

# **Izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy z fermentovaných masných výrobků**

Dagmar Bábková

---

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: **Dagmar Bábková**  
Osobní číslo: **T17769**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy z fermentovaných masných výrobků**

Zásady pro vypracování:

1. **Biogenní aminy – charakterizace, výskyt a význam v potravinách.**
2. **Mikroorganismy degradující biogenní aminy.**
3. **Izolace degradujících mikroorganismů z fermentovaných masných výrobků.**
4. **Vyhodnocení výsledků, formulace závěrů.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] KAMENÍK, J. JANŠTOVÁ, B., SALÁKOVÁ, A. Technologie a hygiena potravin živočišného původu. 1st ed. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, 199.  
[2] ALVAREZ, Miguel A., MORENO-ARRIBAS, V. 2014. The problem of bio-genic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. Trends in Food Science. 39(2), 146-155.  
[3] LATORRE-MORATALLA, M.L., BOVER-CID, S., VECIANA-NOGUÉS, M.T., VIDAL-CAROU, M.C. 2012. Control of biogenic amines in fermented sausages: role of starter cultures. Frontiers Microbiol. 3: Article 169: 1-9.  
[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 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ..... Obor: .....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním 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 bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <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 – 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 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 bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně .....

.....

---

<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 vzdělávacímu 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**

Bakalářská práce se zabývá izolací mikroorganismů degradujících biogenní aminy z fermentovaných výrobků. Teoretická část zahrnuje popis biogenních aminů, jejich charakterizaci, výskyt a význam v potravinách a popis mikroorganismů degradujících biogenní aminy. Praktická část se zabývá izolací degradujících mikroorganismů z fermentovaných mastných výrobků a následným vyhodnocením výsledků. Bylo izolováno 36 kmenů a byla ověřena jejich degradační schopnost pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí po předcházející derivatizaci dansylchloridem. V celém experimentu byl nejlépe degradovaným aminem putrescin, nejhůře degradovaným aminem kadaverin. Největší degradační schopnost vykazoval kmen XY7, který byl izolován z Poličanu, u kterého koncentrace všech sledovaných aminů poklesla minimálně o 85%. Nejlépe degradoval histamin, obsah byl snížen o 95%.

Klíčová slova:

Biogenní aminy, mikroorganismy, degradace, fermentované masné výrobky, izolace

## **ABSTRACT**

The aim of this bachelor thesis is the isolation of biogenic amines degrading microorganisms from fermented meat products. The theoretical part describes the biogenic amines, their characterization, occurrence and importance in food and the description of microorganisms degrading biogenic amines. Practical part deals with isolation of microorganisms degrading biogenic amines from fermented meat products and evaluation of our results. We isolated 36 strains and verified their degradation ability by high performance liquid chromatography with UV detection after previous dansyl chloride derivatization. Throughout the experiment, the most degraded amine was putrescine, the worst degraded amine cadaverine. Strain XY7 was isolated from Poličan, showed the greatest degradation ability. The concentration of all the monitored amines decreased by at least 85%. The best degraded was histamine, its content was reduced by 95%.

Keywords:

Biogenic amines, microorganisms, degradation, fermented meat products, isolation

Chtěla bych poděkovat paní doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. vedoucí mé bakalářské práce. Za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a připomínky.

Také děkuji Ing. Pavlu Plevovi, Ph.D. za pomoc při zpracovávání výsledků pomocí softwaru Chromeleon a laborantkám Bc. Veronice Kučabové a Ing. Olze Vlčkové za pomoc v laboratořích.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	11
TEORETICKÁ ČÁST.....	12
<b>1 BIOGENNÍ AMINY – CHARAKTERIZACE, VÝSKÝT A VÝZNAM V POTRAVINÁCH.....</b>	<b>13</b>
1.1 CHARAKTERIZACE.....	13
1.1.1 Fyziologické působení biogenních aminů.....	13
1.1.2 Patologie biogenních aminů.....	15
1.1.3 Vznik biogenních aminů.....	15
1.2 VÝSKYT A VÝZNAM V POTRAVINÁCH.....	17
1.2.1 Nefermentované potraviny.....	18
1.2.1.1 Ryby a plody moře.....	18
1.2.1.2 Maso a masné výrobky.....	18
1.2.1.3 Mléko.....	19
1.2.1.4 Ovoce a zelenina.....	19
1.2.2 Fermentované výrobky.....	20
1.2.2.1 Fermentované masné výrobky.....	20
1.2.2.2 Fermentované mléčné výrobky.....	21
1.2.2.3 Fermentované nápoje.....	21
<b>2 MIKROORGANISMY DEGRADUJÍCÍ BIOGENNÍ AMINY.....</b>	<b>23</b>
2.1 SCHOPNOST MIKROORGANISMŮ DEGRADOVAT BIOGENNÍ AMINY.....	23
2.2 BAKTERIE.....	23
2.2.1 Rod <i>Bacillus</i> .....	23
2.2.1.1 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	23
2.2.1.2 <i>Bacillus subtilis</i> .....	24
2.2.1.3 <i>Bacillus coagulans</i> .....	24
2.2.1.4 Jiné.....	24
Významnými histaminovými degradéry byli také <i>Bacillus megaterium</i> (Kim et al., 2006, s. 120), <i>Bacillus humi</i> . (Zaman et al., 2010, s. 445). .....	24
2.2.2 Rod <i>Staphylococcus</i> .....	24
2.2.2.1 <i>Staphylococcus xylosus</i> .....	24
2.2.2.2 <i>Staphylococcus carnosus</i> .....	25
2.2.2.3 Další.....	25
2.2.3 Rod <i>Brevibacterium</i> .....	25
2.2.4 Rod <i>Micrococcus</i> a <i>Kocuria</i> .....	25
2.2.5 Rod <i>Lactobacillus</i> .....	25
2.2.5.1 <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	26
2.2.5.2 <i>Lactobacillus casei</i> .....	26
2.2.5.3 Další.....	26
2.2.6 Rod <i>Pediococcus</i> .....	26
2.2.7 Jiné.....	26
2.3 PLÍSNĚ.....	27
2.4 KVASINKY.....	27
PRAKTICKÁ ČÁST.....	28
CÍL PRÁCE.....	29
<b>3 MATERIÁL A METODY.....</b>	<b>30</b>



3.1	IZOLACE DEGRADUJÍCÍCH MIKROORGANISMŮ Z FERMENTOVANÝCH MASTNÝCH VÝROBKŮ .....	30
3.1.1	Vzorky .....	30
3.1.2	Přístroje a pomůcky .....	30
3.1.3	Kultivační media a roztoky .....	31
3.1.4	Příprava a odběr vzorků .....	33
3.2	OVĚŘENÍ IZOLOVANÝCH KMENŮ NA SCHOPNOST DEGRADACE AMINŮ .....	33
3.2.1	Mikroorganismy .....	33
3.2.2	Kultivační média a roztoky .....	34
3.2.3	Příprava a odběr vzorků pro analýzu .....	34
3.2.4	Derivatizace vzorků .....	34
3.2.5	Chromatografické stanovení .....	34
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY .....</b>	<b>35</b>
4.1	IZOLACE MIKROORGANISMŮ .....	35
4.2	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ POKLESU BIOGENNÍCH AMINŮ IZOLOVANÝMI MIKROORGANISMY .....	35
4.2.1	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Paprikáše .....	36
4.2.1.1	Degradační schopnost kmene XY1 .....	36
4.2.1.2	Degradační schopnost kmene XY2 .....	36
4.2.2	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Mexické klobásy .....	37
4.2.2.1	Degradační schopnost kmene XY3 .....	37
4.2.2.2	Degradační schopnost kmene XY4 .....	38
4.2.2.3	Degradační schopnost kmene XY5 .....	39
4.2.3	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Poličanu .....	39
4.2.3.1	Degradační schopnost kmene XY6 .....	39
4.2.3.2	Degradační schopnost kmene XY7 .....	40
4.2.3.3	Degradační schopnost kmene XY8 .....	41
4.2.4	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmenem izolovaným z Pršut pečeně .....	41
4.2.5	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Gombasecké klobásy .....	42
4.2.5.1	Degradační schopnost kmene XY10 .....	42
4.2.5.2	Degradační schopnost kmene XY11 .....	43
4.2.5.3	Degradační schopnost kmene XY12 .....	44
4.2.6	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Télišalámi .....	44
4.2.6.1	Degradační schopnost kmene XY13 .....	44
4.2.6.2	Degradační schopnost kmene XY14 .....	45
4.2.7	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Kosteleckého uheráku .....	46
4.2.7.1	Degradační schopnost kmene XY15 .....	46
4.2.7.2	Degradační schopnost kmene XY16 .....	46
4.2.7.3	Degradační schopnost kmene XY17 .....	47
4.2.8	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Hermínu .....	48
4.2.8.1	Degradační schopnost kmene XY18 .....	48

4.2.8.2	Degradační schopnost kmene XY19.....	48
4.2.9	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Choriza .....	49
4.2.9.1	Degradační schopnost kmene XY20.....	49
4.2.9.2	Degradační schopnost kmene XY21.....	50
4.2.10	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Kmotrovy klobásy .....	51
4.2.10.1	Degradační schopnost kmene XY22.....	51
4.2.10.2	Degradační schopnost kmene XY23.....	51
4.2.10.3	Degradační schopnost kmene XY24.....	52
4.2.11	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Chilli salámků.....	53
4.2.11.1	Degradační schopnost kmene XY25.....	53
4.2.11.2	Degradační schopnost kmene XY26.....	53
4.2.12	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými ze Salámků s javorovým sirupem .....	54
4.2.12.1	Degradační schopnost kmene XY27.....	54
4.2.12.2	Degradační schopnost kmene XY28.....	55
4.2.12.3	Degradační schopnost kmene XY29.....	55
4.2.13	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými ze Salámků z vepřového masa klasik.....	56
4.2.13.1	Degradační schopnost kmene XY30.....	56
4.2.13.2	Degradační schopnost kmene XY31.....	57
4.2.14	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmenem izolovaným z Uherské klobásy .....	57
4.2.15	Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Gyulai klobásy.....	58
4.2.15.1	Degradační schopnost kmene XY33.....	58
4.2.15.2	Degradační schopnost kmene XY34.....	59
4.2.15.3	Degradační schopnost kmene XY35.....	59
4.2.15.4	Degradační schopnost kmene XY36.....	60
<b>5</b>	<b>DISKUZE .....</b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>65</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>66</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>76</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>77</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>79</b>

## ÚVOD

Zvýšený zájem o biogenní aminy vyplývá z prohlubujících se znalostí jejich působení na člověka. I když jsou pro člověka nepostradatelné, ve vysokých koncentracích mohou být pro tělo toxické. Proto jsou obecně považovány za potravinové riziko

Tento fakt spolu s ekonomikou výroby je důvodem pro kontrolu množství biogenních aminů. V EU pro ně nejsou stanoveny maximální přípustné hodnoty. Výjimkou je histamin v rybách a rybích výrobcích, kde je jeho přípustné množství stanoveno na  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES), 2073/2005).

Nejčastěji vznikají biogenní aminy dekarboxylací. Fermentované produkty mají vysoký obsah biogenních aminů, protože k jejich výrobě se využívá startérových kultur, které mohou mít právě dekarboxylázovou aktivitu.

Protože v některých případech není možné se vyhnout výskytu biogenních aminů, využívají se také kultury, které jsou schopny biogenní aminy degradovat nebo ovlivňují vnější prostředí a tím omezují i jejich vznik.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 BIOGENNÍ AMINY – CHARAKTERIZACE, VÝSKÝT A VÝZNAM V POTRAVINÁCH

## 1.1 Charakterizace

Biogenní aminy jsou netěkavé bazické nízkomolekulární látky vykazující biologickou aktivitu. Bývají produkovány a degradovány živočichy, rostlinami a mikroorganismy (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400; Halasz et al., 1994; s. 42; Baümlisberger et al., 2015, s. 840).

Dělíme je dle počtu aminoskupin, chemické struktury, místa vzniku a fyziologické funkce. Dle počtu aminokyselin se biogenní aminy dělí na monoaminy - tyramin, fenylethylamin; diaminy - histamin, serotonin, putrescin, kadaverin, tryptamin a polyaminy - spermin, spermidin, agmatin (Fernandes a Gloria, 2015, s. 301).

Dle místa vzniku se biogenní aminy dělí na endogenní (biogenní) a exogenní (přírodní /natural). Hranice mezi endogenními a exogenními biogenními aminy se mohou překrývat. Exogenní jsou syntetizovány *in situ* jako výsledek normální metabolické aktivity. Endogenní vznikají působením dekarboxyláz bakteriálního původu (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400; Halasz et al., 1994; s. 42; Stadnik a Dolatowski, 2010, s. 252).

Dle chemické struktury mohou být biogenní aminy rozděleny na aromatické monoaminy - tyramin, fenylethylaminy, heterocyklické aminy - histamin a tryptamin, serotonin; alifatické diaminy - kadaverin a putrescin a alifatické polyaminy - agmatin, spermidin a spermin (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400; Stadnik a Dolatowski, 2010, s. 252).

Heterocyklické aminy mohou být dále rozděleny na indolaminy - serotonin a imidazoliny - histamin (Fernandes a Gloria, 2015, s. 301).

Dle fyziologické funkce někteří autoři rozlišují polyaminy a biogenní aminy (Fernandes a Gloria, 2015, s. 301).

### 1.1.1 Fyziologické působení biogenních aminů

Biogenní aminy a polyaminy mají významnou regulační roli při řízení fyziologických funkcí. Běžně se podílejí na řadě metabolických procesů, a proto jsou pro tělo v nízkých koncentracích nepostradatelné. Za některých okolností, zejména se jedná o sníženou schopnost degradace a příjem vysokých koncentrací, mohou představovat potenciální zdravotní riziko (Fernandes a Gloria, 2015, s. 301).

U rostlin ovlivňují dělení buněk, diferenciaci, tvorbu květu a plodu, syntézu stresových faktorů (Halasz et al., 1994, s. 42).

V lidském těle působí hlavně jako hormony a neurotransmitery. Mohou být také prekurzory alkaloidů, nukleových kyselin a proteinů. Jsou považovány za vasoaktivní a psychoaktivní látky. (Stadnik a Dolanowski, 2010; s. 252; Baümlisberger et al., 2015, s. 840). Polyaminy jsou důležité pro normální funkci imunitního systému, buněčnou proliferaci a diferenciaci, reparaci a stabilizaci buněčných membrán. Mají antioxidační účinky, zpomalují stárnutí a opotřebování buněk. (Halasz et al., 1994, s. 42; Silla Santos, 1996, s. 213) V tabulce 1 je uveden přehled funkcí nejdůležitějších biogenních aminů.

*Tab. 1: Přehled funkce nejdůležitějších biogenních aminů (Upraveno podle Shalaby 1996, s. 678 – 680; Alvarez a Moreno-Arribas, 2014, s. 147-148; Velíšek 2002)*

<b>Histamin</b>	Uvolnění katecholaminů Kontrakce hladkého svalstva (děloha, střeva, průdušky) Stimulace smyslových a motorických neuronů Sekrece žaludečních kyselin Periferní vasodilatace Hypotenze Návaly horka, bolesti hlavy
<b>Tyramin</b>	Periferní vasokonstrikce Hypertenze, tachypnoe Zvýšení respirace Slzení, slinění Zvýšení obsahu cukru v krvi Uvolnění noradrenalinu z nervového systému Migrény
<b>Putrescin a kadaverin</b>	Hypotenze Bradykardie, zpomalení srdeční činnosti Tonické křeče žvýkacích svalů Částečná paralýza končetin
<b>Fenylethylamin</b>	Uvolnění noradrenalinu z nervového systému Hypertenze, zvýšení krevního tlaku Migrény
<b>Tryptamin</b>	Hypertenze, zvýšení krevního tlaku

### 1.1.2 Patologie biogenních aminů

Biogenní aminy představují zdravotní riziko pouze v případě přijetí vysokých koncentrací, které se dostanou ze zažívacího traktu až do oběhového systému. Záleží také na citlivosti jedince. Intolerance je důsledek nepoměru mezi přísunem a odbouráváním aminů v těle (Baümlisberger et al., 2015, s. 840).

Histamin a tyramin jsou hlavní biogenní aminy ohrožující lidské zdraví. Fenylethylamin a tryptamin jsou méně toxické (Kameník, 2012, s. 74 -75). Detoxikace probíhá ve střevě působením monoaminoxidáz (MAO) a diaminoxidáz (DAO). Tyto enzymy jsou inhibovány tzv. inhibitory monoaminoxidázy (IMAO), jde např. o alkohol a antidepresiva (Halasz et al., 1994 s. 42; Shalaby et al., 1996, s. 676; Baümlisberger et al., 2015, s. 840).

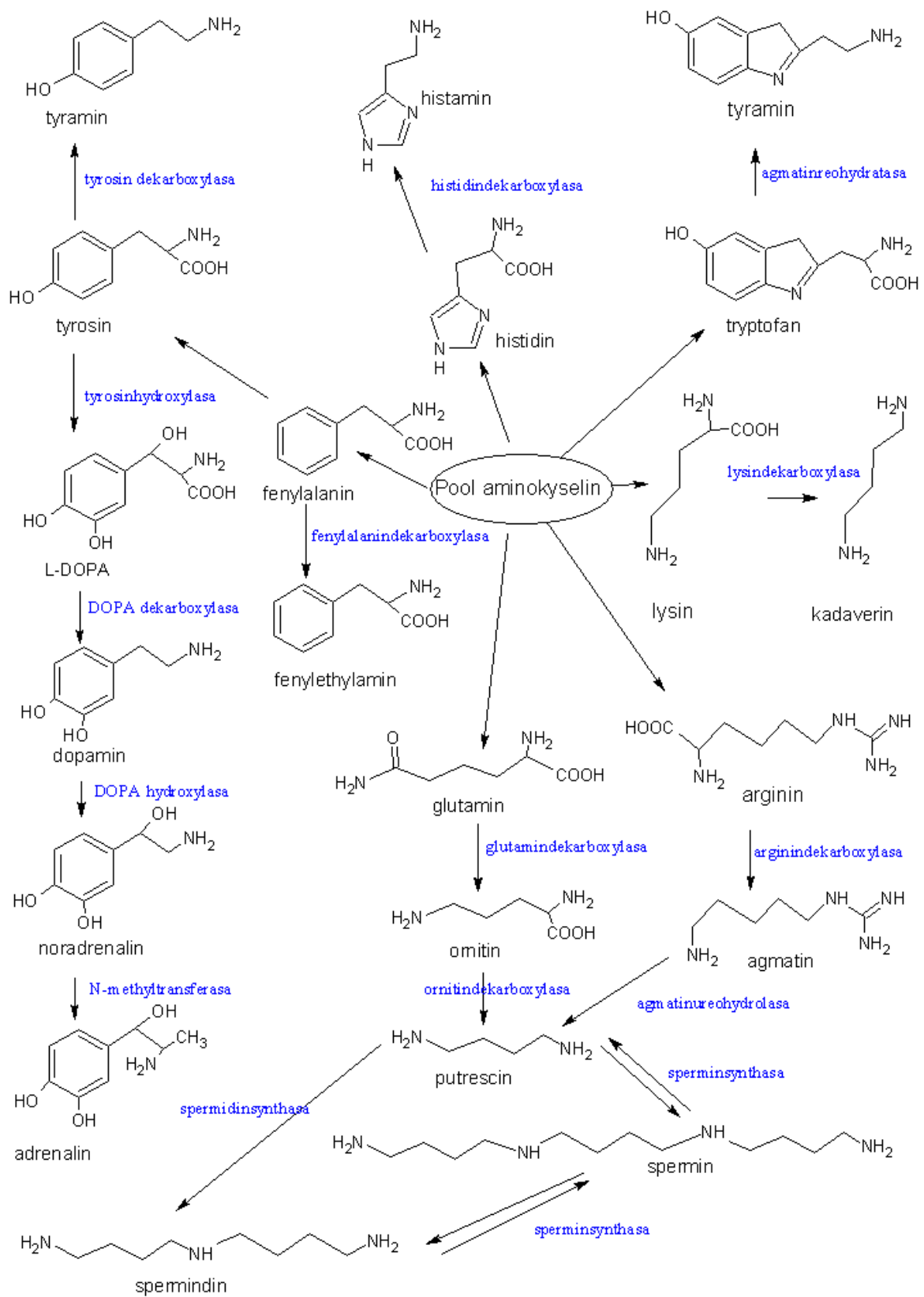
Aminové intoxikace mohou způsobit tzv. pseudoalergii, která se většinou projeví do 4 hodin. Příznaky mohou být bolest hlavy, potíže s dýcháním, bronchiální astma, průjem, žaludeční křeče, kolísání krevního tlaku, urtikariální exantém. Byly zaznamenány případy, kdy došlo i k anafylaktickému šoku (Baümlisberger et al., 2015, s. 840; Silla-Santos, 1996, s. 223 - 224; Stadler a Linenback, 2009, s. 342).

Biogenní aminy bývají považovány za prekurzory karcinogenů. V přítomnosti dusitanů nebo bílkovin tvoří karcinogenní nitrosaminy. Požadavek polyamidů je zvláště vysoký u rapidně se dělících tkání, proto jsou putrescin, spermidin a spermin důležité pro nádorový růst (Shukla et al., 2011, s. 184). Zvýšené množství polyaminů bylo nalezeno také při jiných patologických stavech, např. při infekci, polycytemii rubra vera, systémovém lupus erytematoides, uremii, chronické hepatitidě, cirhóze jater, cystické fibróze, inzulin dependentním diabetes mellitus, svalové dystrofii a Alzheimerově chorobě. (Alvarez et al., 2014, s. 152)

### 1.1.3 Vznik biogenních aminů

Biogenní aminy jsou deriváty aminokyselin. Volné aminokyseliny se získávají během fermentace z bílkovin nebo z neproteinogenních dusíkatých látek. (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400; Stadnik a Dolanowski, 2010; s. 252; Baümlisberger et al., 2015, s. 840).

Mnoho biogenních aminů je pojmenováno dle svých prekurzorů (např. histidin → histamin), není to však pravidlem (Shukla et al., 2011, s. 182). Vznik nejdůležitějších biogenních aminů ukazuje obrázek 1.



