



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Laboratoř růstových regulátorů

Stanovení biogenních aminů v pivu

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:	Bc. Vojtěch Formánek
Studijní program:	N1501 Experimentální biologie
Studijní obor:	Experimentální biologie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Petr Barták, PhD.
Termín odevzdání práce:	2022

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Bc. Vojtěch Formánek
Název práce	Stanovení biogenních aminů v pivu
Typ práce	Diplomová
Pracoviště	Katedra experimentální biologie
Vedoucí práce	doc. RNDr. Petr Barták, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2022
Abstrakt	Tato diplomová práce se zabývá optimalizací metody pro stanovení histaminu a tyraminu v nápojích, zejména v pivu. Histamin a tyramin byly stanovovány v celkem 15 českých a německých pivech a také v bílém a červeném vínu a kávě. Derivatizace byla provedena ethylchlorformiátem s extrakcí pomocí DLLME a s následnou GC-MS analýzou. Kvantifikace byla provedena metodou standardního přídávku. Množství histaminu se v pivu pohybovalo mezi 0,045 a 0,68 mg·L⁻¹ a 0,24 a 106,16 mg·L⁻¹ u tyraminu.
Klíčová slova	Pivo, biogenní aminy, foodomika, DLLME, GC-MS
Počet stran	54
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Bc. Vojtěch Formánek
Title of thesis	Analysis of biogenic amines in beer
Type of thesis	Master's
Department	Department of experimental biology
Supervisor	doc. RNDr. Petr Barták, Ph.D.
The year of presentation	2022
Abstract	This master's thesis deals with the optimization of the method for the determination of histamine and tyramine in beverages, especially beer. Histamine and tyramine were determined in a total of 15 Czech and German beers, as well as in white and red wine and coffee. Deivatization was conducted with ethylchlorformiate and extraction by DLLME followed by GC-MS analysis. Quantification was performed by the standard addition method. The amount of histamine in beer varied between 0.045 and 0.68 mg·L ⁻¹ and tyramine between 0.24 and 106.16 mg·L ⁻¹
Keywords	Beer, biogenic amines, foodomics, DLLME, GC-MS
Number of pages	54
Number of appendices	0
Language	Czech

„Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracoval samostatně za použití citované literatury.“

V Olomouci dne

.....

Bc. Vojtěch Formánek

Děkuji mému vedoucímu doc. RNDr. Petru Bartákovi, Ph.D. za vstřícnost, odborné vedení, trpělivost a rady při zpracování a také rodině za podporu při psaní této práce.

Obsah

Seznam použitých zkratek	8
1 Úvod.....	9
2 Současný stav řešené problematiky	10
2.1 Pivo	10
2.2 Výroba piva.....	10
2.2.1 Suroviny	10
2.2.1.1 Slad	10
2.2.1.2 Voda	10
2.2.1.3 Chmel	11
2.2.1.4 Mikroorganismy	12
2.2.1.5 Další přísady	13
2.2.1.6 Druhy piva	14
2.2.2 Proces	15
2.2.2.1 Šrotování.....	15
2.2.2.2 Rmutování	15
2.2.2.3 Scezování.....	15
2.2.2.4 Chmelovar	15
2.2.2.5 Fermentace	16
2.3 Obsahové látky v pivu.....	17
2.3.1 Sacharidy	17
2.3.2 Proteiny.....	17
2.3.3 Lipidy	18
2.3.4 Alkoholy	18
2.3.5 Karbonylové sloučeniny	18
2.3.6 Estery	19
2.3.7 Fenolické látky	19
2.4 Biogenní aminy	19
2.4.1 Vznik	19
2.4.2 Účinky na organismus	20
2.4.2.1 Histamin	20
2.4.2.2 Tyramin	21
2.4.2.3 Katecholaminy.....	22
2.4.2.4. Ostatní biogenní aminy.....	24
2.4.3 Biogenní aminy jako produkty mikrobiální degradace	25
2.5 Potravinářská analýza.....	27

2.5.1 Metody získávání a extrakce vzorku	27
2.5.1.1 DLLME	27
2.5.2 Metody měření a přístupy	28
2.5.2.1 Tenkovrstvá (TLC), kapalinová (LC) a superkritická (SFC) chromatografie..	28
2.5.3 GC v analýze potravin	29
3 Materiál a metody	31
3.1 Materiál	31
3.2 Chemikálie	31
3.3 Přístroje a vybavení	31
3.4 Optimalizace metody	31
3.4.1 Derivatizace	32
3.4.2 Objem extrakčního a disperzního činidla	32
3.4.3 Odpařování	32
3.4.4 Standardní přídavek	33
3.5 Nastavení GC-MS systému	33
3.6 Vyhodnocení analýzy	33
4 Výsledky	34
4.1 Optimalizace	34
4.2 Stanovení BA	36
5 Diskuse	40
5.1. Optimalizace	40
5.2 Stanovení biogenních aminů v pivu	41
5.3 Stanovení BA ve vínu a kávě	42
6 Závěr	43
Seznam použité literatury	44

Seznam použitých zkratk

AA – α -hořké kyseliny
ACN – acetonitril
BA – biogenní aminy
COMT – katecholamin-O-methyltransferasa
dADMT – dekarboxylovaný adenosylmethylthionin
DAO – diaminooxidasa
DC – dekarboxyláza
DLLME – disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina
ECF – ethylchlorformiát
GC – plynová chromatografie
HA – histamin
HNMT – histamin-N-methyltransferasa
KA – katecholaminy
LAB – bakterie mléčného kvašení
LC – kapalinová chromatografie
LTP – Lipid transfer protein
MAO – monoaminooxidasa
MAOI – inhibitory monoaminooxidasy
MCF – methylchlorformiát
MO – mikroorganismy
MS – hmotnostní spektrometrie
NSY – Non-Saccharomyces kvasinky
SB – sourbeer
SFC – superkritická fluidní chromatografie
TA – tyramin
TLC – chromatografie na tenké vrstvě

1 Úvod

Pivo je jeden z nejkonsumovanějších alkoholických nápojů na světě s roční produkcí přes 1,82 mld hl. Při takto velkém množství je třeba důsledně dbát na technologické postupy a hygienu výroby, skladování a servírování. Při jejich nedodržení může pivo obsahovat kromě chtěných prospěšných látek jako alkohol, polyfenoly a minerály i řadu dalších kontaminujících látek, vzniklých jako produkty degradace při metabolismu mikroorganismů. Pravidelná konzumace těchto látek může mít pro člověka vážné zdravotní důsledky a je tedy nezbytné hladinu těchto látek sledovat. Mezi takové nežádoucí látky patří i biogenní aminy. Kromě endogenních, které mají v těle určité funkce, jsou přijímány i exogenně potravou. Jelikož biogenní aminy mají značné účinky na kardiovaskulární a nervový systém, je třeba jejich množství sledovat, a to obzvláště, je-li pacient léčen inhibitory monoaminoxidasy.

Tato práce v teoretické části shrnuje postup výroby piva a v něm obsažených látek, informace o biogenních aminech a jejich výskytu v potravinách a podává informace o využití disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina a chromatografických metodách, využívaných v analýze potravin. Cílem této práce je optimalizovat metodu stanovení biogenních aminů tyraminu a histaminu ve vybraných vzorcích piva GC-MS po in situ derivatizaci. Dále si klade za cíl aplikovat tuto metodu na další alkoholický a nealkoholický nápoj za účelem ověření robustnosti a všestrannosti optimalizovaného postupu při stanovování biogenních aminů v nápojích. Zavedení metody při rutinní analýze potravin může zrychlit a zjednodušit proces kontroly kvality a nezávadnosti potravin.

2 Současný stav řešení problematiky

2.1 Pivo

Pivo je kvašený alkoholický nápoj, vyráběný ze sladovaného obilí, vody a pivovarských kvasnic s možností přidání dalších komponent podílejících se na celkové chuti, jako jsou chmel a další aromatické byliny. Historicky se předpokládá, že objev a zvládnutí procesu výroby piva byl jednou z příčin neolitické revoluce (Cabras a Higgins, 2016). Je jedním z nejrozšířenějších a nejvíce konzumovaných alkoholických nápojů (Colen a Swinnen, 2010). Celosvětová produkce piva činila v roce 2020 1,82 mld. hl (Statista, 2022). Největšími konzumenty per capita byly v roce 2020 Česko (181,9 l), Rakousko (96,8 l), Polsko (96,1 l) a Rumunsko (95,2 l) (Kirin, 2022).

