pro konzumenta atraktivní. Třetím hlavním cílem zpracování ryb je dosažení vysoce kvalitního výrobku s prodlouženou dobou čerstvosti. Úplný proces zpracování ryb je shrnut v následující tabulce [27].



Tab. 1. Schéma technologického postupu při zpracování ryb [27].

<b>Hlavní výrobek</b>			vykuchané ryby		rybí trupy	rybí půlky rybí podkůvky	rybí porce	rybí filet
<b>Pracovní operace</b>	omráčení (zabití)	odšupení	kuchání	odstranění ploutví	odříznutí hlavy	půlení řezání podkov	porcování	filetování
<b>Vedlejší výrobek</b>			gonády využitelné vnitřnosti		hlavy rybí polévka hypofýzy			rybí separát rybí siláž
<b>Odpad</b>		šupiny	nevyužitelné vnitřnosti krev	ploutve				rybí kostry kůže

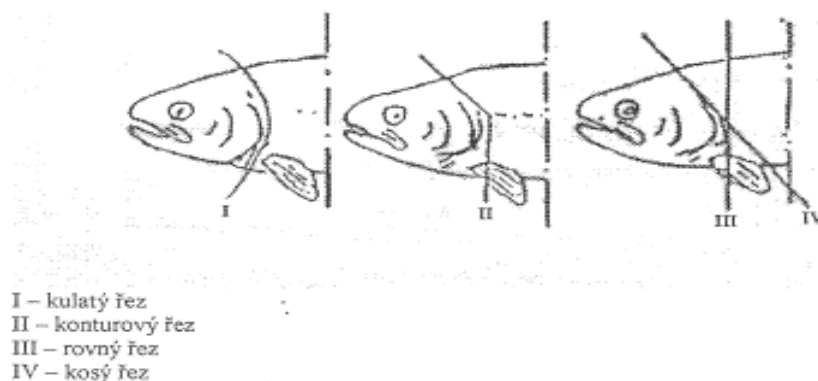
### 3.1 Základní technologické operace při zpracování ryb

U mnoha druhů sladkovodních ryb je metoda omráčení kritická pro kvalitu finálního produktu, neboť prodloužená agonie ryb vede k tvorbě nežádoucích látek (biogenní aminy, parazitární nákazy atd.) v tkáni [53]. Ryby lze v místech jejich pravidelného zpracování omračovat elektrickým proudem o napětí 220 V, plynným oxidem uhličitým, případně jiným schváleným plynem, s následným vykrvením [17].

Odstraňování šupin, pokud je prováděno ručně, je mimořádně namáhavá a časově náročná práce. Podle zkušeností si ruční odstranění šupin u velkých ryb, opracovávaných na polotovar, vyžádá až 50% veškerého pracovního času. Při strojním odšupinování jsou šupiny odstraňovány proudem tlakové studené vody, rotujícími břity se zdrsněným povrchem nebo jinými mechanickými prostředky. Šupiny se mohou ponechávat u pstruha, murény, tilapie, lína a některých dalších druhů ryb.

Odstranění vnitřností je z hlediska hygieny pracovního procesu mimořádně závažnou pracovní operací. Vyvrhnutí sestává z rozříznutí břišní dutiny, vyjmutí vnitřních orgánů, případně vyčištění tělní dutiny od peritonea, ledvin a krve.

Dělení patří mezi důležité operace při technologickém zpracování. Hlava představuje 10 – 20% z celkové hmotnosti ryby a je při zpracování odřezávána jako nekonzumovatelná část [53]. V malých zpracovnách se odříznutí hlavy provádí ručně. Ve většině zpracoven se však používá řezačka hlav, která má nůž obloukovitě přizpůsoben tvaru skřelových kostí, čímž je minimalizován odpad svaloviny [27]. U mořských ryb se provádí tato operace téměř výhradně mechanizovaně na lince, u sladkovodních ryb se používá individuální oddělovač hlav. Techniku odřezu hlav ukazuje obrázek 2.



Obr. 3. Technika odřezu hlavy u sladkovodních ryb [52].

Ploutve se obvykle odřezávají mechanicky po vyvrhnutí ryby pomocí zařízení, skládajícího se z rotujících diskových nožů s řezacími štěrbinami. Na základě požadavku odběratele a podmínek zpracovatelského provozu je možno dodávat sladkovodní ryby v dohodnutém způsobu úpravy.

Při půlení dochází k řezu podél páteře až k ocasu ryby. V našich zpracovnách ryb se nejčastěji ryba púlí tak, že je řez veden podél páteře. Tento systém je technologicky jednoduchý, jeho nevýhodou je však nestandardní výrobek.

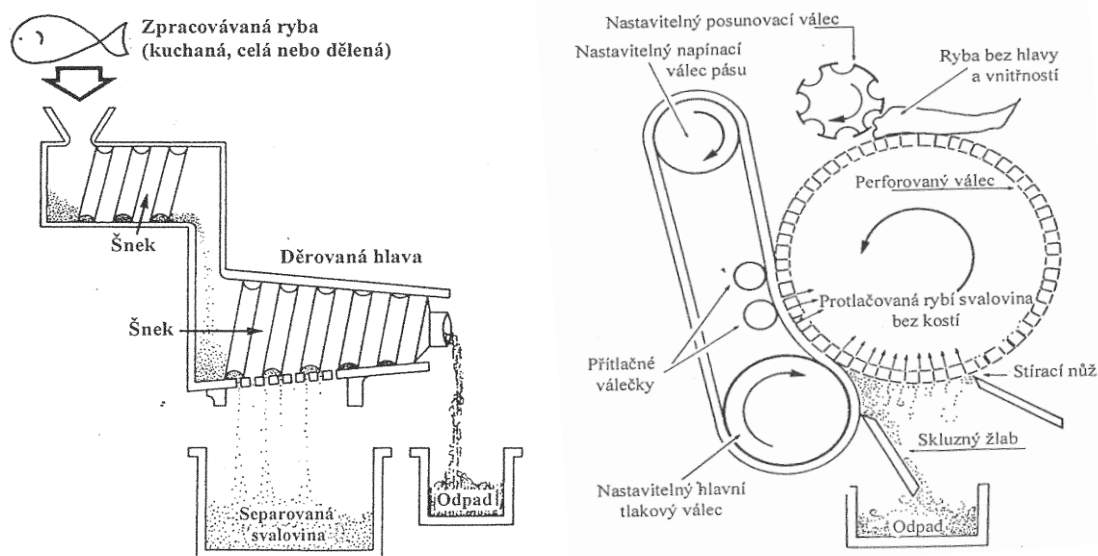
Porcování se provádí příčnými řezy u nepúleného kapra na podkovy nebo příčnými řezy púleného kapra na steaky.

Filety jsou vlastně čistá hřbetní a břišní svalovina. Jejich oblíba stále stoupá a v budoucnu budou nesporně nejvyhledávanějším výrobkem na maloobchodním trhu. Při filetování se odděluje svalová část těla od páteře a žeber [53].

Celý dosavadní proces přivede rybí svalovinu k rozsáhlé mikrobiální kontaminaci a do nebezpečí rychlého mikrobiálního kažení. Při efektivním mechanizovaném praní ryb lze obsah mikrobů snížit až o 90% [18]. Vhodný poměr ryb a vody, zaručující dobré vyprání je minimálně 1:1, obvykle se však v praxi používá dvojnásobek vody. V současné praxi se pro praní ryb více uplatňují bubnové pračky, u nichž se do vody přidává ledová tříšť.

### **3.2 Separace masa**

V poslední době se ve zpracování ryb objevil nový trend – separace rybí svaloviny z jinak nekonzumovatelných odpadových partií ryb. V dnešní době jsou nejpoužívanější dva principiálně odlišné typy, které jsou ukázány na obrázku 4:



Obr. 4. Technický princip separace protlačováním rozmělněné suroviny a schéma válcového separátoru [53].

„Strojně odděleným produktem rybolovu“ neboli rybím separátem se dle nařízení ES 853/2004 rozumí produkt získaný strojním oddělením svaloviny z produktů rybolovu tak, že se ztratí nebo změní struktura svaloviny. Separované maso může být buď zmrazeno v lepenkových krabicích vyložených plastovým obalem či plastových kontejnerech nebo ihned použito k přípravě fishburgerů, rybích prstů, konzervovaných ryb, směsí masa se zeleninou, rybích kroket a ostatních výrobků z ryb [53]. Separované maso musí dle nařízení ES 853/2004 splňovat požadavky na čerstvé maso, teplota zpracování nesmí přesáhnout 7°C, maso použité k výrobě nesmí být starší 5 dnů. V případě, že není separované maso ihned použito k výrobě, je nutno ho zchladit na teplotu nepřesahující 2°C, nebo zmrazeno na vnitřní teplotu nepřesahující -18°C.