Obr. 1: Vznik nejdůležitějších biogenních aminů z aminokyselin. (Upraveno podle Halasz et al., 1994, s. 43, s. 258; Ledvina, 2010)



Biogenní aminy vznikají nejčastěji pomocí bakteriálních dekarboxyláz. Tento enzym má obvykle absolutní substrátovou specifitu a bývá velmi ovlivněn podmínkami prostředí. Kofaktor je derivátem vitamínu B<sub>6</sub> (pyridoxalfosfátu; PLP), (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400; Ledvina, 2010).

Některé MO využívají dekarboxylaci kvůli získání energie, nebo ke své ochraně před kyselým prostředím produkovaným ostatními bakteriemi - zvyšují protonový gradient a tím snižují cytoplazmatické pH (Baümlisberger et al., 2015, s. 840).

BA mohou vznikat také transaminací a aminací aldehydů a ketonů nebo hydrolytickou degradací neproteinogenních dusíkatých látek (Halasz et al., 1994 s. 42; Baümlisberger et al., 2015, s. 840)

Biogenní aminy produkují kvasinky, grampozitivní i gramnegativní bakterie. Grampozitivní bakterie mají nejvyšší podíl na produkci biogenních aminů, gramnegativní bakterie bývají často inhibovány při fermentaci nebo hygienickými postupy při výrobě (Linares et al., 2012, Ladero et al., 2011).

Produkce biogenních aminů je podpořena dostupností volných aminokyselin, přítomností dekarboxyláza pozitivních mikroorganismů a přítomností pyridoxalfosfátu. Produkci ovlivňují i podmínky vnějšího prostředí, např. hladina pH, koncentrace NaCl, teplota, redoxní potenciál a aktivita vody. Produkci negativně ovlivňuje přítomnost antimikrobních látek, např. sorbanu draselného (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400, Stadnik a Dolanowski, 2010; s. 252, Shukla et al., 2011, s. 182; Halasz et al., 1994 s. 42).

## 1.2 Výskyt a význam v potravinách

Biogenní aminy se nacházejí ve všech potravinách obsahujících bílkoviny. Volné aminy vytvářejí typickou chuť zralých potravin a jsou prekurzory některých aromatických sloučenin. (Stadnik a Dolanowski, 2010; s. 253) Z důvodu zmíněného v kapitole 1.1.1 je dobré vědět, jaké biogenní aminy lze v jednotlivých potravinách očekávat.

Potraviny obsahující vyšší koncentrace biogenních jsou např. ryby, maso, sýry, ovoce a zelenina, ořechy, víno a pivo. Nejčastějšími BA v potravinách jsou histamin, tyramin, kadaverin, fenylethylamin, spermin a spermidin, putrescin, tryptamin a agmatin. V mase a rybách může být nalezen i dopamin a oktopamin (Vidal-Carou et al., 2010, s. 400, Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 253).

Potraviny z hlediska vzniku biogenních aminů můžeme dělit na fermentované, kde aminy vznikají převážně vlivem startérových kultur, a nefermentované, kde aminy vznikají činností hnilobných bakterií. (Kalhotka, 2007).

### 1.2.1 Nefermentované potraviny

#### 1.2.1.1 Ryby a plody moře

Maso ryb se vyznačuje vysokou hodnotou aktivity vody, nízkým obsahem sacharidů a tuků. Proto rychle podléhá zkáze. Největší množství mikroorganismů může být nalezeno v oblasti žáber, případně v zažívacím traktu. Na kažení se podílí především tyto mikroorganismy: *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* a při vyšších teplotách také *Bacillus*, *Micrococcus* (Kalhotka, 2007).

Nejvíce rizikové je maso ryb s vysokým obsahem histidinu ve svalovině. Jde např. o makrely, tresku, tuňáka, sledě, sardinky. Čerstvá svalovina obsahuje řádově jednotky  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  histaminu a tyraminu. Při špatném skladování se koncentrace biogenních aminů může zvýšit až tisíckrát. Ve svalovině se v průběhu skladování také tvoří putrescin, kadaverin, tyramin. Obsah agmatinu je vysoký u některých koryšů a sušených ryb. (Shalaby, 1996, s. 677; Velišek, 2002)

#### 1.2.1.2 Maso a masné výrobky

U čerstvě poraženého masa jsou hlavními BA adrenalin, spermin a spermidin. Ostatní BA vznikají až během skladování díky mikrobiální aktivitě - putrescin, kadaverin, tyramin. Výjimkou může být malé množství exogenního putrescinu. (Stadnik a Dolanowski, 2010; s. 253; Halasz et al., 1994; s. 43; Shalaby, 1996). Vysoké koncentrace sperminu jsou obvyklé u masa z teplokrevných živočichů. (Halasz et al., 1994, s. 43)

U tepelně opracovaného masa jsou spermin a spermidin obvykle jediné detekovatelné BA. Výjimečně může být detekován fenylethylamin a tryptamin. Obecně u tepelně opracovaných masných výrobků je obsah histaminu, tyraminu a diaminů docela nízký. (Halasz et al., 1994, s. 43)

Aminy bývají termorezistentní, ale občas bývá zaznamenána malá redukce sperminu a spermidinu během tepelného opracování. Bylo zjištěno, že koncentrace tyraminu lze efektivně snížit umytím. (Halasz et al., 1994, s. 43)

Koncentrace tyraminu, putrescinu, kadaverinu se normálně zvyšuje během zpracování a skladování masa a masných výrobků, zatímco koncentrace spermidinu a sperminu se snižuje nebo zůstává konstantní (Halasz et al., 1994, s. 43; Baümlisberger et al., 2015, s. 840). Z tohoto důvodu jejich množství a poměry mohou být používány jako index hygienických podmínek syrového materiálu a výroby (Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 253). Čerstvost masa může být zhodnocena pomocí tzv. indexu biogenních aminů (BAI) (Vidal-Carou et al., 2010, s. 404).

$$\text{BAI} = \frac{c(\text{Him}) + c(\text{Put}) + c(\text{Cad})}{1 + c(\text{Spd}) + c(\text{Spm})}$$

Him – histamin, Put - putrescin, Cad - kadaverin, Spd - spermidin, Spm - spermin, c- koncentrace, mg.kg<sup>-1</sup>

Rovnice 1: Index biogenních aminů (Upraveno podle Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 259 - 260; Vidal-Carou et al., 2010, s. 404)

Pro zdravé, čerstvé maso je BAI < 5, pro použitelné maso se známkami začínajícího bakteriálního znehodnocení 5-20, pro nízkou kvalitu masa 20-50 a pro zkažené maso >50. Využitelnost BAI závisí na povaze výrobku. Výsledky jsou přesnější u čerstvého masa a tepelně opracovaných produktů než u fermentovaných produktů. (Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 259-260)

Vzhledem k možné přítomnosti degradérů tento vzorec nemůže být využit jako absolutní kritérium. Určení BA v mase je proto vhodné pro určení počátečního sekundárního znečištění. (Vinci a Antonelli, 2002, s. 519)

### **1.2.1.3 Mléko**

Koncentrace histaminu, tyraminu je v čerstvém mléce, mléčných nápojích a nefermentovaných výrobcích nižší jak 1 mg.kg<sup>-1</sup>. Dále je možný výskyt putrescinu, kadaverinu, sperminu a spermidinu (Kalhotka, 2007, s. 32).

### **1.2.1.4 Ovoce a zelenina**

V ovoci a zelenině se biogenní aminy vyskytují převážně endogenně. Hlavním biogenním aminem je tyramin. Mohou se zde vyskytovat i konjuganty tryptaminu s mastnými kyselinami a s kyselinou skořicovou, které mají funkci fungicidní, insekticidní, anebo jako fytohormony. (Kalhotka, 2007, s. 33; Shalaby, 1996, s. 684).

Ve špenátu se vyskytuje histamin od 200 do 400 mg.kg<sup>-1</sup>. Čerstvá zelenina a saláty obsahují animy v rozmezí 14 až 20 mg.kg<sup>-1</sup>. Hlavním aminem je spermidin. V houbách byl nalezen putrescin, tyramin a fenylethylamin. (Kalhotka, 2007, s. 33; Shalaby, 1996, s. 684).

Citrusové plody mají vyšší obsah putrescinu. V luštěninách, květáku a brokolice je hodně sperminu a spermidinu. Velké množství aminů obsahují džusy. Převažujícím aminem zde byl putrescin, histamin se zde vyskytoval v nízkých koncentracích. (Kalhotka, 2007, s. 37; Shalaby, 1996, s. 684).

## 1.2.2 Fermentované výrobky

U fermentovaných potravin a nápojů je pravděpodobnost akumulace vyšších koncentrací biogenních aminů. Akumulace může být ovlivněna i mnoha faktory, které nelze ovlivnit nebo se jim nedá vyhnout, např. produkce ovčích sýrů z nepasterizovaného mléka. Nebezpečná je zejména konzumace více fermentovaných potravin najednou. (Buňková et al., 2012; Alvarez et al., 2014, s. 152).

### 1.2.2.1 Fermentované masné výrobky

Fermentované masné výrobky patří mezi potraviny, u kterých lze nalézt hned po sýrech nejvíce biogenních aminů. Vznikají spolu s organoleptickými látkami při fermentaci nebo mohou být důsledkem sekundární kontaminace a nevhodných podmínek během zpracování a skladování (Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 254-255).

Akumulaci biogenních aminů způsobují mikroorganismy, které jsou buď součástí přirozené mikroflóry, nebo jsou využívány jako startovací kultury při procesu fermentace (Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 254-255). Pro snížení obsahu biogenních aminů se doporučuje využít kmenů, které neprodukují biogenní aminy a inhibují růst kultur s dekarboxylázovou aktivitou nebo využít kmenů s aminooxidázovou aktivitou. (Alvarez et al., 2014, s. 152-153, Fadda et al., 2002; Gardini et al., 2002).

Fermentované produkty se srovnatelnými mikrobiálními profily se mohou lišit obsahem jednotlivých BA. To naznačuje závislost interakcí vnitřních a vnějších faktorů. (Stadnik a Dolanowski, 2010, s. 254-255).

Hladina biogenních aminů u fermentovaných masných výrobků kolísá v rámci typu produktu, výrobce a šarže. Nejvyšší nárůst bývá zaznamenán na počátku fermentace. Na množství BA působí i velikost salámu, kdy větší koncentrace aminů se nacházela v salámech s větším průměrem. Uvnitř salámu byl naměřen vyšší obsah aminů než na okraji

(Kohajdová et al., 2008, s. 42). Ve fermentovaných výrobcích se vyskytuje tyramin, putrescin a kadaverin, fenylethylamin, tryptamin, spermin a spermidin. (Latorre- Moratalla et al. 2012, s. 2)

Histamin a putrescin se vyskytuje ve vyšších koncentracích na začátku fermentace. Ke konci fermentace dochází k nárůstu tyraminu a putrescinu. Nejvyšší koncentrace bývají zaznamenány u tyraminu, až  $145 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Vysoké koncentrace bývají zaznamenány více variabilně i u kadaverinu a putrescinu. Jejich koncentrace je závislá na přítomnosti gram-negativních bakterií. Hladiny histaminu bývají nízké. Hladiny sperminu jsou vyšší než spermidinu (Vidal-Carou et al., 2010, s. 403-404, Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 1-3).

V salámu Herkules (startovací kultura *Pediococcus pentosaceus* a *Staphylococcus carnosus*) bylo po 21 dnech detekováno  $123 \text{ mg.kg}^{-1}$  tyraminu,  $247 \text{ mg.kg}^{-1}$  putrescinu,  $15 \text{ mg.kg}^{-1}$  kadaverinu,  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$  sperminu,  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$  spermidinu a  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$  histaminu. V případě použití jiné startovací kultury (*S. carnosus*, *S. xylosus*, *Lactobacillus farciminis*) byly hladiny biogenních aminů zanedbatelné, nejvyšší hodnoty vykazoval spermin  $22 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Komprda et al., 2004, s. 616 - 617). U salámu Poličan bylo naměřeno  $89 \text{ mg.kg}^{-1}$  tyraminu,  $54 \text{ mg.kg}^{-1}$  putrescinu a  $28,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  histaminu (Suzzi a Gardini, 2003, s. 43).

Vysoké koncentrace kadaverinu, putrescinu a histaminu svědčí o nedodržení hygienických podmínek. Dlouho skladované maso mívá zvýšenou hladinu kadaverinu. Koncentrace aminů je nejvíce ovlivněna dobou zrání a teplotou. (Vidal-Carou et al., 2010, s. 403-404).

### **1.2.2.2 Fermentované mléčné výrobky**

Nejvýznamnějším fermentovaným mléčným výrobkem z hlediska obsahu biogenních aminů jsou sýry. (Kalhotka, 2007, s. 40) Nejvíce tyraminu se nachází v sýrech zrajících pod mazem, sýrech s vysokodohřívanou sýřeninou a plísňových sýrech. Byly zaznamenány koncentrace histaminu a tyraminu nad  $1 \text{ g.kg}^{-1}$ , stovky  $\text{mg.kg}^{-1}$  putrescinu a kadaverinu, desítky fenylethylaminu a minoritní obsah tryptaminu. Za produkci tyraminu jsou zodpovědné zejména enterokoky. Nedávno byl identifikován kmen *Lactobacillus casei*, který by mohl být využíván jako konkurenční doplňková kultura se schopností redukce koncentrace histaminu a tyraminu. (Alvarez et al., 2014, s. 152; Standarová, 2008, s. 39)

### **1.2.2.3 Fermentované nápoje**

V pivu se nejčastěji vyskytuje tyramin, putrescin, kadaverin a histamin. Celkové množství kolísá mezi  $15 - 60 \text{ mg.l}^{-1}$ . Ve víně se vyskytuje putrescin, histamin, tyramin a kadaverin v koncentracích max.  $50 \text{ mg.l}^{-1}$ . Jejich obsah se v jednotlivých vínech značně liší, záleží

na surovině a způsobu jejího zpracování. Biogenní aminy se mohou vyskytovat také v moštu a mladině. (Kohadajová et al., 2008, s. 43; Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 1-3).

## 2 MIKROORGANISMY DEGRADUJÍCÍ BIOGENNÍ AMINY

### 2.1 Schopnost mikroorganismů degradovat biogenní aminy

Dříve probíhala fermentace jen díky přirozeně se vyskytujícím mikroorganismům. Dnes se přistupuje k výběru startovacích kultur.

Při pokusu o kontrolu biogenních aminů by mělo být potvrzeno, že mikroorganismy, které mají být použity jako startovací kultury, nevytvářejí biogenní aminy a jsou schopny přerůst autochtonní mikroflóru za podmínek výroby a skladování (Alvarez et al., 2014, s. 149). Jedná se o amin negativní kmeny, které postrádají dekarboxylázovou aktivitu a schopnost degradovat aminokyseliny, případně i jejich prekurzory. V poslední době se využívají i organismy se schopností snižovat hladinu biogenních aminů, tj. mikroorganismy s aminooxidázovou aktivitou (Naila et al., 2010, s. 146).

Je důležité poznamenat, že dosud nebyly provedeny biochemické studie, které by dokazovaly, že aminooxidázová aktivita je zodpovědná za redukci biogenních aminů ve výrobcích, nebo zda jsou podmínky fermentace vůbec vhodné pro aminooxidázovou aktivitu (Alvarez et al., 2014, s. 151). Aplikace mikroorganismů s aminooxidázovou aktivitou je omezena koncentrací kyslíku, pH a přítomností NaCl a glukosy. Produktem oxidáz je navíc  $H_2O_2$ , který může způsobit ztrátu barvy a chuti potravin (Leuschner et al., 1997, s. 10-11).

### 2.2 Bakterie

V této kapitole je uveden přehled mikroorganismů, které jsou schopny degradovat biogenní aminy.

#### 2.2.1 Rod *Bacillus*

Zástupci rodu *Bacillus* jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní, sporulující grampozitivní tyčinky. Bývají velmi dobře známy pro svou protein degradující aktivitu (Zaman et al., 2010, s. 446).

##### 2.2.1.1 *Bacillus amyloliquefaciens*

*Bacillus amyloliquefaciens* je bakterie důležitá hlavně kvůli produkci restriční endonukleázy a barnaázy. Barnaáza často působí jako selektivní antibiotikum, např. proti *Bacillus antracis* nebo některým plísním, např. *Rhizopus*. (Shen a Wang, 2015, Fukumoto, 1943,

Priest a Goodfellow 1987). Tato bakterie degraduje histamin, putrescin a kadaverin. Snižuje akumulaci histaminu v rybích fermentovaných omáčkách. Byla prokázána výrazně vyšší schopnost degradace než u jiných kmenů rodu *Bacillus* (Zaman et al., 2010, s. 445).

#### **2.2.1.2 *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* je jedním z modelových organismů. Bývá přirovnáván úrovni prozkoumání k *E. coli* jen s odlišností, že studie se věnují sporulaci a gram pozitivnosti (Juhas et al., 2014). *B. subtilis* je kataláza pozitivní mikroorganismus, zkvašuje glukózu, manitol, produkuje hydrolázy (McKenney, et al., 2012, s. 33–44). Má velkou schopnost degradovat histamin. Degraduje i putrescin a kadaverin. (Zaman et al., 2010, s. 445)

#### **2.2.1.3 *Bacillus coagulans***

*Bacillus coagulans* je kataláza pozitivní. Má schopnost produkce laktátu. Ve stacionární fázi růstu se může jevit jako gramnegativní. Sporulující formy bývají velmi často využívány jako probiotika pro pacienty s dlouhodobou antibiotickou léčbou. (Endres, J. R.; et al., 2009). Byla prokázána schopnost degradace histaminu (Mah a Hwang, 2009, s. 798).

#### **2.2.1.4 *Jiné***

Významnými histaminovými degradéry byli také *Bacillus megaterium* (Kim et al., 2006, s. 120), *Bacillus humi*. (Zaman et al., 2010, s. 445).

### **2.2.2 Rod *Staphylococcus***

Zástupci rodu *Staphylococcus* jsou fakultativně anaerobní, grampozitivní koky. Ačkoliv jejich proteolytická aktivita by mohla stimulovat aminogenezi poskytováním prekurzorů aminokyselin, byl prokázán potenciál proteolytických stafylokoků inhibovat biogenní produkci. (Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 4)

#### **2.2.2.1 *Staphylococcus xylosus***

*Staphylococcus xylosus* je koaguláza negativní potenciálně patogenní organismus. Běžně se vyskytuje na kůži. Bývá využíván k fermentaci masných výrobků. Bylo prokázáno, že má nejlepší schopnost degradovat histamin a tyramin. Některé kmeny byly schopny degradovat až 100 % histaminu (Martuscelli et al., 2000, s. 231). Využití těchto kmenů jako startérové kultury vedlo k mírnému snížení koncentrace biogenních aminů (Gardini et al., 2002).



### 2.2.2.2 *Staphylococcus carnosus*

*Staphylococcus carnosus* je koaguláza negativní degradér histaminu, putrescinu a kadaverinu. Snižuje akumulaci histaminu v rybích fermentovaných omáčkách. (Zaman et al., 2010, s. 445).

### 2.2.2.3 *Další*

Mezi degradéry histaminu, putrescinu a kadaverinu se řadí i *Staphylococcus intermedius* a *Staphylococcus condimentii* (Zaman et al., 2010, s. 445). *Staphylococcus equorum* ve fermentovaných masných výrobcích redukoval 45 % kadaverinu, v kombinaci s *Lactobacillus casei* redukoval obsah kadaverinu až o 75 % (Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 4). *Staphylococcus epidermidis* degraduje histamin (Wang et al., 2015, s. 400).

### 2.2.3 Rod *Brevibacterium*

Zástupci rodu *Brevibacterium* jsou striktně aerobní gram pozitivní mikroorganismy vyskytující se v různých morfologických formách. Často tvoří dvojice. Zájem v potravinářství vzbuzuje produkce aminokyselin, např. kyseliny glutamové, používají se při zrání sýrů (Bets, 2006).

*Brevibacterium linens* má schopnost degradovat histamin a tyramin (Zaman et al., 2010, s. 441).

### 2.2.4 Rod *Micrococcus* a *Kocuria*

Zástupci rodu *Micrococcus* jsou grampozitivní koky. Mohou se vyskytovat v tetradách. Jsou kataláza a oxidáza pozitivní. Kmeny *Kocuria varians* mají schopnost degradovat tyramin, ale současně jsou i producenty tyraminu a histaminu. *Micrococcus rubens* je schopný degradovat putrescin (Zaman et al., 2010, s. 441). *Micrococcus luteus* byl schopný degradovat dopamin a tyramin (Leuschner et al., 1997, s. 8).

### 2.2.5 Rod *Lactobacillus*

Zástupci rodu *Lactobacillus* jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní nebo mikroaerofilní tyčinky. Obecně starterové kultury obsahující laktobacily vykazovaly vyšší účinnost při redukci biogenních aminů než kultury obsahující pouze koaguláza negativní stafylokoky. Je pravděpodobné, že jsou schopni lépe nahradit endogenní mikroorganismy s potenciální aminogenní aktivitou (Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 4).

### 2.2.5.1 *Lactobacillus plantarum*

*Lactobacillus plantarum* dokáže ve víně degradovat tyramin a putrescin. Bakterie je vhodná k použití jako startér jablečno-mléčného kvašení (Dapkevicius et al., 2000, s. 112, Cueva et al. 2012).

### 2.2.5.2 *Lactobacillus casei*

Kmeny *L. casei* mají značnou schopnost degradovat tyramin a histamin v sýrech. Při studii kmeny *L. casei* byly schopny degradovat až 98 % 2,5 mM roztoku tyraminu. (Fadda et al. 2001). Inokulace komerčních kmenů *L. casei* může snížit koncentrace biogenních aminů u zeleninových výrobků. Ve víně značně degraduje putrescin, histamin a tyramin. Ve studii provedené Gonzáles – Fernandez et al. (2003) mezi všemi testovanými dekarboxyláza negativními kmeny vykazoval *L. casei* nejúčinnější redukci produkce aminů pravděpodobně proto, že tento kmen způsobil rychlý pokles pH během fermentace.

Kmeny *L. casei* vykazují nejvyšší efektivitu v kombinaci s kmeny *Staphylococcus xylosus*. (Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 6, Kameník, 2012, s. 56)

### 2.2.5.3 *Další*

*Lactobacillus hilgardii* a *L. curvatus* degradují histamin (Dapkevicius et al., 2000, s. 112). *Lactobacillus curvatus*, ale zároveň může produkovat tyramin. *Lactobacillus pentosus* degraduje tyramin a histamin (Leuschner a Hammes, 1998, s. 289-296).

