

Možnosti využití aminooxidáz při snižování obsahu biogenních aminů v potravinách

Alice Náhunková

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Alice Náhunková**

Osobní číslo: **T170037**

Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Možnosti využití aminooxidáz při snižování obsahu biogenních aminů v potravinách**

Zásady pro vypracování:

1. **Biogenní aminy – charakterizace, výskyt a význam.**
2. **Aminooxidázy – charakterizace, výskyt, mechanismy reakce.**
3. **Možnosti snižování obsahu biogenních aminů v potravinách.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] CALLEJÓN, S., SENDRA, R., FERRER, S., PARDO, I. Ability of *Kocuria varians* LTH 1540 to degrade putrescine: Identification and characterization of a novel amine oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 4170–4178. 2015.

[2] CONA, A., REA, G., ANGELINI, R. et al. Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in Plant Science*, 11: 80–88. 2006.

[3] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd.* Tábor: OSSIS, 2009.

[4] Vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

2. února 2019

Termín odevzdání bakalářské práce:

15. května 2019

Ve Zlíně dne 2. února 2018

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Mižek, Ph.D.
ředitel ústavu

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 ¹⁾;
- 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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ 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 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit 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

.....

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

(1) Vysoká škola 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.

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

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

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

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-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

Tato práce se zabývá rešerší současných výzkumů o možnostech používání enzymů aminooxidáz k dosažení snížení, či eliminaci biogenních aminů v potravinách.

V první části práce je uvedena obecná charakterizace biogenních aminů, včetně jejich rozdělení, způsobů vzniku a obsah v jednotlivých potravinách. Přibližuje i problematiku metabolismu a biologických účinků biogenních aminů po pozření jejich vysokých koncentrací. Okrajově se zabývá i otravou histaminem.

V další části práce je charakterizován enzym aminooxidáza v několika jejích formách, včetně výskytu a funkcí.

V poslední části práce jsou shrnuty výsledky několika výzkumných prací o aminooxidázách. Aminooxidázy mohou být přidány přímo do surovin a potravin, nebo je mohou v průběhu výrobního procesu vyprodukovat konkrétní startérové bakterie.

Klíčová slova: biogenní aminy, monoaminooxidázy, diaminooxidázy, histamin

ABSTRACT

This thesis deals with summary of current researches of possibilities of using amine oxidase enzymes to reduce or eliminate biogenic amines in food.

In the first part of the thesis there is a general characterization of biogenic amines, including their distribution, methods of formation and content in individual foods. It also discusses the metabolism and biological effects of biogenic amines after ingesting their high concentrations. There is also mentioned a histamine poisoning.

In the next part of the work there is a characterization of the enzyme amine oxidase in several of its forms, including occurrence and function.

The last part of the thesis summarizes the results of several research works of amine oxidases. They can be added directly to raw materials and foods, or can be produced by particular starter bacteria during the manufacturing process.

Keywords: biogenic amine, monoamine oxidase, diamine oxidase, histamine

Děkuji své vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. za odborné vedení, pomoc při výběru studijních materiálů, ochotu, vstřícnost a lidský přístup. Také děkuji své rodině a partnerovi za podporu, trpělivost a pochopení nejen při psaní této práce, ale i během celého studia.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
1 OBECNÁ CHARAKTERIZACE A PRODUKCE BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH.....	11
1.1 DĚLENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	11
1.2 VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ	12
1.2.1 Dekarboxylace aminokyselin	13
1.2.2 Mikroorganismy produkující biogenní aminy	15
1.3 VÝSKYT BIOGENNÍCH AMINŮ	17
1.3.1 Živočišné zdroje	17
1.3.1.1 Ryby a plody moře.....	18
1.3.1.2 Maso a masné výrobky	18
1.3.1.3 Mléko a mléčné výrobky	19
1.3.2 Rostlinné zdroje	20
1.3.2.1 Zelenina	20
1.3.2.2 Ovoce	21
1.3.2.3 Nealkoholické nápoje	21
1.3.2.4 Alkoholické nápoje	22
1.4 BIOLOGICKÉ ÚČINKY	22
2 CHARAKTERISTIKA AMINOOXIDÁZ.....	24
2.1 VÝSKYT AMINOOXIDÁZ.....	24
2.2 KATALÝZA CHEMICKÝCH REAKCÍ AMINOOXIDÁZAMI.....	24
2.3 DĚLENÍ AMINOOXIDÁZ	25
2.3.1 Monoaminooxidázy.....	26
2.3.1.1 MAO-A.....	26
2.3.1.2 MAO-B.....	26
2.3.2 Diaminooxidázy	27
2.3.3 Aminooxidázy obsahující měď	27
2.3.3.1 Lakázy.....	28
2.3.4 Polyaminooxidázy.....	29
3 VYUŽITÍ AMINOOXIDÁZ V POTRAVINÁŘSTVÍ ZA ÚČELEM SNÍŽENÍ VÝSKYTU BIOGENNÍCH AMINŮ.....	30
3.1 METODY SNÍŽENÍ VÝSKYTU BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH.....	31
3.2 VYUŽITÍ AMINOOXIDÁZ V POTRAVINÁŘSTVÍ	31
3.2.1 Faktory ovlivňující aktivitu aminooxidáz	31
3.2.2 Histamin oxidáza.....	32
3.2.3 Oxidázy ostatních biogenních aminů	33
3.3 BAKTERIE PRODUKUJÍCÍ AMINOOXIDÁZY	33
3.4 AMINOOXIDÁZOVÉ BIOSENZORY	36
ZÁVĚR	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	38

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	42
SEZNAM OBRÁZKŮ	43
SEZNAM TABULEK.....	44

ÚVOD

Biogenní aminy jsou látky, které jsou pro živočišné i rostlinné organizmy v malých koncentracích nepostradatelné. Vykonávají řadu důležitých funkcí, bez kterých by nemohl organismus fungovat. V živočišných tkáních mají například funkci tkáňových hormonů, nebo jsou prekurzory hormonů nadledvinek některých živočichů. V rostlinných pletivech se vyskytují jako protoalkaloidy i jako stavební látky pro biosyntézu sekundárních metabolitů rostlin. Nicméně ve vyšších koncentracích mohou působit na organismus toxicky. Například histamin se podílí na alergických reakcích a u citlivých jedinců může po pozření způsobit až otravu histaminem. Novodobé výzkumy se proto zabývají různými způsoby snížení, či úplné eliminace biogenních aminů.

Jednou z možností, jak snížit obsah biogenních aminů v potravinách, je využití enzymu aminooxidázy. Aminooxidázy jsou poměrně dostupné, jelikož se vyskytují v mnoha druzích mikroorganismů, včetně grampozitivních i gramnegativních bakterií a mikroskopických hub (plísň), v rostlinách i zvířatech. Působí jako katalyzátory oxidační deaminace monoaminů, diaminů i polyaminů, které jsou přeměněny ping-pongovým mechanismem na aldehydy, amoniak a peroxid vodíku za současného snížení koncentrace enzymu.

Existují dvě možnosti kontroly koncentrace biogenních aminů v potravinách. Jednou z možností je přímé přidání aminooxidáz k potravinám, druhou možností je použití bakterií snižujících obsah biogenních aminů.

1 OBECNÁ CHARAKTERIZACE A PRODUKCE BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH

Biogenní aminy jsou organické, nízkomolekulární, bazické, dusíkaté sloučeniny vykazující biologickou aktivitu, vznikající převážně dekarboxylací aminokyselin. Jsou přítomny v široké škále potravin a nápojů (Önal, Tekkeli a Önal, 2013, s. 509; Linares et al., 2011, s. 691). V malých koncentracích jsou nezbytné pro mnoho fyziologických funkcí, zejména regulačních. (Kodíček, Valentová a Hynek, 2015, s. 352).

Některé biogenní aminy v živočišných tkáních a rostlinných pletivech vykazují různé biologické účinky. Například v živočišných tkáních mají funkci tkáňových hormonů (histamin), jsou prekurzory hormonů nadledvinek některých živočichů (katecholaminy) a jako stavební látky se účastní biosyntézy dalších hormonů živočichů (fenylethylamin). V rostlinných pletivech se vyskytují jako protoalkaloidy (hordenin, gramin) i jako stavební látky pro biosyntézu sekundárních metabolitů rostlin, např. fytohormonů ze skupiny auxinů a alkaloidů. (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 317; Velíšek, 1999, s. 123)

Při konzumaci většího množství se však mohou objevit nepříznivé toxikologické účinky na lidský organizmus. Některé biogenní aminy (putrescin, kadaverin, spermin a spermidin) mohou po reakci s dusitanem produkovat těkavé nitrosaminy, které jsou definovány jako karcinogenní látky (Önal, Tekkeli a Önal, 2013, s. 509).

1.1 Dělení biogenních aminů

Podle biosyntézy lze rozlišovat aminy přírodní, které vznikají metabolickými procesy a biogenní, vznikající nejčastěji bakteriální dekarboxylací volných aminokyselin. Výjimkou je histamin, který se řadí mezi přírodní (je součástí bazofilů) i biogenní aminy. (Grumezeacu a Holban, 2018, s. 225)

Biogenní aminy klasifikujeme podle několika způsobů a teorií.

Podle chemické struktury mohou být rozděleny do tří skupin – alifatické, které nemají aminoskupiny uzavřené do cyklu, aromatické mající aminoskupiny navázané k aromatickému cyklu a heterocyklické, ve kterých jsou biogenní aminy součástí jednoho nebo více uzavřených cyklů uhlíku a dusíku (Dong a Xiao, 2017, s. 502; Park, Lee a Mah, 2019, s. 1).

Podle chemické struktury se dělí na (Park, Lee a Mah, 2019, s. 1):

- Alifatické: putrescin, spermin, spermidin, kadaverin, agmatin
- Aromatické: tyramin, fenylethylamin
- Heterocyklické: histamin, tryptamin, serotonin

Biogenní aminy mohou obsahovat jednu aminoskupinu (monoaminy), dvě aminoskupiny (diaminy) nebo více aminoskupin (polyaminy) (Grumezescu a Holban, 2018, s. 225).