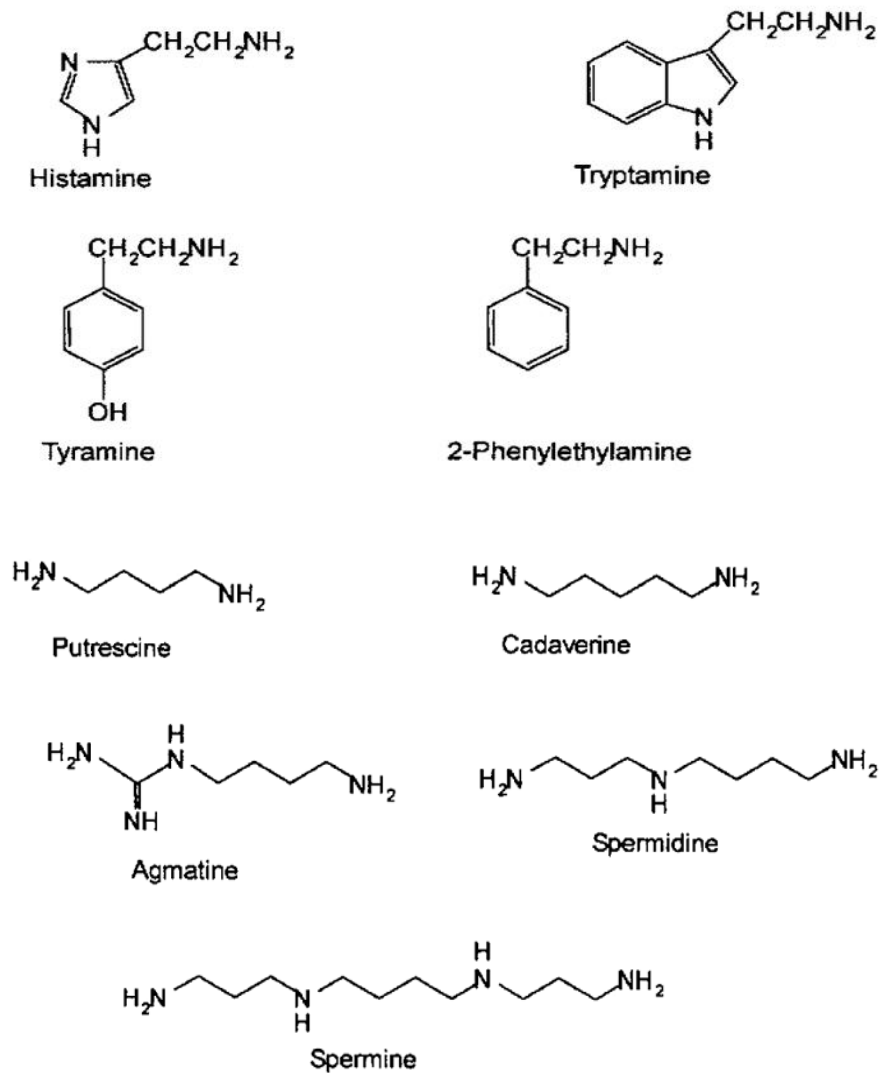
### 3.3 Zpracování mořských ryb

Do České republiky se dováží čerstvá zmrazená rybí surovina určená ke zpracování na výrobky nebo k přímému prodeji v tržní síti, dále polotovary určené pro přímý prodej a také rybí výrobky. Více než 80% naší spotřeby ryb představují ryby mořské. Mořské ryby se zpracovávají na rybářských lodích. Ryby zpracované na lodích se obvykle hluboce zmrazí ve velkokapacitních zmrazovacích zařízeních [17].

## 4 BIOGENNÍ AMINY

Aminy jsou základní dusíkaté sloučeniny, ve kterých je jeden, dva nebo tři atomy vodíku amoniaku nahrazeny alkyl nebo aryl skupinou. Biogenní aminy jsou organické báze s nízkou molekulární hmotností, které vykazují biologickou aktivitu [29]. Vznikají především dekarboxylací aminokyselin a transaminací aldehydů a ketonů [41]. Dekarboxylační proces probíhá dvěma biochemickými cestami – aktivitou přirozeně se v potravinách vyskytujících endogenních dekarboxylačních enzymů nebo působením exogenních enzymů, které jsou produkovány různými mikroorganismy. Endogenní produkce není však ve srovnání s exogenní cestou příliš významná. Dekarboxylace aminokyselin nastává odloučením  $\alpha$ -karboxylové skupiny a vede ke vzniku odpovídajícího aminu [39]. Formace biogenních aminů vzniklých bakteriální dekarboxylací aminokyselin závisí na přítomnosti konkrétního bakteriálního kmenu, množství dekarboxylázy, podmínkách ovlivňujících aktivitu enzymů a dostupnosti aminokyselin v substrátu [1]. Více bude o podmínkách vzniku pojednáno v kapitole 4.1 Faktory ovlivňující tvorbu biogenních aminů a výskyt v potravinách.

Z hlediska struktury se biogenní aminy dělí na: alifatické (putrescin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatické (tyramin, fenylethylamin) a heterocyklické (histamin, tryptamin). Biogenní aminy se vyskytují prakticky ve všech potravinách obsahujících bílkoviny, resp. volné aminokyseliny a umožňují tak jejich mikrobiální nebo biochemickou aktivitu. Celkové množství biogenních aminů v potravinách závisí na povaze potraviny a množství přítomných mikroorganismů. Biogenní aminy jsou tak přítomny v široké škále potravinářských výrobků, včetně rybích, masných a mléčných výrobků, piva, vína, zeleniny, ovoce, ořechů a čokolády [42]. Monitoring biogenních aminů není důležitý pouze z hlediska hygieny, ale zejména z důvodů jejich potenciálního rizika na lidské zdraví [5]. Nejdůležitějšími biogenními aminy obecně se vyskytujícími v potravinách jsou histamin, putrescin, kadaverin, tyramin, tryptamin,  $\beta$ -fenylethylamin, spermin a spermidin, z nichž mezi nejvíce sledované patří histamin, tyramin, kadaverin a putrescin [43,2]. Množství a druh vznikajících aminů je úzce spjat s kvalitou surového produktu, složením potravin, mikrobiální flórou a dalšími parametry, jako je teplota a balení [6].



Obr. 5. Vzorce některých biogenních aminů [32].

#### 4.1 Faktory ovlivňující tvorbu biogenních aminů a výskyt v potravinách

Tvorbu biogenních aminů ovlivňuje mnoho různých faktorů. K nejvýznamnějším lze zařadit:

- množství dostupných aminokyselin a pyridoxal fosfátu (vedle pyridoxamin fosfátu jako druhá účinná forma vitamínu B<sub>6</sub>, která je důležitým koenzymem v metabolismu aminokyselin),
- množství a kmenové zastoupení mikroorganismů,
- synergický efekt mezi mikroorganismy,
- pH,

- dodržování hygienických postupů během výroby,
- délku zrání,
- teplota skladování a přístup kyslíku [16]

Obsahy biogenních aminů v různých potravinách byly široce studovány a jejich zvýšené obsahy byly zjištěny zejména u ryb a rybích produktů, sýrů a fermentovaného masa [42]. V nefermentovaných potravinách je přítomnost biogenních aminů nad určitou úroveň považována za znak nežádoucí mikrobiální aktivity, proto by mohla být úroveň aminů použita jako indikátor mikrobiálního kažení. Přesto však přítomnost biogenních aminů v potravinách nemusí nutně korelovat s růstem organismů způsobujících kažení, neboť závisí na množství přítomných látek a dalších faktorech (viz. výše). Tabulka 2 popisuje některé druhy mikroorganismů, u jejichž kmenů byla zaznamenána dekarboxylázová aktivita.

Tab. 2. Vybrané mikroorganismy, u nichž byla zaznamenána dekarboxylázová aktivita [56].

Potravina	Mikroorganismy	Produkované aminy
<b>Ryby</b>	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Clostridium pefringens</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, spermin, spermidin
<b>Sýry</b>	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin
<b>Maso a masné výrobky</b>	<i>Pediococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Streptococcus sp.</i> , čeled' <i>Enterobacteriaceae</i>	histamin, tyramin, putrescin, kadaverin

Ryby, scombroidní ryby jsou nejčastěji spojovány s nebezpečím histaminové intoxikace. Vznik histaminu u scombroidních a dalších mořských ryb je spíše přisuzován mikrobiální činnosti než obsahu samotného endogenního histidinu. Histidin může být v rybí svalovině katabolizován dvěma způsoby: deaminací aminokyselin k získání urokanové

kyseliny (metabolit aminokyseliny histidinu, 3-(4-imidazolyl)akrylová kyselina) nebo dekarboxylací histidinu za vzniku histaminu. Různé biogenní aminy (histamin, putrescin, kadaverin, tyramin, spermin, spermidin) byly zjištěny v rybách jako makrela, sled', tuňák a sardinky. Trimethylamin a dimethyl amin jsou přítomny v rybách a rybích produktech v úrovních odpovídajících čerstvému stavu [44].

Ovoce, ovocné šťávy a zelenina, šťávy, nektary a limonády pocházející z pomerančů, malin, citronů, grapefruitů, mandarinek, jahod, rybízu a hroznů révy vinné obsahují biogenní aminy v různých koncentracích, z nichž nejdůležitější je putrescin. Hal and Z et. al. (1994) uvádějí vysokou úroveň aminů v pomerančové šťávě, rajčatech, banánech, švestkách a listovém špenátu. Fenylethylamin je také přírodní složkou kakaových bobů, a proto se vyskytuje v čokoládě a čokoládových výrobcích. Některé druhy hub obsahují také vysoké úrovně fenylethylaminu [44]. Vzhledem k nízkému obsahu sušiny plodnic (asi 10%) a chemickému složení vhodnému k rozvoji nežádoucích endogenních a mikrobiálních enzymů, by houby měly být skladovány při nízkých teplotách a konzumovány co nejdříve po sklizni [21].

Maso a mléko, čerstvé a zpracované vepřové maso obsahuje nízké hladiny putrescinu, kadaverinu, histaminu a tyraminu. Histamin a faktory, které ovlivňují jeho syntézu, byly zjištěny u masa skotu, ovcí a ostatních druhů masa a masných výrobků. [44]. Při skladování masa dochází vlivem enzymové aktivity přítomné mikroflóry ke zvyšování obsahu biogenních aminů, a proto lze obsah některých z nich využít, jako indikátor čerstvosti masa [22, 31]. Čerstvé maso může obsahovat 7 mg/kg kadaverinu a putrescinu, zatímco zkažené několiknásobně více [47]. V mléce se nacházejí pouze nízké koncentrace polyaminů – putrescinu, sperminu a spermidinu.

Biogenní aminy lze nalézt jako důsledek mikrobiální aktivity, v potravinách jako jsou vína, fermentované masné a rybí výrobky, sýry a fermentovaná zelenina. Vysoké množství lze nalézt ve fermentovaných potravinách získaných ze surovin s vysokým obsahem bílkovin, jako jsou salámy a suché salámy [15]. Sýry jsou hned po rybách nejčastěji spojovány s otravami histaminem a první případ byl popsán v roce 1967 v Nizozemsku ze sýru Gouda. Různé aminy, jako je histamin, tyramin, kadaverin, putrescine, tryptamin a fenyletylamin byly nalezeny u mnoha druhů sýrů. Histamin a tyramin se objevují v různých koncentracích u různých druhů sýrů. U fermentované zeleniny, zejména pak ve kvašeném zelí lze biogenní aminy z důvodu výskytu mikroorganismů očekávat, zejména putrescin



[43]. Ve fermentovaných masných výrobcích byly nalezeny spermin, spermidin a v menší míře putrescin. Jejich množství prezentovalo složení čerstvého masa používaného k jejich výrobě. Vyšší množství biogenních aminů je ve fermentovaných masných výrobcích přisuzováno mikrobiální činnosti, která je spojena s čerstvostí použitého masa [15]. U fermentovaných salámů je vzhledem ke krátké době fermentace a využití mléčného kvašení pozorován nižší obsah biogenních aminů, zatímco u suchých salámů, u nichž kvašení trvá delší dobu, vzhledem ke vzniku spontánního kvašení, je pozorován obsah mnohonásobně vyšší [43].