### 2.2.6 Rod *Pediococcus*

Zástupci rodu *Pediococcus* jsou grampozitivní, nesporulující koky. Mohou vytvářet tetrády nebo shluky. Jsou kataláza negativní, fakultativně anaerobní, chemoorganotrofní mikroorganismy. Kmeny *Pediococcus acidilacti* jsou schopny degradovat tyramin a histamin v sýrech. (Leuschner a Hammes, 1998, s. 289-296). Ve víně byla navíc prokázána i degradace putrescinu. *Pediococcus parvulus* a *P. pentosaceus* ve víně značně degradovaly histamin, tyramin a putrescin (Garcia - Ruiz et al, 2011, s. 215-220 ).

### 2.2.7 Jiné

Kmeny *Rhodococcus*, *Arthrobacter* a *Corynebacterium* mohou mít schopnost degradace histaminu a tyraminu. (Leuschner et al. 1997, s. 9).

### 2.3 Plísně

Příprava a průmyslové použití aminooxidázy *Aspergillus niger* IMI17454 ke snížení biogenních aminů byla popsána v roce 1985. I když autoři navrhovali použití v potravinách, jako jsou sýrové, pивní, moštové a kvasinkové extrakty, nebyly hlášeny specifické údaje prokazující užitečnost v reálných podmínkách produkce potravin. (Hobson a Anderson, 1985).

Moreno-Arribas et al. (2012) vymysleli způsob snížení biogenních aminů založený na použití enzymatického extraktu z *Penicillium citrinum* CIAL-274 760 izolovaného z vinic, který přidáním do vína snižuje nebo dokonce zcela eliminuje biogenní aminy v syntetických vínech. V těchto případech byly signifikantně degradovány histamin, tyramin a putrescin. (Cueva et al., 2012, s. 115 - 120).

*Alternaria* sp., *Phoma* sp., *Ulocladium chartarum* a *Epicoccum nigerum* degradují histamin, tyramin a putrescin. (Cueva et al., 2012, s. 115-120).

### 2.4 Kvasinky

Bäumlisberger et al. (2015, s. 845-846) zkoumali degradační schopnosti *Debaryomyces hansenii* a *Yarrowia lipolytica*.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## CÍL PRÁCE

Cíle teoretické části byly stanoveny následně:

- charakterizace biogenních aminů, jejich vznik, výskyt a význam v potravinách
- popis mikroorganismů schopných jejich degradace.

Cíle praktické části byly následující:

- izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy z fermentovaných masných výrobků
- ověření schopnosti degradace vybraných biogenních aminů izolovanými kmeny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie,
- vyhodnocení výsledků a formulace závěrů.

### 3 MATERIÁL A METODY

#### 3.1 Izolace degradujících mikroorganismů z fermentovaných masných výrobků

##### 3.1.1 Vzorčky

Byla provedena izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy z 21 fermentovaných masných výrobků, jejich seznam je uveden v tabulkách 2 a 3. Tyto výrobky byly zakoupeny v běžné obchodní síti v České republice.

*Tab. 2: Skupiny fermentovaných výrobků, ze kterých byly izolovány mikroorganismy*

Syrové šunky	2
Fermentované masné salámy	19
Fermentované salámy s nízkou kyselostí	11
Fermentované salámy s vyšší kyselostí	8

*Tab. 3: Seznam potravinových matric, ze kterých byly izolovány mikroorganismy*

Paprikáš	Kostelecký uherák
Klobása klasik	Hermín
Mexická klobása	Chorizo
Lovecký salám	Kmotrova klobása klasik
Princ	Bačanský pikant
Uherák	Chilli salámky
Poličan	Javorový sirup salámky
Poličan fit	Salámky z vepřového masa klasik
Pršut pečeně	Uherská klobása
Gombasecká klobása	Gyulai klobása
Téliszalámi	

##### 3.1.2 Přístroje a pomůcky

- Stomacher Seward
- Vortex
- Sterilní sáčky
- Laboratorní váhy Adventurere Pro
- pH metr

- Sterilizátor H+P Varioklav 135S
- Mikrobiologický inkubátor (Memmert)
- Termoblok Benchmark Digital HEAT BLOCK
- Laboratorní třepačka LT2, KAVALIERGLASS, a. s., Sázava
- HPLC Agilent Technologies (sestava se skládá z binární pumpy a autosampleru LabAlliance),
- DAD detektor Agilent Technologies 1260 Infinity a degaser
- Kolona Zorbax Exlipse Plus C18 RRHD
- Laboratorní sklo a plasty

### 3.1.3 Kultivační media a roztoky

Mikroorganismy byly izolovány v minerálním médiu.

Roztoky nutné pro jeho přípravu byly:

#### **Roztok $\text{KH}_2\text{PO}_4$**

Byl připraven navážením 9,07 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Penta) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml.

#### **Roztok $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$**

Byl připraven navážením 23,9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (Penta) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml.

#### **Roztok stopových prvků**

Roztok stopových prvků byl připraven navážením příslušného množství dále zobrazených složek (všechny Penta) a doplněním do 1000 ml destilovanou vodou.

$\text{MnSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,043 g
$\text{H}_3\text{BO}_3$ .....	0,057 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,043 g
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,037 g
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,025 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,040 g

#### **Roztok $\text{Mg}(\text{SO}_4) \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$**

Byl připraven navážením 10 g  $\text{Mg}(\text{SO}_4) \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  (Penta) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml.

**Roztok Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O**

Byl připraven navážením 3 g Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O (Penta) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml.

**Roztok CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O**

Byl připraven navážením 1 g CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O (Penta) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml.

**Roztok NaCl**

Byl připraven navážením 50 g NaCl (Lach-Ner) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml.

**Roztok biogenních aminů 10x koncentrovaný**

Roztok biogenních aminů byl připraven navážením příslušného množství biogenních aminů (všechny Sigma-Aldrich) a jejich rozpuštěním v 400 ml destilované vody, pH roztoku bylo upraveno pomocí HCl (Penta) na 6,8.

Tyramin .....	2 g
Putrescin .....	2 g
Kadaverin .....	2 g
Histamin .....	2 g
Fenylethylamin .....	2 g
Tryptamin .....	2 g

**Minerální médium tekuté**

K přípravě minerálního média byly odměřeny připravené roztoky v uvedeném množství a doplněny do 1 litru destilovanou vodou. Médium bylo pipetováno po 5 ml do zkumavek a sterilizováno.

Roztok pufru KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	20 ml
Roztok pufru Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O .....	80 ml
Roztok stopových prvků .....	2 ml
Roztok Mg(SO <sub>4</sub> ) · 7 H <sub>2</sub> O .....	10 ml
Roztok Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O .....	10 ml
Roztok CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O .....	10 ml
Roztok NaCl .....	10 ml
Roztok biogenních aminů .....	10 ml



### **Minerální médium tuhé**

Minerální médium tuhé má stejné složení jako výše zmíněné minerální médium tekuté. Navíc byl přidán agar do obsahu 1,5 %. Po sterilizaci bylo médium rozléváno do sterilních Petriho misek.

### **Fyziologický roztok**

Byl připraven navážením 8,5 g NaCl (Lach-Ner) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 1000 ml. Roztok byl sterilován.

### **Plate count agar (PCA)**

Byl připraven navážením 7,4 g PCA (HiMedia) a jeho rozpuštěním v destilované vodě doplněné do 400 ml. Po sterilizaci bylo médium rozléváno do sterilních Petriho misek.

#### **3.1.4 Příprava a odběr vzorků**

Z jednotlivých potravin bylo do sáčku sterilně odebráno 5 g vzorku. Bylo přidáno 45 ml sterilního fyziologického roztoku. Vzorky v sáčku byly homogenizovány ve stomacheru po dobu 3 minut. Následně bylo očkováno 20  $\mu$ l této suspenze do minerálního média při separaci ředění  $10^{-1}$  do 3 zkumavek.

Všechny vzorky byly kultivovány při 30 °C. Jakmile byl zaznamenán zákal ve zkumavce (odečty po 48, 72 a 96 hodinách), vzorek byl přeočkován na tuhé minerální médium a kultivován při 30 °C po dobu 2-5 dnů.

Poté byla provedena opakovaná izolace kolonií na PCA křížovým roztěrem. Vzorky byly kultivovány při 30 °C po dobu 2-5 dnů. (Vítková, 2016, s. 35-48)

Izolované kmeny byly charakterizovány dostupnými metodami, byly popsány makroskopické i mikroskopické morfologické znaky (kolonie, tvar a shluky buněk, barvení dle Grama), případně i jejich základní biochemické vlastnosti (test na katalázu a oxidázu) dle Jandová a Kotoučková (1996, s. 6-17, s. 35)

## **3.2 Ověření izolovaných kmenů na schopnost degradace aminů**

### **3.2.1 Mikroorganismy**

Byly použity mikroorganismy izolované dle postupu v kapitole 3.1.

### 3.2.2 Kultivační média a roztoky

Bylo připraveno minerální medium dle postupu uvedeným v kapitole 3.1. Médium bylo pipetováno po 5 ml do zkumavek a následně bylo sterilováno.

### 3.2.3 Příprava a odběr vzorků pro analýzu

Kmeny byly pomnoženy ve 104 zkumavkách s minerálním médiem. Degradace byla sledována při teplotě 30 °C. Odběrový čas byl po 48 hodinách. Odběry byly provedeny ve stanovených časech vždy ve 3 paralelních zkumavkách. Vzorky byly centrifugovány (3600 otáček, 5 minut) a z každé zkumavky bylo odebráno do 3 eppendorfových zkumavek k 750  $\mu$ l kyseliny chloristé (Merck) o koncentraci 1,2 mol l<sup>-1</sup> 750  $\mu$ l supernatantu. Takto připravené vzorky byly zamrazeny a připraveny pro derivatizaci.

### 3.2.4 Derivatizace vzorků

Do derivatizační nádoby bylo pipetováno 100  $\mu$ l vnitřního standardu 1,7-heptandiaminu (Sigma-Aldrich) o koncentraci 500 mg.l<sup>-1</sup>. Následně byl pipetován 1ml vzorku a 1,5 ml karbonátového pufru (pH 11,1-11,2) a 2 ml čerstvě připraveného dansylchloridu (Sigma-Aldrich) rozpuštěného v acetonu (Merck) o koncentraci 5 g.l<sup>-1</sup>.

Zavíčkované derivatizační nádoby byly třepány 20 hodin v temnu.

Druhý den bylo ke vzorkům přidáno 200  $\mu$ l prolinu (Sigma-Aldrich) a vzorky byly třepány další hodinu. Následně byly ke vzorku přidány 2 ml heptanu (Sigma-Aldrich) a po pečlivém uzavření se vzorky třepaly ručně 3 minuty. Poté byl odpipetován 1 ml heptanové vrstvy do vialek. Obsah vialek byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při teplotě 60°C. Následně bylo přidáno 1,5 ml acetonitrilu (Sigma-Aldrich).

### 3.2.5 Chromatografické stanovení

Vzorky před analýzou byly přefiltrovány přes stříkačkový filtr s porozitou 0,22  $\mu$ m a dávkovány do chromatografického systému. Biogenní aminy byly hodnoceny pomocí mobilní a stacionární fáze na koloně Zorbax C18 RRHD s rozměry 50 x 3 mm s pórovitostí 1,8  $\mu$ m. Průtok kolonou byl 0,45 ml/min. Stanovení bylo prováděno při teplotě 30 °C a vlnové délce 254 nm (UV/VIS DAD detektorem). Chromatogramy byly vyhodnoceny pomocí software Chromeleon.

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Izolace mikroorganismů

Z 21 potravinových matric bylo izolováno celkem 36 kmenů, které byly schopné růst v minerálním médiu s biogenními aminy a lze je považovat za jejich degradéry. Jejich přehled je uveden v tabulce 4.

Tab. 4: Přehled kmenů izolovaných z jednotlivých potravinových matric

Paprikáš	XY1, XY2
Mexická klobása	XY3, XY4, XY5
Poličan	XY6, XY7, XY8
Pršut pečeně	XY9
Gombasecká klobása	XY10, XY11, XY12
Téliszalámi	XY13, XY14
Kostelecký uherák	XY15, XY16, XY17
Hermín	XY18, XY19
Chorizo	XY20, XY21
Kmotrova klobása klasik	XY22, XY23, XY24
Chilli salámky	XY25, XY26
Javorový sirup salámky	XY27, XY28, XY39
Salámky z vepřového masa klasik	XY30, XY31
Uherská klobása	XY32
Gyulai klobása	XY33, XY34, XY34, XY36

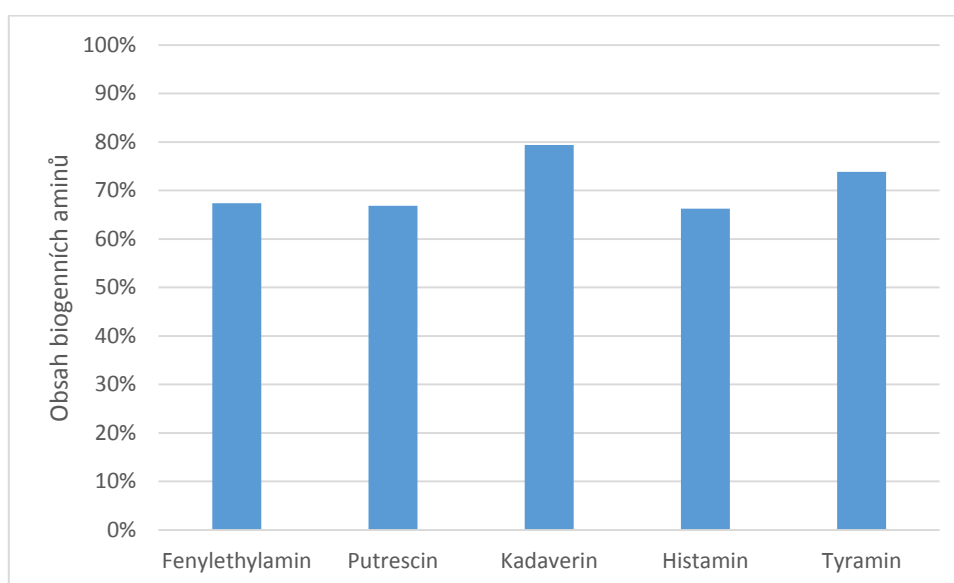
### 4.2 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů izolovanými mikroorganismy

Byla sledována schopnost 36 kmenů degradovat fenylethylamin (FEM), putrescin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HIM) a tyramin (TYM). Úbytek jednotlivých biogenních aminů byl vztahován ke kontrolnímu médiu, tj. minerálnímu médiu s aminy bez zaočkovaných izolátů (v tomto médiu tedy bylo množství jednotlivých biogenních aminů na úrovni 100 %).

#### 4.2.1 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Paprikáše

##### 4.2.1.1 Degradční schopnost kmene XY1

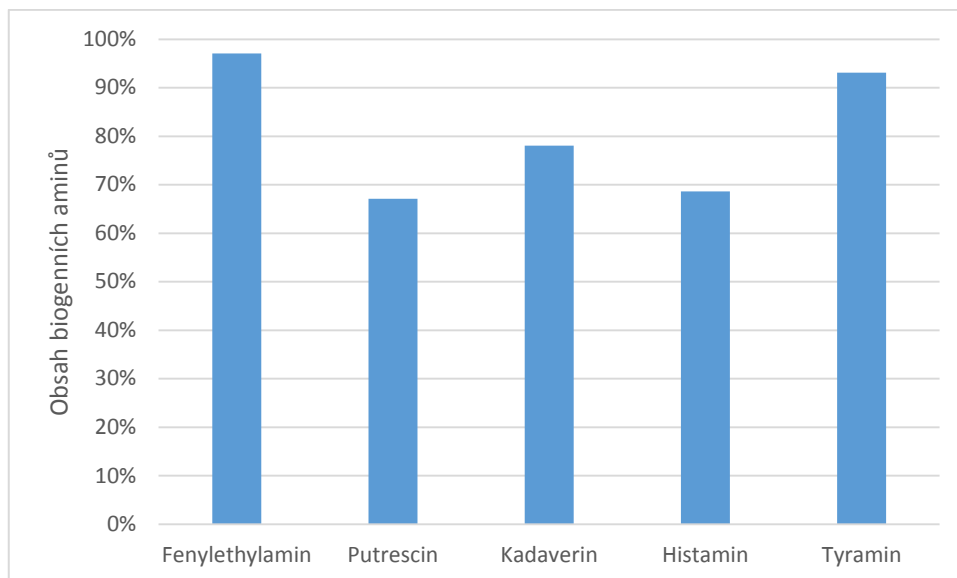
Kmen XY1 byl izolován z fermentovaného salámu Paprikáš. Kolonie byly velikosti 1 mm, bílé barvy, buňky byly grampozitivní koky. Kataláza test byl pozitivní, cytochromoxidáza test negativní. Z obrázku 2 lze pozorovat úbytek fenylethylaminu, putrescinu a histaminu, který je u všech zmíněných aminů na stejné úrovni, tj. 33 %. Tyramin byl tímto kmenem zredukován o 26 %, kadaverin o 20 %.



Obr. 2: Degradace biogenních aminů kmenem XY1

##### 4.2.1.2 Degradční schopnost kmene XY2

Kmen XY2 byl izolován z fermentovaného salámu Paprikáš. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní tyčinky. Kataláza test byl pozitivní a cytochromoxidáza test negativní. Z obrázku (Obr. 3) je patrný úbytek putrescinu, který činil 33 %. Bylo také redukováno 32 % histaminu a 21 % kadaverinu. Tyramin byl zredukován jen o 7%. Minimální redukce byla zaznamenána u fenylethylaminu (3 %).

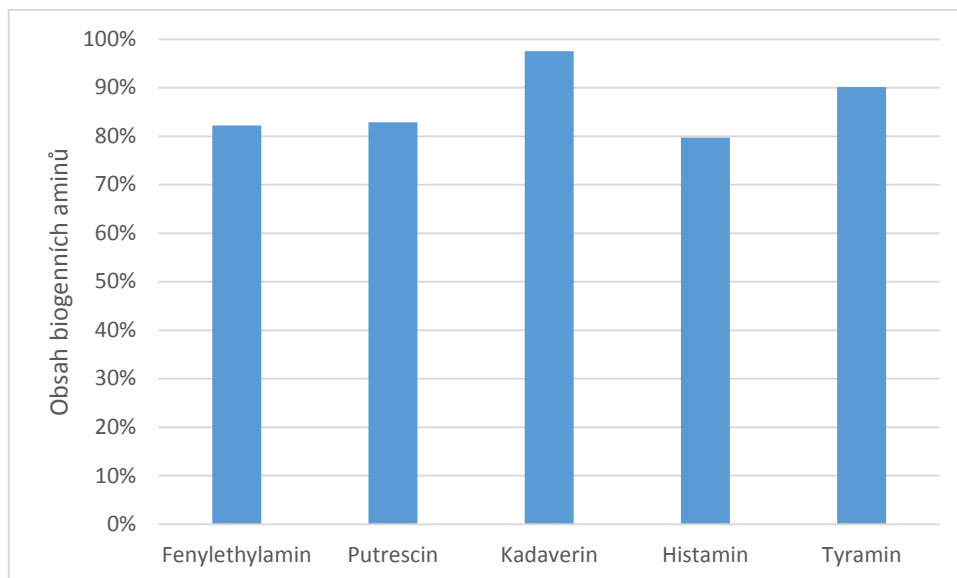


Obr. 3: Degradace biogenních aminů kmenem XY2

#### 4.2.2 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Mexické klobásy

##### 4.2.2.1 Degradční schopnost kmene XY3

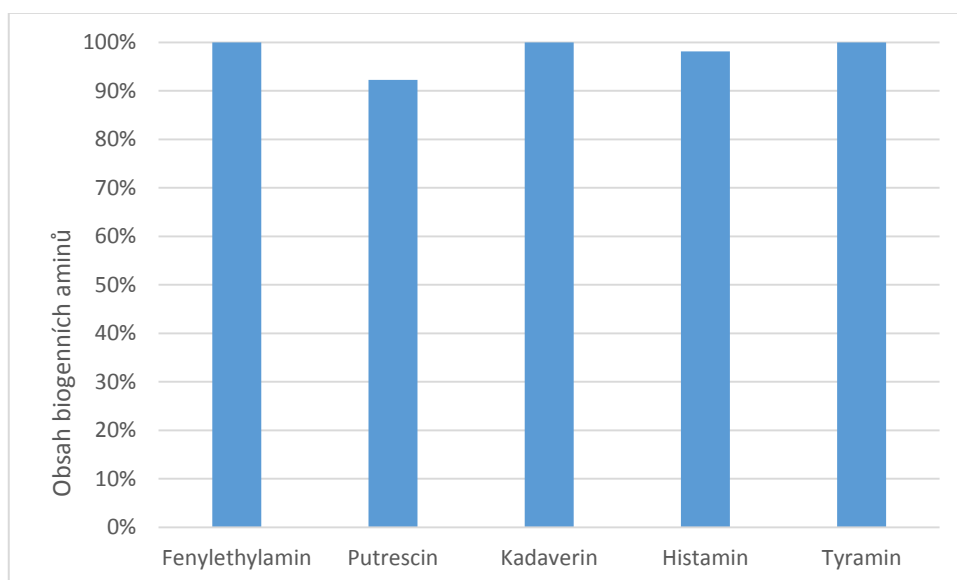
Kmen XY3 byl izolován z Mexické klobásy. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly gramnegativní tyčinky. Kataláza test byl pozitivní, cytochromoxidáza test negativní. Schopnost degradace byla u tohoto kmene nižší, žádný z biogenních aminů nebyl degradován více než o třetinu. Na obrázku 4 můžeme vidět, že nejvyšší pokles byl zaznamenán u histaminu, a to o 21 %. Obsah fenylethylaminu a putrescinu byl snižen o 18 %. Obsah tyraminu byl snižen o 10 %. Nejnižší schopnost degradace byla pozorována u kadaverinu, pouze 3 %.