Podle počtu aminoskupin se dělí na (Grumezescu a Holban, 2018, s. 225):

- Monoaminy: tyramin, fenylethylamin
- Diaminy: histamin, serotonin, tryptamin, kadaverin, putrescin
- Polyaminy: agmatin, spermin, spermidin

Někteří autoři jako jsou Prester a Kotzekidou (2016, s. 397) uvádí ve své publikaci tyto dva typy dělení dohromady do čtyř kategorií na aromatické, heterocyklické, alifatické diaminy a alifatické polyaminy.

Podle způsobu vzniku rozlišujeme biogenní aminy endogenní, které se v nízkých koncentracích přirozeně vyskytují ve všech potravinách (tj. v buňkách tkání a pletiv) jako produkty metabolismu, a exogenní, vznikající v důsledku kvasných procesů a mikrobiální kontaminace (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 317).

1.2 Vznik biogenních aminů

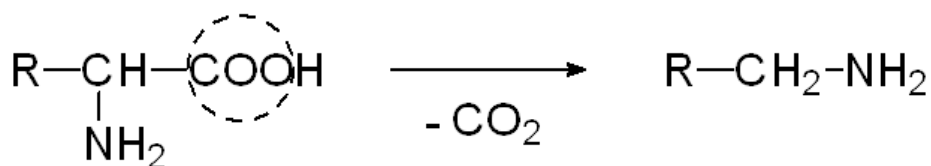
Biogenní aminy mohou vznikat enzymaticky aminací nebo transaminací aminokyselin, či karbonylových sloučenin (tj. aldehydů a ketonů) za působení transamináz (Dong a Xiao, 2017, s. 502; Park, Lee a Mah, 2019, s. 1; Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 317). Některé alifatické aminy vznikají dokonce i *in vivo* z určitých aldehydů (Santos, 1996, s. 213).

Nejčastěji však biogenní aminy vznikají enzymatickou dekarboxylací volných aminokyselin působením karboxyláz (dekarboxylázy obsahující jako kofaktor pyridoxalfosfát) (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 317; Velíšek, 1999, s. 123).

Vznik biogenních aminů je podmíněn hned několika faktory, z nichž nejdůležitějším je přítomnost mikroorganismů s dekarboxylační aktivitou aminokyselin. Mezi další faktory se řadí i dostupnost substrátu v podobě prekurzorů volných aminokyselin a podmínky prostředí – teplota, pH, množství soli a další (Şanlı a Şenel, 2015, s. 228).

1.2.1 Dekarboxylace aminokyselin

U bakterií je dekarboxylace (obr. 1) hlavním způsobem odbourávání aminokyselin, i v rostlinách je značně rozšířena. U živočichů slouží pouze k výrobě potřebných biogenních aminů, které mohou být využity např. k tvorbě hormonů, koenzymů a vitaminů (Vodrážka, Králová a Šícho, 1981, s. 300).



Obr. 1. Dekarboxylace aminokyselin (upraveno dle Beránek, Daniel, 2013, s. 48; Vodrážka, Králová a Šícho, 1981, s. 300).

Jako produkt dekarboxylace vzniká z histidinu histidindekarboxylázou histamin, z lyzinu lyzindekarboxylázou kadaverin (1,5-diaminopentan). Arginindekarboxylázou vzniká z argininu agmatin a následně putrescin (1,4-diaminobutan), který může přímo vznikat ornithindekarboxylázou z ornithinu. Z putrescinu vzniká methylací S-adenosylmethioninem spermidin a následně spermin. Fenylyalanindekarboxylázou vzniká z fenylyalaninu 2-fenylethylamin, z tyrozinu tyrozindekarboxylázou tyramin a jeho oxidací oktopamin. Působením dihydroxyfenylalanindekarboxylázy vzniká z DOPA dopamin, jeho oxidací pak hormon dřeně nadledvinek noradrenalin, dalšími reakcemi adrenalin. Z tryptofanu vzniká tryptofandekarboxylázou 5-hydroxytryptamin a následně hormon serotonin. Dekarboxylací kyseliny aspartové vzniká β-alanin, z kyseliny glutamové γ-aminomáselná kyselina (Velíšek, 1999, s. 123-124; Vodrážka, Králová a Šícho, 1981, s. 300).

Přehled biogenních aminů, jejich prekurzorů a významu je uveden v tabulce 1.

Tab. 1. Biogenní aminy vzniklé dekarboxylací aminokyselin a jejich význam (upraveno dle Kodíček, Valentová a Hynek, 2015, s. 352; Velišek, 1999, s. 123; Vodrážka, Králová a Šícho, 1981, s. 299).

Aminokyselina	Produkt dekarboxylace	Význam a funkce v organismu
Histidin	histamin	krevní tlak, alergie, tkáňový hormon, sekrece žaludeční šťávy
Lyzin	kadaverin	nukleové kyseliny, ribozomy, diferenciaci buněk, rostlinný hormon
Ornithin	putrescin	nukleové kyseliny, ribozomy, diferenciaci buněk, rostlinný hormon
Arginin	agmatin	nukleové kyseliny, ribozomy, diferenciaci buněk, rostlinný hormon
Fenylalanin	fenylethylamin	prekurzor tyraminu
Tyrozín	tyramin	prekurzor dopaminu, tkáňový hormon, kontrakce hladkého svalstva, krevní tlak
Tryptofan	tryptamin → serotonin	tkáňové a rostlinné hormony, peristaltika, psychika, krevní tlak
DOPA	dopamin	nervová soustava
Serin	ethanolamin → cholin	fosfatidy
Threonin	propanolamin	vitamin B ₁₂ v bakteriích
Methionin	spermin, spermidin	nukleové kyseliny, pohyb spermií
Asparagová kyselina	β-alanin	koenzym A, peptidy
Glutamová kyselina	γ-aminomáselná kyselina	neurotransmitery
Cystein	cysteamin	koenzym A

1.2.2 Mikroorganismy produkující biogenní aminy

Pokud se v potravíně nachází volné prekurzory biogenních aminů v podobě aminokyselin a specifické bakterie produkující aktivní dekarboxylázy daných aminokyselin, může k přeměně aminokyselin na biogenní aminy dojít pomocí bakterií, např. laktobacilů, enterobakterií, aj. (Ray a Bhunia, 2014, s. 397).

Mikrobiální činností vznikají biogenní aminy ve fermentovaných výrobcích (např. kysané zelí a jiná zelenina, víno, pivo, sýry, salámy atd.) jako běžné produkty metabolismu, mohou však vznikat i mikrobiální kontaminací během skladování potravin, nejčastěji v rybách a mase (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 318-319).

V případě fermentovaných potravin a nápojů může zavedení startérových kultur ovlivnit produkci biogenních aminů buď přímo, nebo nepřímo prostřednictvím interakce mezi různými mikrobiálními populacemi. Proto by selekční kritéria pro použití bakterií jako startérových kultur měla brát v úvahu i analýzu produkce aminů (Santos, 1996, s. 218).

Bakteriální druhy mnoha rodů, jako jsou např. *Bacillus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Photobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* a bakterie mléčného kvašení *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* a *Lactococcus* jsou schopné dekarboxylovat aminokyseliny. Některé druhy jsou schopny přeměňovat pouze jednu aminokyselinu, jiné jich přeměňují hned několik současně (Santos, 1996, s. 218; Şanlı a Şenel, 2015, s. 227; Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 321).

Halofilní, mezofilní i psychofilní organizmy, jako jsou *Morganella morganii* (*Proteus morganii*), některé kmeny *Klebsiella pneumoniae*, několik kmenů *Hafnia alvei* a luminescenční bakterie jsou významnými producenty histaminu, přičemž hladinu histaminu v mase může přítomností *Morganella morganii* zvýšit až 72 krát (Santos, 1996, s. 218).

U *Escherichia coli* a *Pseudomonas* spp. byla detekována aktivita dekarboxylázy tyrozinu a histidinu. Tyrozindekarboxylázová aktivita byla také objevena u *Enterococcus faecium* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a histamindekarboxylázová aktivita byla spojena s *Lactobacillus* spp. a *Lactobacillus sanfrancisco*, *Staphylococcus* spp., *Vibrio* spp. a *Pseudomonas* spp. (Santos, 1996, s. 218).

Přehled některých mikroorganismů produkující biogenní aminy jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab. 2. Přehled mikroorganismů produkující biogenní aminy (upraveno dle Velíšek, 1999, s. 124; Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 318).

Potravina	Mikroorganizmy	Biogenní aminy
Ryby	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Staphylococcus xylosum</i> , <i>Bacillus</i> sp.	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, agmatin, spermin, spermidin
Maso a masné výrobky	<i>Pediococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., čeled' <i>Enterobacteriaceae</i>	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin, fenylethylamin
Sýry	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Propionibacterium</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin
Fermentované výrobky	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus</i> sp., <i>Rhizopus oligosporus</i>	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin, fenylethylamin

1.3 Výskyt biogenních aminů

Biogenní aminy lze nalézt v mnoha potravinách a nápojích, jako jsou např. ryby a produkty rybolovu, maso a masné výrobky, fermentované potraviny (maso, trvanlivé salámy, zelenina, některé mléčné výrobky, pivo, víno), mléko, nefermentovaná zelenina, ovoce, suché skořápkové plody, čokoláda, ovocné džusy, sójové omáčky, či fermentované tofu (Dong a Xiao, 2017, s. 502-503; Del Rio et al., 2018, s. 1; Moracanic et al., 2015, s. 309).

Obzvláště vysoké koncentrace biogenních aminů se vyskytují u špatně skladovaných potravin v pokročilém stádiu kažení. U hub, zeleniny a ovoce dochází k produkci biogenních aminů endogenními dekarboxylázami (Velíšek, 1999, s. 124).