## 4.2 Význam biogenních aminů v organismu

Biogenní aminy se přirozeně vyskytují jak u živočichů, tak i u rostlin a mikroorganismů, kde plní různé fyziologické funkce. Mimo jejich biologickou roli jako zdroje dusíku a prekurzory pro syntézu hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a proteinů [43], také aminy utvářejí typickou a charakteristickou vůni a chuť čerstvých potravin a slouží jako prekurzory některým aromatickým látkám [52]. Slouží také jako potenciální prekurzory pro vznik karcinogenních N-nitroso sloučenin [44]. Stanovení biogenních aminů v potravinách je důležité nejen z hlediska ukazatelů kvality potravin, ale zejména kvůli jejich vlivu na lidské zdraví. Spotřeba potravin obsahujících vysoké množství biogenních aminů může mít toxikologické účinky jako je nevolnost, pocení, bolesti hlavy a hyper- nebo hypotenze [37].

Polyaminy (putrescin, spermidin a spermin) patří k velmi širokému spektru biogenních aminů, které jsou zapojeny do mnoha fyziologických funkcí a to zejména imunitních [28]. Jsou nezbytnou součástí všech živých buněk [1]. Od 80. a 90. let je známo, že polyaminy jsou zapojeny do různých procesů růstu a diferenciaci buněk [13]. Jsou nezbytné pro udržení vysoké metabolické aktivity střeva a funkci imunitního systému střev [42]. Jako všudypřítomné chemické látky hrají důležitou roli v buněčném růstu a proliferaci a při syntéze proteinů a nukleových kyselin [28]. Mají zásadní funkci pro normální a adaptivní růst, mimo to se podílejí na karcinogenezi. Nadměrné hromadění polyaminů vyvolává apoptózu v důsledku zvýšeného oxidačního stresu vyvolaného hromaděním peroxidu vodíku potřebného pro katabolismus polyaminů [13].

Katecholaminy, indolilaminy a histamin se podílejí na důležitých metabolických funkcích v nervovém systému a podílejí se na udržování krevního tlaku. Fenylethylamin a tyramin způsobují zvýšení krevního tlaku [42]. Histamin je klasifikován jako hormon a

neurotransmitter, jeho fyziologická role zahrnuje ovlivňování sekrece žaludečních kyselin, buněčný růst a diferenciaci, cirkadiální rytmus, učení a paměť, kromě toho se podílí na vzniku alergické reakce, jelikož se váže na specifické receptory a způsobuje kontrakci hladkých svalových buněk [38]. U zdravých lidí existuje v organismu systém, který je schopen zpracovat potravu obsahující biogenní aminy za pomoci enzymů. Hlavní roli při detoxikaci hraje mono-, diaminooxidáza a histamin N-methyltransferáza. Tyto oxidázy jsou mitochondriální enzymy s prostetickou skupinou, jež katalyzují deaminaci aminů, přičemž se aminy mění na aldehydy nebo kyseliny a uvolňuje se peroxid vodíku nebo amoniak. Enzymy působí v tenkém střevě, takže se do krevního řečiště dostávají již produkty oxidace. Toxicita biogenních aminů je sice ovlivněna působením těchto enzymů, ale také zároveň řadou faktorů inhibujících jejich funkci. Vysoké koncentrace biogenních aminů není již tento systém schopen eliminovat. Mezi výše zmiňované inhibitory patří zejména léčiva a jejich rezidua (zejména některá klasická antidepresiva), nelze však v této souvislosti opomenout také další inhibiční faktory jako jsou alkohol, káva, čaj, kouření a některé biogenní aminy, působící jako synergenty [56]. Přehled významu biogenních aminů uvádí tabulka 3.

Tab. 3. Biogenní aminy, jejich prekurzory a biologický význam [57].

Biogenní amin	Původní aminokyseliny( a jejich deriváty)	Biologický význam
<b>Histamin</b>	histidin	lokální tkáňový hormon, vliv na krevní tlak, sekreci žaludeční šťávy, účast při anafylaktickém šoku a alergických reakcích
<b>Kadaverin</b>	lysin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribozomy), stimulace diferenciacie buněk, rostlinný hormon
<b>Putrescin</b>	arginin, ornitin nebo citrulin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribozomy), diferenciacie buněk, rostlinný hormon

<b>Agmatin</b>	arginin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribozomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
<b>Fenylethylamin</b>	fenylalanin	prekurzor tyraminu
<b>Tyramin</b>	tyrosin	prekurzor dopaminu, lokální tkáňový hormon, vliv na krevní tlak a kontrakce hladkého svalstva
<b>Dopamin</b>	levodopa	mediátory sympatických nervů
<b>Tryptamin</b>	tryptofan	Lokální tkáňové a rostlinné hormony (katecholaminy), vliv na krevní tlak, peristaltiku střev, psychické funkce

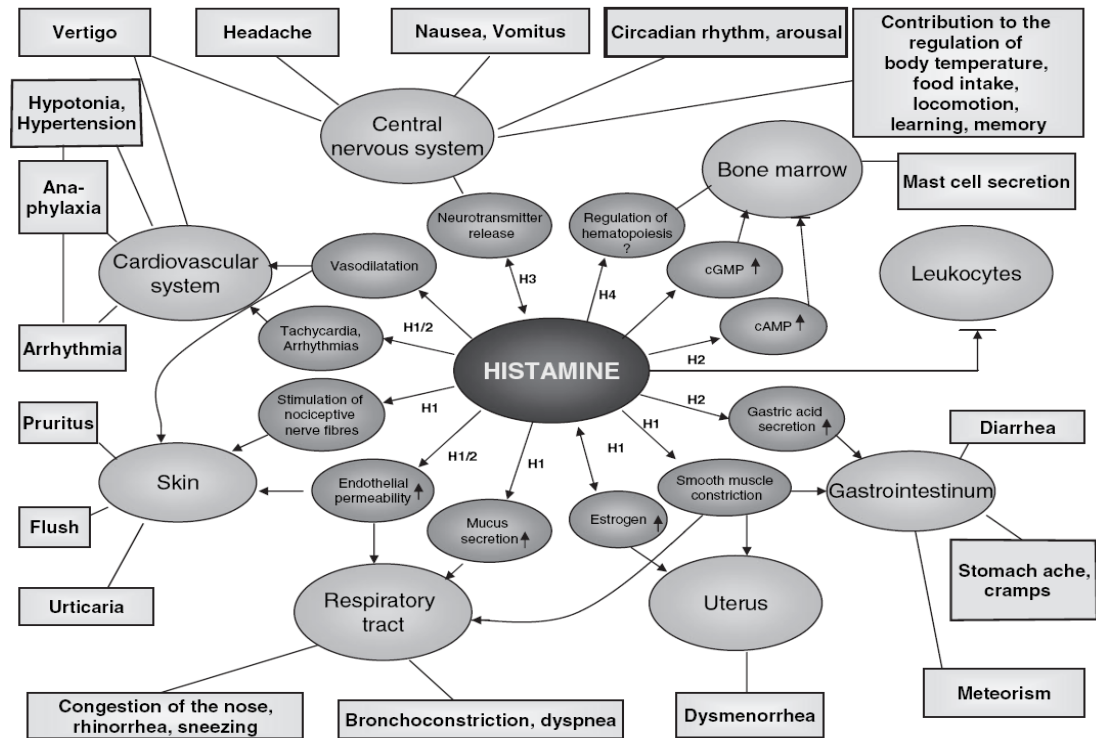
### 4.3 Biogenní aminy a legislativa

Nejvyšší přípustné průměrné obsahy biogenních aminů vyskytujících se v potravinách jsou v jednotlivých státech stanoveny různě, dle místní legislativy. Často se týkají pouze potravin významných pro danou zemi (např. ryb a výrobků z nich v přímořských státech). Ustanovení soudobé vyhlášky MZd č.305/2004, harmonizované s Nařízením EP a Rady (ES) 2073 O mikrobiologických kritériích pro potraviny (2005) stanoví přípustná množství pouze pro histamin u produktů rybolovu z druhů ryb spojovaných s vysokým množstvím histidinu (ryby čeledi *Engraulidae*, *Scombridae*, *Clupeidae*, *Coryfenidae*, *Pomatoidae* a *Scombresosidae*) a dále pak u produktů rybolovu, které byly ošetřeny enzymatickým zráním v láku, vyrobené z druhů ryb spojovaných s vysokým množstvím histidinu. Při odběru 9-ti vzorků ryb z jedné šarže musí být u sedmi z nich dodržen limit 100 mg/kg, dva vzorky mohou obsahovat 200 mg/kg histaminu. V případě rybích produktů, ošetřených enzymatickým zráním v láku, platí limit 200 mg/kg u sedmi z devíti vzorků,

dva mohou obsahovat 400 mg/kg. Limity platí pro výše uvedené produkty uváděné na trh po celou dobu jejich údržnosti. Již neplatná vyhláška MZd č.298/1997 Sb. stanovovala nejvyšší přípustné množství histaminu 200 mg/kg v rybách a rybích výrobcích a jeho přípustné množství 20 mg/kg u piva a vína. Jako druhým legislativně stanoveným aminem byl tyramin s přípustným množstvím 50, 100 a 200 mg/kg pro červené víno, potraviny konzumované ve významném množství a sýry. Zatím v žádné zemi nenařizuje legislativa výrobcům deklarovat obsah histaminu a tyraminu na obalu [3, 4].

#### 4.4 Biogenní aminy v rybách

Ryby jsou produkty podléhající velmi rychle zkáze, jejichž nízká trvanlivost (obecně několik dní) je dána rychlým růstem mikroorganismů [6]. Vzhledem k vysokému obsahu volných aminokyselin jsou ryby snadno dostupným substrátem pro růst bakterií. Kažení ryb je způsobeno řadou mikrobiologických a biochemických reakcí. Výsledkem těchto reakcí mohou být fyzické škody na rybách či vznik chemických metabolitů jako jsou biogenní aminy, hypoxantin, acetát, sulfidy nebo jiné nepříjemné sloučeniny [41]. Biogenní aminy, jako je putrescin, kadaverin, tyramin a histamin jsou tvořeny dekarboxylací aminokyselin mikrobiálními enzymy. V čerstvém rybím masu tyto aminy nejsou nebo se vyskytují na velmi nízkých úrovních. Z tohoto důvodu je lze považovat za indikátory kažení a bezpečnosti a to i u mořských plodů. Kadaverin a putrescin mohou násobit toxické účinky histaminu přijatého ve vysoké koncentraci [30, 40]. Jejich synergické působení lze vysvětlit inhibicí funkce enzymů podílejících se na odbourávání histaminu ve střevním aparátu [2]. Obecně tedy platí, že histamin je hlavním biogenním aminem, který se nachází v rybí svalovině, po němž následuje kadaverin a putrescin. Vznik těchto aminů je doprovázen tvorbou méně z důvodu nebezpečnosti významných aminů, jako je tyramin a tryptamin. Již v roce 1909 byla zjištěna vyšší koncentrace histaminu ve svalovině tuňáka [48]. Histamin, neboli 2-(4-imidazolil)ethylamin byl objeven v roce 1910 a v roce 1923 označen jako mediátor anafylaktické reakce. Histamin je syntetizován z pyridoxalfosfátu obsahujícího L-histidin dekarboxylázou z aminokyseliny histidinu. Syntéza probíhá v žírných buňkách, bazofilech, krevních destičkách, histaminergních neuronech a enterochromafinních buňkách kde je uložen v intracelulárních vezikulech [24].