Obr. 4: Degradace biogenních aminů kmenem XY3

#### 4.2.2.2 Degradční schopnost kmene XY4

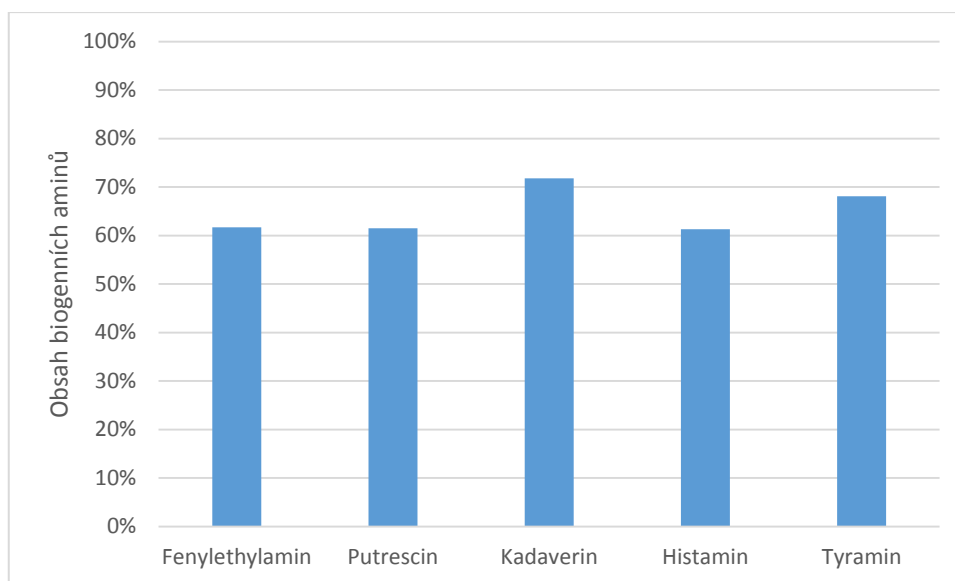
Kmen XY4 byl izolován z Mexické klobásy. Kolonie byly slizovité o velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly gramnegativní, tvarem tyčinky. Test přítomnosti katalázy i cytochromoxydázy byl negativní. Degradční aktivita, jak můžeme pozorovat na obrázku 5, byla slabá. Minimálně byly degradovány pouze putrescin a histamin. Obsah putrescinu byl snížen o 8 %, obsah histaminu o 2 %. Ostatní biogenní aminy degradovány nebyly.



Obr. 5: Degradace biogenních aminů kmenem XY4

#### 4.2.2.3 Degradční schopnost kmene XY5

Kmen XY5 byl izolován z Mexické klobásky. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly gramnegativní tyčinky. Kataláza i cytochromoxydáza byla negativní. Kmen XY5, jak můžeme pozorovat z obrázku 6, degradoval všechny námi pozorované biogenní aminy. Nejvíce byl snížen obsah fenylethylaminu, putrescinu a histaminu, a to u všech o 39 %. Tyramin byl degradován z 38 %. Nejméně byl snížen obsah kadaverinu, a to o 28 %.

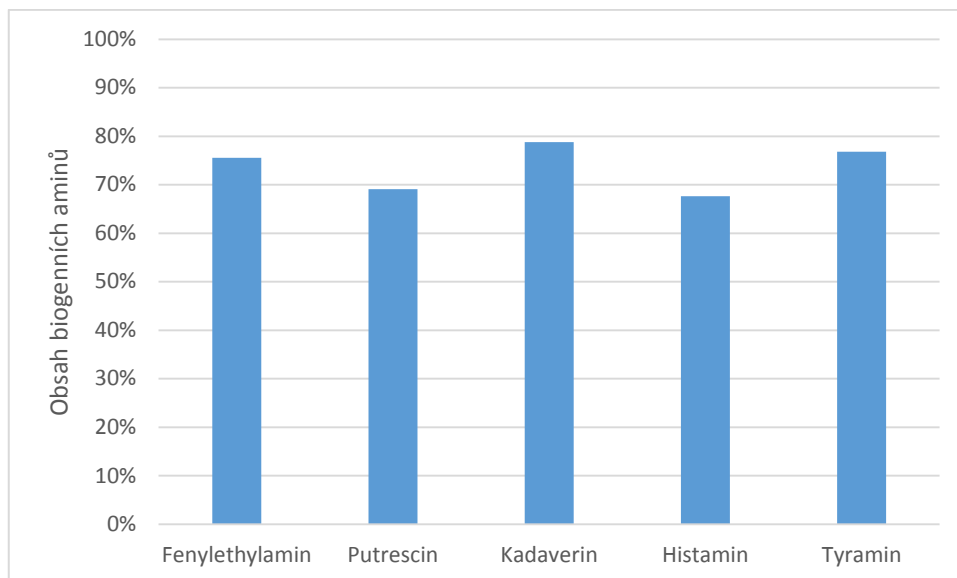


Obr. 6: Degradace biogenních aminů kmenem XY5

#### 4.2.3 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Poličanu

##### 4.2.3.1 Degradční schopnost kmene XY6

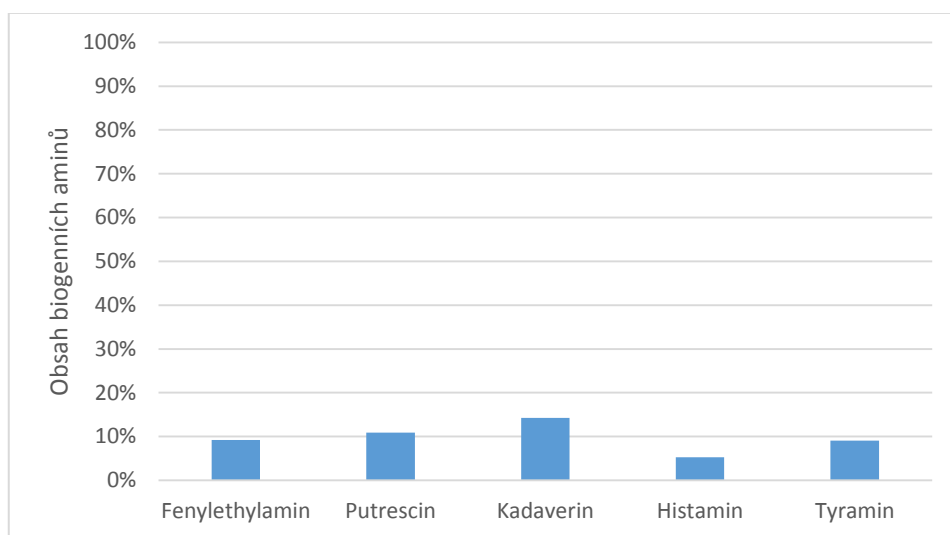
Kmen XY6 byl izolován ze salámu Poličan. Kolonie byly velikosti 1,5 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní tyčinky. Starší kolonie tvořily endospory. Buňky byly kataláza pozitivní, cytochromoxydáza negativní. Byl schopen degradovat všechny sledované biogenní aminy (Obr. 7). Obsah histaminu a tyraminu byl snížen téměř o třetinu (32 %, respektive 31 %). Obsah fenylethylaminu byl snížen o čtvrtinu. Obsah kadaverinu byl snížen cca o pětinu.



Obr. 7: Degradace biogenních aminů kmenem XY6

#### 4.2.3.2 Degradční schopnost kmene XY7

Kmen XY7 byl izolován z Poličanu. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, kataláza negativní, cytochromoxidáza negativní. Kmen vykazoval velmi dobrou degradační schopnost (Obr. 8). Byl pozorován výrazný pokles všech sledovaných biogenních aminů. Obsah histaminu byl snížen až o 95 %. Obsah fenylethylaminu, tyraminu a putrescin byl snížen o cca 90 %. Množství kadaverinu bylo sníženo o 85 %.

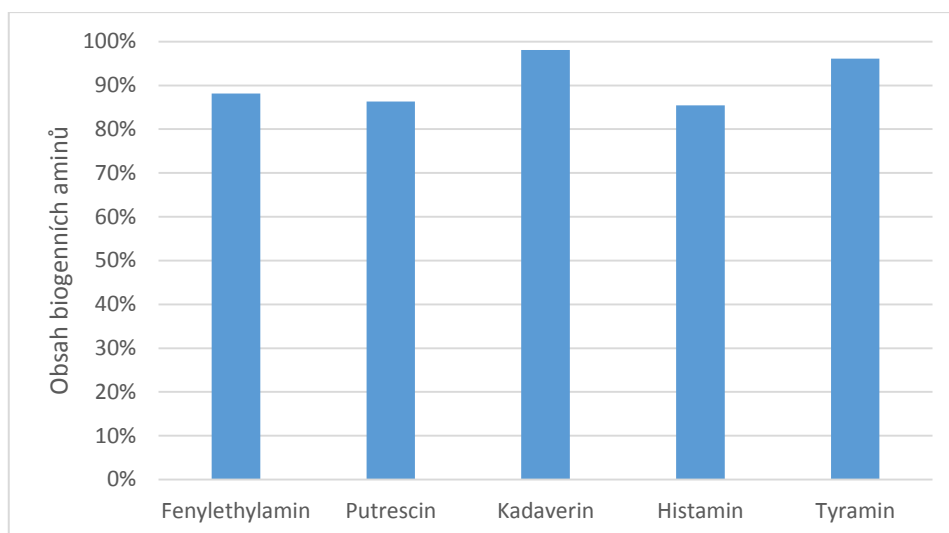


Obr. 8: Degradace biogenních aminů kmenem XY7



#### 4.2.3.3 Degradční schopnost kmene XY8

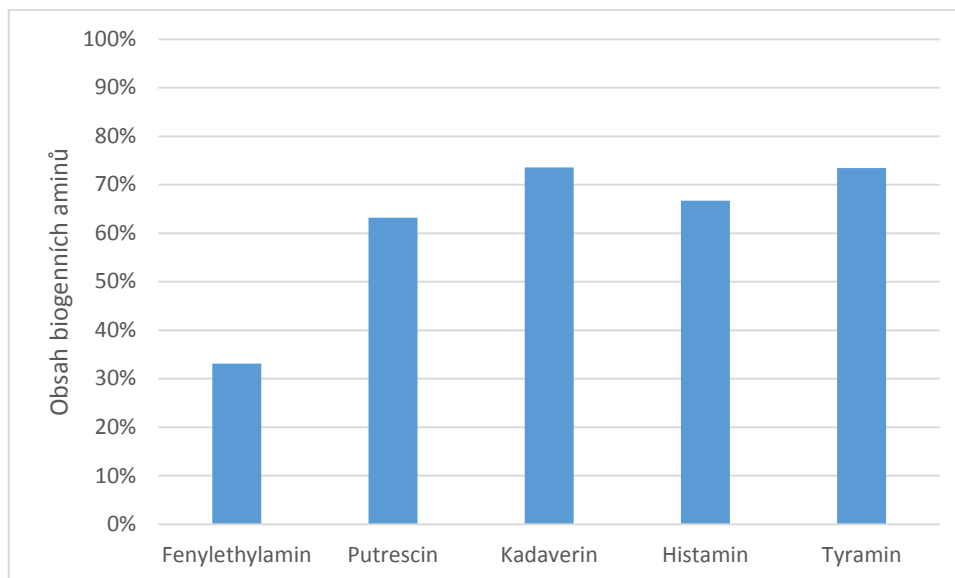
Kmen XY8 byl izolován z Poličanu. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly gram pozitivní koky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Obsah histaminu byl pomocí tohoto kmene snížen o 26 %. Obsah putrescinu byl redukován o 25 %. Obsah fenylethylaminu byl snížen o 12 %, obsah tyraminu o 5 %. Množství kadaverinu bylo téměř nezměněno, tj. byl sníženo o 2%.



Obr. 9: Degradace biogenních aminů kmenem XY8

#### 4.2.4 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmenem izolovaným z Pršut pečeně

Kmen XY9 byl izolován z Pršut pečeně. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy žluté, buňky byly gram pozitivní, tvarem koky. Kataláza byla pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Z obrázku 10 lze vyčíst značný úbytek fenylethylaminu, a to o 67 %. Obsah putrescinu byl snížen o 36 %, histaminu o 33 %. Obsah kadaverinu a tyraminu byl snížen o stejnou hodnotu, tj. o 26 %.

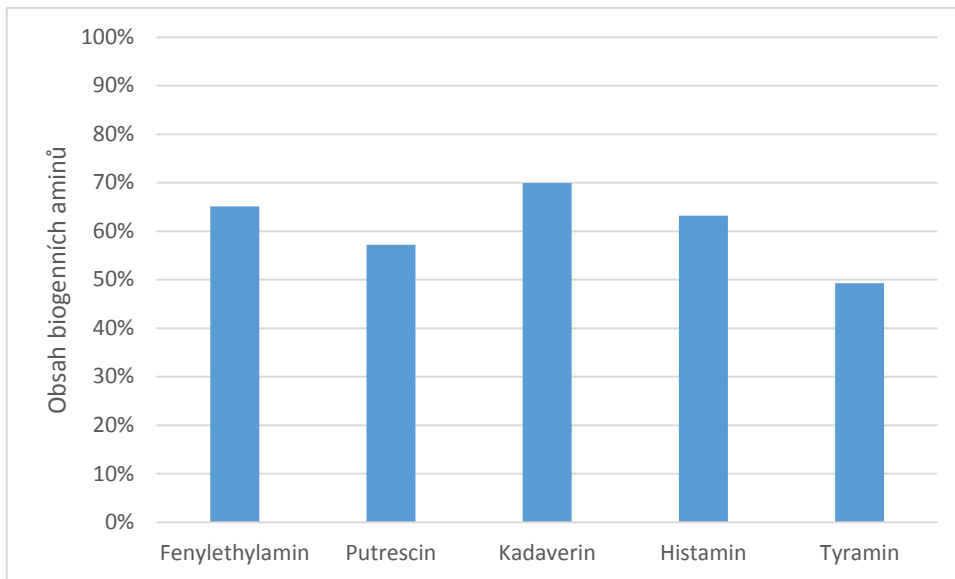


Obr. 10: Degradace biogenních aminů kmenem XY9

#### 4.2.5 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Gombasecké klobásy

##### 4.2.5.1 Degradční schopnost kmene XY10

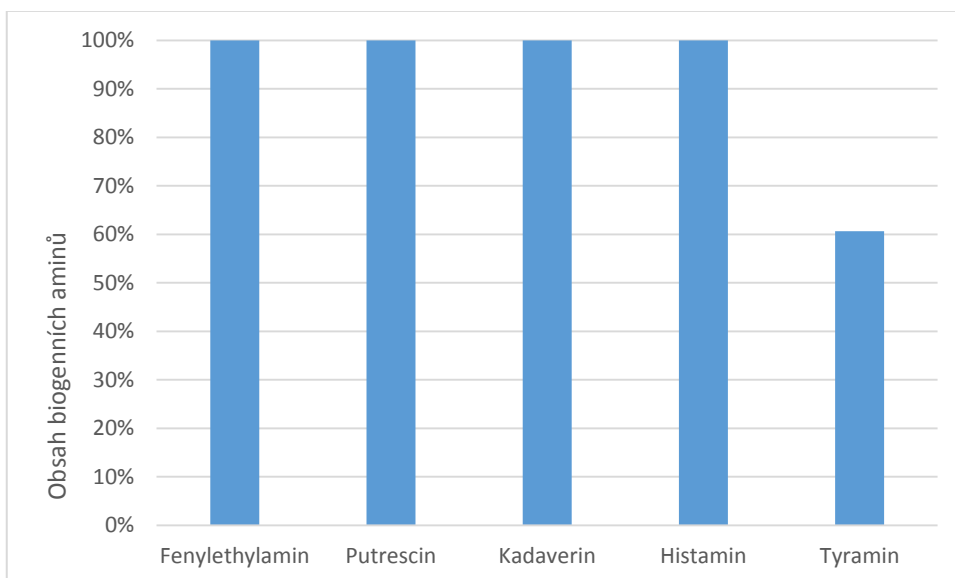
Kmen XY10 byl izolován z Gombasecké klobásy. Kolonie byly velikosti 1,5 mm, barvy žluté, buňky byly grampozitivní koky, uspořádané do tetrad, kataláza i cytochromoxidáza pozitivní. Na obrázku 11 můžeme pozorovat snížení obsahu tyraminu o polovinu, putrescinu o 43 %, histaminu, fenylethylaminu a kadaverinu o cca třetinu (37 %, 35 %, respektive 30 %).



Obr. 11: Degradace biogenních aminů kmenem XY10

#### 4.2.5.2 Degradční schopnost kmene XY11

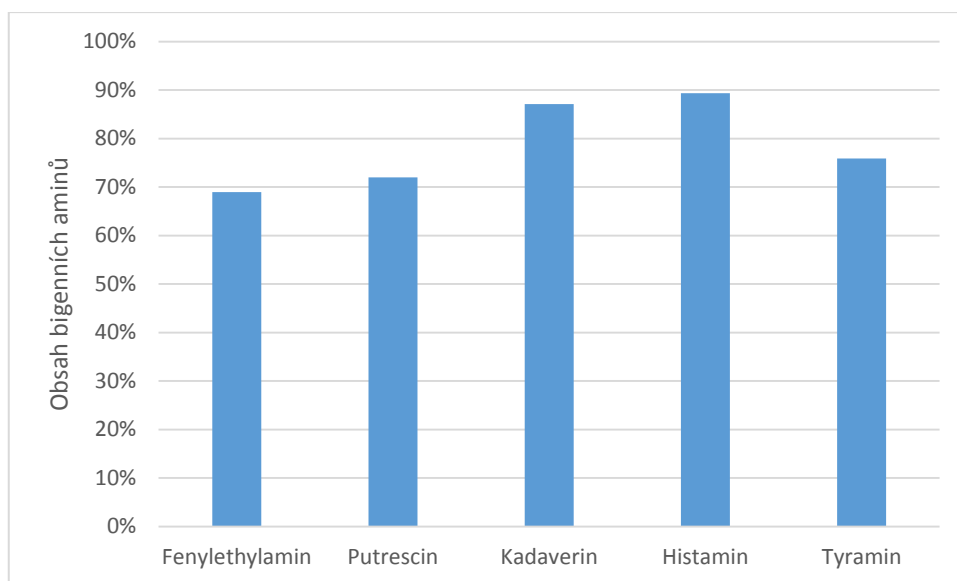
Kmen XY11 izolovaný z Gombasecké klobásy, vykazoval tyto vlastnosti: velikost kolonií byla 1 mm, barva růžová, buňky byly grampozitivní koky, uspořádané ve dvojicích, kataláza i cytochromoxidáza negativní. Byla prokázána schopnost degradace tyraminu, jehož obsah byl snížen o dvě pětiny. Ostatní sledované biogenní aminy degradovány nebyly (Obr. 12).



Obr. 12: Degradace biogenních aminů kmenem XY11

#### 4.2.5.3 Degradční schopnost kmene XY12

Kmen XY12 byl izolován z téhož potravinářského produktu. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, kataláza i cytochromoxidáza negativní. Z obrázku lze vyčíst, že obsah fenylethylaminu byl snížen o 30 %. Obsah putrescinu byl snížen o 28 %, obsah tyraminu o 25 %, kadaverinu o 23 %. Nejméně byl degradován histamin, jehož obsah byl snížen o 10 %.



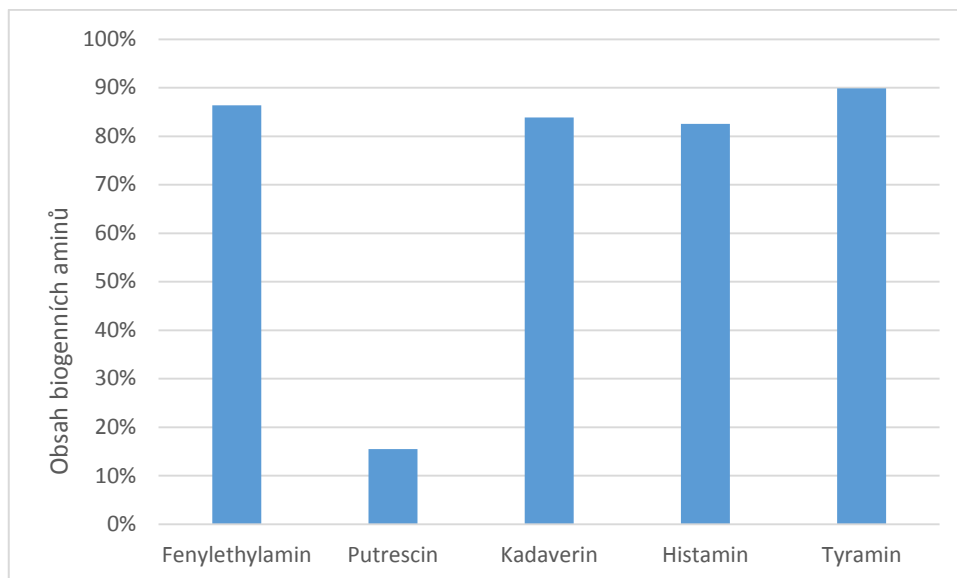
Obr. 13: Degradace biogenních aminů kmenem XY12

#### 4.2.6 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Téliszalámi

Téliszalámi je maďarský salám vyráběný podle staleté tradice. Bývá vyroben z libového vepřového masa plemene mangalica s přidáním uzené slaniny a koření (hlavně paprika a bílý pepř). Bývá také nazýván Zimní salám nebo Uherský salám. (Petr Morvay, 2000)

##### 4.2.6.1 Degradční schopnost kmene XY13

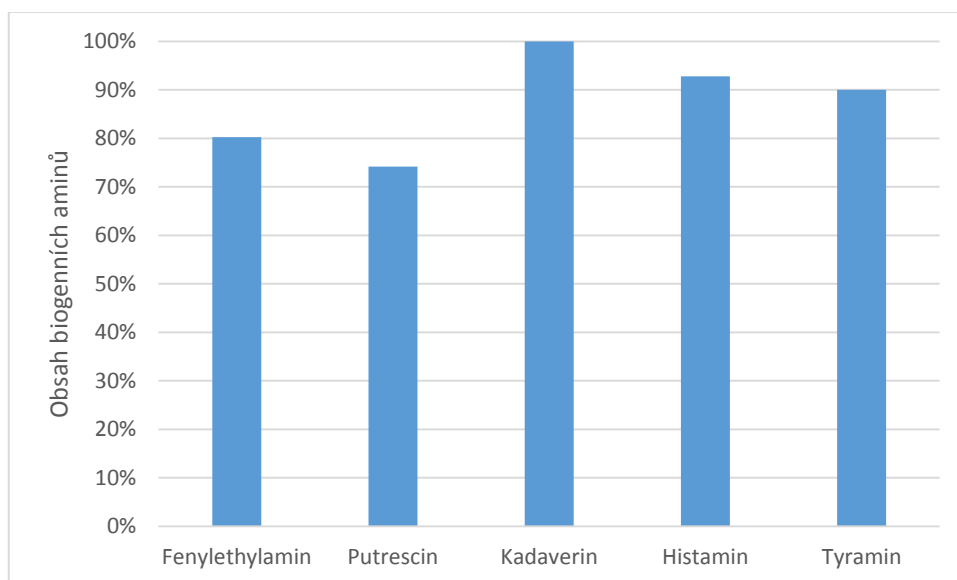
Kmen XY13 byl izolovaný z Téliszalámi. Z obrázku 14 lze vypočítat, že nejlepší byla schopnost degradovat putrescin, jehož obsah byl snížen až o 85 %. Kadaverin a histamin byly redukovány o 17 %, fenylethylamin o 14 %. Nejnižší pokles byl zaznamenán u tyraminu, a to o 10 %. Kolonie vykazovaly tyto vlastnosti: velikost 2 mm, barva růžová. Buňky byly grampozitivní tyčinky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní.