1.3.1 Živočišné zdroje

Nejběžnějšími biogenní aminy v materiálech živočišného původu jsou histamin, tyramin, kadaverin a putrescin (Pérez, Bartrolí a Fabregas, 2013, s. 4066; Naila et al., 2010, s. 139).

Histamin sice patří mezi jedny z biologicky nejaktivnějších složek, nicméně intenzivnější a rychlejší cytotoxický efekt vykazuje tyramin (Linares et al., 2016, s. 658).

Množství vytvořených biogenních aminů lze částečně, či zcela, eliminovat např. tepelnou úpravou, přidáním některých enzymů i způsobem balení – např. vakuové balení lososů, balení ryb, kuřat a klobás v modifikované atmosféře, aktivní obaly makrel (Naila et al., 2010, s. 144).

Při tepelných úpravách masa a drobů klesá obsah polyaminů sperminu a spermidinu o několik desítek procent. Vyšší úbytky jsou při pečení a smažení, než u dušení a vaření, kdy dochází pouze k částečnému rozkladu a vyluhování (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 320).

Ačkoliv tepelná úprava odstraní bakterie produkující biogenní aminy při zrání, či kažení potraviny, může se v tepelně zpracovaném produktu daný amin i nadále vyskytovat z důvodu rekontaminace nebo nedostačující úpravy, protože některé biogenní aminy (např. histamin) jsou tepelně stabilní (Naila et al., 2010, s. 140).

1.3.1.1 Ryby a plody moře

V rybách, jako jsou makrela, sled', tuňák, sardinky, ančovičky, byly zjištěny různé biogenní aminy – nejvíce histamin, putrescin a kadaverin, dále pak tyramin, spermin a spermidin (Grumezescu a Holban, 2018, s. 245; Santos, 1996, s. 215).

Při skladování ryb kolem 0 °C a nižších, vznikají biogenní aminy v zanedbatelném množství. Při vyšších teplotách je dekarboxylován převážně histidin a tkáň makrelovitých ryb (čeleď *Scombroidae*). Nicméně několik studií mikrobiální populace mořských ryb ukázalo jejich schopnost produkovat vysoké množství histaminu i při nízkých teplotách (Santos, 1996, s. 215; Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 321).

Přítomnost vysokého obsahu histaminu v některých rybách může být nebezpečná. V důsledku nevhodného skladování nebo chlazení po ulovení, se může činností mikroorganismů vytvořit toxické množství dříve, než se ryba projeví sensoricky jako závadná. Tyto bakterie produkují skombroidní toxin (histamin) způsobující skombroidní syndrom (Pérez, Bartrolí a Fabregas, 2013, s. 4066; Santos, 1996, s. 215).

Příčiny nadprůměrné produkce histaminu jsou přítomnost vysokého obsahu histidinu v rybím masu, bakteriální histidindekarboxylázy, přítomnost bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* a některé další podmínky (prostředí, hygiena, manipulace, zpracování, skladování (Grumezescu a Holban, 2018, s. 246).

Tvorba histaminu u různých druhů měkkýšů, jako jsou hlavonožci (kalamary, chobotnice, sépie), korýši (krevety, humři) a mlži (mušle) je relativně nízká vzhledem k nízké úrovni prekurzorových aminokyselin (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 405).

1.3.1.2 Maso a masné výrobky

U vařeného i nevařeného hovězího, vepřového a kuřecího masa byla zjištěna přítomnost různých biogenních aminů (Santos, 1996, s. 215).

Čerstvé a zpracované maso obsahuje vyšší hladiny spermidinu a sperminu, ale nižší hladiny putrescinu, histaminu, kadaverinu a tyraminu (Santos, 1996, s. 215; Grumezescu a Holban, 2018, s. 248).

K nárůstu biogenních aminů dochází především při skladování masa díky enzymové aktivitě mikroflóry. Některé z nich lze využít jako indikátory čerstvosti masa (Grumezescu a Holban, 2018, s. 248; Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 319-320).

Vzhledem k zastoupení a množství volných aminokyselin nepředstavuje nezpracované maso u lidí riziko tvorby vysokých toxických koncentrací biogenních aminů, fermentované masné výrobky však potenciální rizika mohou nést (Grumezescu a Holban, 2018, s. 249). Mohou totiž obsahovat velmi vysoké hladiny tyraminu – nejčastěji v suchých fermentovaných uzeninách. Jeho koncentrace může dosáhnout úrovně vyšší než 400 mg/kg (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 407).

Další aminy, jako jsou histamin, tryptamin a fenylethylamin, bývají v závislosti na výrobních postupech přítomny v uzeninách (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 407; Moracanin et al., 2015, s. 308-309).

Hladina histaminu ve většině uzenin je nižší, avšak klobásy vyrobené z krutího masa obsahují nejvyšší množství histaminu a putrescinu. Přírodní polyaminy (spermin a spermidin) byly také nalezeny téměř ve všech uzeninách, obvykle na nízkých úrovních (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 407).

Obecně je přítomnost biogenních aminů v dalších masných výrobcích, jako jsou uzená šunka a některé drůbeží výrobky (uzený krutí řízek a grilované kuře), nízká (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 407).

1.3.1.3 Mléko a mléčné výrobky

V plnotučném a polotučném kravském mléce bylo zjištěno malé množství polyaminů sperminu a spermidinu a dalších biogenních aminů, např. histaminu (Santos, 1996, s. 216).

Množství histaminu v mléce je závislé na tepelné úpravě mléka. Zatímco čerstvé mléko obsahuje nízké hladiny histaminu, pasterizované a UHT mléko vykazuje mírný nárůst obsahu histaminu. Po procesu fermentace však mléčné výrobky vykazují významný nárůst histaminu. Například, zakysaná smetana dosahuje obsahu až 7 mg/kg, v jogurtech jsou tyto hladiny mírně vyšší (Grumezescu a Holban, 2018, s. 244; Prester a Kotzekidou, 2016, s. 406).

Dalším produktem fermentace mléka je sýr. Existuje mnoho druhů sýrů, např. sýry zrající pod mazem nebo sýry s plísní na povrchu, které obsahují potenciálně škodlivé hladiny biogenních aminů, zejména tyraminu, histaminu a putrescinu, dále pak kadaverinu, tryptaminu a fenylethylaminu. Ve vyzrálých sýrech mohou hladiny histaminu vzrůstat až na 2500 mg/kg (Grumezescu a Holban, 2018, s. 244; Pachlová et al., 2018, s. 730; Prester a Kotzekidou, 2016, s. 406; Şanlı a Şenel, 2015, s. 223-224).

Obsah biogenních aminů se může lišit u stejného typu sýra a dokonce i mezi různými částmi stejného sýra, například mezi středem a kůrou sýra. Produkce biogenních aminů se značně liší a závisí na několika faktorech, včetně teploty skladování, doby a technologie zrání a mikrobiální populaci (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 406-407).

Velíšek a Hajšlová (2009, s. 321) dokonce tvrdí, že při zrání sýrů z tepelně zpracovaného mléka může dojít k výrazné tvorbě biogenních aminů pouze v provozu s nedostatečnou hygienickou úrovní, a to pomocí kontaminujících bakterií.

1.3.2 Rostlinné zdroje

Nejběžnějšími biogenní aminy v materiálech rostlinného původu jsou tyramin, histamin a putrescin. V menším množství se vyskytují i další biogenní aminy (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 321).

Zastoupení biogenních aminů závisí na klimatických a geologických faktorech oblastí pěstování a na samotných postupech pěstování. Nejvíce však obsah biogenních aminů ovlivňují posklizňová úprava, skladování a zpracování. Stejně jako u živočišných produktů, i u rostlinných produktů se koncentrace při skladování výrazně zvyšuje, při vaření snižuje. Přítomnost vysokého obsahu biogenních aminů v produktech rostlinného původu může být také spojena s mikrobiální aktivitou (především čeledi *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonadaceae*). Doporučuje se proto konzumovat maximálně čerstvé nebo vařené potraviny rostlinného původu, aby se snížil příjem biogenních aminů (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 409; Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 1).

1.3.2.1 Zelenina

Každá zelenina vykazuje velikou variabilitu obsahu různých biogenních aminů.

Významnou hladinu histaminu obsahují např. lilek, listy špenátu a rajče, které zároveň obsahuje i tyramin a tryptamin, a fermentované sójové produkty (např. miso a sójová omáčka), ve kterých se může vyskytovat i tyramin. Vysoká hladina tyraminu (až několik set mg/kg) je v zelí, dále se může vyskytovat např. v mangoldu, dýni, či chřestu (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 409; Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 3; Santos, 1996, s. 215-216).

Z tryptaminu jsou odvozeny fytohormony (rostlinné hormony), rovněž z něj vznikají i protoalkaloidy, jako jsou psilocin a psilocybin, vyskytující se v halucinogenních houbách,

nebo bufotenin, vyskytující se v sekretech obojživelníků (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 323).

Putrescin byl nalezen prakticky ve veškeré zelenině. Některé druhy zeleného pepře, lilku, kukuřice, zelených a fialových fazolí, špenátu, kečupu z rajčat, sójových bobů a hrachu mají vysoký obsah putrescinu, v některých případech přesahující 200 mg/kg (Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 3).

Fenylethylamin je přirozenou složkou kakaových bobů, tudíž se vyskytuje v čokoládě, čokoládových výrobcích a cukrovinkách obsahujících čokoládu (Santos, 1996, s. 215).

Vysoký obsah fenylethylaminu obsahují i některé druhy hub (Santos, 1996, s. 215).

Kadaverin se vyskytuje v zelenině v relativně nízkých koncentracích, například je obsažen v karagenanu z řas (Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 3; Santos, 1996, s. 215).

1.3.2.2 Ovoce

Hlavním biogenním aminem v ovoci je tyramin. Vyskytuje se nejčastěji v banánech společně s fenylethylaminem, histaminem, tryptaminem, dopaminem a serotoninem. Vyšší hladiny tyraminu se vyskytují i ve švestkách, avšak nepřekračuje dávku 7 mg/kg. Pouze švestky společně s avokádem a kiwi obsahují kromě tyraminu i histamin (Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 321; Santos, 1996, s. 215).