Obr. 6. Souhrn symptomů způsobených histaminem [24].

Histamin vzniká přednostně u scombroidních druhů ryb jako je tuňák, makrela, mahi mahi, modrá ryba a sardinky. Vysoká úroveň histaminu v těchto rybách je přisuzována především vysokému obsahu volného histidinu. Doba nástupu otravy se pohybuje od několika minut až do 3 hodin od požití ryb obsahujících histamin na úrovních vyšších než 100 mg/100 g ryb a mezi nejčastější příznaky otravy patří závratě, slabost, svědění, pálení v ústech a neschopnost polykat. Histamin je však sám o sobě nedostatečným indexem rybiho rozkladu. Bylo zjištěno, že vznik kadaverinu a putrescinu inhibuje účinnost střevních detoxikačních enzymů diamin a monoaminoxidázy, které napomáhají redukci histaminu [2]. Putrescin je dekarboxylační produkt ornitinu a kadaverin vzniká dekarboxylací lysinu [23]. Ačkoli není putrescin přímo zapojen do scombroidních otrav bylo zjištěno, že jeho přítomnost společně s kadaverinem zesiluje alergické účinky histaminu. Tento amin je brán jako ukazatel znehodnocení rybiho masa a podílí se na zkáze rybiho masa, která mimo nebezpečí pro lidský organismus přispívá k hospodářskému odpadu a ztrátám. Společně s kadaverinem udělují zkaženým rybám jejich typický hnilobný zápach [25]. V případě kadaverinu bylo zjištěno, že také slouží jako užitečný index pro hodnocení mikrobiálního kažení ryb. Na rozdíl od histaminu, který se vyskytuje převážně u scombroidních ryb se kadaverin vyskytuje v širokém rozsahu druhů ryb. Bylo zjištěno, že kadaverin je hlavním aminem vznikajícím v počátečním stádiu rozkladu a například u lososovitých ryb je hodno-

ta 10 mg/kg brána jako přijatelná horní úroveň. Dále bylo zjištěno, že při skladování některých druhů ryb v ledu došlo k výraznému zvýšení kadaverinu v prvních fázích skladování rychleji než histaminu a putrescinu. Jeho vznik při kažení ryb je sice častější než vznik histaminu a putrescinu, záleží to však na druhu ryb a podmínkách skladování. Některé studie uvádí vznik kadaverinu zejména u ryb pocházejících z akvakultury v prvních fázích skladování, zatímco vznik histaminu byl pozorován u všech volně žijících ryb po celou dobu skladování [2]. Z výše uvedených informací je tedy zřejmé, že nejvíce se vyskytujícím biogenním aminem v rybách je histamin, který způsobuje u lidí již při menším překročení přípustného množství zdravotní obtíže. Histaminové otravy z ryb jsou závislé na přítomnosti bakterií v rybím mase, které mají schopnost tvořit u scombroidních ryb zvýšené množství histaminu z přítomného histidinu. Mezi tyto mikroorganismy izolované z ryb podílejících se na hlášených incidentech patří zejména *Raoutella planticola*, *Morganella morgani*, *Hafnia alvei* a *Photobacterium phosphoreum*. Střevní bakterie jako *Raoutella* a *Morganella* jsou v souvislosti s histaminovými otravami z ryb spojovány nejvíce [26].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL PRÁCE

Základním cílem této práce bylo monitoring obsahu vybraných biogenních aminů ve vzorcích rybího masa získaných z provozoven společného stravování.

Pro dosažení cílů bylo potřeba v teoretické části:

- charakterizovat sladkovodní a mořské ryby, které slouží jako surovina pro výrobu potravin a pokrmů,
- stručně popsat vybrané druhy ryb, které byly použity jako vzorky při zpracování praktické části,
- stručně popsat technologii zpracování ryb,
- charakterizovat biogenní aminy se zaměřením na jejich potenciální toxicitu pro člověka a jejich výskyt v rybách,

V praktické části bylo nutné se zaměřit na tyto dílčí cíle:

- z podniků společného stravování odebrat vzorky ryb určených pro kulinární úpravu,
- stanovit v těchto vzorcích obsah biogenních aminů,
- na základě naměřených výsledků formulovat závěry,



## 6 MATERIÁL A METODIKA

Pro stanovení bylo použito 28 vzorků z 18 druhů ryb, odebraných z restaurací a sushi barů nacházejících se na území Jihomoravského kraje. Jednotlivé vzorky byly očíslovány a rozděleny do skupin. Z důvodu zachování anonymity provozoven společného stravování (podmínka souhlasu s odběrem materiálu), nejsou uvedeny širší podrobnosti odběru a identifikovány provozovny. Vzorky byly získány převážně z čerstvých kusů (v textu je vyznačen stav při odběru). U všech odebraných vzorků byly stanovovány obsahy vybraných biogenních aminů – histaminu, fenyletylaminu, tyraminu, putrescinu, kadaverinu, agmatinu, sperminu a spermidinu. Vzorky ryb jsou v tabulkách uspořádány pro větší přehlednost s přihlédnutím k jejich řádu nebo čeledi, vzorky s obtížností zařazení jsou shrnuty v tabulce ostatní.

### 6.1 Charakteristika vzorků

Vzhledem k různorodosti vzorků, bylo nutno vzorky rozdělit dle jejich příslušnosti k určitým kritériím. Vzorky ryb jsou proto pro větší přehlednost uspořádány s přihlédnutím k jejich řádu nebo čeledi, vzorky s obtížností zařazení jsou shrnuty ve skupině ostatní.

Skupina A – Lososotvaří

A1 - Losos obecný (*Salmo salar*) – čerstvý stav, přední polovina filé, původ Norsko

A2 - Losos obecný (*Salmo salar*) – čerstvý stav, maso odebráno ze zátylku, původ Norsko

A3 - Losos obecný (*Salmo salar*) – čerstvý stav, podkožní tuk, původ Skotsko

A4 - Losos obecný (*Salmo salar*) – čerstvý stav, maso odebráno ze zátylku, sádkováno v ČR, původ Norsko

A5 - Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) – zmražený stav, odřezek z boku, původ Rakousko

Skupina B – Ostnoploutví

B1 - Pražma obecná (*Brama brama*) – čerstvý stav, spodní část břicha, původ Řecko

B2 - Tuňák makrelovitý (*Auxis rochei*) – čerstvý stav, přední třetina (za hlavou) část blízko kůže, původ Itálie

B3 - Pražman zlatý neboli Doráda (*Sparus aurata*) – čerstvý stav, ocasní část, původ Řecko

B4 - Candát obecný (*Stizostedion lucioperca*) – zmražený stav, přední polovina filé, původ Turecko

B5 - Tilápie nilská (*Oreochromis niloticus*) – čerstvý stav, filet (ze zátylku), původ Brazílie

B6 - Makrela obecná (*Scomber scombrus*) – čerstvý stav, ocasní část, původ Norsko

Skupina C – Platýsi, měkkoploutví, máloostní

C1 - Platýs obecný neboli Halibut (*Hippoglossus hippoglossoide*) – čerstvý stav, maso za hlavou, původ Dánsko

C2 - Platýs obecný neboli Halibut (*Hippoglossus hippoglossoide*) – čerstvý stav, maso z hlavy, původ Severní ledový Oceán

C3 - Kambala velká (*Psetta maxima*) – čerstvý stav, odřezek z ocasní ploutve, původ Dánsko

C4 - Treska obecná (*Gadus morhua*) – zmražený stav, hotové filé nelze určit část těla, ze které byl vzorek odebrán, původ Čína

C5 - Pangas spodnooký, Pangasius, Sumeček siamský (*Pangasius hypophthalmus*) – zmražený stav, ocasní část, původ Čína

C6 - Pangas spodnooký, Pangasius, Sumeček siamský (*Pangasius hypophthalmus*) – čerstvý stav, ocasní část, původ Vietnam

C7 - Pangas spodnooký, Pangasius, Sumeček siamský (*Pangasius hypophthalmus*) - zmražená stav, filet (ocasní část), původ Vietnam

Skupina D – Ostatní

D1 - Mořský vlk (*Dicentrarchus labrax*) – čerstvý stav, horní polovina filé u hřbetní ploutve, původ Řecko

D2 - Mořský vlk (*Dicentrarchus labrax*) – zmražený stav, přední polovina filé, původ Řecko

D3 - Mušle sv. Jakuba neboli Hřebenatka svatojakubská (*Pecten jacobaeus*) – zmražený stav, původ Španělsko

D4 - Mušle sv. Jakuba neboli Hřebenatka svatojakubská (*Pecten jacobaeus*) – čerstvý stav, původ USA

D5 - Máslová ryba neboli Modrohlav *Poronothus triacanthus*) – čerstvý stav, střední část filé, původ Tichý oceán

D6 - Máslová ryba neboli Modrohlav *Poronothus triacanthus*) – čerstvý stav, přední polovina za hlavou, původ Vietnam

D7 - Máslová ryba neboli Modrohlav *Poronothus triacanthus*) – zmražený stav, hřbetní část, původ Vietnam (chyceno v Tichém oceánu)

D8 - Oliheň obecná, Kalmar (*Loligo vulgaris*) – čerstvý stav, původ Španělsko

D9 - Kreveta čínská (*Penaeus chinensis*) – zmražený stav, původ Německo

D10 - Tygří kreveta obrovská (*Penaeus monodon*) – zmražený stav, původ Británie

Provozovatelé zařízení společného stravování deklarovali, že vzorky v čerstvém stavu byly skladovány při teplotách kolem 0 – 4 °C. Doba skladování u čerstvých ryb se pohybovala v rozmezí 2 – 3 dnů. Vzorky odebrané v čerstvém stavu byly do okamžiku analýzy mrazírensky skladovány. Vzorky odebrané ve zmraženém stavu byly takto skladovány (-20 ± 2°C) do provedení analýz.