Obr. 14: Degradace biogenních aminů kmenem XY13

#### 4.2.6.2 Degradční schopnost kmene XY14

Kmen XY14 byl rovněž izolovaný z Téliszalámi. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy měrnkové, buňky byly grampozitivní koky. Kataláza negativní, cytochromoxidáza pozitivní. Z obrázku 15 můžeme vidět, že tento kmen nejvíce degradoval putrescin, jehož obsah se snížil o čtvrtinu (25 %).

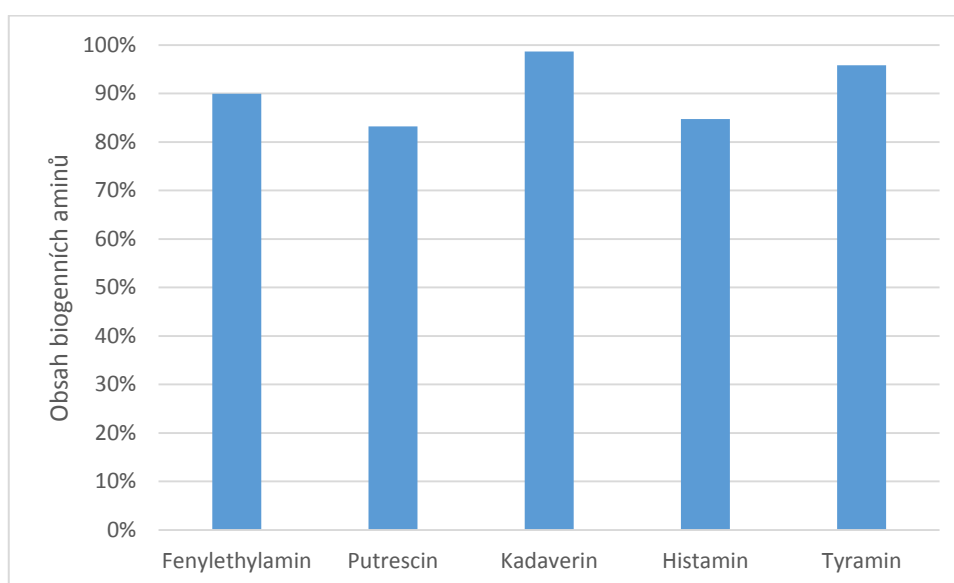


Obr. 15: Degradace biogenních aminů kmenem XY14

#### 4.2.7 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Kosteleckého uheráku

##### 4.2.7.1 Degradční schopnost kmene XY15

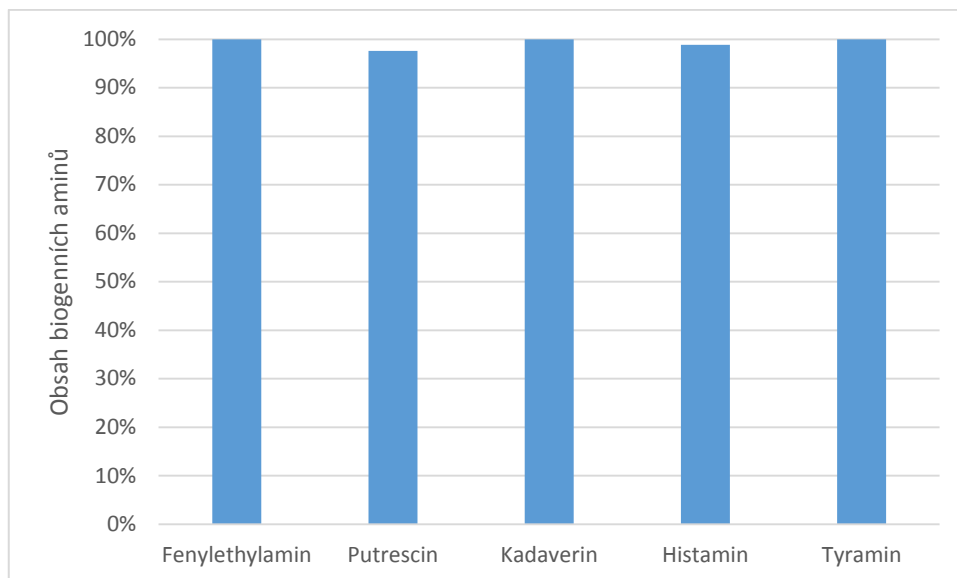
Kmen XY15 izolovaný z Kosteleckého uheráku prokázal schopnost degradovat putrescin a histamin o necelou pětinu (17 %, respektive 16 %), fenylethylamin o 10 %, tyramin o 4 %. Obsah kadaverinu zůstal téměř nezměněn. Degradční schopnost tohoto kmene byla slabší (viz obrázek 16). Kmen vykazoval tyto vlastnosti: velikost kolonií 2 mm, barva bílá, buňky byly grampozitivní koky, kataláza i cytochromoxidáza negativní.



Obr. 16: Degradace biogenních aminů kmenem XY15

##### 4.2.7.2 Degradční schopnost kmene XY16

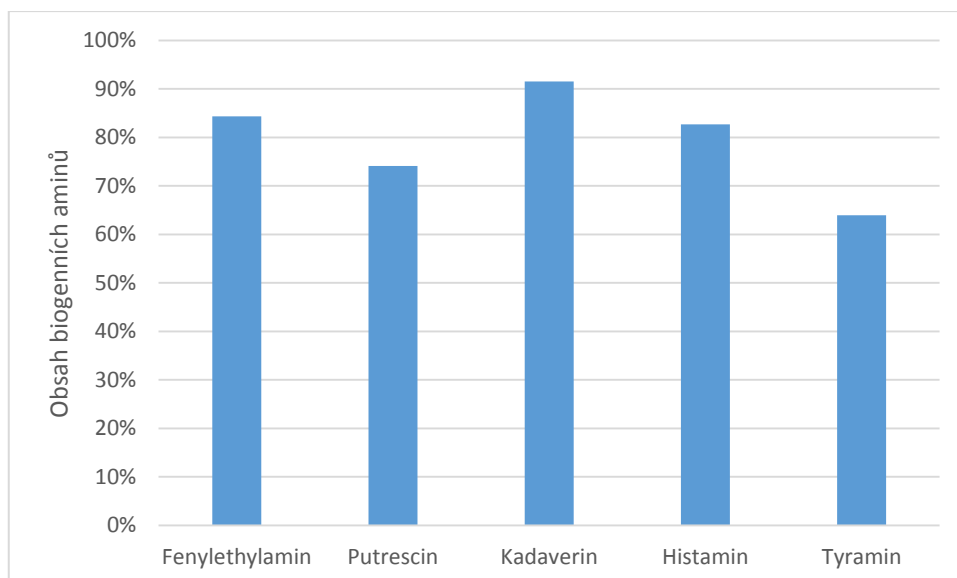
Kmen XY16 byl také izolován z Kosteleckého uheráku. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní tvarem koky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Jak můžeme vidět na obrázku 17, tento kmen prakticky neprokazoval degradční schopnost. Obsah testovaných biogenních aminů byl snížen minimálně.



Obr. 17: Degradace biogenních aminů kmenem XY16

#### 4.2.7.3 Degradční schopnost kmene XY17

Kmen XY17 byl izolován z Kosteleckého uheráku. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy žluté, buňky byly grampozitivní koky. Test na přítomnost katalázy byl pozitivní, cytochromoxidázy negativní. Na obrázku 18 můžeme pozorovat snížení obsahu tyraminu o 36 %, putrescinu o 26 %, histaminu o 17 % a fenylethylaminu o 16 %. Nejméně byl degradován kadaverin, došlo ke snížení jeho obsahu o 8 %.

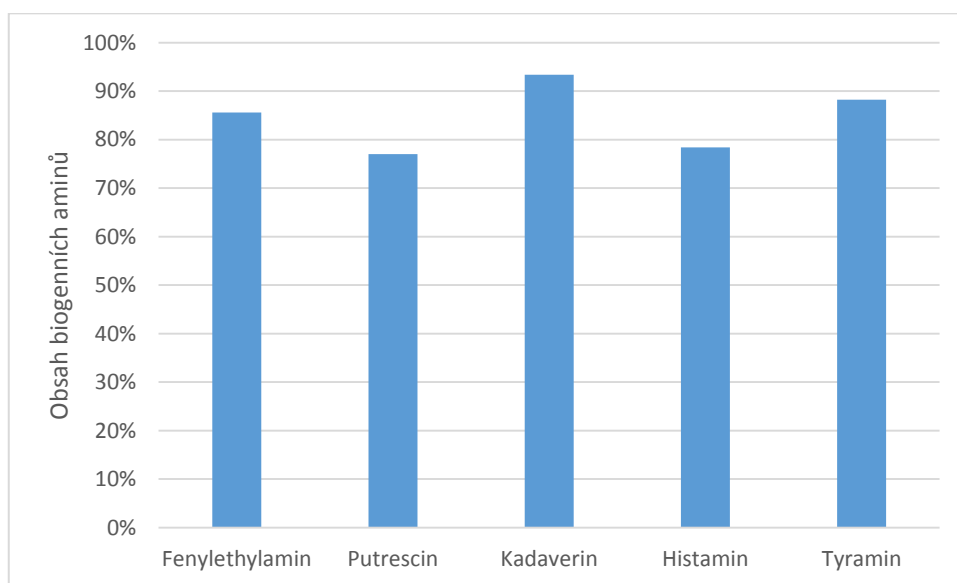


Obr. 18: Degradace biogenních aminů kmenem XY17

## 4.2.8 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Hermínu

### 4.2.8.1 Degradční schopnost kmene XY18

Kmen XY18 byl izolován z Hermínu. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky. Kataláza i cytochromoxidáza byly negativní. Z obrázku 19 je patrná redukce putrescinu a histaminu o 18 %, fenylethylaminu o 15 %, tyraminu o 12 %. Nejméně byl redukován kadaverin, a to o 7 %.

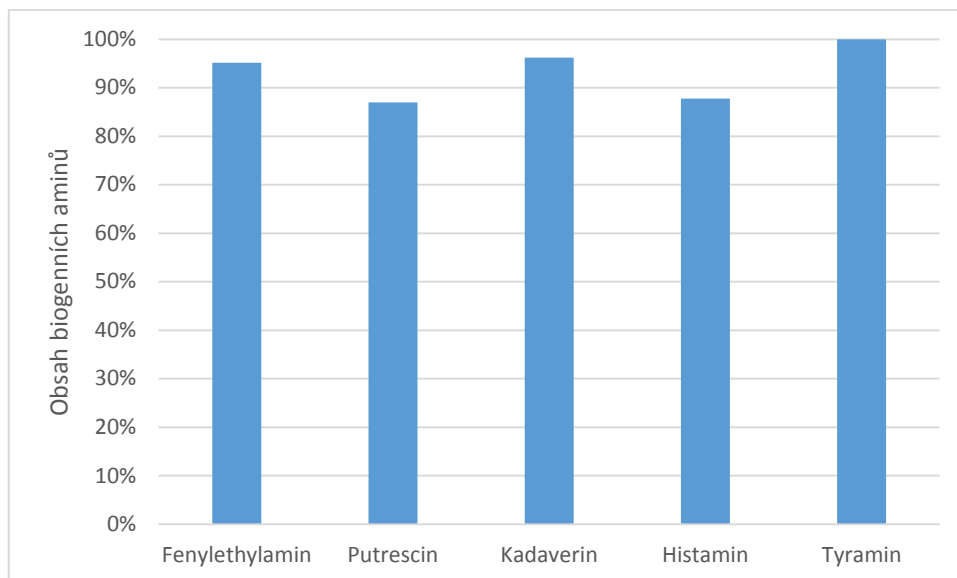


Obr. 19: Degradace biogenních aminů kmenem XY18

### 4.2.8.2 Degradční schopnost kmene XY19

Kmen XY19 byl izolován z Hermínu, kolonie vykazovaly tyto vlastnosti: velikost 2 mm, barva bílá, buňky byly grampozitivní tyčinky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 20 můžeme pozorovat redukci histaminu a putrescinu o 13 %. Obsah fenylethylaminu byl snížen o 5 %, kadaverinu o 4 %. Tyramin nebyl degradován.



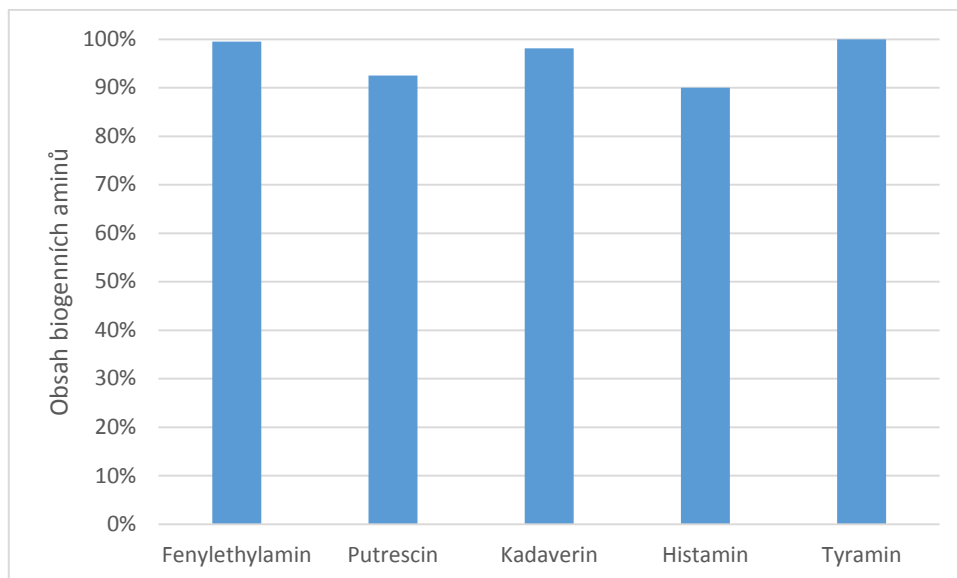


Obr. 20: Degradace biogenních aminů kmenem XY19

#### 4.2.9 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Choriza

##### 4.2.9.1 Degradční schopnost kmene XY20

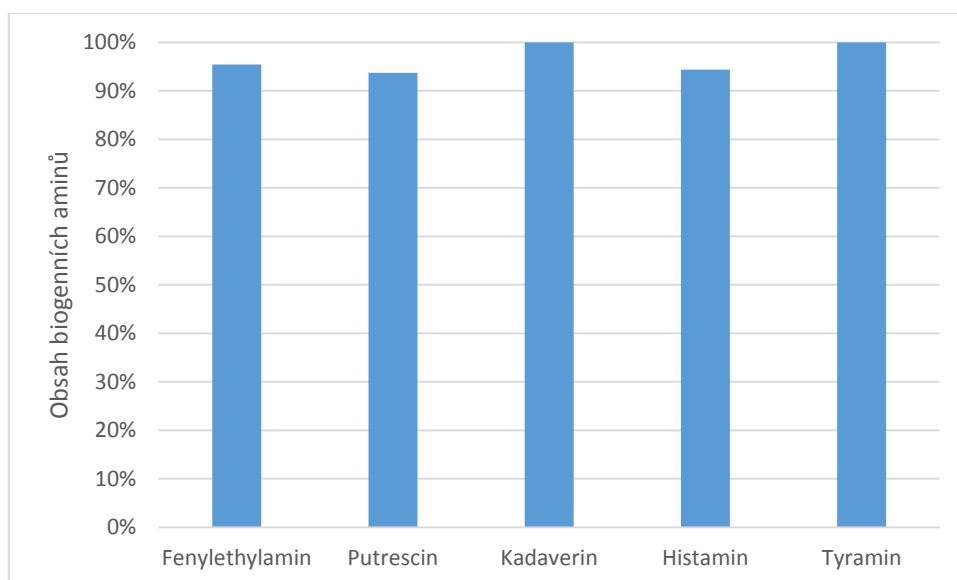
Kmen XY20 byl izolován z Choriza. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 21 je patrná na minimální schopnost degradace. Byla pozorována redukce histaminu o 10 %, putrescinu o 7 %. Ostatní sledované biogenní aminy degradovány nebyly.



Obr. 21: Degradace biogenních aminů kmenem XY20

#### 4.2.9.2 Degradční schopnost kmene XY21

Kmen XY21 byl izolovaný z Choriza. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, kataláza i cytochromoxidáza negativní. Bylo zpozorováno (Obr. 22), že nedošlo k výrazným úbytkům biogenních aminů, degradace byla minimální. Histamin a putrescin byly redukovány o 6 %, fenylethylamin o 5 %. Kadaverin a tyramin redukovány nebyly.

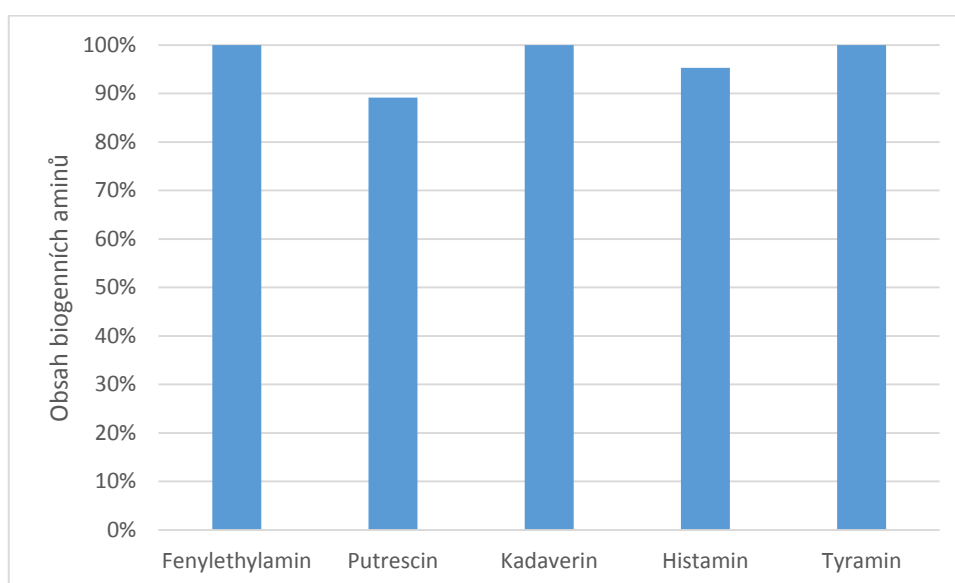


Obr. 22: Degradace biogenních aminů kmenem XY21

#### 4.2.10 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Kmotrovy klobásy

##### 4.2.10.1 Degradční schopnost kmene XY22

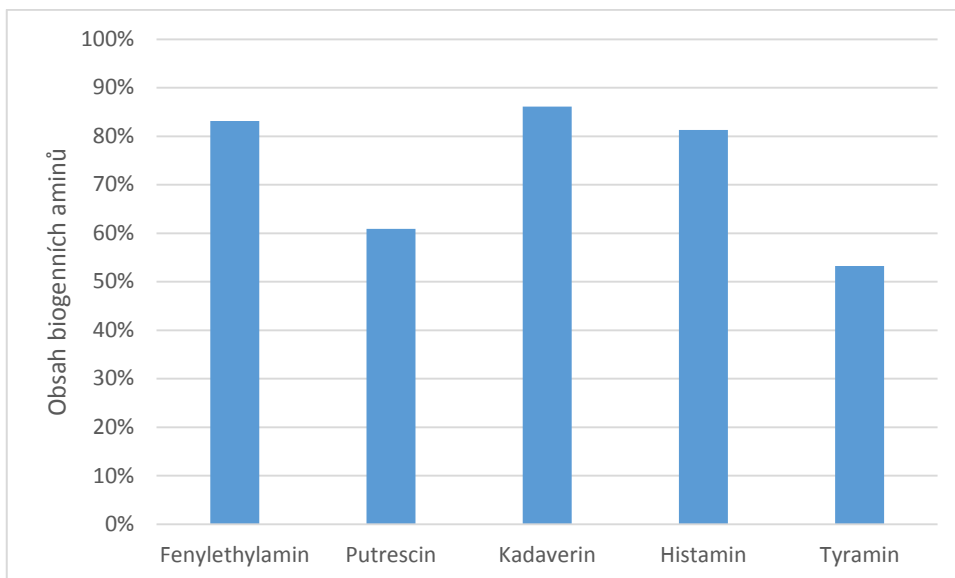
Kmen XY22 byl izolován z Kmotrovy klobásy a vykazoval tyto vlastnosti: kolonie byly velikosti 3 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, tvořící čtveřice, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 23 můžeme pozorovat nízkou degradační schopnost tohoto kmene. Došlo k redukci histaminu o 5 %, putrescinu o 10 %. Zbylé sledované biogenní aminy degradovány nebyly.