2.2 Výroba piva

2.2.1 Suroviny

2.2.1.1 Slad

Slad je naklíčené obilné zrn, které bylo vysušeno procesem hvozdní. Obilnin využívaných pro výrobu sladu je celá řada, pro výrobu piva jsou nejčastěji využívány ječné (*Hordeum sp.*), pšeničné (*Triticum sp.*) žitné (*Secale sp.*) nebo čirok (*Sorghum sp.*)

Sladování se skládá ze tří fází: máčení, klíčení a hvozdní. Máčení zahrnuje namáčení zrn, aby se zvýšil obsah vlhkosti a tím se zahájilo klíčení. To dále zahrnuje enzymaticky zprostředkovanou degradaci endospermu, kdy jsou buněčné stěny depolymerizovány a zásobní proteiny jsou katabolizovány, čímž dochází k uvolnění škrobových granul z matrice. Růst embryí je během klíčení udržován na minimu, aby se snížila ztráta biomasy dýcháním a odstraňováním klíčků a kořínků z konečného produktu. Poslední fáze, hvozdní, využívá tepla, aby došlo k zastavení dalšího klíčení a konzervaci enzymů, stejně jako k vytvoření aroma, chuti a barevných sloučenin, které pomáhají definovat konečný charakter piva (Kok a kol., 2018).

2.2.1.2 Voda

I když se při pěstování plodin (ječmene, pšenice a chmele) a při sladařském procesu spotřebuje mnohem více vody než v pivovarnictví, je i přesto samotné vaření vnímáno jako proces náročný na vodu. Voda vstupující do pivovaru se obecně zpracovává tak, aby byla zbavena nečistot a aby se zajistilo, že složení odpovídá požadavkům daným pivovarem. Toto je důležité zejména u pivovarů, majících více provozů v odlišných oblastech. Je žádoucí snížit tvrdost vody, a také vodu odvzdušnit (Filaudeau a kol., 2006).

2.2.1.4 Mikroorganismy

Pivovarské kvasinky jsou podle European Brewery Convention definovány jako kulturní kvasinky, využívané k produkci svrchně nebo spodně kvašených pív. Lze sem zahrnout i některé další kvasinky a mikroorganismy (MO), které jsou používány k výrobě speciálních pív jako Lambic, Krieg nebo sour (Basařová, 2010).

Po většinu historie výroby piva byly využívány kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Přesto byl prvním izolátem čisté kultury pivovarských kvasnic *S. carlsbergensis* (později přejmenován na *S. pastorianus* (Olesen a kol., 2002).

Kvasinky se podle sedimentace rozdělují na svrchní a spodní a stejně je tomu tak u dvou základních typů pív. Hlavním druhem svrchně kvasících MO je *S. cerevisiae*, které se používají k produkci pív typu Ale a dalších, jejichž kvasná teplota je 18 – 25 °C. Tyto MO jsou vynášeny na hladinu a tvoří tzv. kvasničnou deku. U spodně kvasících MO je kvasná teplota 7 – 15 °C a hlavními zástupci jsou *S. pastorianus* a *S. uvarum*. Tyto MO sedimentují na dno nádoby a využívají se k výrobě pív ležáckého typu (Basařová, 2010).

V současnosti je využívána celá řada dalších MO, a to jak kvasinkových, tak i bakteriálních. Non-*Saccharomyces* kvasinky (NSY), jako je *Brettanomyces* sp. produkují těkavé fenoly, které mají významnou pozitivní roli v kořenitých a kouřových chutích pív, jako jsou Lambic a Gueuze. Jiné kvasinky NSY, jako jsou *Candida* a *Pichia*, jsou známy při výrobě sherry pro svou roli při oxidaci ethanolu na acetaldehyd (poskytující oxidovanou pachut') a byly také popsány při fermentaci kyselých pív ve smíšených kulturách (Vanderhagen a kol., 2003).

NSY *Williopsis saturnus* je schopna produkovat vyšší koncentraci esterů kyseliny octové a lépe zachovat obsah původních terpenoidů. Fermentace s těmito NSY může být využita pro zvýšení žádoucí ovocné a květinové chuti piva při zachování charakteristického chmelového aroma mladiny (Liu a Quek, 2016). Další NSY jako například *Hanseniaspora vineae*, *Torulaspora delbrueckii* nebo *Wickerhamomyces anomalus* izolované z vinné révy (*Vitis vinifera* L.) mohou být využity u spontánně kvašených pív nebo při kofermentaci se *Sacharomyces* sp. ke zvýšení ovocité chuti (Postigo a kol., 2022).

Celá řada MO, které jsou považovány v produkci klasických pív za kontaminující, je využívána k produkci kyselých pív (sour beer, SB). Kromě klasických kvasinek *Sacharomyces* sp. se zde uplatňují také NSY a dále bakterie mléčného (LAB) a octového

(AAC) kvašení (Dysvik a kol., 2020a). U tradičních SB kvašených spontánně jako je belgické pivo Lambic dochází k fermentaci za pomoci různorodé škály přirozeně se vyskytujících MO. První fázi dominují druhy *Enterobacteriaceae* jako *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* a *Hafnia alvei* spolu s NSY (Martens a kol., 1992). Následně se uplatňují *Saccharomyces spp.* a LAB (primárně *Pediococcus damnosus*). Na závěr NSY *Brettanomyces* (hlavně *B. bruxellensis*) nahrazují *Saccharomyces spp.* A dominují ve zbytku fermentace (Spaepen a kol., 1978).

V současné době hojně využívaný postup tzv. Kettle souring, je proces rychlého kysání piva přímou inokulací konkrétním MO. Při této metodě se vaří mladina s malým nebo žádným chmelem, ochlazená na teplotu 40 – 50 °C a poté smíchána s LAB (často *Lactobacillus spp.* a/nebo *Pediococcus spp.*), když je mladina stále ve varném kotli. Následně je mladina fermentována LAB, dokud není dosaženo požadované úrovně kyselosti, což obvykle trvá 24 – 48 hodin. Následně je okyselená mladina dofermentována *Sacharomyces sp.* (Bosaert a kol., 2020). Často využívanými druhy LAB jsou *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. plantarum* a *L. sakei* (Dysvik a kol., 2020b).

2.2.1.5 Další přísady

Německý zákon o čistotě piva Reinheitsgebot definuje pivo jako nápoj vyrobený pouze ze sladu, chmele, pivovarských kvasnic a vody (Bundesgesetzblatt, 1993). V jiných částech světa jsou však piva vyráběna s celou řadou dalších přísad, zejména ovoce a koření. Ve Skandinávii se produkují piva ochucená jalovcem, myrťou, andělikou nebo olší, které se přidávají místo chmele. Tmavá piva typu stout jsou často ochucována kávou nebo čokoládou. Některá belgická piva jsou ochucena např. třešněmi, koriandrem, nebo lékořicí (Macinková, 2017). V současné době jsou velmi populární SB ochucená ovocem, ale také kořením, nebo sladkým pečivem (Beer&Brewing, 2022).

2.2.1.6 Druhy piva

Podle použitých surovin a postupu výroby lze piva rozdělit do několika základních typů pod které následně spadá velké množství konkrétních druhů piv. Jejich přehled je vyobrazen v Tab. 1.

Tabulka 1 – přehled vybraných pivních typů a jim podřazených druhů. Převzato a upraveno z Olšovská, 2017.

pivo	spodně kvašená		evropská	plzeňský	
				německý	
				dortmundský	
				vídeňský	
			mnichovský	rauchbier	
				bock	
			americký	parní	
				americký	
	svrchně kvašená	speciální slady	pšeničný	belgické	
				německé	
			porter	anglický	
				baltský	
			stout	dry	
				oat	
				imperial	
				milk	
			ale	evropský	bltbier
					belgický
		saison			
		trapistické			
		britský		bitter	
				mild	
				barley wine	
				IPA	
		spontánně kvašená	lambic	neředěný	
				gueuze	mars
	faro				
					kriek
hybridní	ochucená, žitná, nealkoholická, sour				

2.2.2 Proces

2.2.2.1 Šrotování

Tímto mechanickým procesem se škrob z endospermu stává snadněji přístupným pro enzymy a tím se zlepší proces extrakce sladu. Šrotování by mělo být prováděno za podmínek, které zachovávají strukturu plev, které jsou využívány jako filtrační vrstva při scezování. Pokud šrotování probíhá za vlhka, plevy si zachovávají elasticitu a jsou méně poničeny (De Brackeleire a kol., 2000).