## 6.2 Příprava vzorků

Vzorky byly naváženy do hliníkových misek a vloženy do mrazicího boxu - 80°C na 24 hodin. Takto zmražené vzorky byly dále umístěny do lyofilizátoru ALPHA 1-4 LSC (teplota -40°C, tlak ~12 Pa) na 48 hodin. Po zvážení byly vzorky ručně rozdrceny na prášek a uchovávány do doby analýz při -20°C.

Do centrifugační zkumavky byl navážen 1 g vzorku a přidáno 5 ml sodno-citrátového pufru pH=2,2. Po protřepání na třepačce (45 minut) byl vzorek odstředěn při 6000 ot./min. po dobu 15 – 20 minut. Supernatant byl přelit do 10 ml odměrné baňky. Následovala druhá extrakce, kdy k peletu bylo přidáno 5 ml sodno-citrátového pufru, následovalo třepání po dobu 30 minut a odstředění při 6000 ot./min. po dobu 15 – 20 minut. Oba extrakty byly

spojeny a odměrná baňka doplněna po rysku sodno-citrátovým pufrům. Po těchto operacích byly z baňky odpipetovány 2 ml vzorku do plastové ependorfovy mikrozkušavky, která byla umístěna na 45 minut při 15 000 ot./min. do odstředivky. Po odstředění byl objem přefiltrován přes stříkačkový 0,45 $\mu$ m nylonový mikrofiltr do čisté ependorfy. Takto připravený vzorek byl podroben analýze, která byla provedena na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400 (Ingos, Praha, Česká republika). Analýza byla provedena iontovýměnou chromatografií pomocí sodno-citrátových pufrů, postkolonové ninhydrinové derivatizace a fotometrické detekce metodu podle Buňkové a kol. [7]. Extrakce každého vzorku byla provedena třikrát a každý extrakt byl proveden dvakrát.



*Obr. 7. Analyzátor AAA 400*

## 7 VÝSLEDKY

V následujícím textu budou popsány obsahy zjištěných biogenních aminů dle naměřených hodnot v příslušných vzorcích rybí svaloviny. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v mg/kg vzorku a jsou zpracovány do tabulek. V jednotlivých vzorcích byly stanovovány: histamin, fenylethylamin, tyramin, putrescin, kadaverin, agmatin, spermidin a spermin. Každá tabulka uvádí průměrné hodnoty naměřených obsahů biogenních aminů a jejich směrodatné odchylky. Průměr hodnot je u každého vzorku vypočten z 6 naměřených hodnot.

### 7.1 Výsledky sledování obsahu u skupiny A

Tabulka 4 a 5 uvádí obsahy biogenních aminů u vzorků lososotvarých ryb odebraných z podniků společného stravování. Fenylethylamin, tyramin ani kadaverin nebyly detekovány. Čtyři z pěti sledovaných ryb obsahovaly 5 – 9 mg/kg putrescinu, 10 – 13 mg/kg spermidinu a 11 – 26 mg/kg sperminu. Histamin byl v množství 1 – 2 mg/kg u jednoho vzorku Lososa obecného (A1). Agmatin byl rovněž zaznamenán pouze v jednom případě, a to u Lososa obecného (A3) v množství 12 – 13 mg/kg. U Lososa obecného (A4) nebyl stanoven ani jeden ze sledovaných biogenních aminů. Vzorky A1, A2 a A3 obsahovaly celkem 43 – 46 mg/kg biogenních aminů. Poslední vzorek (Pstruh duhový, A5) měl celkový obsah biogenních aminů na úrovni ~32 mg/kg rybí svaloviny.

Tab. 4. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u lososotvarých vzorků ryb (A1 – A5) \*

Ryba	HIS	PHE	TYR	PUT
Losos obecný	1,5±0,1	ND	ND	6,7±0,3
Losos obecný	ND	ND	ND	5,3±0,2
Losos obecný	ND	ND	ND	7,9±0,1
Losos obecný	ND	ND	ND	ND
Pstruh duhový	ND	ND	ND	8,8±0,3

\* HIS – histamin, PHE – fenylethylamin, TYR – tyramin, PUT – putrescin

Tab. 5. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u lososotvarých vzorků ryb (A1 – A5) \*

Ryba	CAD	AGM	SPD	SPN
Losos obecný	ND	ND	11,4±0,3	23,5±1,2
Losos obecný	ND	ND	12,7±0,2	26,6±1,1
Losos obecný	ND	12,4±0,6	11,9±0,3	13,6±0,3
Losos obecný	ND	ND	ND	ND
Pstruh duhový	ND	ND	10,3±0,3	12,0±0,1

\* CAD – kadaverin, AGM – agmatin, SPD – spermidin a SPN – spermin

## 7.2 Výsledky sledování obsahu u skupiny B

Tabulky 6 a 7 uvádějí obsahy biogenních aminů stanovených u vzorků ostnoploutvých ryb odebraných z podniků společného stravování. Fenylethylamin ani agmatin nebyly detekovány. Čtyři ze šesti sledovaných ryb obsahovaly 4 – 18 mg/kg putrescinu, 2 – 46 mg/kg kadaverinu, 6 – 17 mg/kg spermidinu a 13 – 27 mg/kg sperminu. Histamin byl v množství 2600 – 2900 mg/kg u dvou vzorků Pražma obecná (B1) a Makrela obecná (B5). Tyramin byl zaznamenán pouze v jednom případě, a to u Pražmy obecné (B1). U Tuňáka makrelovitého (B2) a Pražmana zlatého (B3) nebyl stanoven ani jeden ze sledovaných biogenních aminů. Celkový obsah biogenních aminů byl naměřen u vzorku B1, B4, B5 a B6 7 – 2900 mg/kg biogenních aminů.

Tab. 6. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostnoploutvých vzorků ryb (B1 – B6) \*

Ryba	HIS	PHE	TYR	PUT
Pražma obecná	2844,2±45,9	ND	5,3±0,2	ND
Tuňák makrelovitý	ND	ND	ND	ND
Pražman zlatý	ND	ND	ND	ND
Candát obecný	ND	ND	ND	4,5±0,2
Tilápie nilská	ND	ND	ND	18,0±0,5
Makrela obecná	2691,0±40,6	ND	ND	3,0±0,1

\* HIS – histamin, PHE – fenylethylamin, TYR – tyramin, PUT – putrescin

Tab. 7. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostnoploutvých vzorků ryb (B1 – B6) \*

Ryba	CAD	AGM	SPD	SPN
Pražma obecná	ND	ND	9,0±0,4	27,5±0,9
Tuňák makrelovitý	ND	ND	ND	ND
Pražman zlatý	ND	ND	ND	ND
Candát obecný	2,7±0,1	ND	ND	ND
Tilápie nilská	46,5±1,1	ND	17±0,1	23,3±0,4
Makrela obecná	ND	ND	6,2±0,2	13,3±0,5

\* CAD – kadaverin, AGM – agmatin, SPD – spermidin a SPN – spermin

### 7.3 Výsledky sledování obsahu u skupiny C

Tabulka 8 a 9 uvádí obsahy biogenních aminů u vzorků platýsovitých, měkkoploutvých a máloostných ryb odebraných z podniků společného stravování. Fenylethylamin a agmatin nebyly detekovány. Čtyři ze sedmi sledovaných ryb obsahovaly 6 – 24 mg/kg putrescinu. Pět ze sedmi sledovaných ryb obsahovaly 2 – 25 mg/kg spermidinu a 5 – 29 mg/kg sperminu. Histamin byl v množství 10 – 3500 mg/kg zjištěn u pěti vzorků, a to u Platýse obecného (C1), Platýse obecného (C2), Tresky obecné (C4), Pangasa spodnookého (C5) a Pangasa spodnookého (C7). Tyramin byl v množství 8 – 9 mg/kg zaznamenán u jednoho vzorku Pangasa spodnookého (C7). Kadaverin byl rovněž zaznamenán pouze v jednom případě, a to u Pangasa spodnookého v množství 2 – 3 mg/kg. (C6). Vzorky C1, C2, C4, C5, C6 a C7 obsahovaly celkem 73 – 3450 mg/kg biogenních aminů.

Tab. 8. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u platýsovitých, měkkoploutvých a máloostných vzorků ryb (C1 – C7) \*

Ryba	HIS	PHE	TYR	PUT
Platýs obecný	2272,0±92,6	ND	ND	ND
Platýs obecný	1701,8±30,9	ND	ND	6,0±0,1
Kambala velká	ND	ND	ND	ND
Treska obecná	321,7±12,9	ND	ND	23,9±0,5
Pangas spodnooký	3412,8±77,5	ND	ND	ND
Pangas spodnooký	ND	ND	ND	2,9±0,1
Pangas spodnooký	10,5±0,3	ND	8,3±0,1	16,0±0,4

\* HIS – histamin, PHE – fenylethylamin, TYR – tyramin, PUT – putrescin

Tab. 9. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u platýsovitých, měkkoploutvých a máloostných vzorků ryb (C1 – C7) \*

Ryba	CAD	AGM	SPD	SPN
Platýs obecný	ND	ND	4,0±0,1	ND
Platýs obecný	ND	ND	ND	28,4±1,2
Kambala velká	ND	ND	2,4±0,0	5,9±0,2
Treska obecná	ND	ND	24,5±0,4	19,1±0,9
Pangas spodnooký	ND	ND	11,5±0,2	23,3±1,0
Pangas spodnooký	2,9±0,1	ND	13,5±0,2	53,4±1,0
Pangas spodnooký	ND	ND	ND	ND

\* CAD – kadaverin, AGM – agmatin, SPD – spermidin a SPN – spermin

#### 7.4 Výsledky sledování obsahu u skupiny D

V tabulkách 10 a 11 je uveden obsah biogenních aminů u vzorků ostatních ryb odebraných z podniků společného stravování. Fenylethylamin nebyl detekován ani u jednoho vzorku. Sedm z deseti sledovaných ryb obsahovaly 3 – 278 mg/kg putrescinu a 2 – 18 mg/kg spermidinu. Osm z deseti sledovaných ryb obsahovaly 10 – 51 mg/kg sperminu. Pět z deseti sledovaných vzorků obsahovaly 5 – 66 mg/kg kadaverinu. Agmatin byl v množství 22 – 132 mg/kg u dvou vzorků Mušle sv. Jakuba (D3) a Olihňe obecné (D8). Tyramin byl v množství 9 – 10 mg/kg u jednoho vzorku Tygří krevety obrovské (D10). Histamin byl rovněž zaznamenán pouze v jednom případě, a to u Mořského vlka (D1) v množství 12 – 13 mg/kg. U vzorku Mušle sv. Jakuba (D4) nebyl stanoven ani jeden ze sledovaných biogenních aminů. Celkový obsah biogenních aminů byl u vzorku D1, D2, D3, D5, D6, D7, D8, D9 a D10 stanoven ve výši 16 – 507 mg/kg.