Obr. 23: Degradace biogenních aminů kmenem XY22

##### 4.2.10.2 Degradční schopnost kmene XY23

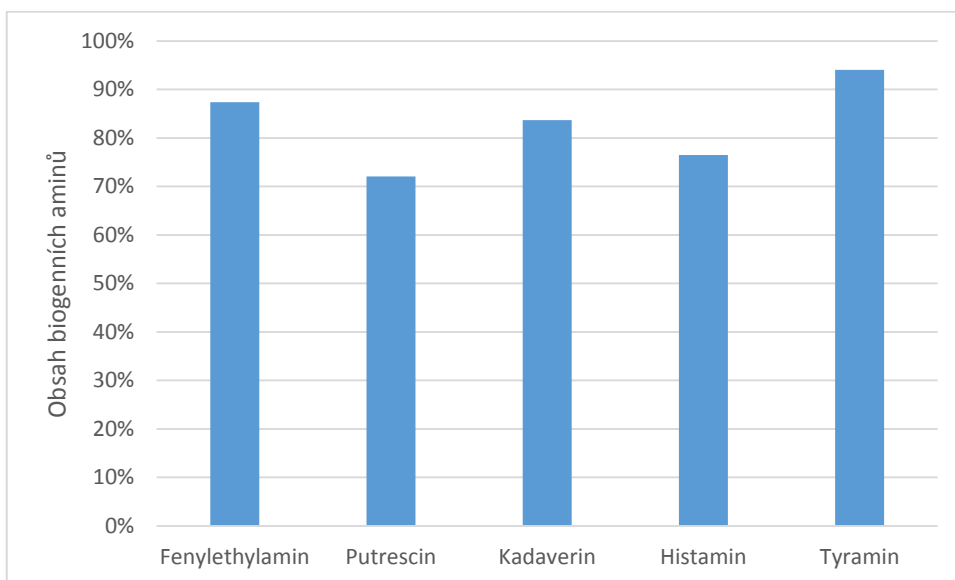
Kmen XY23 byl izolován z Kmotrovy klobásy. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, v hroznovitém uspořádání, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 24 můžeme pozorovat redukci tyraminu o 57 %, putrescinu o 40 %. Obsah histaminu byl snížen o 19 %, fenylethylaminu o 17 %, kadaverinu o 14 %.



Obr. 24: Degradace biogenních aminů kmenem XY23

#### 4.2.10.3 Degradční schopnost kmene XY24

Kmen XY23 byl izolován z Kmotrovy klobásky. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní tyčinky, kataláza i cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 24 můžeme vidět redukci putrescinu o 28 %, histaminu o 23 %. Obsah kadaverinu byl snížen o 16 %, fenylethylaminu o 13 %. Nejméně byl degradován tyramin, a to o 5 %.

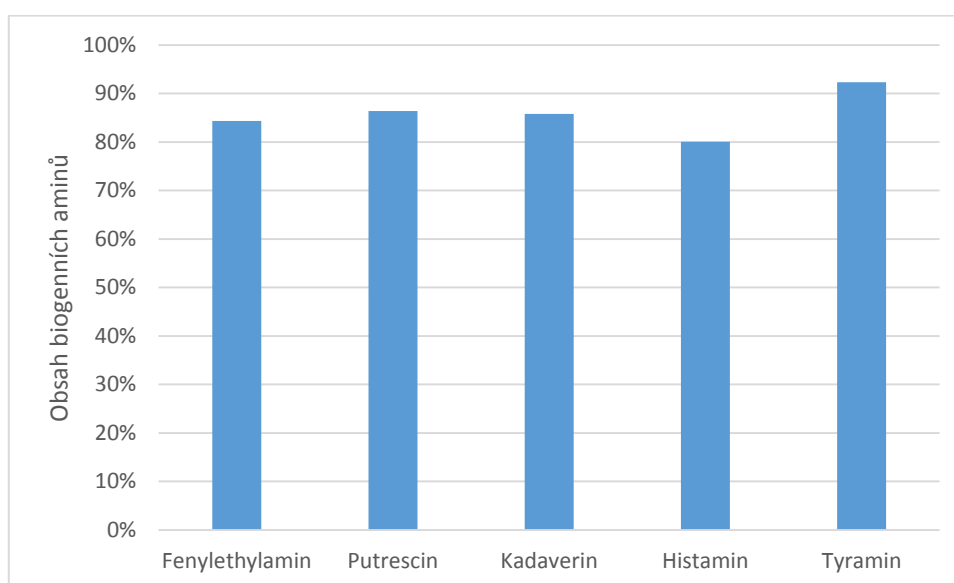


Obr. 25: Degradace biogenních aminů kmenem XY24

#### 4.2.11 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Chili salámků

##### 4.2.11.1 Degradční schopnost kmene XY25

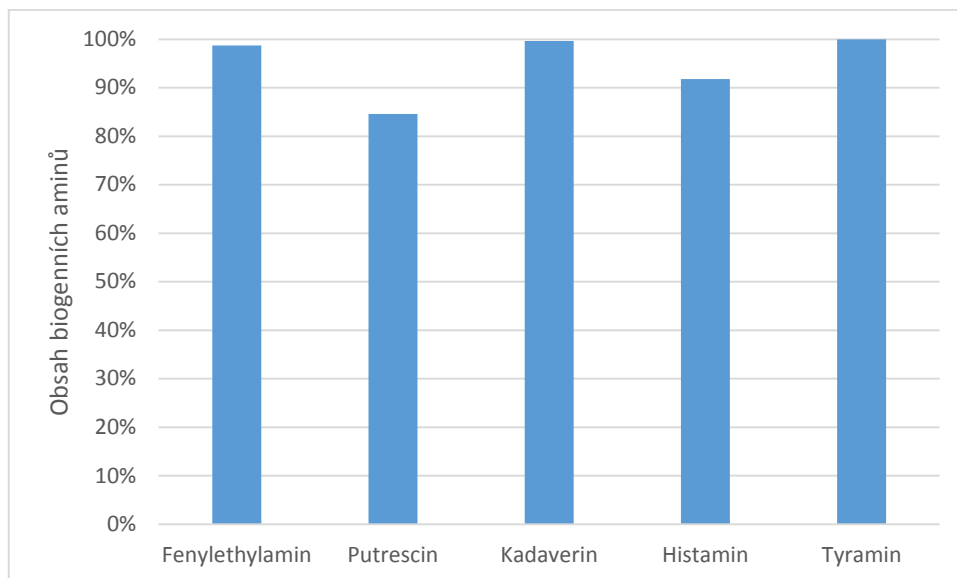
Kmen XY25 byl izolován z Chili salámků. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy meruňkové, buňky byly grampozitivní koky, hroznovitého uspořádání, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 26 můžeme pozorovat redukci histaminu o 20 %, fenylethylaminu o 16 %. Obsah kadaverinu a putrescinu byl snížen o 14 %. Nejméně byl degradován tyramin, a to o 8 %.



Obr. 26: Degradace biogenních aminů kmenem XY25

##### 4.2.11.2 Degradční schopnost kmene XY26

Kmen XY26 byl izolován z Chili salámků, vykazoval tyto vlastnosti: kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Z grafu (Obr. 27) je patrná nízká degradační schopnost tohoto kmene. Došlo k redukci putrescinu o 15 %, histaminu o 8 %. Ostatní biogenní aminy byly degradovány velmi málo, došlo k úbytku o méně než 1 %.

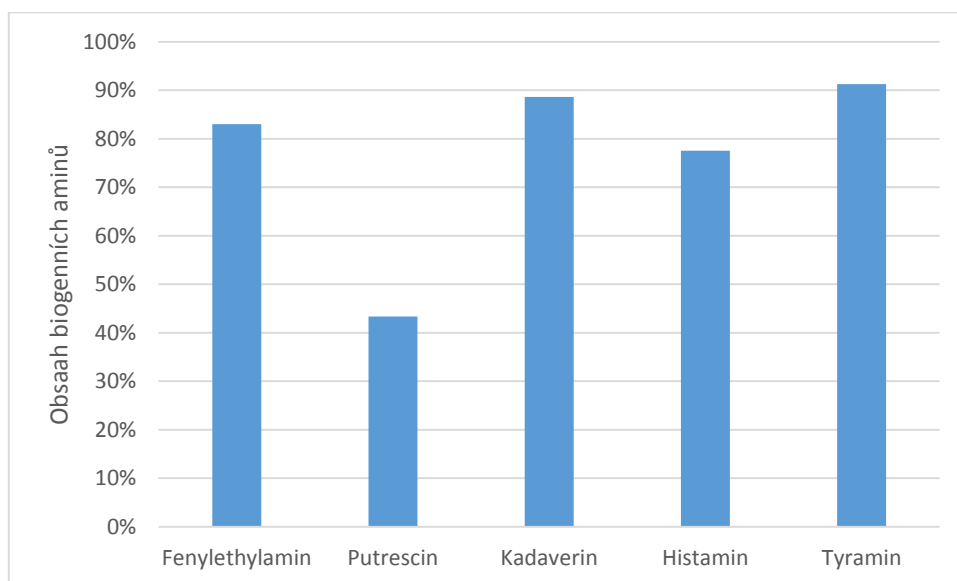


Obr. 27: Degradace biogenních aminů kmenem XY26

#### 4.2.12 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými ze Salámků s javorovým sirupem

##### 4.2.12.1 Degradční schopnost kmene XY27

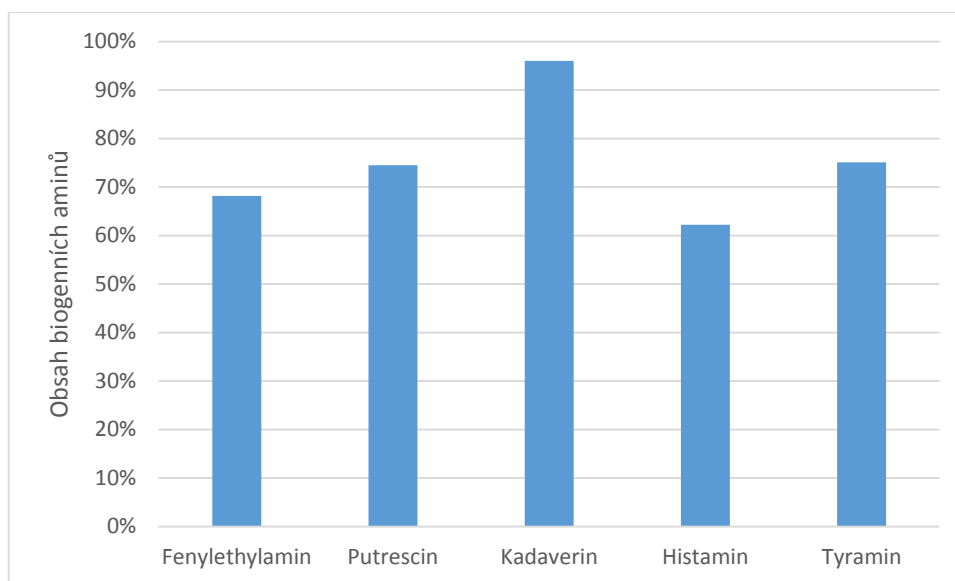
Kmen XY27 byl izolován ze Salámků s javorovým sirupem. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, hroznovitého uspořádání, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 28 můžeme vidět, že nejvíce byl redukován o 57 % putrescin. Obsah histaminu byl snížen o 23 %, fenylethylaminu o 17 %, kadaverinu o 11 %. Nejméně byl redukován tyramin, a to o 9 %.



Obr. 28: Degradace biogenních aminů kmenem XY27

#### 4.2.12.2 Degradční schopnost kmene XY28

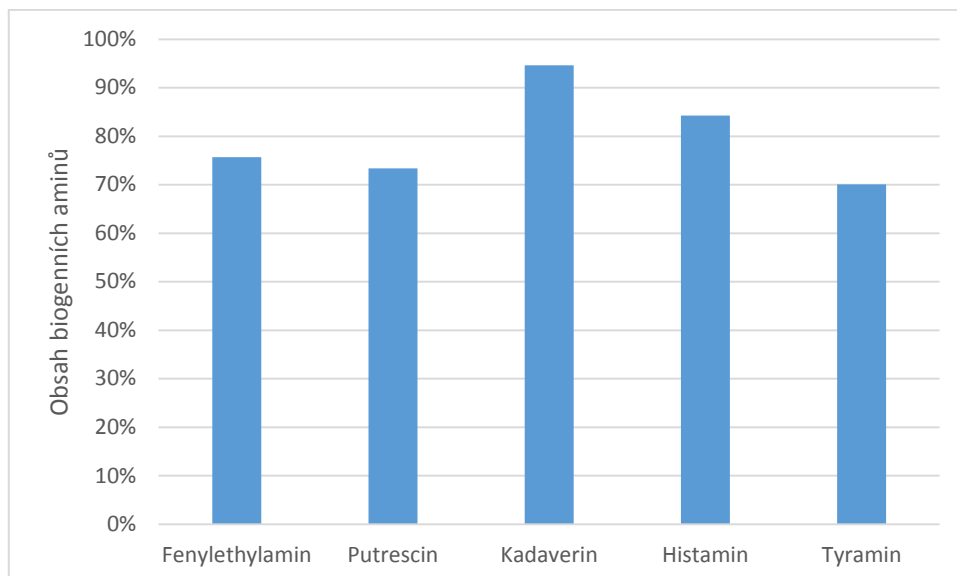
Kmen XY28 byl izolován ze Salámků s javorovým sirupem. Kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky tvořící čtveřice, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Na obrázku 29 můžeme vidět, že nejvíce byl redukován histamin o 38 %. Obsah fenylethylaminu byl snížen o 32 %. Tyramin a putrescin byly redukovány o 25 %. Nejmenší úbytek byl zaznamenán u kadaverinu (4 %).



Obr. 29: Degradace biogenních aminů kmenem XY28

#### 4.2.12.3 Degradční schopnost kmene XY29

Kmen XY29 byl také izolován ze Salámků s javorovým sirupem. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy žluté. Buňky byly grampozitivní koky s hroznovitým spořádáním, byly kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Nejvíce byl tímto kmenem redukován tyramin, a to o 30 %. Obsah putrescinu byl snížen o 27 %, fenylethylaminu o 24 %, histaminu o 16 %. Nejméně byl redukován kadaverin (o 5 %.), viz Obr. 30.

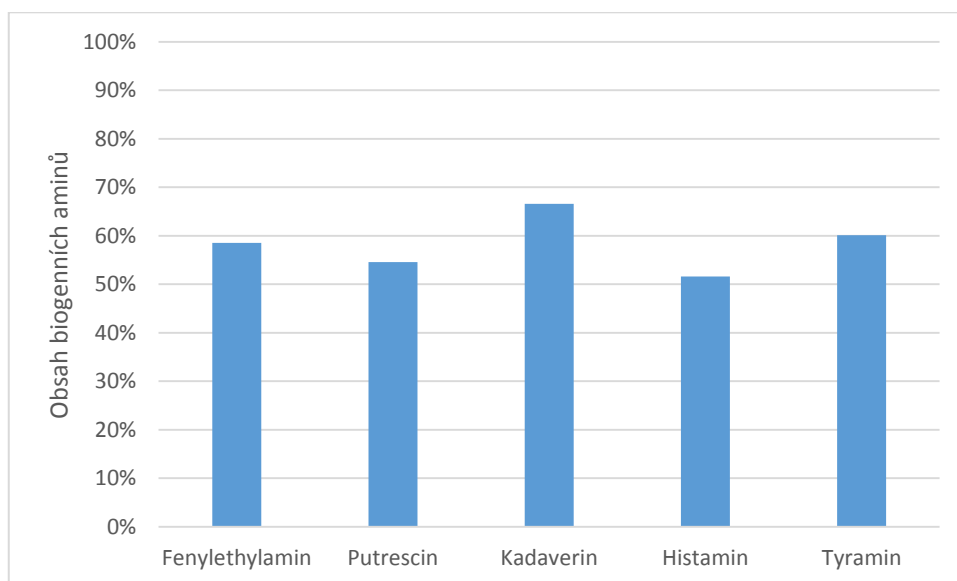


Obr. 30: Degradace biogenních aminů kmenem XY29

#### 4.2.13 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými ze Salámků z vepřového masa klasik

##### 4.2.13.1 Degradční schopnost kmene XY30

Kmen XY30 byl izolován ze Salámků z vepřového masa klasik. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky. Test na katalázu i cytochromoxidázu byl negativní. Vykazoval velmi dobrou degradační schopnost. Histamin byl redukován o 49 %, putrescin o 45 %, fenylethylamin o 41 %, tyramin o 40 %. Nejméně byl snížen obsah kadaverinu, a to o 33 % (Obr. 31).

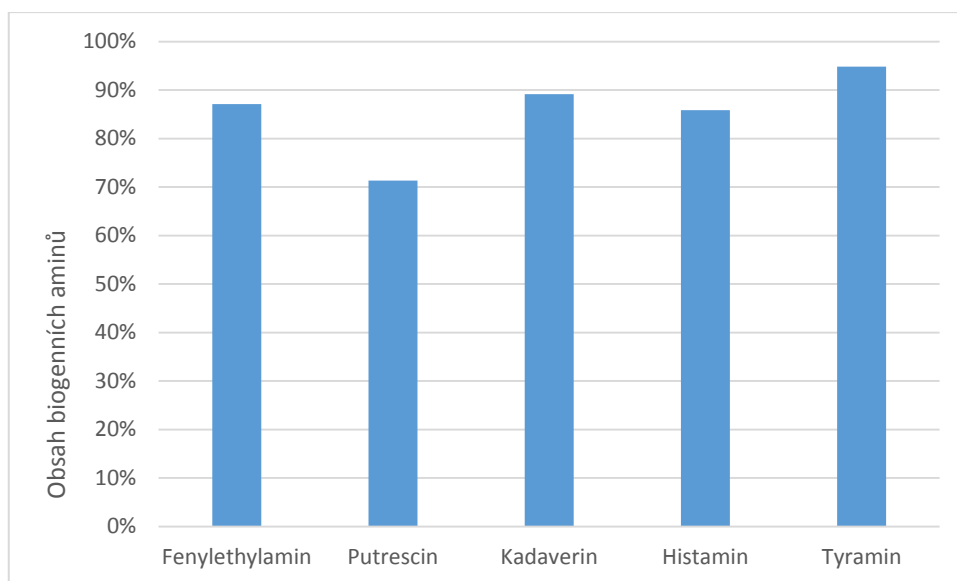


Obr. 31: Degradace biogenních aminů kmenem XY30



#### 4.2.13.2 Degradční schopnost kmene XY31

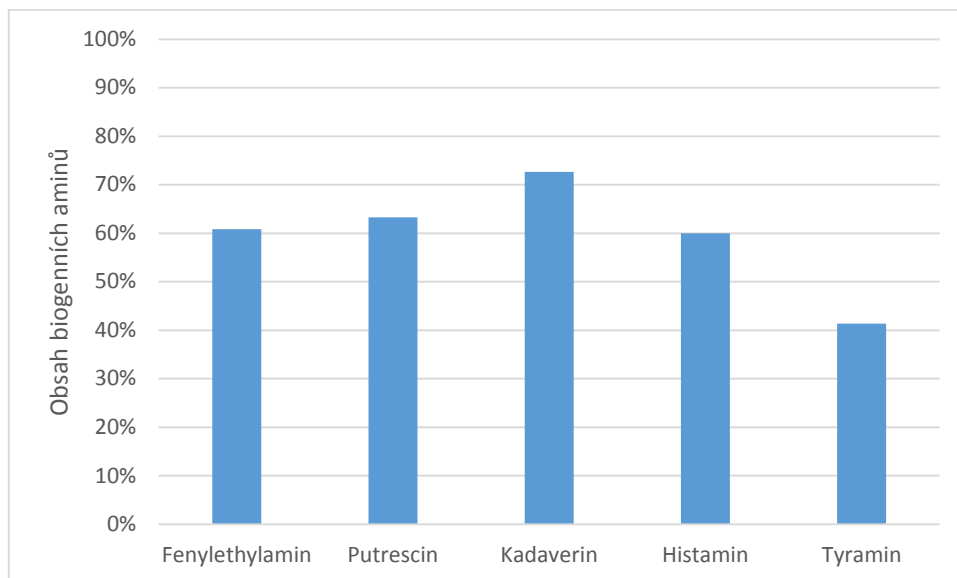
Kmen XY31 byl izolován také ze Salámků z vepřového masa klasik a vykazoval tyto vlastnosti: kolonie byly velikosti 2 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky s hroznovitým uspořádáním. Test na katalázu byl pozitivní, cytochromoxidázu negativní. Nejvíce byl redukován o 29 % putrescin. Obsah histaminu byl snížen o 14 %, fenylethylaminu o 13 %, kadaverinu o 10 %. Nejméně byl redukován tyramin, o 5 % (Obr. 32).



Obr. 32: Degradace biogenních aminů kmenem XY31

#### 4.2.14 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmenem izolovaným z Uherské klobásy

Kmen XY32 byl izolován z Uherské klobásy. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy žluté, buňky byly grampozitivní koky s hroznovitým uspořádáním, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní. Z grafu na obrázku 33 plyne dobrá degradační schopnost tohoto kmene. Nejvíce byl snížen obsah tyraminu, až o 60 %. Obsah kadaverinu a fenylethylaminu byl snížen o 40 %, putrescinu o 37 %. Nejméně byl redukován kadaverin, a to o 28 %.