2.2.2.2 Rmutování

Je proces postupného zvyšování a udržování teploty, kdy jsou za pomoci enzymů obsažených ve sladu, extrahovány do vody a štěpeny složité sacharidy na jednodušší. Nejprve jsou při teplotě 45 – 50 °C štěpeny proteiny pomocí proteas na produkty o nižším MW a β -glukan v buněčné stěně pomocí endo- β -glukanas, β -glukansolubilas, a endo-xylanas. Při teplotě 62 – 65 °C dojde k aktivaci β -amylasy která působí z neredukujícího konce, katalyzuje hydrolýzu druhé α -1,4 glykosidické vazby, přičemž současně odštěpuje maltosu. Dalším zvýšením teploty na 70 – 75 °C je aktivována α -amylasa, jež působí na náhodných místech podél škrobového řetězce, štěpí sacharidy s dlouhým řetězcem a produktem je buď maltotriosa a maltosa z amylosy, nebo maltosa, glukosa a dextrin z amylopektinu. Při konečném zvýšení teploty na 78 °C jsou všechny enzymy inaktivovány (tzv. odrmutování) (Willaert, 2007).

2.2.2.3 Scezování

Po odrmutování následuje proces scezování. To je způsob filtrace, při kterém se oddělí roztok obsahující extraktivní látky sladu od zbytků tzv. mláta. Následuje vyluhování extraktu zachyceného v mlátě horkou vodou, tzv. vyslazování. Tyto výluhy se následně spojí v celkový objem sladiny (roztoku obsahujícího do vody extrahované látky ze sladu). Cílem scezování je získat čistou sladinu s maximální výtěžností. Čírost se odvíjí od podílu nevyfiltrovaných lipidů (Dufour a kol., 1986).

2.2.2.4 Chmelovar

Je proces, při kterém je vařena sladina s chmelem, čímž vznikne mladina. Jeho cílem je odpařit přebytečnou vodu, odpařit těkavé látky, inaktivovat enzymy z předchozích kroků a tím mladinu stabilizovat a zároveň mladinu sterilizovat od zbytkové mikroflóry. Během vaření také dochází ke koagulaci dusíkatých látek o vyšším MW a také k rozpouštění a izomeraci hořkých látek z chmele. Dochází k tvorbě produktů Maillardovy reakce, které se dále podílejí na dotváření celkové chuti. Probíhá zde také množství oxidačně redukčních

2.3 Obsahové látky v pivu

2.3.1 Sacharidy

Jsou jednou z hlavních komponent piva a tvoří ho z 3,3 – 4,4 %. Z toho 75 – 80 % dextrinu, 20 – 30 % monosacharidů a oligosacharidů a 5 – 8 % neškrobových polysacharidů (Cortecero-Ramírez a kol., 2003). Mono- a oligosacharidy tvoří zkvasitelné cukry (tj. fruktosa, glukosa, maltosa a maltotriosa) a také glukosové oligosacharidy (Brandolini a kol., 1995). Zkvasitelné cukry přímo přispívají ke sladkosti piva a jsou nezbytné pro průběh fermentace, zatímco sacharidy s více než čtyřmi glykosylovými jednotkami přispívají k hutnosti a textuře (Nogueira a kol., 2005).

2.3.2 Proteiny

Široká škála významných vlastností piva, včetně chuti, pevnosti a retence pěny, tvorby zákalu a koloidní stability závisí na příspěvku pivních proteinů a peptidů (Imure a Sato, 2013). Proteiny o různém MW mají různý vliv. Nízkomolekulární proteiny a aminokyseliny jako základní složka piva ovlivňují fermentaci kvasinek a chuť piva, zatímco proteiny s vyšší molekulovou hmotností zlepšují stabilitu pěny. Dostávají se do piva především ze sladu (Hu a kol., 2018).

Nejzastoupenějším proteinem je protein Z, který má nejvyšší povrchovou viskozitu a elasticitu ze známých pivních proteinů, a proto se předpokládá, že jeho obsah má významný vliv na kvalitu a stabilitu pěny (Konečná a kol., 2012).

Lipid transfer protein 1 (LTP1) je dalším hojně zastoupeným pivním proteinem. LTP1 pochází z aleuronu ječmene a tvoří až 1 % pivních bílkovin. V pivu byla také identifikována izoforma LTP1, LTP2. Vaření je klíčovým faktorem, který ovlivňuje vlastnosti LTP1 z hlediska pěnivosti. LTP1 z ječmene nemá žádný pěnivý potenciál, avšak pokud byl LTP1 nevratně denaturovaný varem, poskytuje vynikající pěnivost (Sørensen a kol., 1993).

Lepek je komplexní směs zásobních proteinů ze zrn, která se nachází v pšenici, ječmeni, žitu a ovsu. U pšenice se monomerní prolaminová frakce a polymerní glutelinová frakce lepku nazývají gliadiny (prolaminy) a gluteniny (gluteliny), v ječmeni hordeiny, v žitu sekaliny a v ovsu aveniny (Wieser a kol., 2014). Při použití sladu z výše uvedených obilnin může konzumace piva u jedinců trpících celiakií vyvolat závažné reakce (Cela a kol., 2022).

2.3.3 Lipidy

Obsah lipidů v mladině může ovlivnit koncentraci esterů v konečném produktu. Bylo prokázáno, že zvýšené hladiny nenasycených mastných kyselin, zejména kyseliny olejové, linolové a linolenové, vedou ke snížení syntézy esterů (Peddie, 1990). Vyšší hladiny nenasycených mastných kyselin měly za následek pokles tvorby esterů kyseliny octové a ethylesterů (Saerens a kol., 2008).

2.3.4 Alkoholy

Hlavním alkoholem v pivu je ethanol, který je tvořen jako hlavní produkt anaerobního metabolismu kvasinek. V typických ležáckých pivech ethanol výrazně zvyšuje retenci aldehydů a díky tomu vede k slabšímu vnímání mladinového charakteru. V nealkoholických pivech nepřítomnost ethanolu zintenzivňuje tuto pachů (Perpete a Collin, 2000).

Dalšími alkoholy v pivu jsou vyšší alkoholy, jejichž produkce je přímo spojena s metabolismem aminokyselin. Aminokyseliny, které jsou asimilovány Ehrlichovou cestou, jsou pomalu přijímány během fermentace. Biosyntéza vyšších alkoholů zahrnuje dekarboxylaci α -ketokyselin za vzniku aldehydů, následovanou redukcí aldehydů za vzniku odpovídajících alkoholů (Procopio a kol., 2011).

Amylalkohol je nejčastěji se vyskytujícím vyšším alkoholem, který se zároveň podílí na chuťovém projevu. S jeho vzrůstající koncentrací se piva stávají v chuti těžšími. Dalším vyšším alkoholem, který ovlivňuje kvalitu piva, je isobutylalkohol a jeho nežádoucí vliv lze vnímat, když jeho koncentrace v pivu překročí 20 % celkové koncentrace tří dalších alkoholů, jako je n-propanol, isobutyl a amyl (Kobayashi a kol., 2006).

2.3.5 Karbonylové sloučeniny

Přestože karbonylové sloučeniny vznikají jak během vaření mladiny Maillardovou reakcí a oxidací lipidů, tak během fermentace jako součást anabolických drah, jsou jejich koncentrace v pivu poměrně nízké (Lodolo a kol., 2008).

Mezi nejvýznamnější patří acetaldehyd, který vniká jako meziprodukt při tvorbě ethanolu a kyseliny octové. Jeho prahová koncentrace je 10–20 mg·L⁻¹ a projevuje se travnatou pachutí (Lodolo a kol., 2008). Další významným aldehydem je diacetyl (2,3-butandion), V ležáckých pivech je tvořen oxidativní dekarboxylací α -acetolaktátu a jeho chuť připomíná mléčný karamel (Branyik a kol., 2008).

2.3.6 Estery

Během alkoholového kvašení může v důsledku metabolismu kvasinek vzniknout značné množství esterů (Campo a kol., 2007). Jejich vznik je spjat s metabolismem lipidů, buď se jedná se o reakce mezi alkoholem (jako je ethanol) nebo vyššími alkoholy s delším acyl-CoA esterem a esterázami (Lodolo a kol., 2008). Ty patří mezi těkavější sloučeniny v pivu, a proto výrazně ovlivňují jeho aroma. V malém množství dokážou vůni piva dodat příjemný, plný charakter. Jsou-li však přítomny ve velké míře, dávají pivu příliš ovocný charakter, což většina spotřebitelů považuje za nežádoucí (Gee a Ramirez, 1994).