Putrescin byl nalezen v mnohém ovoci a suchých skořápkových plodech, s nejvyššími hladinami v pomeranči, mandarince, grapefruitu, banánu, marakuji a pistácii. Plody neobsahující putrescin jsou avokádo a švestka (Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 4).

Kadaverin se vyskytuje v malých koncentracích v banánech a slunečnicových semenech (Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 4).

1.3.2.3 Nealkoholické nápoje

Biogenní aminy se mohou vyskytovat nejen v potravinách, ale i v nápojích. Některé džusy, nektary a limonády z pomerančů, malin, citronů, grapefruitů, mandarinek, jahod, rybízu a hroznů obsahují různé biogenní aminy v různých koncentracích, nejběžnější je putrescin (Santos, 1996, s. 215).

Vysoké hladiny tryptaminu se nachází v pomerančové šťávě, ve které společně se šťávou z grapefruitu a ananasu byl detekován i histamin. Přítomnost histaminu v těchto šťávách je

způsobena nedostatkem hygienické kvality během zpracování nebo skladování, protože tento amin se nenachází v původním čerstvém ovoci (Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 4).

1.3.2.4 Alkoholické nápoje

Alkoholické nápoje představují kategorii fermentovaných produktů, které obsahují značné množství biogenních aminů, zejména červené víno a pivo. Složení aminů ve víně závisí nejen na klimatických a geologických podmínkách, ale i enologických postupech (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 409).

Hlavní biogenní aminy ve vínech jsou histamin a tyramin, které se tvoří na začátku procesu stárnutí a jejich obsah se může měnit se stářím vína. Histamin je považován za nejdůležitější důvod nesnášenlivosti vína. Dále se v červených a bílých vínech mohou vyskytovat např. tryptamin, putrescin, kadaverin, spermidin. Kontrolou kritických technologických faktorů je možné vyrábět víno s nízkými hladinami biogenních aminů (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 409).

Podobně jako víno může i pivo obsahovat variabilní množství biogenních aminů, taktéž nejčastěji tyramin a histamin. Tvorba biogenních aminů může být spojena se špatnými hygienickými podmínkami během výroby, teplotními změnami surových potravin během skladování a použitou mikroflórou. Vybrané startérové kultury přispívají ke snížení obsahu biogenních aminů (Prester a Kotzekidou, 2016, s. 409-411; Santos, 1996, s. 217).

1.4 Biologické účinky

Jak již bylo řečeno v kapitole 1.3.1.1, v malém množství mohou mít biogenní aminy pozitivní vliv na organismus.

U lidí mají klíčovou biologickou funkci jako hormony nebo neurotransmitery a jsou nepostradatelnou součástí biologicky aktivních buněk. Kromě toho se ukázalo, že nízké koncentrace biogenních aminů jsou důležité pro regulaci fyziologických funkcí vazbou na receptory na membránách kůže a tkání, jako je respirační, gastrointestinální, kardiovaskulární a imunitní systém. Konkrétně se podílí například na sekreci žaludeční kyseliny, normální funkci srdce a hladkého svalstva nebo regulaci tělesné teploty (Dong a Xiao, 2017, s. 502; Pérez, Bartrolí a Fabregas, 2013, s. 4066; Prester a Kotzekidou, 2016, s. 402).

Ve větším množství však mohou způsobit závažné zdravotní problémy, zejména u citlivých jedinců (Şanlı a Şenel, 2015, s. 223).

Otrava histaminem (histaminóza) je celosvětový problém, ke kterému dochází po konzumaci potravin obsahujících histamin ve vyšších koncentracích. Podobá se alergické reakci. Projevuje se dušností, bolestí hlavy, svědící kopřivkou, pocením, horečkou, křečemi v břiše, zvracením, průjmem, hypotenzí nebo hypertenzí. Vyrážka se objevuje po požití problematické potraviny do půl hodiny až hodiny, teprve poté ji následují další symptomy, přičemž u každého jedince se mohou vyskytnout rozdílné potíže v jiné intenzitě (Naila et al., 2010, s. 139; Park, Lee a Mah, 2019, s. 2; Şanlı a Şenel, 2015, s. 223; Sato, Horiuchi a Nishimura, 2005, s. 320).

U některých jedinců však může dojít k otravě, i když hladina histaminu nedosahuje nadprůměrné hodnoty. Způsobuje to synergický účinek jiných biogenních aminů (putrescinu a kadaverinu), obsažených v potravinách v pětikrát vyšší koncentraci než histamin (Dong a Xiao, 2017, s. 502; Naila et al., 2010, s. 139; Sato, Horiuchi a Nishimura, 2005, s. 320).

Stejně tak mohou putrescin a kadaverin působit na tyramin v některých mléčných výrobcích, jelikož kromě histaminu je tyramin nejběžnějším biogenním aminem způsobujícím zdravotní potíže. Vyskytuje se nejčastěji v sýrech. Spotřeba sýrů s vysokým obsahem tyraminu může mít za následek nebezpečnou intoxikaci, tzv. „sýrovou reakci“, která se vyznačuje bolestmi hlavy, pocením, palpitací, hypertenzí a migrénou (Linares et al., 2016, s. 658; Pachlová et al., 2018, s. 730; Şanlı a Şenel, 2015, s. 223-224).

Některé další biogenní aminy (putrescin, spermin a spermidin) mohou reagovat s dusitany za vzniku N-nitrosaminů, které jsou považovány za karcinogeny a mutageny pro člověka. Nitrosaminy z těchto polyaminů nemusí nutně představovat zdravotní riziko, protože toxicita je dosažena až po konzumaci nadměrného množství, což u průměrného člověka není zcela běžné (Dong a Xiao, 2017, s. 502; Naila et al., 2010, s. 139).

Tyramin, fenylethylamin a putrescin jsou vazoaktivní aminy zvyšující krevní tlak, který může vést až k srdečnímu selhání nebo krvácení do mozku (Dong a Xiao, 2017, s. 502; Naila et al., 2010, s. 139).

Problémy z konzumace biogenních aminů mohou být zvláště závažné u citlivých jedinců, kteří mají sníženou schopnost detoxikovat biogenní aminy ve střevě. Tyto vlohly se mohou lišit v důsledku genetických faktorů, ale i dalších rizikových faktorů, jako je gastrointestinální onemocnění, užívání některých léků a příjem alkoholu. Snižuje se tím aktivita detoxikačních enzymů (Linares et al., 2011, s. 658).

2 CHARAKTERISTIKA AMINOOXIDÁZ

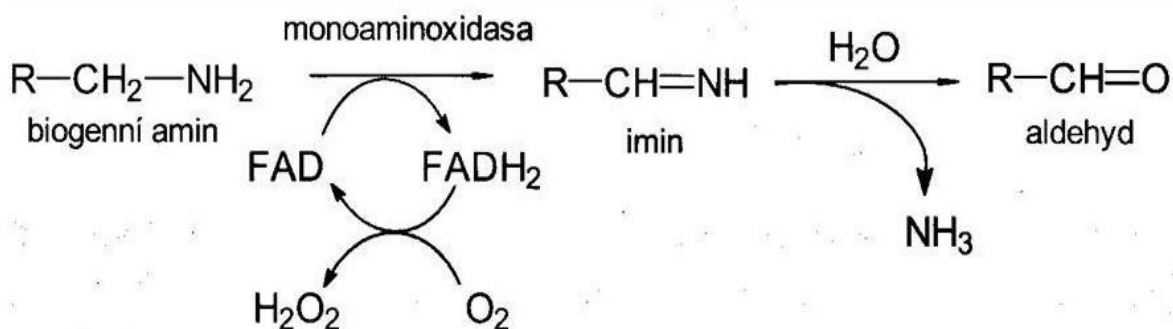
2.1 Výskyt aminooxidáz

Aminooxidázy jsou všudypřítomné enzymy, vyskytují se v mikroorganismech (mikroskopické houby – např. *Aspergillus niger*, gramnegativní i grampozitivní bakterie), rostlinách a zvířatech (García-Ruiz et al., 2011, s. 115; Kozanagi et al., 1999, s. 717; McGuirl et al., 1994, s. 1205).

2.2 Katalýza chemických reakcí aminooxidázami

Aminooxidázy se prostřednictvím svých reakčních produktů podílí na důležitých fyziologických procesech. V rostlinách je to produkce peroxidu vodíku, odvozená z oxidace polyaminu, která souvisí s dozráváním buněčné stěny a s lignifikací během vývoje, stejně jako s hojením ran a zesílením buněčné stěny během invaze patogenů. Peroxid vodíku jako signální molekula zprostředkovává také smrt buněk, hypersenzitivní reakci a expresi obranných genů. Aminoaldehydy a 1,3-diaminopropan, které vznikají při oxidaci polyaminů, se účastní syntézy sekundárních metabolitů a regulují toleranci abiotického stresu (Angelini et al., 2010, s. 562; Callejón et al., 2016, s. 3114; Cona et al., 2006, s. 82).

Aminooxidázy obsahující flavin katalyzují oxidační deaminaci mnoha monoaminů, diaminů a polyaminů na aldehydy, amoniak a peroxid vodíku (obr. 2) (Cona et al., 2006, s. 80; Eom, Seo a Choi, 2015, s. 1524; Kozanagi et al., 1999, s. 718).



Obr. 2. Oxidační deaminace primárních aminů (Vitková Věra, 2019, s. 91).

Struktury aminooxidáz z různých zdrojů vykazují velikou podobnost, což poukazuje na podobné katalytické mechanismy pro všechny enzymy tohoto typu. Optimální substráty pro každý typ se však liší v závislosti na zdroji enzymu a jeho umístění (Di Paolo et al., 2011, s. 1232; Eom, Seo a Choi, 2015, s. 1524).