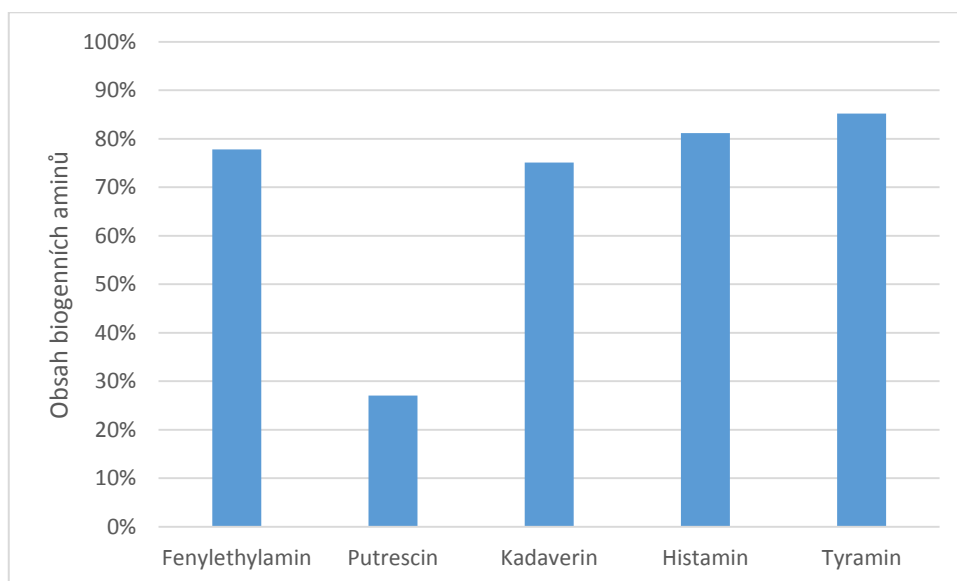


Obr. 33: Degradace biogenních aminů kmenem XY32

#### 4.2.15 Chromatografické stanovení poklesu biogenních aminů kmeny izolovanými z Gyulai klobásy

##### 4.2.15.1 Degradční schopnost kmene XY33

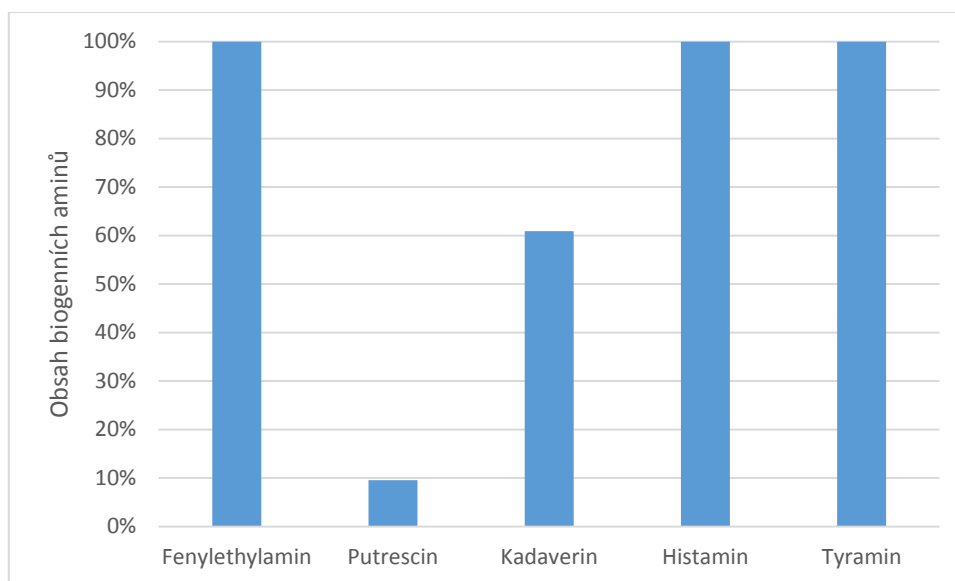
Kmen XY33 byl izolován z Gyulai klobásy a vykazoval tyto vlastnosti: kolonie byly velikosti 1 mm, barvy žluté, buňky byly grampozitivní koky. Kataláza i cytochromoxidáza byla negativní. Z obrázku 34 je patrné, že nejvíce byl redukován putrescin, až o 73 %. Obsah kadaverinu byl snížen o 25 %, fenylethylaminu o 22 %, histaminu o 19 %. Nejméně byl redukován tyramin, a to o 15 %.



Obr. 34: Degradace biogenních aminů kmenem XY33

#### 4.2.15.2 Degradční schopnost kmene XY34

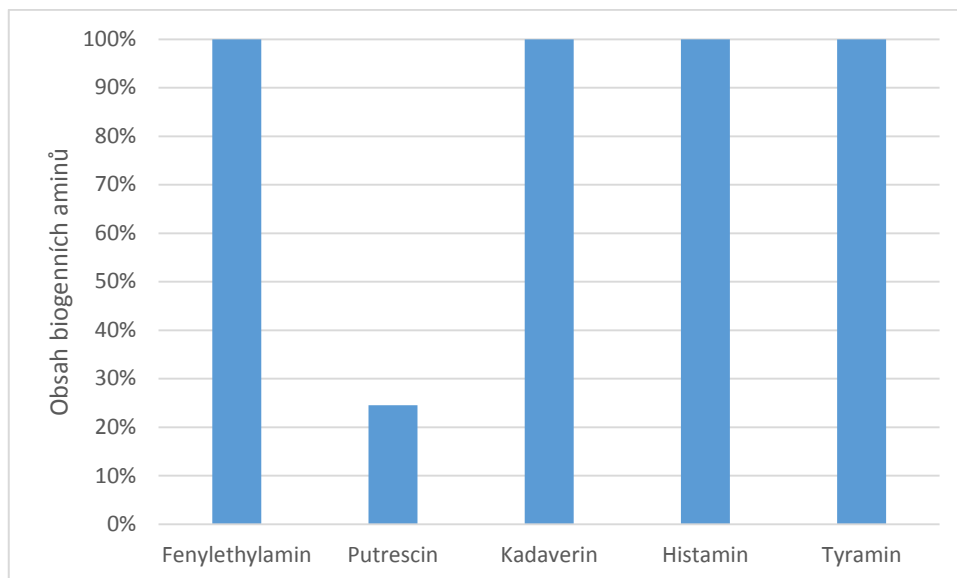
Kmen XY34 byl izolován z Gyulai klobásy. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky. Test katalázy i cytochromoxidázy byl negativní. Na obrázku 35 můžeme vidět dobrou schopnost kmene degradovat putrescin a kadaverin. Množství ostatních biogenních aminů zůstaly nezměněny. Nejvíce byl redukován putrescin, až o 90 %. Kadaverin byl redukován o 40 %.



Obr. 35: Degradace biogenních aminů kmenem XY34

#### 4.2.15.3 Degradční schopnost kmene XY35

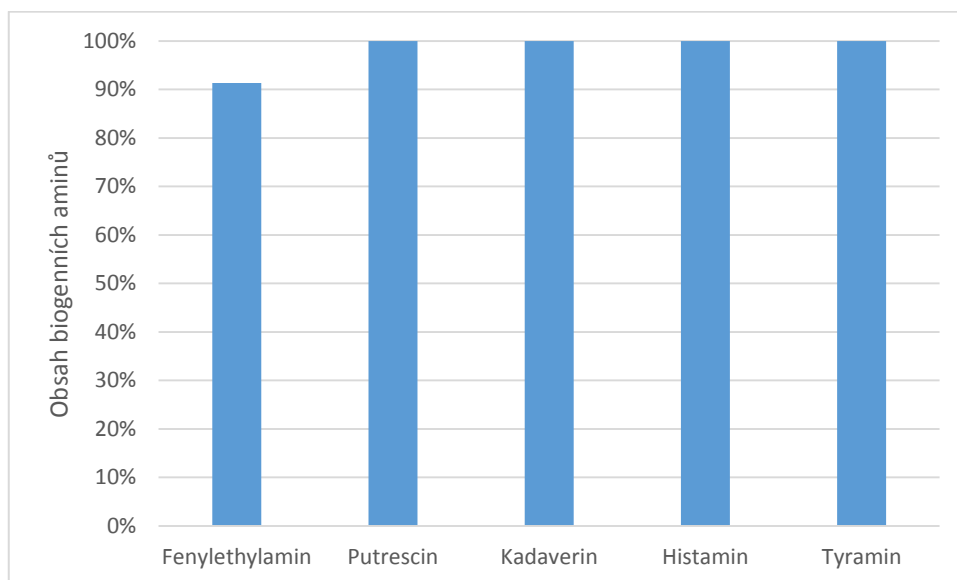
Kmen XY35 byl izolován z Gyulai klobásy. Kolonie byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky s hroznovitým uspořádáním, kataláza byla pozitivní, cytochromoxidáza byla negativní. Na obrázku 36 je patrná dobrá schopnost kmene degradovat putrescin, avšak ostatní koncentrace biogenních aminů zůstaly nezměněny. Obsah putrescinu byl snížen o tři čtvrtiny.



Obr. 36: Degradace biogenních aminů kmenem XY35

#### 4.2.15.4 Degradční schopnost kmene XY36

Kmen XY36 byl izolován z Gyulai klobásy. Kolonie kožovité konzistence byly velikosti 1 mm, barvy bílé, buňky byly grampozitivní koky, kataláza i cytochromoxidáza byly negativní. Tento kmen vykazoval nízkou schopnost degradace (Obr. 37). Fenylethylamin byl snížen o 10 %. Ostatní biogenní aminy degradovány nebyly.



Obr. 37: Degradace biogenních aminů kmenem XY36

## 5 DISKUZE

Biogenní aminy jsou nízkomolekulární dusíkaté báze. Vznikají nejčastěji dekarboxylací. Jsou nezbytné pro fyziologickou funkci organismu. Ve vysokých koncentracích a snížené schopnosti organismu degradovat aminy, mohou být pro tělo toxické. (Fernandes a Gloria, 2015, s. 301; Halasz et al., 1994; s. 42).

Nejvíce biogenních aminů obsahují fermentované potraviny a nápoje. Poslední dobou je trendem využívat při výrobě mikroorganismy se sníženou schopností dekarboxylace, a nebo se schopností degradace biogenních aminů – aminooxidázovou aktivitou. Produkci biogenních aminů se výrobci snaží regulovat také nastavením podmínek výroby (Naila et al., 2010, s. 146).

Cílem bakalářské práce bylo izolovat mikroorganismy se schopností degradace biogenních aminů z fermentovaných masných výrobků. Tento předpoklad vycházel ze studií Leuschner et al. (1997), Martuscelli et al. (2000), Gonzáles-Fernandez et al. (2003), Komprda et al. (2004), Lattore–Moratella et al. (2012), ve kterých byly izoláty z fermentovaných masných výrobků označeny za degradéry biogenních aminů. Izolace kmenů z masných výrobků byla uskutečněna na základě kultivace v minerálním médiu obohaceném o biogenní aminy, ve kterém biogenní aminy představovaly jediný zdroj dusíku a uhlíku. V první fázi se podařilo se izolovat 36 kmenů, které byly schopny růst v tomto médiu s minimálním množstvím živin.

Jak bylo zmíněno výše, izolací mikroorganismů z fermentovaných masných výrobků se zabývala řada studií. Bylo prokázáno, že kmeny *Staphylococcus xylosus* mají schopnost degradovat histamin a tyramin. Některé kmeny byly schopny degradovat až 100 % histaminu (Martuscelli et al., 2000, s. 231). *Staphylococcus equorum* redukoval 45 % kadaverinu (Lattore–Moratella et al., 2012, s. 4). *Micrococcus luteus* byl schopný degradovat dopamin a tyramin (Leuschner et al., 1997, s. 8). *Lactobacillus sakei* měl také vysokou degradační aktivitu. (Gonzáles-Fernandez et al., 2003). Obecně starterové kultury obsahující laktobacily vykazovaly vyšší účinnost při redukci biogenních aminů než kultury obsahující pouze koaguláza negativní stafylokoky (Latorre – Moratalla et al., 2012, s. 4 - 6). Kmeny *Rhodococcus*, *Arthrobacter* a *Corynebacterium* mohou mít schopnost degradace histaminu a tyraminu. (Leuschner et al. 1997, s. 9).

V salámu Herkules (startovací kultura *Pediococcus pentosaceus* a *Staphylococcus carnosus*) bylo po 21 dnech detekováno 123 mg.kg<sup>-1</sup> tyraminu, 247 mg.kg<sup>-1</sup> putrescinu, 15

mg.kg<sup>-1</sup> kadaverinu, 30 mg.kg<sup>-1</sup> sperminu, 4 mg.kg<sup>-1</sup> spermidinu a 2 mg.kg<sup>-1</sup> histaminu. V případě použití jiné startovací kultury (*S. carnosus*, *S. xylosus*, *Lactobacillus farciminis*) byly hladiny biogenních aminů zanedbatelné, nejvyšší hodnoty vykazoval spermin 22 mg.kg<sup>-1</sup> (Komprda et al., 2004, s. 616 - 617).

Téliszalámi – zimní salám, nebo také uherský salám, je uzenina se stoletou tradicí výroby. Pochází z Maďarska, kde je v Segedinu vyráběn v továrně Pick. Od roku 2007 tento výrobek získal chráněné označení původu Evropské unie (PDO). Je vyroben z libového vepřového masa maďarských bagounů s přidáním uzené slaniny. Tradovalo se, že při jeho výrobě se používá i oslí maso, ve skutečnosti je to však jen legenda. Základním kořením je paprika a bílý pepř. Je vyráběn za přístupu studeného vzduchu a velmi pomalu uzen. Během suchého zrání vytvoří speciální ušlechtilé ochranné plísňe jeho charakteristický bílý povrch (Petr Morvay, 2000; chráněné označení původu Evropské unie (PDO), 2007).

Izolaci mikroorganismů z jiných matric než fermentovaných masných výrobků se zabývala také řada studií. *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus intermedius* a *Staphylococcus condimentii* byly izolovány z rybí fermentované omáčky. *Bacillus amyloliquefaciens* degraduje histamin, putrescin a kadaverin. *Bacillus subtilis* má velkou schopnost degradovat histamin, degraduje i putrescin a kadaverin. *Staphylococcus carnosus* je degradér histaminu, putrescinu a kadaverinu. Mezi degradéry histaminu, putrescinu a kadaverinu se řadí i *Staphylococcus intermedius* a *Staphylococcus condimentii* (Zaman et al., 2010, s. 445). *Bacillus coagulans* izolovaný z fermentovaných ančoviček, degradoval histamin (Mah a Hwang, 2009, s. 798). Významnými histaminovými degradéry byly také *Bacillus megaterium* (Kim et al., 2006, s. 120), *Bacillus humi*. (Zaman et al., 2010, s. 445). *Brevibacterium linens* má schopnost degradovat histamin a tyramin (Zaman et al., 2010, s. 441). Kmeny *Kocuria varians* mají schopnost degradovat tyramin. *Micrococcus rubens* je schopný degradovat putrescin (Zaman et al., 2010, s. 441). *Lactobacillus plantarum* dokáže ve víně degradovat tyramin a putrescin. (Dapkevicius et al., 2000, s. 112, Cueva et al. 2012). *Pediococcus parvulus* a *P. pentosaceus* ve víně značně degradovaly histamin, tyramin a putrescin (Garcia - Ruiz et al, 2011, s. 215-220 ). *Alternaria* sp., *Phoma* sp., *Ulocladium chartarum* a *Epicoccum nigerum* degradují histamin, tyramin a putrescin. (Cueva et al., 2012, s. 115-120). Bäumlisberger et al. (2015, s. 845-846) zkoumali degradační schopnosti *Debaryomyces hansenii* a *Yarrowia lipolytica*.

V rámci experimentu, kdy byla ověřována degradační schopnost biogenních aminů izolovanými kmeny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí po předcházející derivatizaci dansylchloridem, byl nejlépe degradovaným aminem putrescin, nejhůře degradovaným aminem kadaverin.

Největší degradační schopnost vykazoval kmen XY7 izolovaný z Poličanu, buňky byly tvaru koků, grampozitivní, kataláza i cytochromoxidáza negativní. Koncentrace všech sledovaných aminů poklesla minimálně o 85 %. Nejlépe degradoval histamin, jehož obsah byl snížen o 95 %. Obsah fenylethylaminu, tyraminu a putrescin byl snížen o cca 90 %.

Druhý kmen s vysokou degradační schopností byl XY30, grampozitivní koky, kataláza i cytochromoxidáza negativní, schopný redukovat všechny testované biogenní aminy nejméně o třetinu. Nejvíce redukoval histamin, a to o 49 %. Tento kmen byl izolován ze Salámků z vepřového masa klasik.

Kmen XY34, grampozitivní koky, kataláza i cytochromoxidáza negativní, redukoval putrescin o 90 % a byl izolován z Gyulai klobásky. Velmi podobnou degradační schopnost putrescinu měl i kmen XY13, grampozitivní tyčinky, kataláza pozitivní, cytochromoxidáza negativní, izolovaný z Téliszalámu, obsah putrescinu snížil o 85 %.

Degrazační schopností mikroorganismů se zabývala také řada závěrečných prací. V diplomové práci Vítkové (2016) se jako nejlepší degradér projevil *Bacillus subtilis*, který zredukoval putrescin o 100 %, histamin z 97 %, tyramin o 40 % a fenylethylamin o 35 %. Dalšími významnými degradéry, které ale nebyly schopny snížit obsah aminů o více než polovinu v této práci byli *Bacillus altitudis*, *Bacillus pumilus*, *Acinetobacter pitii*, *Bacillus safensis*, *Rhizobium radiobacter* a *Enterobacter cloacae*.

V bakalářské práci Káčerové (2017) byl nejlepším degradérem *Micrococcus luteus* KS15, který snížil koncentraci všech biogenních aminů nejméně o 70 % a nejvíce pak degradoval histamin, jeho konečná hodnota činila 5 % po 24 hodinách. Dalším degradérem byl *Pseudomonas fragi* KS03, který snížil koncentraci tryptaminu, fenyletylaminu a histaminu vždy o minimálně tři čtvrtiny. Kmen *Escherichia coli* KS11 dokázal snížit koncentraci fenyletylaminu o 90 % a koncentraci putrescinu, kadaverinu a histaminu o 60 %.

V bakalářské práci Beneše (2018) byl nejlepším degradérem *Lactobacillus casei* subsp. *casei* CCDM 198, který byl schopný snížit obsah putrescinu, kadaverinu a histaminu cca o polovinu. Dalším za zmínění hodným degradérem v této práci byl kmen *Pediococcus* sp.

CCDM 395, který zredukoval histamin o 40 %. *Brevibacterium linens* CCDM 1010 redukoval putrescin, kadaverin o 40 %.

V bakalářské práci Swaczynové (2019) se jako nejlepší degradér projevil kmen *Pseudomonas protegens* 6B12. Koncentraci všech sledovaných biogenních aminů snížil více než o polovinu. Obsah putrescinu byl snižen o 89 %.

Z dosažených výsledků lze soudit, že mikroorganismy degradující biogenní aminy by mohly mít využití v potravinářství. Nejvyšší potenciál je ve výrobě, kde výskyt biogenních aminů je nevyhnutelný. Praktická část této práce a další publikace dokazují pozitivní výsledky snižování obsahu biogenních aminů.



## 6 ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývala možnostmi degradace biogenních aminů. Cílem praktické části bylo izolovat mikroorganismy degradující biogenní aminy z fermentovaných masných výrobků a prověřit jejich degradační schopnosti.

Na základě získaných výsledků můžeme říci, že:

- ❖ Z 21 fermentovaných výrobků se podařilo izolovat 36 kmenů se schopností růstu v minerálním médiu, kde jedinými zdroji uhlíku a dusíku byly biogenní aminy.
- ❖ Pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí byla potvrzena degradační schopnost většiny izolátů.
- ❖ Nejlépe degradovaným biogenním aminem byl putrescin.
- ❖ Nejméně degradovaným biogenním aminem byl kadaverin.
- ❖ Nejlepší degradační schopnost vykazoval kmen XY7 izolovaný z Poličanu. Obsah histaminu byl snížen až o 95 %, obsah fenylethylaminu a tyraminu 90 %. Obsah putrescinu byl snížen o 89 % a obsah kadaverinu o 85 %.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALVAREZ, Miguel A., MORENO - ARRIBAS, V. 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine degrading microorganisms as a solution. *Trends in Food Science*. [online]. **39** (2), 146 -155 [cit. 2019-01-20]. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.07.007. ISSN: 0924-2244. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224414001599>

BÄUMLISBERGER, Mathias et al., 2015. The Potential of the Yeast *Debaryomyces hansenii* H525 to Degrade Biogenic Amines in Food. *Microorganisms* [online]. **3**(4), 839-850 [cit. 2019-01-20]. DOI: 10.3390/microorganisms3040839. ISSN 2076-2607. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2076-2607/3/4/839/>

BENEŠ, Štěpán. *Skrining vybraných bakterií využívaných v mlékárenství na schopnost degradace biogenních aminů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2018, 94 s. (102 863 znaků). Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/42050>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Buňková, Leona.