Tab. 10. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostatních vzorků ryb (D1 – D10) \*

Ryba	HIS	PHE	TYR	PUT
Mořský vlk	12,8±0,3	ND	ND	16,2±0,3
Mořský vlk	ND	ND	ND	3,1±0,1
Mušle sv. Jakuba	ND	ND	ND	276,7±6,4
Mušle sv. Jakuba	ND	ND	ND	ND
Máslová ryba	ND	ND	ND	5,0±0,1
Máslová ryba	ND	ND	ND	ND
Máslová ryba	ND	ND	ND	ND
Oliheň obecná	ND	ND	ND	6,4±0,2
Kreveta čínská	ND	ND	ND	21,3±0,4
Tygří kreveta obrovská	ND	ND	9,3±0,2	22,1±0,7

\* HIS – histamin, PHE – fenylethylamin, TYR – tyramin, PUT – putrescin

Tab. 11. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostatních vzorků ryb (D1 – D10) \*

Ryba	CAD	AGM	SPD	SPN
Mořský vlk	ND	ND	13,6±0,4	20,7±0,7
Mořský vlk	13,4±0,4	ND	ND	ND
Mušle sv. Jakuba	65,9±2,0	131,7±5,6	ND	31,6±1,0
Mušle sv. Jakuba	ND	ND	ND	ND
Máslová ryba	ND	ND	8,6±0,2	41,4±0,8
Máslová ryba	ND	ND	17,9±0,2	27,7±0,4
Máslová ryba	ND	ND	16,1±0,7	51,4±1,5
Oliheň obecná	5,7±0,7	22,7±0,7	5,5±0,3	25,7±1,3
Kreveta čínská	33,3±1,1	ND	5,5±0,1	10,2±0,3
Tygří kreveta obrovská	25,7±0,7	ND	3,0±0,1	13,8±0,7

\* CAD – kadaverin, AGM – agmatin, SPD – spermidin a SPN – spermin

## 8 DISKUZE

Analýzou výsledků bylo zjištěno, že při našem pokusu obsahovalo z testovaných 28 vzorků zvýšené množství histaminu 6 z nich a to dokonce až o více než 15 násobek nejvyššího přípustného množství, a to u vzorku Pražmy obecné (B1), Makrely obecné (B6), Platýse obecného (C1), Platýse obecného (C2), Tresky obecné (C4), Pangasa spodnookého (C5) a Pangasa spodnookého (C6). Převážná část těchto vzorků byla odebrána z chlazených kusů. Z analyzovaných vzorků nebyl detekován žádný biogenní amin u 4 z nich, a to u Lososa obecného (A4), Tuňáka makrelovitého (B2), Pražmana zlatého (B3) a Mušle sv. Jakuba (D4). Analýza dále ukázala, že z 28 stanovených vzorků bylo u každého z nich detekováno dva a více biogenních aminů. Dva biogenní aminy byly stanoveny u 6 vzorků, a to u vzorku Candáta obecného (B4), Platýse obecného (C1), Kambaly velké (C3), Mořského vlka (D2), Máslové ryby (D6) a Máslové ryby (D7). Kombinace 3 biogenních aminů byla zjištěna u 6 analyzovaných vzorků, a to Lososa obecného (A2), Pstruha duhového (A5), Platýse obecného (C2), Pangasa spodnookého (C5), Pangasa spodnookého (C7) a Máslové ryby (D5). Soubor 4 biogenních aminů byl stanoven u 9 vzorků Lososa obecného (A1), Lososa obecného (A3), Pražmy obecné (B1), Tilápie nilské (B5), Makrely obecné (B6), Tresky obecné (C4), Pangasa spodnookého (C6), Mořského vlka (D1) a Mušle sv. Jakuba (D3). K nejméně zastoupené patří kombinace 5 biogenních aminů, která byla zjištěna u 3 vzorků, a to u Olihň obecné (D8), Krevety čínské (D9) a Tygří krevety obrovské (D10). Kombinace biogenních aminů se u některých vzorků různí, jako nejčastější lze uvést kombinaci putrescin, spermindin, spermin, která se vyskytuje u 13 z 28 analyzovaných vzorků. Druhou nejčastěji zjištěnou kombinací u 6 vzorků, byla kombinace putrescin, kadaverin, spermidin, spermin.

Celkový obsah biogenních aminů nepřevyšující 10 mg/kg obsahovalo 6 vzorků (A4, B2, B3, B4, C3, D4) z nichž vzorek B4 byl odebrán ve zmraženém stavu. Zbývající série vzorků (A4, B2, B3, C3, D4), byly odebrány jako chlazené. Největší skupina obsahující 14 vzorků z 28 obsahovala celkové množství biogenních aminů do 100 mg/kg. Šest z těchto čtrnácti vzorků (A5, C7, D2, D7, D9, D10) bylo odebráno ze zmražených kusů. 100 - 1000 mg/kg, bylo naměřeno u tří vzorků (B5, C4, D3) z nichž vzorky C4 a D3 byly odebrány ze zmražených kusů. Nad 1000 mg/kg celkového obsahu biogenních aminů bylo naměřeno u pěti vzorků (B1, B6, C1, C2, C5) u nichž vzorek C5 byl odebrán ze zmraženého kusu. Kvantitativně nejhojněji zastoupenými biogenními aminy jsou spermindin, spermin a

putrescin, které byly detekovány u velkého množství vzorků. Kvalitativně nejzastoupenějším byl histamin.

V diplomové práci byla zjišťována přítomnost a obsah nejběžněji se vyskytujících biogenních aminů, přičemž mezi legislativně trvale sledované patří histamin, pro který bylo stanoveno nejvyšší přípustné množství vyhláškou MZd č.298/1997 Sb. 200 mg/kg. Druhým aminem legislativně stanoveným byl tyramin s přípustným množstvím 50, 100 a 200 mg/kg pro červené víno, potraviny konzumované ve významném množství a sýry, v dnešní době však platí soudobá vyhláška MZd č.305/2004, harmonizovaná s Nařízením EP a Rady (ES) 2073 o mikrobiologických kritériích pro potraviny (2005), která stanoví nejvyšší přípustná množství pouze pro histamin a to 100 mg/kg u 7 z devíti vzorků. [3,4]. Histamin je tedy dnes považován jako nejvíce ohrožující a jeho zvýšené množství vypovídá o kvalitě, stáří a hygienických podmínkách zpracování a skladování ryb [30,40]. Při našem pokusu bylo zjištěno porušení legislativních limitů u 6 vzorků, a to Pražmy obecné (B1), Makrely obecné (B6), Platýse obecného (C1), Platýse obecného (C2), Tresky obecné (C4) a Pangasa spodnookého (C7), které se vyskytují napříč skupinami chlazených i mražených vzorků. Lze se domnívat, že zvýšenou přítomnost sperminu a spermidinu vysvětluje jejich důležitá role, kterou zastupují při růstu rostlinných i živočišných buněk [55]. K dalším často analyzovaným biogenním aminům se řadí také putrescin, který je společně s kadaverinem považován jako ukazatel kažení a bezpečnosti ryb a mořských plodů pro spotřebitele [30]. V našem výzkumu byla kombinace kadaverinu a putrescinu zjištěna u 8 z 28 analyzovaných vzorků. Jak již bylo zmíněno, mezi jediný legislativně omezený patří histamin.

Největší koncentrace histaminu byla naměřena u vzorku Pangasa spodnookého (C5) odebraného ze zmrazeného filetu, u něhož naměřená hodnota činila 3400 mg/kg histaminu. U ostatních 5 vzorků (B1, B6, C1, C2 a C4) nesplňujících požadavky na nejvyšší přípustné množství, bylo naměřeno histaminu méně. Vysoké hodnoty histaminu jsou však spojovány zejména se scombroidními druhy ryb vynikajícími vysokým obsahem volného histidinu [2], jako je v našem případě Tuňák makrelovitý (B2), u něhož nebyl obsah biogenních aminů detekován, Makrela obecná (B6) s obsahem histaminu  $2691,2 \pm 40,6$  mg/kg což představuje více než 20 násobek nejvyššího přípustného množství a Treska obecná (C4), u níž činil obsah histaminu  $321,7 \pm 12,9$  mg/kg, tedy více než 3 násobek nejvyššího přípustného množství. Vzorek Pražmy obecné (B1) obsahoval  $2844,2 \pm 45,9$  mg/kg, mezi poslední vzorky s nadlimitním obsahem histaminu řadíme dva vzorky, Platýse obecného (C1, C2)

s obsahem  $2272,0 \pm 92,6$  mg/kg a  $1701,8 \pm 30,9$ . Lze usuzovat, že takto vysoká hodnota histaminu, je způsobena špatnými hygienickými podmínkami a dobou skladování, dle autora [42] bylo zjištěno, že u čerstvých ryb se nenacházejí téměř žádné stopy histaminu, ale dojde-li k ponechání vzorku při pokojové teplotě, došlo k výraznému zvýšení hodnoty histaminu již během prvních 24 hodin. Je možno tedy usuzovat kromě špatných skladovacích podmínek také na porušení mrazícího řetězce. Bulushi [2] však ve své práci uvádí množství naměřeného histaminu u vzorků ryb nižší než 5 mg/100g po dobu skladování 17 dní při teplotě 0°C, což v našem případě nekoreluje s výsledkem našich analýz. Masahi a kol. [26] 2007 naměřili u vzorku tuňáka a rohoretky okolo 500 mg/kg histaminu u 6 z 10 vzorků. Lze konstatovat, že převážná část našich vzorků byla odebrána v čerstvém stavu. Zvýšené množství biogenních aminů a zejména histaminu tak lze pravděpodobně přisuzovat metabolismu kontaminující mikroflóry. Podle Bulushiho a Masahiho [2,26] patří k častým kontaminantům ryb zástupci rodů *Pseudomonas* a *Morganella*, což může obecně poukázat na špatné hygienické podmínky při skladování, ale zejména při zpracování [2,26]. Otázkou také může být dodržování chladírenského řetězce.

## 9 ZÁVĚR

Biogenní aminy lze zařadit mezi alimentární rizika, která za určitých okolností mohou znamenat zdravotní riziko pro spotřebitele. Příjem potravin s vysokým obsahem může u lidí vyvolat alimentární intoxikaci. Toxické dávky biogenních aminů je však obtížné stanovit vzhledem k individuálním rozdílům mezi lidmi a zastoupení biogenních aminů v potravině.