Závislost hodnot afinity a katalytické konstanty na pH, iontové síle a teplotě ukazuje, že vazba monoaminu je řízena hydrofobními interakcemi. Vazba diaminu je silně usnadněna elektrostatickými faktory, řízenými polárními postranními řetězci a dvěma titrovatelnými aminokyselinovými zbytky přítomnými v aktivním místě. Poloha dokovaného substrátu je také nezbytná pro účast těchto aminokyselinových zbytků v následujících katalytických krocích. Ke katalýze dochází tzv. ping-pongovým mechanismem, ve kterém je amin přeměněn na produktový aldehyd za současného snížení koncentrace enzymu (redukční polovina reakce). Následuje reoxidace kofaktoru kyslíkem, který dokončí katalytický cyklus (oxidační polovina reakce) (Di Paolo et al., 2011, s. 1232; Leuschner, Heidel a Hammes, 1997, s. 1-2; Naila et al., 2014, s. 225).

Aminooxidázy také zprostředkovávají degradaci buněčných polyaminů, které jsou všudypřítomné sloučeniny nezbytné pro růst a proliferaci buněk, a tím přispívají k tzv. polyaminové homeostáze (Cona et al., 2006, s. 80).

Několik studií prokázalo souvislost aminooxidáz s různými životními funkcemi, které mají souvislost s intenzitou metabolismu, jako je buněčné dělení nebo tvorba orgánů. Tímto ponechávají otevřenou hypotézu, že mohou hrát také úlohu v regulaci buněčného cyklu modulací polyaminového buněčného obsahu (Angelini et al., 2010, s. 560).

2.3 Dělení aminooxidáz

Jeden z hlavních detoxikačních systémů se skládá ze dvou odlišných enzymů – monoaminooxidáz (MAO) a diaminooxidáz (DAO), nazývaných v závislosti na počtu přednostně oxidovaných aminoskupin. Tyto enzymy přeměňují aminy na méně toxické produkty, které se dále vylučují z organismu (Alvarez a Moreno-Arribas, 2014, s. 147; García-Ruiz et al., 2011, s. 115).

Polyaminy jsou oxidativně deaminovány dvěma třídami aminooxidáz: aminooxidázy obsahující měď (CuAO) a polyaminooxidázy obsahující flavin (PAO) (Angelini et al., 2010, s. 560; Cona et al., 2006, s. 80).

2.3.1 Monoaminoxidázy

Monoaminoxidázy se řadí mezi flavoproteiny. Na vnějších membránách mitochondrií v mozku, játrech, střevní sliznici a dalších orgánech obsahují flavinadenin dinukleotid (FAD). Katalyzují oxidační deaminaci řady biogenních monoaminů (neuroaminy, vazoaktivní a exogenní aminy), včetně dopaminu, serotoninu, noradrenalinu, tyraminu, tryptaminu a neurotoxinů. Konečnými produkty MAO jsou odpovídající aldehydy, peroxid vodíku a amoniak, které se podílejí na oxidačních buněčných a cytotoxických procesech (Alvarez a Moreno-Arribas, 2014, s. 151).

U lidí existují dvě oddělené izoformy monoaminoxidáz: MAO-A a MAO-B, které vykazují odlišné, ale překrývající se substrátové a inhibiční specifity (Alvarez a Moreno-Arribas, 2014, s. 151; Herraiz a Chaparro, 2005, s. 237).

Obě tyto izoformy využívají stejné substráty – tyramin, dopamin a tryptamin (Herraiz a Chaparro, 2005, s. 237).

2.3.1.1 MAO-A

MAO-A přednostně katalyzuje oxidaci serotoninu a noradrenalinu a je inhibována klogylinem, který se využívá k léčbě deprese. MAO-A se podílí na regulaci neuroaminů v centrálním nervovém systému, periferních orgánech a střevních buňkách v gastrointestinálním systému. Má vliv na chování a psychiatrické poruchy, např. deprese. Inhibitory MAO-A (např. klogylin, iproniazid, brofaromin) se používají jako antidepresiva. Pro stanovení enzymatické aktivity MAO byla použita řada analytických metod. Ty jsou obecně založeny na detekci spotřeby kyslíku, peroxidu vodíku nebo amoniaku a měření oxidovaných monoaminových produktů přímou absorpcí nebo detekcí fluorescence (Herraiz a Chaparro, 2005, s. 237; Martínková et al., 2007, s. 127; McCabe-Sellers, Staggs a Bogle, 2006, s. 59).

2.3.1.2 MAO-B

MAO-B selektivně katalyzuje oxidaci fenylethylaminu, dopaminu a benzylaminu a je inhibována deprenylem. Aktivuje některé aminové substráty (protoxiny) na toxiny poškozující neurony. Může se tak podílet na neurologických poruchách jako jsou Parkinsonova a Alzheimerova choroba a inhibitory MAO-B se využívají při léčbě Parkinsonovy nemoci. Nachází se převážně v játrech a svalech (Herraiz a Chaparro, 2005, s. 237; Martínková et al., 2007, s. 127; McCabe-Sellers, Staggs a Bogle, 2006, s. 59).

2.3.2 Diaminooxidázy

DAO jsou enzymy přítomné převážně v lidském střevě a ledvinách, kde jejich působením mohou být deaminovány fyziologicky aktivní aminy. Poskytují tím ochranu před malým množstvím aminů, které jsou běžně obsaženy v potravinách (McCabe-Sellers, Staggs a Bogle, 2006, s. 59; Naila et al., 2012a, s. 2; Wohrl et al., 2004, s. 306).

Střevní DAO chrání organismus před histaminem absorbovaným z exogenních (strava) a endogenních zdrojů (hlavně subepiteliálních žírných buněk). Normálně během procesu příjmu potravy v lidském střevě jsou malá množství biogenních aminů metabolizována na fyziologicky méně aktivní produkty degradace. Po přijetí vysokého množství biogenních aminů v potravinách však není detoxikační systém schopen tyto biogenní aminy dostatečně eliminovat. Navíc v případě nedostatečné aktivity DAO, způsobené například generickou predispozicí, gastrointestinálním onemocněním nebo inhibicí aktivity DAO v důsledku sekundárních účinků léčiv nebo alkoholu, nelze účinně metabolizovat ani malá množství biogenních aminů (Shukla, Kim a Kim, 2011, s. 192; Wohrl et al., 2004, s. 306).

Nejlepším médiem pro aktivitu DAO je v laboratorních podmínkách fosfátový pufr obsahující dihydrochlorid histaminu (Naila et al., 2012a, s. 1).

2.3.3 Aminooxidázy obsahující měď

Aminooxidázy obsahující měď (CuAO) jsou homodimery, ve kterých každá podjednotka obsahuje iont mědi a kofaktor 2,4,5-trihydroxyfenylalaninichinon generovaný posttranslační autokatalytickou modifikací aktivního místa tyrozinového zbytku (Angelini et al., 2010, s. 560; Cona et al., 2006, s. 80).

Rostlinné CuAO se vyskytují ve vysokých koncentracích u dvouděložných rostlin, zejména čeledi *Fabaceae* (bobovité), jako např. hrachu, cizrny, čočky a sójových sazenic. Jsou volně spojené s buněčnými stěnami (Cona et al., 2006, s. 80).

CuAO z mikrobů, zvířat a rostlin oxidují diaminy putrescin a kadaverin na primárních aminoskupinách, které uvolňují odpovídající aminoaldehydy a amoniak (Angelini et al., 2010, s. 560).

2.3.3.1 Lakázy

V některých grampozitivních a gramnegativních bakteriích, včetně bakterií mléčného kvašení (např. v *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) je obsažen tzv. lakázový enzym. Jedná se o vícebarevné měděné formy oxidáz, které katalyzují redukci molekulárního kyslíku na vodu, přičemž obchází fázi vzniku peroxidu vodíku (Callejón et al., 2016, s. 3113; Morozova et al., 2007, s. 1143; Zhang, 2012, s. 2574).

Jsou rozšířené i mezi houbami, vyššími rostlinami a také u hmyzu. U hub se podílí na degradaci ligninu, produkci pigmentů a přispívají k patogenezi rostlin, zatímco u rostlin se účastní procesu lignifikace. Jejich fyziologické funkce u mikroorganismů zahrnují účast při produkci melaninu, odolnosti sporových vrstev, zapojení do morfogeneze, buněčného dělení, transportu elektronů a detoxifikaci mědi (Callejón et al., 2016, s. 3113; Morozova et al., 2007, s. 1143; Zhang, 2012, s. 2574).

Většina bakteriálních lakáz jsou intracelulární nebo periplazmatické enzymy grampozitivních bakterií. Nejznámějším a nejvýznamnějším typem enzymu je lakáza z *Bacillus subtilis* tvořící endosporový obalový protein s vysokou termostabilitou (Callejón et al., 2016, s. 3121).

Jejich katalytická aktivní centra obsahují čtyři reaktivní atomy mědi, což jim dává charakteristickou modrou barvu. Katalytická centra jsou konvenčně rozdělena do tří typů podle koordinačních a spektroskopických vlastností mědi. Měď typu 1 (T1 – modrá měď) je mononukleární centrum, které se podílí na oxidaci substrátu, zatímco měď T2 (neboli normální měď) spolu s mědí T3 (sdružená jádra binukleární mědi) tvoří trinukleární shluk obsahující místo vázající kyslík (Callejón et al., 2016, s. 3113; Morozova et al., 2007, s. 1143).

Lakázy kombinují čtyřelektronovou redukci molekulárního kyslíku na vodu s několika druhy substrátů včetně fenolů jako jsou methoxyfenolové, polyfenolové a nonfenolové substráty, např. aromatické aminy, arylaminy, aniliny, thioly a některé kyanidové kovové komplexy. Díky stabilitě v extrémních podmínkách teploty, pH, soli atd., širokému spektru lakázových substrátů a jejich katalyzovaných reakcí, včetně zesíťování monomerů, degradace polymerů, štěpení kruhu a funkcionalizaci aromatických sloučenin, jsou považovány za průmyslově relevantní enzymy s potenciálem pro různé aplikace (Callejón et al., 2016, s. 3113).