BEATRIZ, Maria a Abreu GLORIA, 2005. Bioactive Amines. *Handbook of food science, technology, and engineering* [online]. Boca Raton [cit. 2019-01-20]. DOI: 10.1201/b15995-15. ISSN 978-1-4665-0787-6. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/b15995-15>

BETTS, G. 2006. Other Spoilage bacteria. *Food spoilage Microorganisms* [online]. 668-693 [cit. 2019-04-10]. DOI: 10.1533/9781845691417.5.668. ISBN 978-1-85573-966-6. Dostupné z: [www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855739666500237](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855739666500237)

BUŇKOVÁ L., ADAMCOVÁ G., BUDINSKÝ P., PLEVA P., BUŇKA F., 2012. Monitoring výskytu biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích v ČR. *Mlékářské listy*, [online]. č. 134. [cit. 2019-04-10]. ISSN 1212-950X. Dostupné z: [http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2012/134\\_s.i-iii.pdf](http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2012/134_s.i-iii.pdf)

CUEVA C., GARCÍA-RUIZ A., GONZÁLEZ-ROMPINELLI E., BARTOLOME B., MARTÍN-ÁLVAREZ P.J., SALAZAR O., VICENTE M.F., BILLS G.F. & MORENO-ARRIBAS M.V. 2012. Degradation of biogenic amines by vineyard ecosystem fungi. Potential

use in winemaking. *Journal of Applied Microbiology*, [online]. **112**, 672–682 [cit. 2019-04-10]. DOI: 10.1016/j.fm.2011.12.016 . ISSN: 1365-2672 . Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22265293>

DAPKEVICIUS, Maria L.N.Enes et al., 2000. Biogenic amine formation and de-gradation by potential fish silage starter microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*. [online]. **57**(1-2), 107-114 [cit. 2019-04-10]. DOI: 10.1016/S0168-1605(00)00238-5. ISSN: 0168-1605. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/40137267\\_Dapkevicius\\_MLNE\\_Nout\\_MJR\\_Rombouts\\_FM\\_Houben\\_JH\\_Wymenga\\_W\\_Biogenic\\_amine\\_formation\\_and\\_degradation\\_by\\_potential\\_fish\\_silage\\_starter\\_microorganisms\\_Int\\_J\\_Food\\_Microbiol\\_57\\_107-114](https://www.researchgate.net/publication/40137267_Dapkevicius_MLNE_Nout_MJR_Rombouts_FM_Houben_JH_Wymenga_W_Biogenic_amine_formation_and_degradation_by_potential_fish_silage_starter_microorganisms_Int_J_Food_Microbiol_57_107-114)

DORDET - FRISONI, Emilie DORCHIES Geraud, DE ARAUJO, Cecilia, TALON, Régine, LEROY, Sabine. Genomic Diversity in *Staphylococcus xylosum*. *Applied, Environmental Microbiology* [online] [cit. 2019-04-2]. DOI: 10.1128/AEM.01629-07. ISSN: 1098-5336. Dostupné z: <https://aem.asm.org/content/73/22/7199>

ENDRES, J. R., CLEWELL, A.; JADE, K. A.; FRADER, T.; HAUSWIRTH, J.; SCHAUSS, A. G. 2009. Safety assessment of a proprietary preparation of a novel Probiotic, *Bacillus coagulans*, as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*. [online] **47** (6), 1231–1238 [cit. 2019-04-2]. DOI:10.1016/j.fct.2009.02.018. ISSN: 0278-6915. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19248815>

FADDA, S., VIGNOLO, G. & OLIVER, G., 2001. Tyramine degradation and tyramine/histamine production by lactic acid bacteria and *Kocuria* strains. *Biotechnology Letters*, [online] **23**, 2015– 2019. [cit. 2019-02-05]. ISSN: 1573-6776 Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1013783030276>

FERNANDES, Christian a Maria GLORIA. 2015: Bioactive Amines. *Handbook of Food Analysis*, 3rd ed. [online]. CRC Press: Vol II -301 [cit. 2019-01-20]. DOI: 10.1201/b18668-56. ISBN 978-1-4665-5654-6. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com/doi/10.1201/b18668-56>

FUKUMOTO, J. 1943. Studies on the production of bacterial amylase. I. Isolation of bacteria secreting potent amylases and their distribution. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*. [online]. **19** (7), 487–503. [cit. 2019-01-20].

doi:10.1271/nogeikagaku1924.19.7\_487. ISSN: 1881-1272 Dostupné z:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691509000933>

GARCÍA-RUIZ, A., GONZÁLEZ - ROMPINELLI, E. M., BARTOLOMÉ, B. MORENO -  
ARRIBAS, M. V. 2011. Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogeni-  
camines. *International Journal of Food Microbioly*, [online]. **148**, 115-120 [cit. 2019-05-04].  
DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.009. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21641669>

GARDINI, F., MARTUSCELLI, M., CRUDELE, M. A., PAPARELLA, SUZZI, G. 2002. Use  
of *Staphylococcus xylosus* as a starter culture in dried sausages: Effect on the biogenic amine  
content. *Meat Science*, [online]. **61**, 275-283. [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/S0309-  
1740(01)00193-0 . ISSN: 0309-1740. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22060850>

GONZÁLEZ – FERNANDEZ, C. SANTOS, E., JAIME, I. a ROVIRA, J. 2003. Influence of  
startercultures and shugar concentrationsof biogenic amine contents in chorizo dry sauce. *Food  
Microbiology*. [online]. **20**, 275 -284[cit. 2019-05-09]. DOI: 10.1016/S0740-0020(02)00157-0.  
ISSN: 0740-0020. Dostupné z:  
[https://www.researchgate.net/publication/240439503\\_Influence\\_of\\_starter\\_cultures\\_and\\_sugar  
\\_concentrations\\_on\\_biogenic\\_amine\\_contents\\_in\\_chorizo\\_dry\\_sausage](https://www.researchgate.net/publication/240439503_Influence_of_starter_cultures_and_sugar_concentrations_on_biogenic_amine_contents_in_chorizo_dry_sausage)

HALÁSZ, Anna et al., 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food.  
*Trends in Food Science* [online]. **5**(2), 42-49 [cit. 2019-1- 20]. DOI:  
10.1016/09242244(94)90070-1. ISSN 09242244. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0924224494900701>

HOBSON, J. C. a ANDERSON, D. A. G., 1985. Amine removal. European Patent Application  
N° EP0132674A2, Application number 577 84107990.8

JUHAS, M. REUS, DR. ZHU, B. 2014. Bacillus subtilis and Escherichia coli essential genes  
and minimal cell factories after one decade of genome engineering. *Microbiology* [online].  
**160**, 2341-2351 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1099/mic.0.079376-0. ISSN: 1465-2080. Dostupné  
z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25092907>

KÁČEROVÁ, Simona. *Izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2017, 63 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/40577>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Buňková, Leona.

KALHOTKA L., 2007: *Biogenní aminy* [online]. [cit. 2019-02-05]. Dostupné z: [http://is.muni.cz/el/1411/pozim2007/BVMI0322p/um/Biogenni\\_aminy\\_2007\\_MU.pdf](http://is.muni.cz/el/1411/pozim2007/BVMI0322p/um/Biogenni_aminy_2007_MU.pdf)

KAMENÍK, J. JANOŠOVÁ, B. Y. SALÁKOVÁ, A. *Technologie a hygiena potravin živočišného původu*. 1st ed. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, 199. ISBN 978-80-7305-723-7

KAMENÍK J. *Hygiena a technologie masa: trvanlivé masné výrobky*. 1st ed. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012, 117. ISBN 978-80-7305-602-5.

KIM, Min-Woo a Young-Man KIM, 2006. Isolation and Identification of Histamine Degrading Bacteria from Kwamegi. *Journal of Life Science* [online]. **16**(1), 120-125 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.5352/JLS.2006.16.1.120. ISSN 12259918. Dostupné z: <http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=SMGHBM&py=2006&vnc=v16n1&sp=120>

KOHAJDOVÁ Z., KAROVIČOVÁ J., GREIF G., 2008: Biogénne aminy v potravinách. *Potravinárstvo*, [online]. **1** (2): 30 – 49. [cit. 2019-05-04]. ISSN 1337-0960. Dostupné z: [www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo\\_no1\\_2008.pdf](http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/potravinarstvo_no1_2008.pdf)

KOMPRDA T., SMĚLÁ D., PECHOVÁ P., KALHOTKA L., ŠTENCL J., KLEJDUS B., 2004. Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. *Meat science*. [online]. **67** (4): 617 – 616. [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.01.003. ISSN: 0309-1740. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174004000178>

JANDOVÁ Božena a Ludmila KOTOUČKOVÁ. *Praktikum z mikrobiologie*, 1. vyd. Brno: Vydavatelství MU. 1996, 67s. ISBN 80-210-1374-5

LADERO, V., FERNÁNDEZ, M., CALLES-ENRÍQUEZ, M., SÁNCHEZ-LLANA, E., CAÑEDO, E., MARTÍN, M. C. ALVAREZ, M. A., 2012. Is the production of the biogenic amines tyramine and putrescine a species-level trait in enterococci? *Food Microbiology*, [online]. **30**, 132-138 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05243.x. ISSN: 0740-0020. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/221769749\\_Degradation\\_of\\_biogenic\\_amines\\_by\\_vineyard\\_ecosystem\\_fungi\\_Potential\\_use\\_in\\_winemaking](https://www.researchgate.net/publication/221769749_Degradation_of_biogenic_amines_by_vineyard_ecosystem_fungi_Potential_use_in_winemaking)

LATORRE - MORATALLA, M. L., BOVER - CID, S., VECIANA - NOGUÉS, M. T., VIDAL - CAROU, M. C. 2012. Control of biogenic amines in fermented sausages: role of starter cultures. *Frontiers in Microbiology*. [online]. **3**: 1-9 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00169. ISSN: 1664-302X. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3345612/>

LEDVINA, Miroslav. *Biochemie pro studující medicíny*, Praha: Carolinum. 2010, 548. ISBN 9788024614144

LEUSCHNER, R. G. HEIDEL, Martina. HAMMES, Walter P., 1997. Histamine and tyramine degradation by food fermenting Microorganisms. *Journal of Food Microbiology*. [online] **39**, 1-10. [cit. 2019-05-05]. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9562873>

LEUSCHNER, Renata G a Walter P HAMMES, 1998. Tyramine Degradation by *Micrococci* During Ripening of Fermented Sausage. *Meat Science*. [online]. **49**(3), 289-296. [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/S0309-1740(97)00124-1. ISSN: 0309-1740. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/51781046\\_Tyramine\\_Degradation\\_by\\_Micrococci\\_During\\_Ripening\\_of\\_Fermented\\_Sausage](https://www.researchgate.net/publication/51781046_Tyramine_Degradation_by_Micrococci_During_Ripening_of_Fermented_Sausage)

LINARES, D. M. DEL RÍO, B. LADERO, V. MARTÍNEZ, N. FERNÁNDEZ, M. MARTÍN, M.C. ALVAREZ, M.A. 2012. Factors influencing biogenic amines accumulation in dairy products. *Frontiers in Microbiology*. [online] **3**, 180. [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00180. ISSN: 1664-302X. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22783233>

MAH, Jae-Hyung a Han-Joon HWANG, 2009. Inhibition of biogenic amine formation in a

salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosus* as a protective culture. *Food Control* [online]. **20**(9), 796-801. [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.10.005. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713508002843>

MARTUSCELLI, M. et al., 2000. Biogenic amine formation and oxidation by *Staphylococcus xylosus* strains from artisanal fermented sausages. *Letters in Applied Microbiology*. [online]. **31**(3), 228-232 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00796.x. ISSN 0266-8254. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2000.00796.x>

MCKENNEY, Peter T., DRIKS, Adam, EICHENERGER, Patrick 2012. The Bacillus subtilis endospore: assembly and functions of the multilayered coat. *Nature Reviews Microbiology*. [online]. **11**(1), 33–44. [cit. 2019-05-04]. DOI:10.1038/nrmicro2921. PMID 23202530. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23202530>

MORVAY, Petr. 2000. *Maďarský uherák, salám salámů*. iDNES [online]. [CIT. 2019-05-04]. Dostupné z: [https://www.idnes.cz/cestovani/kolem-sveta/madarsky-uherak-salam-salamu.A\\_2000M084C01B](https://www.idnes.cz/cestovani/kolem-sveta/madarsky-uherak-salam-salamu.A_2000M084C01B)

NAILA, Aishath et al., 2010. Control of Biogenic Amines in Food-Existing and Emerging Approaches. *Journal of Food Science*. [online]. **75**(7), 139-150. [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1111/j.17503841.2010.01774.x. ISSN 00221147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2010.01774.x>

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32005R2073>

MORENO-ARRIBAS, M.V. CUEVA, C. BARTOLOMÉ, B. GARCÍA-RUÍZ, A. GONZÁLEZ, ROMPINELLI, E. MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J. SALAZAR, O. VICENTE, M.F. a BILLS, G. 2012. Extractos enzimáticos de hongos de la vid que degradan aminas biógenas en vinos. European patent N<sup>o</sup> ES2012/070694, Application number 300072364

*Official list of bacterial names*. Archived from the original on 2007-10-30. [cit. 2019-02-05] dostupné z: <https://web.archive.org/web/20071030201818/http://www.bacterio.cict.fr/allnamesac.html>

PRIEST, F. G. GOODFELLOW, M., SHUTE L. A.; BERKELEY R. C. W. 1987. *Bacillus amyloliquefaciens* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*. [online]. **37** (1), 69–71. [cit. 2019-02-05] DOI:10.1099/00207713-37-1-69. ISSN: 1466-5034. Dostupné z: <https://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-37-1-69>

Protected Designation of Origin. *ec.europa.eu* [online]. [cit. 2019-05-12]. Dostupné z: [https://web.archive.org/web/20080804085346/http://ec.europa.eu/agriculture/qual/en/1387\\_en.htm](https://web.archive.org/web/20080804085346/http://ec.europa.eu/agriculture/qual/en/1387_en.htm)

ROIG - SAGUÉZ, A. X., MOLINA, A. P. a HERNANDEZ - HERRERO, M.M. 2002. Histamine and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. *European Food Research and Technology*, [online]. **215**, 96-100. [cit. 2019-02-05] ISSN: 1438-2385. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/227188912\\_Histamine\\_and\\_tyramine-forming\\_microorganisms\\_in\\_Spanish\\_traditional\\_cheese](https://www.researchgate.net/publication/227188912_Histamine_and_tyramine-forming_microorganisms_in_Spanish_traditional_cheese)

SANTOS, M. Silla, H., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. [online] **29**(2-3), 213-231. [cit. 2019-02-05] DOI: 10.1016/0168-1605(95)00032-1. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0168160595000321>

SHALABY, Ali R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International* [online]. **29**(7), 675-690 [cit. 2019-1-20]. DOI: 10.1016/S0963-9969(96)00066X. ISSN 09639969. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399699600066X>

SHEN, Zongzhuan. WANG, Beibei. LV, Nana. SUN, Yifei. JIANG, Xinyi. LI, Rong. RUAN, Yunze. SHEN, Qirong . 2015. Effect of the combination of bioorganic fertiliser with *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 on the control of banana *Fusarium* wilt disease, crop production and banana rhizosphere culturable microflora. *Biocontrol Science and Technology*. [online]. **25** (6), 716–731. [cit. 2019-1-20].

DOI:10.1080/09583157.2015.1010482. ISSN 0958-3157. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583157.2015.1010482>

SHUKLA, Shruti, KIM, Jong-Kyu. KIM, Myunghee. 2011. Occurrence of Biogenic Amines in



Soybean Food: *Soybean and Health*, [online]. [cit. 2019-1-20].DOI: 10.5772/19021. Dostupné z: <https://www.intechopen.com/books/soybean-and-health/occurrence-of-biogenic-amines-in-soybean-food-products>

STADLER, R. H. a D. R. LINENBACK. *Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation and health risks*, New York: John Wiley and sons. 2009, s. 341 - 342. ISBN 978-0-470-07475-6

STADNIK, J.; DOLATOWSKI, Z., 2010. Biogenic Amines in Meat and Fermented Meat Products. *Acta Scientiarum Polonorum : Technologia Alimentaria*. [online]. **9**(3) 251-263. [cit. 2019-1-20]. ISSN:1644-0730. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/46280023\\_Biogenic\\_amines\\_in\\_meat\\_and\\_fermented\\_meat\\_products](https://www.researchgate.net/publication/46280023_Biogenic_amines_in_meat_and_fermented_meat_products)

STANDAROVÁ, E., BORKOVCOVÁ, I., VORLOVÁ, L., 2008. Obsah biogenních aminů v sýrech z české obchodní sítě. *Veterinářství* [online]. [cit. 2019-05-04]. Dostupné z: <http://vetweb.cz/obsah-biogennich-aminu-v-syrech-z-ceske-obchodni-site/>

SUZZI, G., GARDINI, F. 2003: Biogenic amines in dry fermented sausages. *J. Food Microbiology*. [online]. **88**(1), 41 – 54. [cit. 2019-1-20]. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00080-1. ISSN: 0168-1605. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160503000801>

Uherský salám. *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2019-05-12]. Dostupné z: [/cs.wikipedia.org/wiki/Uherský\\_salám?action=edit&veswitched=1&oldid=17121399](/cs.wikipedia.org/wiki/Uherský_salám?action=edit&veswitched=1&oldid=17121399)

VELÍŠEK J., 2002: *Chemie potravin 3*, Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-02-X

SWACZYNOVÁ, Kateřina. *Izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy z potravin rostlinného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2019, 77 s. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Buňková, Leona.

VIDAL-CAROU, M. LATORRE-MORATALLA, M a Sara BOVER-CID, 2010. Biogenic

Amines. *Safety Analysis of Foods of Animal Origin*. [online]. CRC Press [cit. 2019-05-04]. 399. DOI: 10.1201/EBK1439848173-14. ISBN 978-1-4398-4817-3. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/EBK1439848173-14>

VINCI, G. a ANTONELLI, M. L., 2002. Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat. *Food Control*. [online]. **13**, 519-524. [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/S0956-7135(02)00031-2. ISSN 09567135. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/223442479\\_Biogenic\\_amines\\_Quality\\_index\\_of\\_freshness\\_in\\_red\\_and\\_white\\_meat](https://www.researchgate.net/publication/223442479_Biogenic_amines_Quality_index_of_freshness_in_red_and_white_meat)

VÍTKOVÁ, Lucie. *Izolace mikroorganismů degradujících biogenní aminy*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2016, 82 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/37500>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Buňková, Leona.

VOIGT, M. N. a EITENMILLER, R. R., 1978. Role of histidine and tyrosine decarboxylases and mono amine oxidases in amine on buildup decarboxylases and monoamine oxidases in cheese. *Journal of food protection*. [online]. **41**, 181 – 186 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.4315/0362-028X-41.3.182. ISSN: 1661-5867. Dostupné z: <https://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-41.3.182>

WANG, Xin Hui et al., 2015. Evaluation of Key Factors Influencing Histamine Formation and Accumulation in Fermented Sausages. *Journal of Food Safety* [online]. **35**(3), 395-402 [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.1111/jfs.12187. ISSN 01496085. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jfs.12187>

WYDER, M. T., BACHMANN, H. P., a PUHAN, Z. 1999. Role of selected yeasts in cheese ripening: an evaluation in foil wrapped Raclette cheese. *Lebensmittel- Wissen-schaft & Technologie*. [online]. **32**(6), 333-343. [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.1006/fstl.1999.0555. ISSN: 0023-6438. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643899905558>

YANGYONG, Lv. 2012: Genome Sequence of *Corynebacterium glutamicum* ATCC 14067, Which Provides Insight into Amino Acid Biosynthesis in Coryne-form Bacteria. *Journal of*

*Bacteriology*. [online]. **194** (3), 742–743. [cit. 2019-05-05]. DOI:10.1128/JB.06514-11. PMC 3264075. PMID 22247536. ISSN: 1098-5530

ZAMAN, Muhammad Zukhrufuz et al., 2010. Occurrence of Biogenic Amines and Amines Degrading Bacteria in Fish Sauce. *Czech J. Food Science*. [online]. **5**(28), 440–449 [cit. 2019-05-04]. ISSN: 1805-9317 Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/28359.pdf>

ZAMAN, M.Z., BAKAR, F.A., JINAP, S. a BAKAR, J., 2011. Novel starter cultures to inhibit biogenic amines accumulation during fish sauce fermentation *International Journal of Food Microbiology*, [online]. **145**, 84-91 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.031. ISSN: 0168-1605. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510006628>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

BA Biogenní aminy

cca přibližně

HPLC vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High – performance liquid chromatography)

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1: Vznik nejdůležitějších biogenních aminů z aminokyselin. (Upraveno podle Halasz et al., 1994, s. 43, s. 258; Ledvina, 2010)</i> .....	16
<i>Obr. 2: Degradace biogenních aminů kmenem XY1</i> .....	36
<i>Obr. 3: Degradace biogenních aminů kmenem XY2</i> .....	37
<i>Obr. 4: Degradace biogenních aminů kmenem XY3</i> .....	38
<i>Obr. 5: Degradace biogenních aminů kmenem XY4</i> .....	38
<i>Obr. 6: Degradace biogenních aminů kmenem XY5</i> .....	39
<i>Obr. 7: Degradace biogenních aminů kmenem XY6</i> .....	40
<i>Obr. 8: Degradace biogenních aminů kmenem XY7</i> .....	40
<i>Obr. 9: Degradace biogenních aminů kmenem XY8</i> .....	41
<i>Obr. 10: Degradace biogenních aminů kmenem XY9</i> .....	42
<i>Obr. 11: Degradace biogenních aminů kmenem XY10</i> .....	43
<i>Obr. 12: Degradace biogenních aminů kmenem XY11</i> .....	43
<i>Obr. 13: Degradace biogenních aminů kmenem XY12</i> .....	44
<i>Obr. 14: Degradace biogenních aminů kmenem XY13</i> .....	45
<i>Obr. 15: Degradace biogenních aminů kmenem XY14</i> .....	45
<i>Obr. 16: Degradace biogenních aminů kmenem XY15</i> .....	46
<i>Obr. 17: Degradace biogenních aminů kmenem XY16</i> .....	47
<i>Obr. 18: Degradace biogenních aminů kmenem XY17</i> .....	47
<i>Obr. 19: Degradace biogenních aminů kmenem XY18</i> .....	48
<i>Obr. 20: Degradace biogenních aminů kmenem XY19</i> .....	49
<i>Obr. 21: Degradace biogenních aminů kmenem XY20</i> .....	50
<i>Obr. 22: Degradace biogenních aminů kmenem XY21</i> .....	50
<i>Obr. 23: Degradace biogenních aminů kmenem XY22</i> .....	51
<i>Obr. 24: Degradace biogenních aminů kmenem XY23</i> .....	52
<i>Obr. 25: Degradace biogenních aminů kmenem XY24</i> .....	52
<i>Obr. 26: Degradace biogenních aminů kmenem XY25</i> .....	53
<i>Obr. 27: Degradace biogenních aminů kmenem XY26</i> .....	54
<i>Obr. 28: Degradace biogenních aminů kmenem XY27</i> .....	54
<i>Obr. 29: Degradace biogenních aminů kmenem XY28</i> .....	55
<i>Obr. 30: Degradace biogenních aminů kmenem XY29</i> .....	56
<i>Obr. 31: Degradace biogenních aminů kmenem XY30</i> .....	56

---

<i>Obr. 32: Degradace biogenních aminů kmenem XY31 .....</i>	<i>57</i>
<i>Obr. 33: Degradace biogenních aminů kmenem XY32 .....</i>	<i>58</i>
<i>Obr. 34: Degradace biogenních aminů kmenem XY33 .....</i>	<i>58</i>
<i>Obr. 35: Degradace biogenních aminů kmenem XY34 .....</i>	<i>59</i>
<i>Obr. 36: Degradace biogenních aminů kmenem XY35 .....</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 37: Degradace biogenních aminů kmenem XY36 .....</i>	<i>60</i>

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1: Přehled funkce nejdůležitějších biogenních aminů (Upraveno podle Shalaby 1996, s. 678 – 680; Alvarez a Moreno-Arribas, 2014, s. 147-148; Velíšek 2002).....</i>	14
<i>Tab. 2: Skupiny fermentovaných výrobků, ze kterých byly izolovány mikroorganismy .....</i>	30
<i>Tab. 3: Seznam potravinových matric, ze kterých byly izolovány mikroorganismy .....</i>	30
<i>Tab. 4: Přehled kmenů izolovaných z jednotlivých potravinových matric .....</i>	35