V pivu se nachází dvě hlavní skupiny esterů. První skupinou jsou estery kyseliny octové a ethanolu nebo vyšších alkoholů, jako je ethyl-acetát (aroma podobné rozpouštědlům) který představuje přibližně třetinu všech esterů v pivu (Jespersen a Jakobsen, 1996), isoamylacetát (banánové aroma) a fenylethyl-acetát (růže, med). Druhou skupinou jsou estery ethanolu s mastnou kyselinou se středně dlouhým řetězcem. Sem patří zejména ethyl-hexanoát (aroma anýzu), ethyl-oktanoát (aroma kyselého jablka) a ethyl-dekanoát (Saerens a kol., 2008).

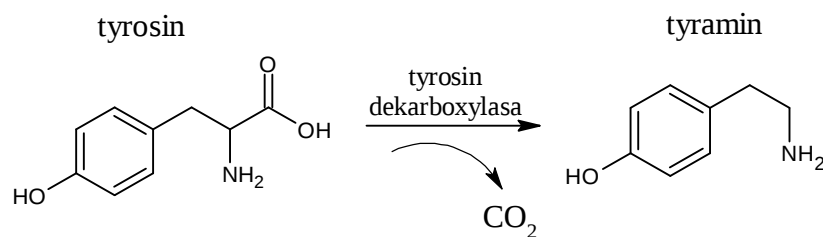
2.3.7 Fenolické látky

Pivo je bohatým zdrojem fenolických látek, které pocházejí především ze sladu a chmele, přičemž u pravidelných konzumentů, bude pivo jedním z hlavních zdrojů antioxidantů (Callemien a kol., 2005). Mezi hlavní fenolické látky patří především kyselina ferulová a dále pak sinapová, vanilová a kávová, které jsou přítomny převážně ve vázané formě a p-kumarová a 4-hydroxyfenyloctová kyselina přítomná převážně ve volné formě (Piazzon a kol., 2010).

2.4 Biogenní aminy

2.4.1 Vznik

Biogenní aminy (BA) jsou přirozeně se vyskytující organické sloučeniny, které vznikají a odbourávají se během fyziologického metabolismu mikroorganismů, rostlin a zvířat a které mají biologickou aktivitu. Jejich molekulová hmotnost je přibližně 200 Da nebo menší. BA jsou základní dusíkaté termostabilní sloučeniny, vznikající primárně dekarboxylací aminokyselin (Obr. 3) nebo aminací a transaminací aldehydů a ketonů. Všem BA jsou vkládány některé specifické fyziologické role v živých organismech, ale jejich nadměrná produkce nebo příjem může vyvolat nežádoucí reakce (Nuñez a Calzada, 2016).

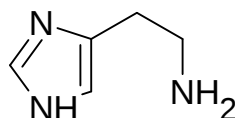


Obrázek 3 Vznik BA tyraminu pomocí tyrosindekarboxylasy

2.4.2 Účinky na organismus

2.4.2.1 Histamin

Histamin (2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethanamin, HA) je esenciální biogenní amin přítomný v prokaryotách a tkáních zvířat a rostlin (Niraj a Padney, 2012). Uplatňuje své účinky vazbou na své 4 receptory histaminový receptor 1 (H1R), H2R, H3R a H4R] na cílové buňky v různých tkáních. Způsobuje kontrakci buněk hladkého svalstva, vazodilataci, zvýšenou vaskulární permeabilitu a sekreci hlenu, tachykardii, změny krevního tlaku a arytmiie, stimuluje sekreci žaludeční kyseliny a nociceptivní nervová vlákna. Kromě toho je známo, že histamin hraje různé role v neurotransmisi, imunomodulaci, hematopoéze, hojení ran, rytmu dne a noci a regulaci proliferace buněk a angiogeneze vyvolané histaminem a polyaminy v nádorových modelech (Raitel a kol., 1998; Krusche a kol., 1980).



Obrázek 4 Histamin

Histamin může být metabolizován extracelulární oxidativní deaminací primární aminoskupiny diaminoxidasou (DAO), nebo intracelulární methylací imidazolového kruhu histamin-N-methyltransferasou (HNMT). Nedostatečná aktivita enzymu způsobená nedostatkem nebo inhibicí enzymu proto může vést k akumulaci histaminu. N-methylhistamin je oxidativně deaminován na N-methyl-imidazolacetaldehyd monoaminoxidázou B (MAO B) nebo DAO (Tsujikawa a kol., 1999).

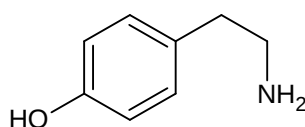
Histaminová intolerance se může vyvinout jak zvýšenou dostupností histaminu, tak zhoršenou degradací histaminu. Základními důvody zvýšené dostupnosti může být

endogenní nadprodukce histaminu způsobená alergiemi, mastocytózou, bakteriemi, gastrointestinálním krvácením nebo zvýšeným exogenním požitím histidinu nebo histaminu v potravě nebo alkoholu. Jiné BA, jako je putrescin, se mohou také podílet na vytěšňování histaminu z jeho slizniční mucinové vazby, což vede ke zvýšení volného absorbovatelného histaminu v oběhu. Hlavní příčinou histaminové intolerance je však narušená enzymatická degradace histaminu způsobená genetickým nebo získaným poškozením enzymatické funkce DAO nebo HNMT (Rathiel a kol., 1999).

Jako tzv. Scromboid syndrom se označuje pseudoalergická otrava způsobená konzumací špatně skladovaných nebo kontaminovaných ryb z čeledi *Scombridae*. Jde o nejčastější otravu rybami v Evropě a ve světě (Tortorella a kol., 2014). Nejčastějšími klinickými projevy jsou bolesti břicha, průjem, nauzea a zvracení, obličejové nebo celkové zrudnutí, někdy s kopřivkou a/nebo edémem, bolest hlavy nebo závratě, sucho v ústech spojené příležitostně s kovovou, pepřovou nebo hořkou chutí a bušením srdce (Smolinska a kol., 2014). Při konzumaci 8–40 mg histaminu dochází ke slabé otravě, při 40–100 mg k otravě střední a nad 100 mg k otravě silné (Anli a kol., 2004). Projevy otravy přicházejí rychle, do 10–30 minut po požití ryb. Klinická manifestace odezní do 24 hodin. Málokdy vydrží déle, než pár dní (Ridolo a kol., 2016).

2.4.2.2 Tyramin

Tyramin (4-hydroxyfenethylamin; para-tyramin, mydrial, uteramin, TA) je přirozeně se vyskytující monoaminová sloučenina a stopový amin odvozený od tyrosinu. TA indukuje uvolňování katecholaminů. Není schopen projít přes hematoencefalickou bariéru, což omezuje jeho vedlejší účinky pouze na nepsychoaktivní periferní sympatomimetické účinky (Drug Bank, 2022). TA vzniká dekarboxylací tyrosinu působením enzymu tyrosindekarboxylasy. TA může být dále přeměněn na methylované deriváty alkaloidů N-methyltyramin, N,N-dimethyltyramin (hordenin) a N,N,N-trimethyltyramin (kandicin) (KEGG, 2022).