2.3.4 Polyaminoxidázy

Rostlinné polyaminoxidázy (PAO) jsou obsaženy zejména u jednoděložných rostlin, například u kukuřice, jejich glykoprotein je pevně vázán na buněčné stěny (Cona et al., 2006, s. 82).

PAO nesou jako kofaktor nekovalentně vázanou molekulu FAD. Polyaminy jsou oxidovány na uhlíku, který je umístěn buď na vnitřní straně (bakteriální PAO, *Zea mays*, *Hordeum vulgare* a *Avena sativa*) nebo na vnější straně dusíku (zvířecí N-acetyl polyaminoxidáza a sperminoxidáza), což vede ke vzniku konečné katabolické dráhy nebo k polyaminové zpětné dráze. Chemické složení produktů reakce PAO poukazuje na oxidaci sperminu, spermidinu a jejich acetylovaných derivátů na sekundárních aminoskupinách. Společným produktem ve všech reakcích katalyzovaných aminooxidázami je peroxid vodíku (Angelini et al., 2010, s. 560).

3 VYUŽITÍ AMINOOXIDÁZ V POTRAVINÁŘSTVÍ ZA ÚČELEM SNÍŽENÍ VÝSKYTU BIOGENNÍCH AMINŮ

Biogenní aminy se běžně vyskytují ve vyšších koncentracích ve fermentovaných produktech s vysokým obsahem bílkovin. Během procesu fermentace představují produkty rozkladu proteinů, peptidů a aminokyselin prekurzory pro tvorbu fermentujících mikroorganismů (Callejón et al., 2015, s. 4170).

U zdravých jedinců jsou biogenní aminy rychle metabolizovány ve střevním traktu na fyziologicky méně aktivní produkty degradace na základě aktivity enzymů monoaminoxidáz, diaminoxidáz, polyaminoxidáz a histamin N-methyltransferázy, které hrají důležitou roli v procesu detoxikace. Účinnost detoxikačního systému biogenních aminů je klíčová pro zabránění jejich akumulace u lidí. Nedostatečná detoxikace může být důsledkem konzumace vysokých koncentrací biogenních aminů, které detoxikační systém nezvládne dostatečně eliminovat, nebo může být způsobena genetickými predispozicemi, gastrointestinálním onemocněním, či inhibičním účinkem některých léků nebo alkoholu, což má za následek akumulaci biogenních aminů v těle (McCabe-Sellers, Staggs a Bogle, 2006, s. 59; Prester a Kotzekidou, 2016, s. 399; Şanlı a Şenel, 2015, s. 224; Shukla, Kim a Kim, 2011, s. 191).

Stanovení přesného prahu toxicity biogenních aminů u lidí je velmi obtížné, protože toxická dávka silně závisí na koncentraci a individuálních vlastnostech jednotlivých biogenních aminů, na přítomnosti jiných aminů a účinnosti detoxikačních mechanismů každého jedince (Şanlı a Şenel, 2015, s. 224; Shukla, Kim a Kim, 2011, s. 192).

Informace o toxicitě putrescinu a kadaverinu jsou vzácné. Ačkoli oba tyto sekundární biogenní aminy, na rozdíl od vazoaktivních aminů, jako jsou tyramin, histamin, tryptamin a fenylethylamin, samy o sobě nemají nepříznivé účinky na zdraví. Mohou pouze podporovat škodlivou aktivitu těchto aminů kompetitivní inhibicí detoxikačních enzymů diaminoxidázy a hydroxymethyltransferázy, podílejících se na oxidačním katabolismu histaminu. Potenciaci toxického účinku histaminu lze vysvětlit přítomností putrescinu a kadaverinu usnadňujících průchod histaminu přes tenké střevo, čímž se zvyšuje jeho rychlost vstřebávání do krevního oběhu. Kromě toho přítomnost ethanolu v alkoholických nápojích zvyšuje toxikologický účinek těchto vazoaktivních aminů díky jeho inhibičnímu účinku na detoxikační enzymy přítomné v lidském střevě (Callejón, Sara et al., 2015, s. 4170; Del Rio et al., 2018, s. 1; Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 2; Şanlı a Şenel, 2015, s. 224).

3.1 Metody snížení výskytu biogenních aminů v potravinách

Prevence tvorby biogenních aminů v potravinách může být dosažena regulací teploty, použitím vysoce kvalitních surovin, správnou výrobní a balící technikou, ozařováním a potravinářskými přídatnými látkami (Naila et al., 2010, s. 140).

Další dvě možnosti kontroly koncentrace biogenních aminů využívají přímé přidání inhibitorů k potravinám – použití bakterií snižujících obsah biogenních aminů a použití enzymů pro oxidaci aminů (např. diaminooxidázy) k degradaci biogenních aminů v potravinách (Naila et al., 2014, s. 227; 2012, s. 140; Wang et al., 2015, s. 395).

3.2 Využití aminooxidáz v potravinářství

Aminooxidázy mohou být izolovány z mnoha zdrojů, jako jsou orgány prasat (játra, ledviny), lidská placenta a krevní plazma, z mikroorganismů, včetně mikroorganismů *Microbacterium lacticum* a *Arthrobacter crystallopoietes* (Naila et al., 2012b, s. 2651).

I přesto, že použití enzymů, jako je diaminooxidáza, které degradují biogenní aminy, a použití bakterií, které tento enzym obsahují, jsou jedinými potenciálními nástroji k degradaci již vytvořených biogenních aminů, nejsou v současné době uznávanými metodami konzervace (Naila et al., 2010, s. 140).

3.2.1 Faktory ovlivňující aktivitu aminooxidáz

Enzymy oxidující biogenní aminy, byly shledány účinnými pouze v přítomnosti vysoké koncentrace kyslíku (Naila et al., 2010, s. 140; 2012b, s. 2651). Aktivita diaminooxidáz je optimální při pH 7 a 37 °C, může být snížena přítomností chloridu sodného, glukózy a hydralazinu (Naila et al., 2012b, s. 2651).

Bakterie jsou schopné degradovat biogenní aminy, stejně tak je produkovat, takže nalezení rovnováhy, která bude v potravinách kontrolovat mikrobiální růst a aktivitu enzymů, může být obtížné (Naila et al., 2010, s. 140). Nízký obsah aminů byl zjištěn u sýrů, u kterých byla detekována vyšší diaminooxidázová aktivita a naopak vysoká koncentrace aminů byla zjištěna u sýrů, které vykazovaly větší aktivitu aminokyselinových dekarboxyláz, což potvrzuje, že koncentrace aminů v potravinách závisí na poměru enzymů produkujících a degradujících aminy (Naila et al., 2012b, s. 2651).

3.2.2 Histamin oxidáza

Histamin se tvoří v různých potravinách a může způsobit otravu jídlem při vysokých koncentracích. U lidí se ve střevě absorbuje 68 až 80 % perorálně podaného histaminu (Naila et al., 2012b, s. 2650).

V situacích, kdy nelze zabránit tvorbě histaminu v potravinách pomocí chlazení, může být použit enzym DAO k degradaci histaminu na bezpečné hladiny (Naila et al., 2012b, s. 2651). Přidáním DAO do suroviny obsahující histamin, může být snížen na bezpečnou úroveň (Naila et al., 2014, s. 227). Zhoršená aktivita tohoto enzymu však může být jednou z hlavních příčin intolerance histaminu (Sánchez-Pérez et al., 2018, s. 2).

Bylo zjištěno, že DAO degraduje histamin účinněji než bakterie snižující obsah histaminu. Účinnost tohoto přirozeně přítomného enzymu se může lišit v závislosti na příjmu histaminu (Naila et al., 2012a, s. 1).

Arthrobacter crystallopoietes je potenciálním degradátorem histaminu prostřednictvím aktivity diaminooxidázy. Tato bakterie může být přidána do fermentovaných potravin, což přispívá k chuti a bezpečnosti konečného produktu. Nicméně u nefermentovaných potravin nemusí být použití bakterií praktickým řešením problému, protože pravděpodobně změní povahu produktu. Kromě toho degradátory histaminu pouze obsah histaminu snižují, ale nevyklučují ho úplně. Z tohoto důvodu se upřednostňuje aplikace DAO nebo bakterií obsahujících tento enzym (Naila et al., 2012b, s. 2650). V poslední době se tyto aplikace staly novou technologií pro snížení koncentrace histaminu v potravinách, zejména fermentovaných produktech (Wang et al., 2015, s. 396; Zaman et al., 2014, s. 59).

Několik studií prokázalo přítomnost histamin oxidázy v mnoha bakteriálních druzích (Zaman et al., 2014, s. 58).

Histaminolytické (histamin oxidující) bakterie mohou umožnit rovnováhu mezi produkcí histaminu a destrukcí v potravinách obsahujících vysoké množství histaminu (Naila et al., 2010, s. 139).

Byla nalezena např. u *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Arthrobacter crystallopoietes* a *Brevibacterium linens*. Kromě toho několik bakterií také využívá histamin dehydrogenázu ke katalyzování oxidační deaminace histaminu na acetaldehyd imidazolu a amoniak. Některé bakterie produkující histamin dehydrogenázu zahrnují *Rhizobium* sp., *Nocardioides simplex* a *Natrinema gari* (Lee et al., 2015, s. 837).

3.2.3 Oxidázy ostatních biogenních aminů

Mezi další biogenní aminy, které mohou být oxidovány aminooxidázami, patří i putrescin, kadaverin a tyramin (Callejón et al., 2015, s. 4171).

Ve fermentovaných uzeninách inokulovaných jedním bakteriálním kmenem s aktivní tyramin-dekarboxylázou a také aktivní tyramin-oxidázou byla zaznamenána degradace tyraminu. V přítomnosti bakterií oxidujících tyramin bylo celkové množství vytvořeného tyraminu sníženo na 40 % koncentrace nalezené v klobáse inokulované pouze bakteriemi schopnými dekarboxylace tyrozinu (Naila et al., 2012b, s. 2651).