Na základě výsledků této práce lze konstatovat:

- přítomnost biogenních aminů, byla analyzována u 24 vzorků z 28 analyzovaných,
- analýzou bylo zjištěno, že 18 vzorků z 28 testovaných nepřekročilo nejvyšší přípustná množství biogenních aminů stanovených vyhláškou MZd č. 305/2004 harmonizované s Nařízením EP a Rady (ES) 2073/2005,
- u 6 z 28 analyzovaných vzorků bylo zjištěno porušení legislativou stanoveného nejvyššího přípustného množství biogenních aminů, které je dle soudobé vyhlášky limitní pouze pro histamin, překročení činilo u některých vzorků až 15 násobek nejvyššího přípustného množství,
- největší množství obsahoval vzorek Pangasa spodnookého (C5) a nejméně vzorek Lososa obecného (A1). Překročení bylo zjištěno jak u vzorků skladovaných v chlazeném stavu při 0 – 4 °C tak u vzorků zmražených skladovaných při -20°C.

Obsah biogenních aminů je legislativně limitován dle zákonů každého státu. Lze však konstatovat, že sledování obsahu biogenních aminů je nezbytné a důležité.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] AISHATH, N. et al.: Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches, *Journal of Food Science*, 2010, 7, s.139-150
- [2] AL BULUSHI, I. et al.: Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation - A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2009, 49, s. 369-377
- [3] ANONYM (2005): Nařízení EP a Rady (ES) č. 2073 O mikrobiologických kritériích pro potraviny
- [4] ANONYM (2004): Vyhláška č. 305/2004, kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách
- [5] BAIXAS-NOGUERAS, S. et al.: Effect of Gutting on Microbial Loads, Sensory Properties, and Volatile and Biogenic Amine Contents of European Hake (*Merluccius merluccius* var. *mediterraneus*) Stored in Ice, *Journal of Food Protection*, 2009, 8, s. 1671-176
- [6] BARBUZZI, G., GRIMALDI, F., NOBEIL, M.A.: Quality Decay of Fresh Processed Fish Stored Under Refrigerated Conditions, *Journal of Food Safety*, 2009, 29, s. 271-286
- [7] BUŇKOVÁ, L. et al.: Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*, *European Food Research and Technology* 2009, 229, s. 533-538
- [8] CIBULKA J., HUDEČEK J., POLENSKÁ E.: *Velká obrazová encyklopedie rybaření: ryby, vybavení a techniky sladkovodního a mořského sportovního rybolovu*, 3. vyd. Praha, Cesty, 1999, 288 s. ISBN 80-7181-265-X
- [9] DEBELIUS H.: *Atlas ryb středomoří a Atlantiku: přes 800 fotografií mořských ryb pořízených v jejich přirozeném prostředí*, 1. vyd. Frankfurt, Ikan, 1997, 305 s
- [10] DIESENER G.: *Ryby*, 1. vyd. Praha, Knižní klub, 2002, 160 s. ISBN 80-242-0672-2
- [11] FLAJŠHANS M., KOCOUR M., RÁB P., HULÁK M., ŠLECHTA V., LINHART O.: *Genetika a šlechtění ryb*. 1. vyd. České Budějovice, VÚRH JU Vodňany, 2008, 230 s. ISBN 978-80-85887-82-2
- [12] FRANK S., KNOTKOVÁ L., KNOTEK J.: *Mořské ryby*, 1. vyd. Praha, Aventinum, 1997, 223 s. ISBN 80-85277-89-1

- [13] GALLEGO, C.G.: Papel de las poliaminas en la alimentación. Importancia de las poliaminas en la alimentación infantil, *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 2008, 2, s. 117 – 125
- [14] GERSTMEIER, ROLAND.: *Sladkovodní ryby Evropy: pro přátele přírody a sportovní rybáře*, 1. vyd. Praha, Víkend, 2003, 366 s. ISBN 80-7222-307-0
- [15] GIOVANNA, S., FAUSTO, G.: Biogenic amines in dry fermented sausages: a review, *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 88, s. 41-54
- [16] GIUFFRIDA, D., ZIINO, M., VERZERA, A., CONDURSO, C., ROMEO, V.: Biogenic amines in a typical „Pasta Filata“ italian cheese, *Acta Alimentaria*, 2006, Vol. 35 (4), s. 435-443
- [17] INGR I.: *Hodnocení a zpracování ryb*, 1. vyd. Brno, MZLU v Brně, 1994, 106 s. ISBN 80-7157-115-6
- [18] INGR I.: *Jakost a zpracování ryb*. 2. vyd. Brno, MZLU v Brně, 2010, 102 s. ISBN 978-80-7375-382
- [19] JANITZKI A.: *Velký atlas ryb: nejoblíbenější lovené ryby od A do Z*, 1. vyd. Praha, Svojtka a kol., 2008, 128 s. ISBN 978-80-256-0120-4
- [20] JELÍNEK K.: *Přehled anatomie ryb*, 1. vyd. Brno, MZLU v Brně, 2003, 51 s. ISBN 80-7157-422-8
- [21] KALÁČ, P., KŘÍŽEK, M.: Formation of biogenic amines in four edible mushroom species stored under different conditions, *Food chemistry*, 1997, 3, s. 233-236
- [22] KŘÍŽEK, M., KALÁČ, P. (1998): Biogenní aminy a polyaminy a jejich role ve výživě. *Czech J. Food Sci.* 16, p. 151-159
- [23] LAKSHMANAN, R., JEYA SHAKILA, R., JEYASEKARAN, G.: Survival of amine-forming bacteria during the ice storage of fish and shrimp, *Food microbiology*, 2002, 19, s. 617-625
- [24] MAINTZ, L., NOVAK, N.: Histamine and histamine intolerance, *American Society for Nutrition*, 2007, 85, s. 1185-1196

- [25] MARKS R., Heidi S., ANDERSON, C.R.: Determination of putrescine and cadaverine in seafood (finfish and shellfish) by liquid chromatography using pyrene excimer fluorescence, *Journal of Chromatography A*, 2005, 1094, s. 60-69
- [26] MASAHİ, K. et al.: Histidine Decarboxylases and Their Role in Accumulation of Histamine in Tuna and Dried Saury, *Applied and environmental microbiology*, 2007, 5, s. 1467-1473
- [27] MERTEN M.: *Zpracování ryb*, 1. vyd. Praha, Informatorium, 2002, 235 s. ISBN 80-86073-89-0
- [28] MOINARD, CH., CYNOBER, L., DE BANDT, J.P.: Polyamines: metabolism and implications in human diseases, *Clinical nutrition*, 2005, 24, s. 184-197
- [29] MUNOZ, R., DE LAS RIVAS, B., MARCOBAL, Á.: Improved multiplex-PCR method for the simultaneous detection of food bacteria producing biogenic amines, *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 244, s. 367-372
- [30] NICOLE, R. et al.: Effect of Matrix on Recovery of Biogenic Amines in Fish, *Journal of Aoac International*, 2008, 4, s. 768-776
- [31] NTZIMANI, A.G., PALEOLOGOS, E.K., SAVVAIDIS, I.N., KONTOMINAS, M.G.: Formation of biogenic amines and relation to microbial flora and sensory changes in smoked turkey breast fillets stored under various packaging conditions at 4°C, *Food Microbiology*, 2008, 25, p. 509-517
- [32] ÔNAL, A.: A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in fous, *Food Chemistry*, 2007, 103, s. 1475-1486
- [33] OTTO P.: *Svět ryb: průvodce mořským a sladkovodním rybolovem*, 1. vyd. Praha, Ottovo nakladatelství, Praha 3, 2008, 162 s. ISBN 978-80-7360-781-4
- [34] OTTO P.: *Atlas našich ryb*, 2. vyd. Praha, Ottovo nakladatelství, Praha 3, 2008, 198 s. ISBN 978-80-7360-755-5
- [35] PAVEL J.: *Velká encyklopedie rybářství*, 1. vyd. Praha, Slovart, 2009, 288 s. ISBN 978-80-7391-165-2
- [36] POHUNEK M.: *Ryby v kuchyni*, 1. vyd. Praha, Merkur, 1988, 266 s. ISBN - 978-84-969446-1-9



- [37] PUNAKIVI, K., et al. Enzymatic determination of biogenic amines with transglutaminase. *Talanta*. 2005, 68, s. 1040-1045
- [38] RAUSCHER-GABERING, E. et al.: Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods, *Food kontrol*, 2009, 20, s. 423-429
- [39] RUIZ-CAPILLAS, C., JIMÉNEZ-COLMENERO, F.: Biogenic amines in meat and meat products, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2004 a, 44, s. 489-499
- [40] RUIZ-CAPILLAS, C., COFRADES, A., SERRANO, JIMÉNEZ-COLMENERO, F.: Biogenic amines in rescructured beef steaks as affected by added walnuts and cold storage, *Journal of Food Protection*, Vol. 67, 2004 b, 3, s. 607-609
- [41] REZAEI, M. et al.: Relation of Biogenic Amines and Bacterial Changes in Ice-Stored Southern Caspian Kutum (*Rutilus Frisii Kutum*), *Journal of Food Biochemistry*, 2007, 31, s. 541-550
- [42] SHALABY, A.R.: Multidetecion, semiquantitative method for determining biogenic amines in foods, *Food chemistry*, 1995, 52, s. 367-372
- [43] SHALABY, A.R.: Significance of biogenic amines to food safety and human health, *Food Research International*, 1997, 7, s. 675-690
- [44] SILLA-SANTOS, M.H.: Biogenic amines: their importance in foods, *Internal Journal of Food Science*, 1996, 29, p. 213-231
- [45] SPURNÝ P.: *Ichtyologie: obecná část*, 1. vyd. Brno, MZLU v Brně, 2000, 138 s. ISBN 80-7157-341-8
- [46] SPURNÝ P.: *Ichtyologie: systematická část*, 1. vyd. Brno, MZLU v Brně, 2000, 138 s. ISBN 80-7157-341-8
- [47] STRAKA, I., MALOTA, L.: *Chemické vyšetření masa*, Osis, Tábor, 2006, 104 s., ISBN 80-86659-09-7
- [48] SUBHASIS, S., JOSE, J., K ASHOK, K.: Changes in biogenic amines during iced and ambient temperature storage of tilapia, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2008, 88, s. 2208-2212