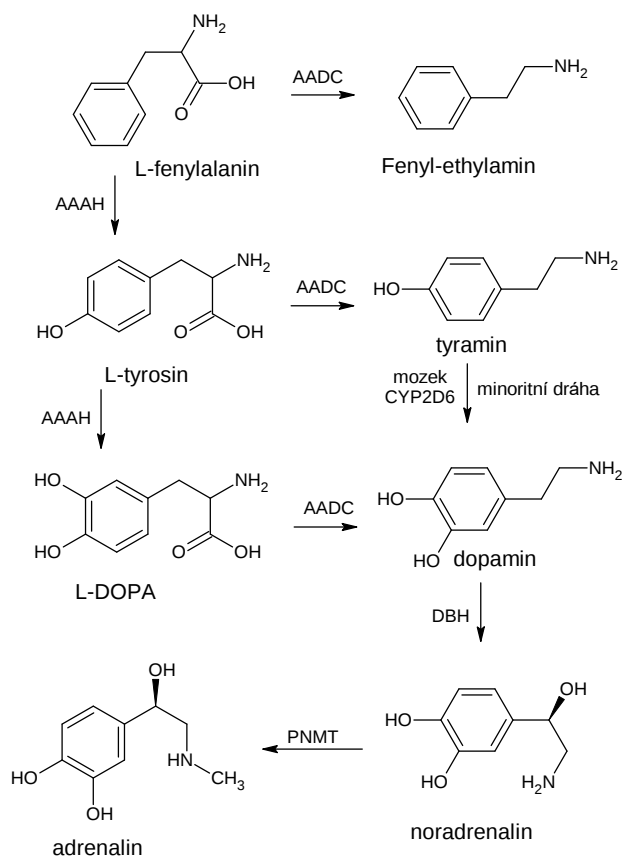


Obrázek 5 Tyramin

TA je přítomný v celé řadě zejména fermentovaných potravin. Vysoké koncentrace se nacházejí např. v pivu (Křížek a Hlavatá, 1995), fermentovaných klobásách (Latore-Moratalla a kol., 2017), zralých sýrech (Rao a Yerangi, 2009) a vínu (Anlı, 2009). Vzhledem k působení TA a dalších BA na kardiovaskulární systém se u pacientů užívajících inhibitory MAO (MAOI), doporučují dietární opatření. MAOI inhibují enzym, zodpovědný za metabolizaci BA. Tím se značně sníží množství TA, které je schopno vyvolat systémovou reakci (Gillman, 2020). U těchto pacientů se často vyskytuje tzv. cheese effect. Po konzumaci zralých sýrů (případně jiných fermentovaných potravin) dochází v krátké době k výraznému zvýšení tlaku (Anderson a kol., 1993). TA je také podezřelý, že u senzitivních lidí spouští a zesiluje migrénu. Při požití TA v koncentraci vyšší než 100 mg může dojít k silné migréně v důsledku uvolnění značného množství neurotransmiterů, které vedou k selektivní cerebrální vazokonstrikci následované dilatací kraniálních cév (Anlı a kol., 2004; Headaches, 2022).

2.4.2.3 Katecholaminy

Katecholaminy (KA), zejména dopamin, noradrenalin (norepinefrin) a adrenalin (epinefrin), jsou skupinou biogenních aminů, které mají 3,4-dihydroxy-substituovaný fenylový kruh. Jsou rozšířené u zvířat a jsou dobře známé jako neurotransmitery u savců kde působí na α - a β -adrenergní receptory (Kulma a Szopa, 2007). Jsou biosyntetizovány z prekursoru L-fenylalaninu (Obr. 6) a degradovány pomocí MAO a katecholamin-O-methyltransferasy (COMT) na homovanilovou kyselinu v případě dopaminu, nebo na vanilylmandlovou kyselinu v případě adrenalinu a noradrenalinu (Finkielstein a kol., 2021).



Obrázek 6 Biosyntéza katecholaminů. AAAH (aromatická aminokyselinová hydroxylasa). DBH (dopamin β -hydroxylasa), PNMT (fenylethanolamin N-methyltransferasa), DOPA (dihydroxyfenilalanin). Převzato a upraveno z Finkielstein a kol., 2021.

Dopamin (4-(2-aminoethyl)benzen-1,2-diol) je přirozeně se vyskytující katecholamin tvořený dekarboxylací dihydroxyfenylalaninu a prekurzoru noradrenalinu a adrenalinu (Obr. 6) Vazbou na β_1 adrenergní receptory myokardu zvyšuje srdeční frekvenci a sílu, čímž zvyšuje srdeční výdej. Stimulace α_1 adrenergního receptoru cév vede k vazokonstrikci a zvýšení systémové vaskulární rezistence. Zvyšuje rychlost glomerulární filtrace, vylučování sodíku a výdeje moči (PubChem, 2022).

Adrenalin je katabolický hormon, ovlivňuje prakticky všechny druhy metabolismu, způsobuje zvýšení hladiny glukózy v krvi, zrychluje metabolismus tkání, štěpení tuků, má stimulační účinek na centrální nervový systém (zvyšuje úroveň bdělosti, psychické energie a aktivity, je zodpovědný za pocit úzkosti a stresu). Jako lék se používá k léčbě řady onemocnění, včetně anafylaxe a srdeční zástavy. Může být také použit k léčbě astmatu (Gorbunova a kol., 2018).

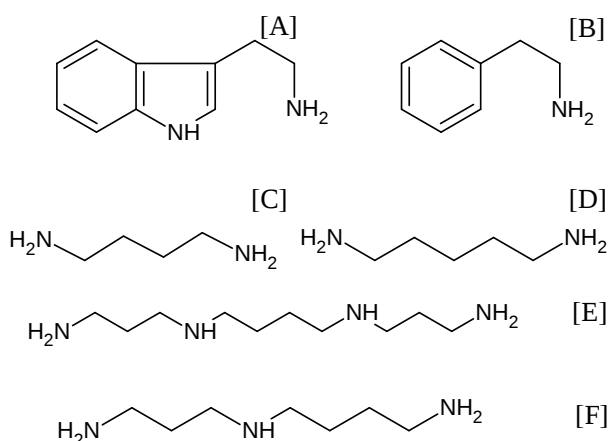
Noradrenalin funguje jako hormon a neurotransmitter, podílí se na regulaci arteriálního tlaku a periferního vaskulárního odporu, má silnější vazokonstrikční účinek než adrenalin, je jedním z nejdůležitějších mediátorů bdění. V mozku noradrenalin zvyšuje vzrušení a bdělost, zaměřuje pozornost, může také zvyšovat úzkost. Zvyšuje srdeční frekvenci a krevní tlak, průtok krve do kosterního svalstva, snižuje průtok krve do gastrointestinálního traktu (Gorbunova a kol., 2018).

2.4.2.4. Ostatní biogenní aminy

Mezi další BA patří monoaminy fenyl-ethylamin, tryptamin a diaminy putrescin a kadaverin a polyaminy spermin a spermidin (Obr. 7)

Tryptamin (2-(1*H*-Indol-3-yl)ethan-1-amin). Struktura tryptaminu je společným rysem některých aminergních neuromodulátorů včetně melatoninu, serotoninu, bufoteninu a psychedelických derivátů, jako je dimethyltryptamin, psilocybin, psilocin a další (Tittarelli a kol., 2015). Může působit jako neurotransmitter nebo modulátor a působí jako látka uvolňující serotonin a je zesilovačem serotonergní aktivity (Corkery a kol., 2012).

Fenyl-ethylamin u savců vzniká dekarboxylací L-fenylalaninu. Vyskytuje se také v mnoha dalších organismech a potravinách, jako je čokoláda nebo káva. Je také obsažen v produktech mikrobiální fermentace (Berry, 2004). U lidí působí jako stimulant centrálního nervového systému. V mozku fenethylamin reguluje neurotransmisí monoaminů vazbou na receptor spojený se stopovými aminy (TAAR1) a inhibicí vezikulárního monoaminového transportéru 2 (VMAT2) a sám působí jako neurotransmitter (Miller, 2011).



Obrázek 7 Biogenní aminy tryptamin [A], fenyl-ethylamin [B], putrescin [C], kadaverin [D], spermin [E] a spermidin [F]

Putrescin (butan-1,4-diamin) je BA, vyskytující se ve všech živých organismech, kde vzniká dekarboxylací L-ornitinu. Toxicita putrescinu spočívá převážně v zesilování účinku dalších BA, zejména TA a HA. U člověka existují 3 zdroje putrescinu. Endogenní biosyntéza, příjem v potravě a produkce putrescinu bakteriemi střevní mikroflóry. Největší množství putrescinu se u lidí přijímá z potravy (Wunderlichová kol., 2014). Kadaverin (pentan-1,5-diamin) je tvořen dekarboxylací lysinu. Oba tyto BA jsou tvořeny jak celou řadou MO (Pircher a kol., 2006), tak jako mrtvolné jedy při rozkladu organismů.

Spermidin a spermin mají v savcích buňkách roli v syntéze proteinů a nukleových kyselin, ochranou před oxidačním poškozením, aktivitou iontových kanálů, buněčné proliferaci, diferenciaci a apoptóze. Spermidin je nezbytný pro životaschopnost a působí jako prekurzor postranlačního modifikátoru hypusinu. Spermidin je tvořen z putrescinu a dekarboxylovaného adenosylmethylthioninu (dADMT) pomocí spermidinsyntasy. Spermin vzniká ze spermidinu a dADMT sperminsyntasou (Pegg, 2016). Akutní toxické účinky při nadměrném příjmu zahrnují hypotenzi, neurotoxicitu, diurézu a potenciálně letální nefrotoxicitu (Pegg, 2013).

2.4.3 Biogenní aminy jako produkty mikrobiální degradace

Celá řada MO je schopna produkovat dekarboxylasy (DC) tím dochází k tvorbě BA. Tuto schopnost mají jak některé kulturní MO, tak především ty, které způsobují kažení potravin. K tomu může docházet v průběhu zpracování, pokud je využíván MO s DC, nekvalitní vstupní surovinou nebo špatnou hygienou a manipulací s produktem (Doeun a kol., 2017).