Tyramin oxidáza byla použita pro degradaci tyraminu během dozrávání uzenin nebo pro kontrolu produkce biogenních aminů v nízkokyselých salámech pomocí bakterie *Micrococcus (Kocuria) varians* (Callejón et al., 2015, s. 4170).

K odstranění biogenních aminů (histaminu, putrescinu a tyraminu) z některých potravin (fermentované masné výrobky, sýry, thajské rybí omáčky a fermentované ančovičky) byly použity různé druhy mikroorganismů. Tyto mikroorganismy mohou být izolovány z různých zdrojů. Například *Staphylococcus xylosus* pochází z klobás, *Brevibacterium linens* ze sýra, *Lactobacillus sakei* z rybí omáčky, *Virgibacillus* sp. z thajské rybí omáčky, kmeny *Lactobacillus plantarum* a další bakterie mléčného kvašení z vinné klobásky a *Pedococcus acidilactici* z piva (Callejón et al., 2015, s. 4171).

García-Ruiz et al. (2011, s. 116) poukázali na to, že během skladování vína a stárnutí podléhá obsah biogenních aminů (histaminu a tyraminu) několika změnám, které jsou pozorovány jako mírný pokles těchto sloučenin během procesu stárnutí v dubových sudech. To může být způsobeno působením enzymu aminooxidázy přirozeně přítomného ve vínech.

Leuschner, Heidel a Hammes (1997, s. 1) zjistili, že fenylethylamin a tryptamin byly oxidovány při nižších koncentracích než tyramin, avšak ani tyto koncentrace nejsou zcela zanedbatelné.

3.3 Bakterie produkující aminooxidázy

Mnoho mikroorganismů může přeměnit biogenní aminy prostřednictvím oxidace na produkty, které mohou použít jako zdroj uhlíku a energie nebo jako zdroj dusíku. Flavoproteinové oxidázy přítomné v některých mikroorganismech katalyzují oxidaci širokého spektra

sloučenin, včetně biogenních aminů, prostřednictvím současné redukce kyslíku na peroxid vodíku (Callejón et al., 2015, s. 4170).

Aby se snížila tvorba biogenních aminů, výzkumníci se zaměřili na kontrolu vhodných startérových kultur s aminooxidázovou aktivitou za účelem degradace biogenních aminů (Şanlı a Şenel, 2015, s. 227).

García-Ruiz et al. (2011, s. 119) zjistili, že některé kmeny vykazují aminové degradační aktivity proti několika biogenním aminům současně.

Startérové kultury, použité při fermentaci, mohou také oddálit tvorbu biogenních aminů. Startéry používané pro fermentované potraviny jsou buď amin-negativní bakterie (neschopné dekarboxylovat aminokyseliny na biogenní aminy) nebo bakterie oxidující aminy (oxidují biogenní aminy na aldehyd, peroxid vodíku a amoniak). Tyto bakterie vyžadují optimální růstové podmínky, aby dominovaly nad bakteriemi produkujícími biogenní aminy a případně i dalšími kontaminujícími bakteriemi (Callejón et al., 2015, s. 4170; Naila et al., 2010, s. 146).

V poslední době se aplikace bakterií s enzymy degradujícími biogenní aminy stala novou metodou snižování koncentrace biogenních aminů (převážně histaminu) v potravinách, zejména ve fermentovaných produktech (Lee et al., 2015, s. 837).

Typické fermentované potraviny, ve kterých byl studován vliv startérů na obsah biogenních aminů, zahrnují klobásy, zelí, sýr, víno a zeleninu (Naila et al., 2010, s. 146).

Některé potravinářské výrobky však představují omezení této aplikace, pokud jde o růst bakterií a enzymovou aktivitu při nízké hodnotě pH, vysoké teplotě nebo vyšší koncentraci soli (Lee et al., 2015, s. 837). Tato omezení by měla být eliminována, aby byla zajištěna účinnost aktivity aminooxidáz i v potravinách s vysokým obsahem soli, např. rybí omáče nebo omáče z krevet (Zaman et al., 2014, s. 59).

Aby mohl být snížen nebo eliminován výskyt biogenních aminů v potravinách, mohou být bakterie nesoucí degradační aktivitu biogenních aminů přímo přidány do potravin během fáze zpracování. Z tohoto důvodu vzrostl zájem o startérové kultury schopné degradovat biogenní aminy (Callejón et al., 2015, s. 4170).

Enzymy aminooxidázy štěpí biogenní aminy, jako jsou histamin a tyramin, a zabraňují jejich nadměrné resorpci, což naznačuje, že bakteriální aminooxidázy mohou být užiteč-

nými nástroji pro regulaci množství biogenních aminů v potravinách (Eom, Seo a Choi, 2015, s. 1524).

Pro výzkum a vývoj průmyslových fermentovaných potravin mohou být použity bakteriální startérové kultury oxidující aminy (např. některé bakterie mléčného kvašení, jako je *Lactobacillus casei*) a následně tako mohou být využity i pro výrobu různých fermentovaných produktů. Bylo zjištěno, že několik kmenů mikroorganismů z fermentujících potravin, jako jsou *Bacillus subtilis* a *Lactobacillus* spp., vykazují velmi dobrou schopnost degradace aminu. *Bacillus subtilis* obsahuje gen pro aminooxidázu, která katalyzuje oxidační deaminaci široké škály biogenních aminů, včetně různých aminových neurotransmiterů, histaminu, tyraminu a xenobiotických aminů. Díky těmto příznivým vlastnostem lze *Bacillus subtilis* použít k prevenci tvorby biogenních aminů nebo ke snížení jejich hladin, zejména při výrobě fermentovaných potravin (Eom, Seo a Choi, 2015, s. 1520).

Naila et al. (2010, s. 147) publikovali, že inokulace amin-negativních smíšených startérů, *Pediococcus acidilactici*, *Staphylococcus carnosus*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus xylosus* do studených uzených ryb, může pomoci kontrolovat obsah biogenních aminů. Během fermentace suchého salámu byly také použity amin-negativní smíšené startéry *Staphylococcus carnosus*, *Lactobacillus sakei* a *Staphylococcus xylosus* a bylo zjištěno, že potlačují akumulaci biogenních aminů. Smíšené startéry *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus xylosus* a *Lactobacillus casei* inhibovaly tvorbu biogenních aminů a potlačovaly kontaminující mikroorganismy v klobásách. Smíšené startéry tak mohou mít synergický účinek při kontrole obsahu biogenních aminů. Použití smíšených startérů vede k velkému poklesu pH, které může být adičním faktorem přispívajícím ke snížení akumulace biogenních aminů. Také přišli na to, že amin-negativní startéry *Staphylococcus xylosus* a *Lactobacillus curvatus* zpomalují tvorbu putrescinu a kadaverinu během zrání a skladování suchých fermentovaných uzenin (Naila et al., 2010, s. 147).

Několik dalších výsledků poukázalo na to, že kmeny *Micrococcus (Kocuria) varians*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans*, *Brevibacterium linens*, *Micrococcus* sp., koryneformní bakterie, některé bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Pediococcus parvulus*, *Pediococcus pentosaceus*), izolované z fermentovaných uzenin vykazovaly aktivitu aminooxidáz (García-Ruiz et al., 2011, s. 116; Wang et al., 2015, s. 400). *Brevibacterium linens* vede ke snížení hladiny tyraminu a histaminu během zrání sýrů (Şanlı a Şenel, 2015, s. 227).

Bylo prokázáno, že i rekombinantní *Lactobacillus plantarum* je schopen oxidovat biogenní aminy, především tyramin, a představuje tak nový biotechnologický potenciál při eliminaci toxických sloučenin přítomných ve fermentovaných potravinách a nápojích (Callejón et al., 2016, s. 3113).

3.4 Aminooxidázové biosenzory

V poslední době se v důsledku komerční dostupnosti enzymů, jako jsou monoaminoxidáza a putrescin-oxidáza, několik výzkumných skupin pokusilo spojit enzymatické reakce s elektrochemickými senzory za účelem získání jednoduchých a reprodukovatelných biosenzorů. V některých případech byly biogenní aminy spojeny se senzory kyslíku nebo senzory peroxidu vodíku. Použití biosenzoru má určité výhody, např. nízkou cenu, krátkou dobu analýzy a jednoduchost použití a může být použit také mimo laboratoř (Shukla, Kim a Kim, 2011, s. 196).

ZÁVĚR

Ke zvýšení obsahu biogenních aminů dochází v důsledku nevhodného skladování a technologického zpracování surovin a potravin bakteriální dekarboxylací. Nejdůležitějšími faktory ovlivňující tuto reakci jsou teplota a doba kultivace. Čím jsou tyto faktory vyšší, tím se zvyšuje obsah biogenních aminů v potravinách.

Nejvíce informací o redukci biogenních aminů pomocí aminooxidáz je v případě histaminu. Také existují výzkumy o putrescinu, kadaverinu a tyraminu. Ostatní biogenní aminy však nebyly natolik prozkoumány, aby mohly vzniknout závěry o jejich reaktivitě s aminooxidázami.

Aminooxidázy jsou účinné pouze v přítomnosti vysoké koncentrace kyslíku, jejich optimální pH se pohybuje kolem 7 a teplota kolem 37 °C v závislosti na každém biogenním aminu. Jejich aktivita může být snížena přítomností vyšší koncentrace chloridu sodného, glukózy nebo hydralazinem.