- [49] SVOJTKA a kol.: *Ryby a mořské plody*, 1. vyd. Praha, Svojtka a kol., 2007, 320 s. ISBN 978-80-7352-804-1
- [50] SVOJTKA a kol.: *1000 ryb*, 1. vyd. Praha, Svojtka a kol., 2008, 384 s. ISBN 978-80-7352-725-9
- [51] TEROFAL F.: *Mořské ryby v evropských vodách*, 1. vyd. Praha, nakladatelství Ikar, Praha, 1996, 287 s. ISBN 80-7202-009-9
- [52] TREVINO, E.; BEIL, D.; STEINHART, H.: Formation of biogenic amines during the maturity process of raw meat products, for example of cervelat sausage, *Food chemistry*, 1997, 4, s. 521-526
- [53] VÁCHA F.: *Zpracování ryb*, 1. vyd. České Budějovice, Jihočeská univerzita, 2000, 104 s. ISBN 80-7040-403-5
- [54] VANDEPUTTE, M. et al.: Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks, *Aquaculture*, 2009, 286, s. 20-27
- [55] VECIANA-NOGUÉS, M.T. et al.: Biogenic Amines as Hygienic Quality Indicators of Tuna. Relationships with Microbial Counts, ATP-Related Compounds, Volatile Amines, and Organoleptic Changes, *Food chemistry*, 1997, 6, s. 2036-2041
- [56] VELÍŠEK J.: *Chemie potravin 1 – 3*, OSSIS Tábor, 2002, 2. vydání, ISBN: 80-86659-02-8
- [57] VELÍŠEK J., HAJŠLOVÁ J.: *Chemie potravin 2 – rozšířené a přepracované vydání*, 3.vyd. Tábor, Osis, 2009, 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9
- [58] [www.ceskykulinar.cz/slovník/maslova-ryba](http://www.ceskykulinar.cz/slovník/maslova-ryba) 5.10.2010, 12:43
- [59] [www.kaprum.cz/ryby.html](http://www.kaprum.cz/ryby.html), 3.2.2011, 22:18
- [60] [www.pangasius.org/pangasius-hypophthalmus-pangasianodon-hypophthalmus](http://www.pangasius.org/pangasius-hypophthalmus-pangasianodon-hypophthalmus), 5.10.2010, 13:00

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

atd. a tak dále

např. například

ES Evropské společenství

EP Evropský parlament

MZd Ministerstvo zdravotnictví

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1. Schéma anatomie kapra obecného.....</i>	13
<i>Obr. 2. Tvary rybiho těla dle postavení ploutví.....</i>	17
<i>Obr. 3. Technika odřezu hlavy u sladkovodních ryb .....</i>	26
<i>Obr. 4. Technický princip separace protlačováním rozmělněné suroviny a schéma válcového separátoru.....</i>	28
<i>Obr. 5. Vzorce některých biogenních aminů.....</i>	30
<i>Obr. 6. Souhrn symptomů způsobených histaminem.....</i>	37
<i>Obr. 7. Analyzátor AAA 400.....</i>	44

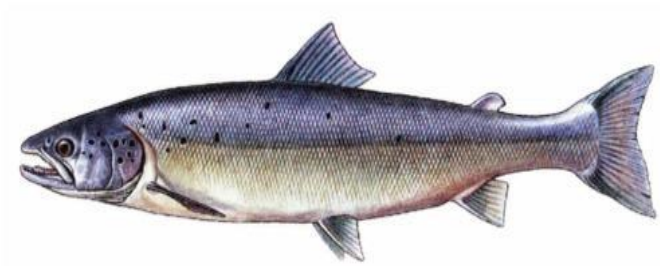
**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1. Schéma technologického postupu při zpracování ryb.....</i>	25
<i>Tab. 2. Vybrané mikroorganismy, u nichž byla zaznamenána dekarboxylázová aktivita...</i>	31
<i>Tab. 3. Biogenní aminy, jejich prekurzory a biologický význam.....</i>	34
<i>Tab. 4. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u lososotvarých vzorků ryb (A1 – A5) *.....</i>	45
<i>Tab. 5. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u lososotvarých vzorků ryb (A1 – A5) *.....</i>	46
<i>Tab. 6. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostnoploutvých vzorků ryb (B1 – B6) *.....</i>	46
<i>Tab. 7. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostnoploutvých vzorků ryb (B1 – B6) *.....</i>	47
<i>Tab. 8. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u platýsovitých, měkkoploutvých a máloostných vzorků ryb (C1 – C7) *.....</i>	47
<i>Tab. 9. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u platýsovitých, měkkoploutvých a máloostných vzorků ryb (C1 – C7) *.....</i>	48
<i>Tab. 10. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostatních vzorků ryb (D1 – D10) *.....</i>	49
<i>Tab. 11. Obsah biogenních aminů (mg/kg; průměr ± směrodatná odchylka; n=6) u ostatních vzorků ryb (D1 – D10) *.....</i>	49

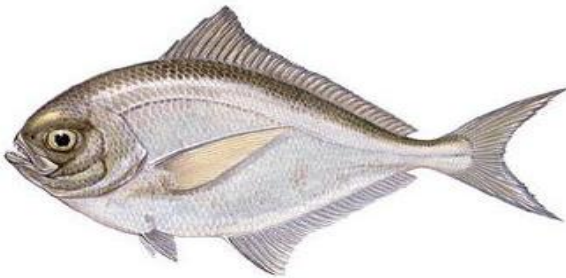
## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Obrázky vybraných druhů ryb

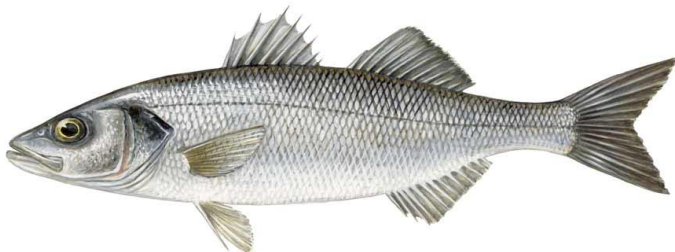
## PŘÍLOHA P I: OBRÁZKY VYBRANÝCH DRUHŮ RYB



Losos obecný (*Salmo salar*)



Pražma obecná (*Brama brama*)



Mořský vlk (*Dicentrarchus labrax*)



Makrela obecná (*Scomber scombrus*)



Platýs obecný (*Hippoglossus hippoglosoide*)



Tuňák makrelovitý (*Auxis rochei*)



Mušle sv. Jakuba (*Pecten jacobaeus*)

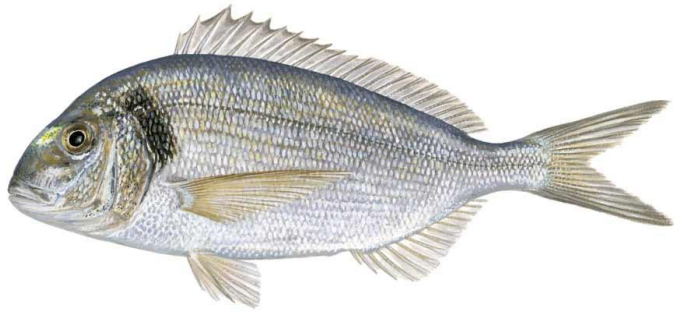


Máslová ryba (*Poronothus triacanthus*)

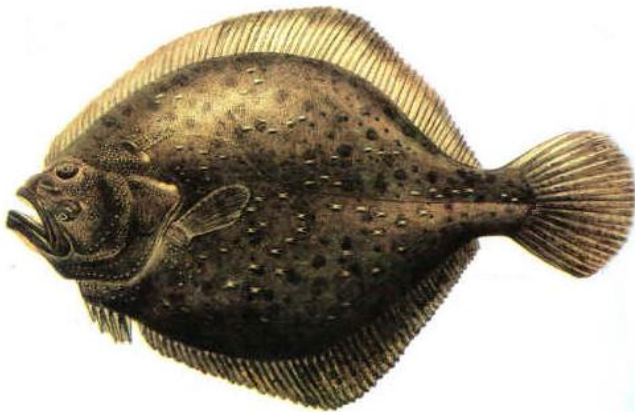


Oliheň obecná (*Loligo vulgarit*)

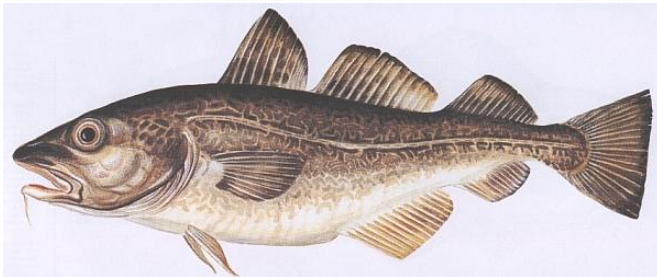




Pražman zlatý (*Sparus aurata*)



Kambala velká (*Psetta maxima*)



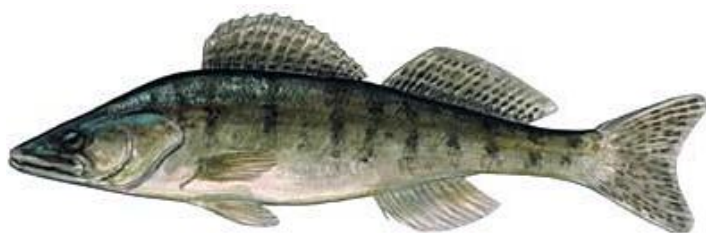
Treska obecná (*Gadus morhua*)



Pangas dolnooký (*Pangasius hypophthalmus*)



Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)



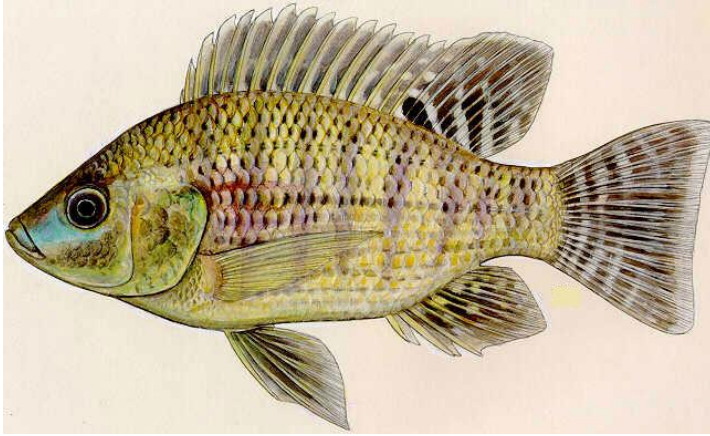
Candát obecný (*Stizostedion lucioperca*)



Kreveta čínská (*Penaeus chinensis*)



Tygří kreveta obrovská (*Penaeus monodon*)



Tilápie nilská (*Oreochromis niloticus*)