Mléčné výrobky, zejména sýry, mohou kumulovat BA. Koncentrace se pohybují od stopového množství po více než $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Linares a kol., 2011). V surovém mléce jsou nejvíce zastoupeny polyaminy. V konečném produktu jsou však detekovány tyramin, histamin, putrescin, kadaverin a v nižších koncentracích i fenylethylamin a tryptamin. Hodnoty se mohou lišit i v rámci stejného typu sýra a dokonce i mezi různými částmi stejného sýra (Novella-Rodriguez a kol., 2003). Hlavními producenty BA v sýru jsou grampozitivní bakterie, přičemž LAB jsou hlavní producenti histaminu a tyraminu. Rody *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a *Streptococcus* mají všechny DC aktivitu (Komprda a kol., 2008). Produkce histaminu, putrescinu a tryptaminu v sýru je také spojována s *Yarrowia lipolytica* a *Pichia jadinii* (Wyder a kol., 1999). Většina kontaminujících gramnegativních bakterií je schopna produkovat histamin, například

Hafnia alvei, *E. coli*, *K. pneumoniae* a *Serratia spp.* Produkce putrescinu a kadaverinu souvisí hlavně s gramnegativními bakteriemi, zejména *Enterobacteriaceae* (Pircher et al., 2007). *Morganella morganii* v sýru raclett je schopna produkovat kadaverin, putrescin a HA (Rysek a kol., 2022).

Suše fermentované maso a klobásy jsou další potravinou, kde činností MO dochází k významné tvorbě BA. Ve Španělských salámech Chorizo, Fuet, Sobrasada a Salsichon byl TA v koncentracích přesahujících $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a putrescin do $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. 2-fenylethylamin a tryptamin byly detekovány pouze u několika klobás v koncentraci vyšší než 50 mg/kg . HA dosahoval hodnot zdravotních rizik ($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) zejména v Chorizu a Fuetu (Suzzi a Gardini, 2003). Na fermentaci se podílejí *Enterobacteriaceae*, LAB, *Micrococcaceae*, nebo např. *Debaryomyces* a *Candida* (Montel a kol., 1999).

Víno, stejně jako ostatní fermentované potraviny, je ideálním substrátem pro produkci aminů, protože jeho výrobní proces zahrnuje nejen dostupné volné aminokyseliny, ale také podmínky pro přítomnost DC-pozitivních MO. Kvasinky odpovědné za alkoholovou fermentaci produkují některé BA jako putrescin, kadaverin a fenyletylamin (Marcobal a kol., 2006), ale v mnohem nižších množstvích ve srovnání s malolaktickou fermentací. Tento fermentační krok je katalyzován LAB, ve většině případů *Oenococcus oenispecies* a vzniká během něj nejvíce BA (Ancin-Azpilicueta a kol., 2008). V závislosti na odrůdě a způsobu zpracování se ve víně nalézají všechny výše zmíněné BA. Kántor a kol. 2015 uvádí jako nejzastoupenější tryptamin s koncentracemi až $170 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, ostatní BA v koncentracích do $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Celkově vyšší obsah BA se nachází v červených vínech než v bílých (Eposito a kol., 2019).

Pivo je jeden z nejkonsumovanějších fermentovaných nápojů, a proto je nezbytné brát ohled na dietární příjem BA v tomto nápoji. Je třeba brát v potaz, že alkohol zesiluje toxické působení BA. V běžných potravinách je $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ považováno za bezpečnou koncentraci. U alkoholických nápojů jsou obvykle deklarovány nižší limity BA, z důvodu interference detoxifikačních mechanismů. Ten Brink a kol., 1996 uvádí jako toxické dávky $8 - 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pro HA; $25 - 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pro TA; a $2 - 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pro PHE. Zákon č. 110 / 1997 Sb. povoluje maximální koncentraci histaminu v pivu $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Největší množství BA v pivu vzniká během fermentace (Kalač a Křížek, 2003). Dalším zdrojem BA jsou kontaminující MO během procesu výroby. Hlavními kontaminujícími MO jsou LAB *Lactobacillus sp* (Garofalo a kol., 2015) a *Peptidococcus sp* (Zqulerdo-Pulido a kol., 1997).

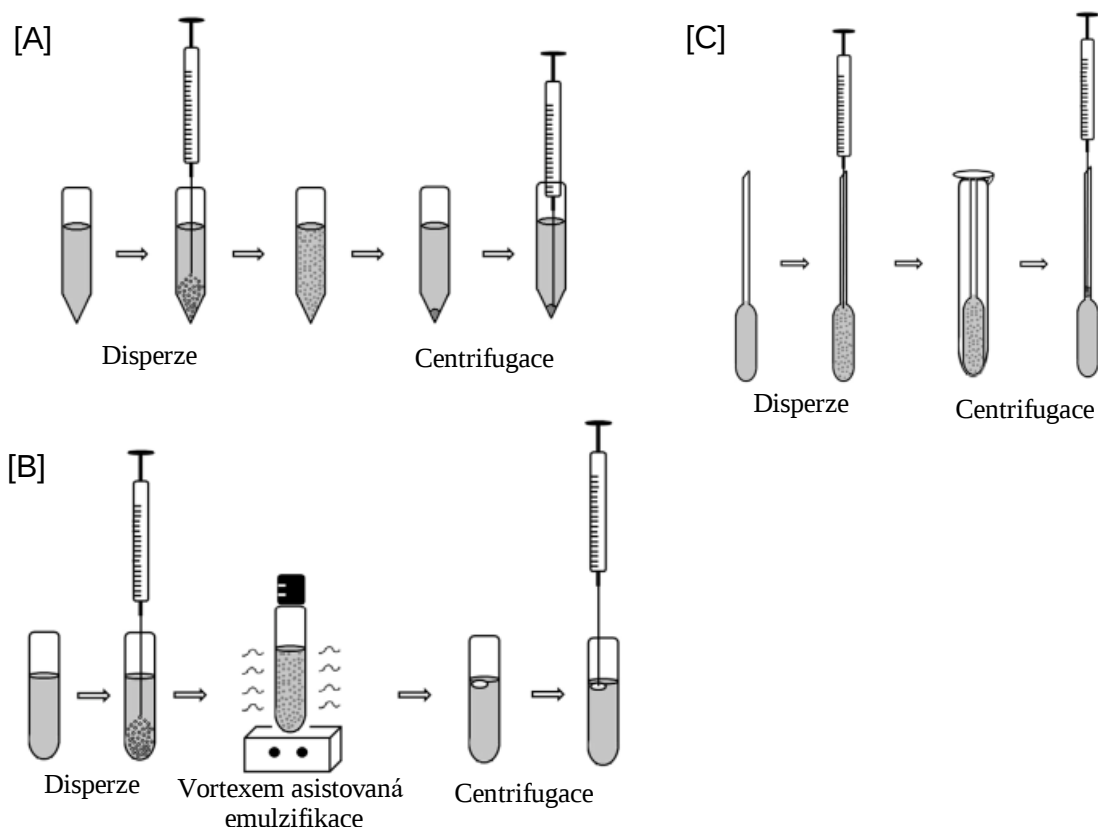
V případě nedodržení hygieny skladování a servírování, zejména u čepovaných pív, se zvětšuje spektrum MO produkující BA o aerobní bakterie (*Acetobacter*, *Gluconobacter*) a kvasinky (*Brettanomyces Pichia*, *Candida*) (Malett a kol., 2018). Vzhledem k technologii výroby se častěji vyskytují vyšší množství BA v pivech z malých a řemeslných pivovarů (Yu a kol., 2021; Garofalo a kol., 2015).

2.5 Potravinářská analýza

2.5.1 Metody získávání a extrakce vzorku

2.5.1.1 DLLME

Disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina (DLLME) spočívá ve vytvoření zakaleného roztoku vzniklého rychlým přidáním směsi extrakčních a disperzních rozpouštědel do vodného vzorku (Obr. 8). Drobné kapičky značně zvyšují extrakční plochu čímž se značně zvyšuje výtěžek a rychlost extrakce (Almeida a kol., 2011). Extrakční rozpouštědlo musí být schopno extrahovat analyty, musí být rozpustné v disperzním rozpouštědle, nerozpustné ve vodných vzorcích a musí mít hustotu vyšší, než má voda (např. tetrachlorethylen). Dispergační rozpouštědlo musí být rozpustné ve vodě i extrakčním rozpouštědle (např. aceton, ACN) (Rezaee a kol., 2006). Po centrifugaci dojde opět k oddělení fází a odběru té, do které se extrahuje analyt. U vysoce hydrofilních sloučenin, které se těžko extrahují rozpouštědly nemísitelnými s vodou používanými v DLLME, je ke zvýšení výtěžků nutná derivatizace in situ (Almeida a kol., 2011). Existuje mnoho modifikací DLLME, které se liší hustotou rozpouštědla [vyšší (Obr. 8A) /nižší než vodná fáze), mechanickým způsobem vytvoření disperze (vortexování (Obr. 8B), ultrazvuk, protřepání ručně, vstříknutí) nebo náčiním, ve kterém DLLME probíhá (šroubovací zkumavka, úzkohrdlá zkumavka, polyethylenová Pasteurova pipeta (Obr. 8C), injekční stříkačka (Leong a kol., 2014).