Bakterie jsou schopné degradovat biogenní aminy, stejně tak je produkovat, takže nalezení rovnováhy, která bude kontrolovat mikrobiální růst a aktivitu enzymů, může být obtížné. Koncentrace biogenních aminů v potravinách tedy závisí na poměru enzymů produkujících a degradujících dané aminy.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ALVAREZ, Miguel A. a Ma Victoria MORENO-ARRIBAS, 2014. *The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution*. Journal of Food Science and Technology. Elsevier. ISSN 0975-8402.
- ANGELINI, Riccardo et al., 2010. *Plant amine oxidases “on the move”: An update*. Rome: Plant Physiology and Biochemistry. Elsevier. ISSN 0981-9428.
- BERÁNEK, Daniel, 2013. *Aminokyseliny* [online] [cit. 2019-04-05] Dostupné z: <https://slideplayer.cz/slide/11363935/>.
- CALLEJÓN, Sara et al., 2015. *Ability of Kocuria varians LTH 1540 To Degrade Putrescine: Identification and Characterization of a Novel Amine Oxidase*. Valencia: Journal of Agricultural and Food Chemistry. ISSN 1520-5118.
- CALLEJÓN, Sara. et al., 2016. *Cloning and characterization of a new laccase from Lactobacillus plantarum J16 CECT 8944 catalyzing biogenic amines degradation*. Berlin: Applied Microbiology and Biotechnology. ISSN 0175-7598.
- CONA, Alessandra et al., 2006. *Functions of amine oxidases in plant development and defence*. Rome: Trends in Plant Science. Elsevier. ISSN 1360-1385.
- DEL RIO, Beatriz et al., 2018. *The biogenic amines putrescine and cadaverine show in vitro cytotoxicity at concentrations that can be found in foods*. Villaviciosa: Scientific Reports. ISSN 2045-2322.
- Di PAOLO, Maria L. et al., 2011. *Active site residue involvement in monoamine or diamine oxidation catalysed by pea seedling amine oxidase*. FEBS Journal. ISSN 1742-4658.
- DONG, Hao a Kaijun XIAO, 2017. *Modified QuEChERS combined with ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry to determine seven biogenic amines in Chinese traditional condiment soy sauce*. Guangzhou: Food Chemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- EOM, Jeong S., Bo Y. SEO a Hye S. CHOI, 2015. *Biogenic Amine Degradation by Bacillus Species Isolated from Traditional Fermented Soybean Food and Detection of Decarboxylase-Related Genes*. Jeollabuk: Journal of Microbiology and Biotechnology. ISSN 1738-8872.
- GARCÍA-RUIZ, Almudena et al., 2011. *Potential of wine-associated lactic acid*

bacteria to degrade biogenic amines. Madrid: International Journal of Food Microbiology. Elsevier. ISSN 0168-1605.

- GRUMEZESCU, Alexandru a Alina-Maria HOLBAN, 2018. *Food Control and Biosecurity*. London: Academic Press. ISBN: 9780128114452.
- HERRAIZ, Tomas a Carolina CHAPARRO, 2005. *Analysis of monoamine oxidase enzymatic activity by reversed-phase high performance liquid chromatography and inhibition by β -carboline alkaloids occurring in foods and plants*. Madrid: Journal of Chromatography A. Elsevier. ISSN 0021-9673.
- KODÍČEK, Milan, Olga VALENTOVÁ a Radovan HYNEK, 2015. *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-927-3.
- KOZANAGI, Tomoyoshi et al., 1999. *Molecular Cloning and Heterologous Expression of Pea Seedling Copper Amine Oxidase*. Osaka: Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. ISSN 0916-8451.
- LEE, Yi-Chen et al., 2015. *Degradation of histamine by Bacillus polymyxa isolated from salted fish products*. Journal of Food and Drug Analysis. Elsevier. ISSN 1021-9498.
- LEUSCHNER, Renata G., Martina HEIDEL a Walter P. HAMMES, 1997. *Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms*. Stuttgart: International Journal of Food Microbiology. Elsevier. ISSN 0168-1605.
- LINARES, Daniel M. et al., 2011. *Biogenic amines in dairy product*. Asturias: Critical reviews in food science and nutrition. ISSN 1040-8398.
- LINARES, Daniel M. et al., 2016. *Comparative analysis of the in vitro cytotoxicity of the dietary biogenic amines tyramine and histamine*. Villaviciosa: Food Chemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- MARTÍNKOVÁ, Jiřina et al., 2007. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-1356-4.
- McCABE-SELLERS, J. Beverly, Cathleen G. STAGGS a Margaret L. BOGLE, 2006. *Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge*. Arkansas: Journal of Food Composition and Analysis. Elsevier. ISSN 0889-1575 .
- McGUIRL, A. Michele et al., 1994. *Purification and Characterization of Pea Seedling Amine Oxidase for Crystallization Studies*. Montana: Plant Physiology. ISSN

1532-2548.

- MORACANIN, Slavica V. et al., 2015. *Production of biogenic amines by lactic acid bacteria isolated from Uzicka sausages*. Belgrade: Procedia Food Science. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- MOROZOVA, O. V. et al., 2007. *“Blue” Laccases*. Moscow: Biochemistry. ISSN 0006-2979.
- NAILA, Aishath et al., 2010. *Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches*. Journal of Food science. ISSN 1750-3841.
- NAILA, Aishath et al., 2012a. *Histamine Degradation by Diamine Oxidase, Lactobacillus and Vergibacillus halodonitrificans Nai18*. Journal of Food Processing & Technology. ISSN 2157-7110.
- NAILA, Aishath et al., 2012b. *Prediction of the amount and rate of histamine degradation by diamine oxidase (DAO)*. Food Chemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- NAILA, Aishath et al., 2014. *Emerging Approach: Reduce Histamine Poisoning with Diamine Oxidase*. Journal of Food Processing and Preservation. ISSN 1745-4549.
- ÖNAL, Armağan, Serife E. K. TEKKELI a Cem ÖNAL, 2013. *A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in food*. Istanbul: Food Chemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- PACHLOVÁ, Vendula et al., 2018. *Biogenic amine production by nonstarter strains of Lactobacillus curvatus and Lactobacillus paracasei in the model system of Dutch-type cheese*. Zlín: LWT - Food Science and Technology. ISSN 0023-6438.
- PARK, Young K., Jae H. LEE a Jae-Hyung MAH, 2019. *Occurrence and reduction of biogenic amines in traditional Asian fermented soybean foods: A review*. Sejong: Food Chemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- PÉREZ, Sandra, Jordi BARTROLÍ a Esteve FABREGAS, 2013. *Amperometric biosensor for the determination of histamine in fish samples*. Barcelona: Food Chemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- PRESTER, Ljerka a Parthena KOTZEKIDOU, 2016. *Food hygiene and toxicology in ready-to-eat foods*. London: Academic Press. ISBN 9780128019160.
- RAY, Bibek a Arun K. BHUNIA, 2014. *Fundamental food microbiology*. Boca Raton: CRS Press, Taylor & Francis Group. ISBN 978-1-4665-6443-5.

- SÁNCHEZ-PÉREZ, Sonia et al., 2018. *Biogenic Amines in Plant-Origin Foods: Are they Frequently Underestimated in Low-Histamine Diets?* Foods. ISSN 2304-8158.
- ŞANLI, Tuba a Ebru ŞENEL, 2015. *Processing and Impact on Active Components in Food*. London: Academic Press. ISBN: 978-0-12-404699-3.
- SANTOS, M.H. Silla, 1996. *Biogenic amines: their importance in foods*. Valencia: International Journal of Food Microbiology. Elsevier. ISSN 0168-1605.
- SATO, Tsuneo, Tatsuo HORIUCHI, Ikuko NISHIMURA, 2005. *Simple and rapid determination of histamine in food using a new histamine dehydrogenase from *Rhizobium* sp.* Chiba: Analytical Biochemistry. Elsevier. ISSN 0308-8146.
- SHUKLA, Shruti, Jong-Kyu KIM a Myunghee KIM, 2011. *Occurrence of Biogenic Amines in Soybean Food Products*. Soybean and Health. InTech. ISBN 978-953-307-535-8.
- VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ, 2009. *Chemie potravin II*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-17-6.
- VELÍŠEK, Jan, 1999. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS. ISBN 8090239153.
- VÍTKOVÁ, Věra, 2019. *Ethery* [online] [cit. 2019-05-01] Dostupné z: <https://slideplayer.cz/slide/2838147/10/images/91.jpg>
- VODRÁŽKA, Zdeněk, Blanka KRÁLOVÁ a Vladislav ŠÍCHO, 1981. *Potravinářská biochemie.2.*, dopl. a přeprac. vyd. Praha: SNTL.
- WANG, Xin H. et al., 2015. *Evaluation of Key Factors Influencing Histamine Formation and Accumulation in Fermented Sausages*. Journal of Food Safety. ISSN 1745-4565.
- WOHL, Stefan et al., 2004. *Histamine Intolerance-Like Symptoms in Healthy Volunteers after Oral Provocation with Liquid Histamine*. Oceanside Publications. ISSN 1088-5412.
- ZAMAN, Muhammad Z. et al., 2014. *Degradation of histamine by the halotolerant *Staphylococcus carnosus* FS19 isolate obtained from fish sauce*. Serdang: Food Control. Elsevier. ISSN 0956-7135.
- ZHANG, Chi, 2012. *Laccase*. Shanghai: Synlett. ISSN 0936-5214.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CuAO Aminooxidázy obsahující měď

DAO Diaminooxidázy

MAO Monoaminooxidázy

PAO Polyaminooxidázy obsahující flavin

FAD Flavinadenindinukleotid

pH Stupeň kyselosti

Sp. Druh

mg Miligram, jednotka hmotnosti

kg Kilogram, jednotka hmotnosti

°C Stupeň Celsia, jednotka teploty

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Dekarboxylace aminokyselin (upraveno dle Beránek, Daniel, 2013, s. 48; Vodrážka, Králová a Šicho, 1981, s. 300).....</i>	<i>13</i>
<i>Obr. 2. Oxidační deaminace primárních aminů (Vítková Věra, 2019, s. 91).....</i>	<i>24</i>

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Biogenní aminy vzniklé dekarboxylací aminokyselin a jejich význam (upraveno dle Kodíček, Valentová a Hynek, 2015, s. 352; Velíšek, 1999, s. 123; Vodrážka, Králová a Šícho, 1981, s. 299).....14

Tab. 2. Přehled mikroorganismů produkující biogenní aminy (upraveno dle Velíšek, 1999, s. 124; Velíšek a Hajšlová, 2009, s. 318).....16