Obrázek 8 Typy a modifikace DLLME. Rozpouštědlo o vyšší hustotě [A], vortexem asistovaná DLLME (VALLME) [B], DLLME v polyethylenové Pasteurově pipetě [C].
Převzato a upraveno z Leong a kol., 2014.

2.5.2 Metody měření a přístupy

V současnosti, při stále se zvyšujících nárocích na kvalitu potravin, je nutné mít levnou, rychlou a spolehlivou metodu, která se dá využít k analýze obsahových, a zejména toxických látek.

2.5.2.1 Tenkovrstvá (TLC), kapalinová (LC) a superkritická (SFC) chromatografie

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) je široce používána v laboratořích v oblastech kontroly složení potravin, záměrných přísad, příměsí, kontaminantů a rozkladu. Umožňuje stanovit aminokyseliny (kvalita bílkovin), lipidy a mastné kyseliny (kvalita a falšování tuků), cukry (kvalita nápoje), BA (stabilita při skladování), vitamíny (přidávané jako živiny, barviva a antioxidanty) a organické kyseliny (konzervační látky). Kvantitativní vysokoúčinná TLC (HPTLC) využívající denzitometrický skener, může při optimálním provedení poskytnout výsledky, které jsou srovnatelné s plynovou chromatografií (GC) a kapalinovou chromatografií (LC) (Sherma, 2000).

Kapalinová chromatografie je v současnosti hojně využívanou metodou k analýze potravin. Umožňuje stanovovat kvalitativně i kvantitativně velice široké spektrum látek, a to jak přímo z matrice, tak po derivatizaci. Lze ji využít pro stanovení stopových množství toxických látek (BA, aflatoxiny, antibiotika a jiné kontaminující látky), stejně tak jako pro sledování antioxidantů, vitamínů a žádoucích a prospěšných látek. LC ve spojení s hmotnostní spektrometrií, je možné využít také k určení autenticity potravin. Využitím unikátních metabolických profilů a markerů potravin z dané oblasti a jejich porovnáním se zájmovým vzorkem, lze snadno zjistit, zda daná potravina je z deklarované oblasti nebo zda se jedná o klamání spotřebitele. (Di Stefano a kol., 2012)

Superkritická fluidní chromatografie (SFC) je dynamicky se rozvíjející separační metoda, která využívá CO₂ v superkritickém stavu. Díky tomu je možné velmi snadno a rychle separovat látky převážně nepolárního charakteru a po vhodné úpravě i polární látky. V analýze potravin nachází uplatnění při stanovování lipidů (mastných kyselin, triacylglycerolů, fosfolipidů, karotenoidů), terpenoidních sloučenin, polyfenolů, sacharidů a nežádoucích látek (syntetická barviva, glukosinoláty) (Bernal, Martín a Toribio, 2013)

2.5.3 GC v analýze potravin

Plynová chromatografie se široce používá v aplikacích zahrnujících analýzu potravin. Typické analýzy se týkají kvantitativní a/nebo kvalitativní analýzy složení potravin, přírodních produktů, potravinářských přídatných látek, chuťových a aromatických složek, různých transformačních produktů a kontaminantů, jako jsou pesticidy, fumiganty, látky znečišťující životní prostředí, přírodní toxiny, veterinární léčiva, a složky obalových materiálů (Lehotay a Hajšlová, 2002).

Plynová chromatografie nachází velké využití v analýze těkavých aromatických sloučenin. Kromě detekce různými detektory (hmotnostní spektrometrie (MS), plamenově-ionizační detektor) je možné mít sestavu GC-olfaktometrie (GC-O). Díky GC je možné separovat jednotlivé vonné látky, které jsou následně předkládány lidem, a ti mohou hodnotit konkrétní vůni, její (ne)příjemnost, ale i intenzitu. Postupným ředěním lze zjistit i meze detekce vnímání jednotlivých aromat (van Ruth, 2004).

Potraviny jsou složitou matricí a některé látky se od sebe téměř neliší. Přesto mohou mít zásadní vliv na senzorické charakteristiky dané potraviny a běžný GC-MS systém nemusí být schopen tyto látky separovat (např. kvůli stejné teplotě varu). Díky využití multidimenzionálního systému (GCxGC-MS) a více charakteristik (chiralita, polarita nebo

těkavost) je ale možné, tyto látky účinně separovat a identifikovat. (Dymerky, 2018). Využití je například pro identifikaci enantiomerů esenciálních olejů (Shelille a Mariott, 2002), rozdíly v produkci aromatických látek ve víně různými kmeny kvasinek (Robinson a kol., 2011), nebo při kontrole čerstvosti, autenticity a zrání sýrů (Gogus a kol., 2006)

3 Materiál a metody

3.1 Materiál

Pivo: Petrov 11 lahvový a výčepní (Moravia, Brno), Kamenická 10 (Kamenice, Kamenice nad Lipou), Ležák, Režná Bára (obojí Chomout, Olomouc), Temně hořká 12 (Radegast, Nošovice), Pilsner Urquell (Plzeňský prazdroj, Plzeň), Souron (Stern, Brno), London Porter, Argus 11 (Konrád, Liberec), APA 12 (Tvarg, Velká Bystřice), Polotmavý 13 (Maxmilian, Kroměříž), Sauf Service, Rheinderby NR.1 (Vohrman-Brauerei, Hagen Dahl), London Porter, domácí pivo

Ostatní: espresso (Brazílie, Peru, Kolumbie, El Salvador), bezkofeinové espresso (Kolumbie), překapávaná káva (El Salvador), červené víno (Dornfelder), bílé víno (Pét-Nat Ryzlink Vlašský/Chardonay)

3.2 Chemikálie

Toluen, Acetonitril, methylchlorformiát, methylchlorformiát, histamin dihydrochlorid, tyramin hydrochlorid (vše SigmaAldrich, Darmstadt, Německo), MeOH, HCl, $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (Lach:ner, Neratovice, Česká republika), dusík a helium 4,8 (SIAD, Bergamo, Itálie)

3.3 Přístroje a vybavení

Plastové zkumavky se šroubovacím uzávěrem 15 mL, dusíková odparka, analytické váhy (Mettler Toledo, Columbus, USA), plynový chromatograf Aglient 7890A s hmotnostním spektrometrem 5975C inert a kapilární kolonou HP-5ms 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm (vše Aglient Technologies, Palo Alto, USA), centrifuga 5702 (Eppendorf, Hamburk, Německo), digitální pH metr, ultrazvuková lázeň, dusíková odparka, plastové mikrozkušavky 1,5 mL, vialky 1 mL, automatické pipety a špičky

3.4 Optimalizace metody

Návrh metody vychází z Almeida a kol., 2011. Jednotlivé rozdíly v postupu jsou popsány v následujících částech.

Stanovení probíhalo metodou standardního přídatku. Vzorky byly odplyněny v ultrazvukové lázni. Do dvou 15 mL plastových šroubovacích zkumavek bylo přeneseno 5 mL, které byly alkalizovány $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ na pH 12. Do jedné zkumavky byly přidány standardy TA a HA. Do obou zkumavek bylo přidáno derivatizační činidlo. Do obou vzorků

byla prudce vstříknuta směs disperzního a extrakčního činidla. Obě zkumavky byly ručně vytřepávány a následně centrifugovány. Byla odebrána vrchní vrstva extrakčního činidla, která byla přenesena do 1 mL vialky. Analýza probíhala na GC-MS systému a data byla následně ručně vyhodnocena.

3.4.1 Derivatizace

Byla testována derivatizační činidla. Do dvou 15 mL plastových šroubovacích zkumavek bylo přeneseno 5 mL vzorku. Do obou vzorků bylo přidáno a rozpuštěno 300 mg $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$. Do jedné zkumavky bylo přidáno 20 μL standardu TA a HA ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Do obou zkumavek bylo přidáno 25 μL methylchlorformiátu (MCF) nebo ethylchlorformiátu (ECF). Do obou vzorků byly prudce vstříknuty 3 mL směsi ACN:toluen (2:1). Obě zkumavky byly ručně vytřepávány po dobu 10 min a následně centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Následně zkumavky 10 s ručně protřepány a opět centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Do 1 mL vialky bylo přeneseno 400 μL z vrchní fáze a následně odpařeno dosucha pod N_2 . Odparek byl rozpuštěn v 1 mL toluenu. Analýza probíhala na GC-MS systému a data byla následně ručně vyhodnocena.

3.4.2 Objem extrakčního a disperzního činidla

Byl testován objem směsi ACN:toluen. Do dvou 15 mL plastových šroubovacích zkumavek bylo přeneseno 5 mL vzorku. Do obou vzorků bylo přidáno a rozpuštěno 300 mg $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$. Do jedné zkumavky bylo přidáno 20 μL standardu TA a HA ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Do obou zkumavek bylo přidáno 25 μL ECF. Do obou vzorků bylo prudce vstříknuto 1,5 mL nebo 3 mL směsi ACN:toluen (2:1). Obě zkumavky byly ručně vytřepávány po dobu 10 min a následně centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Následně byly zkumavky 10 s ručně protřepány a zkumavky opět centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Do 1 mL vialky bylo přeneseno 400 μL z vrchní fáze a následně odpařeno dosucha pod N_2 . Odparek byl rozpuštěn v 1 mL toluenu. Analýza probíhala na GC-MS systému a data byla následně ručně vyhodnocena.

3.4.3 Odpařování

Byl testován vliv odpařování. Do dvou 15 mL plastových šroubovacích zkumavek bylo přeneseno 5 mL vzorku. Do obou vzorků bylo přidáno a rozpuštěno 300 mg $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$. Do jedné zkumavky bylo přidáno 20 μL standardu TA a HA ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Do obou zkumavek bylo přidáno 25 μL ECF. Do obou vzorků byly prudce vstříknuty 3 mL směsi ACN:toluen (2:1). Obě zkumavky byly ručně vytřepávány po dobu 10 min a následně centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Následně byly zkumavky

10 s ručně protřepány a zkumavky opět centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Do 1 mL vialky bylo přeneseno 400 µL z vrchní fáze a následně odpařeno dosucha pod N₂. Odparek byl rozpuštěn v 1 mL toluenu, nebo byl odebrán 1 mL vrchní vrstvy, který se neodpařoval. Analýza probíhala na GC-MS systému a data byla následně ručně vyhodnocena.

3.4.4 Standardní přídavek

Byl testován objem a koncentrace standardního přídavku. Do dvou 15 mL plastových šroubovacích zkumavek bylo přeneseno 5 mL vzorku. Do obu vzorků bylo přidáno a rozpuštěno 300 mg Na₃PO₄. Do jedné zkumavky bylo přidáno 20 µL standardu TA a HA (2 mg·mL⁻¹) nebo 50 µL (10 mg·mL⁻¹). Do obou zkumavek bylo přidáno 25 µL ECF. Do obou vzorků byly prudce vstříknuty 3 mL směsi ACN:toluen (2:1). Obě zkumavky byly ručně vytřepávány po dobu 10 min a následně centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Následně byly zkumavky 10 s ručně protřepány a zkumavky opět centrifugovány při 4400 rpm po dobu 5 minut. Do 1 mL vialky bylo přeneseno 400 µL z vrchní fáze a následně odpařeno dosucha pod N₂. Odparek byl rozpuštěn v 1 mL toluenu. Analýza probíhala na GC-MS systému a data byla následně ručně vyhodnocena.

3.5 Nastavení GC-MS systému

Pro analýzy byl dávkován 1 µL vzorku s dávkovacím pulsem 200 kPa, 0,3 min při teplotě 280 °C. Počáteční teplota kolony byla nastavena na 50 °C, která byla udržována 2 min a následně zvyšována o 10 °C/min do konečné teploty 300 °C, při které byla udržována kolona 15 min. Jako nosný plyn bylo použito helium při průtoku 0,9 mL/min. Všechny vzorky byly analyzovány v režimu celkového iontového proudu v rozsahu 29 – 520 m/z pro kvalitativní účely v jednom opakování. Pro kvantitativní analýzu byl využit režim monitorování selektivních iontů 120, 166, 255 a 281 m/z ve třech opakováních. Pro všechna měření byla využita elektronová ionizace s energií 70 eV.

3.6 Vyhodnocení analýzy

Pro vyhodnocení byl využit program MSD Productivity ChemStation (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Chromatogramy byly manuálně integrovány. Ze získaných ploch byla zjištěna koncentrace pomocí vzorce:

$$c = \frac{A_i \cdot c_s}{A_{is} - A_i}$$

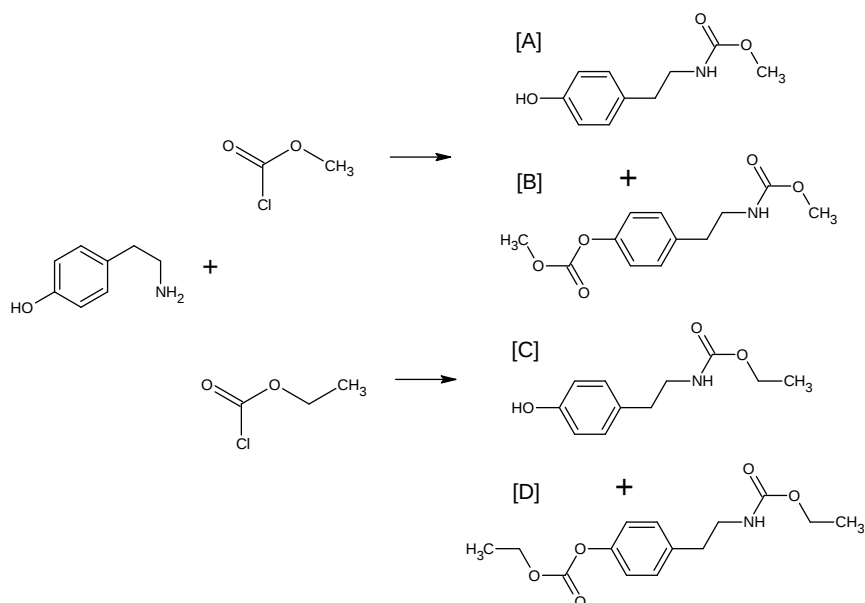
kde A_i je plocha vzorku, A_{is} je plocha vzorku s přídavkem a c_s je koncentrace standardu.

4 Výsledky

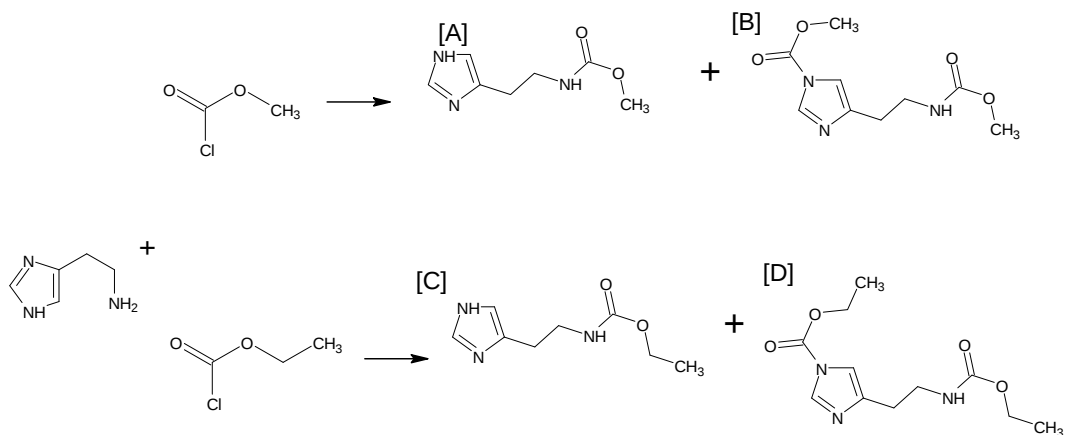
Cílem této diplomové práce bylo optimalizovat metodu pro stanovení TA a HA v nápojích a stanovit jejich obsah ve vybraných vzorcích piva a dalších nápojích.

4.1 Optimalizace

Před samotným stanovením bylo nutné provést in situ derivatizaci TA a HA, aby je bylo možno stanovit pomocí GC-MS. Jako derivatizační činidla byly testovány MCF a ECF. Schéma derivatizace TA s očekávanými produkty reakce je zobrazeno na Obr. 9 a HA na Obr. 10.



Obrázek 9 Derivatizace TA pomocí MCF a ECF. MW produktů: 195,21 [A], 253,25 [B], 209,24 [C] a 281,3 [D]

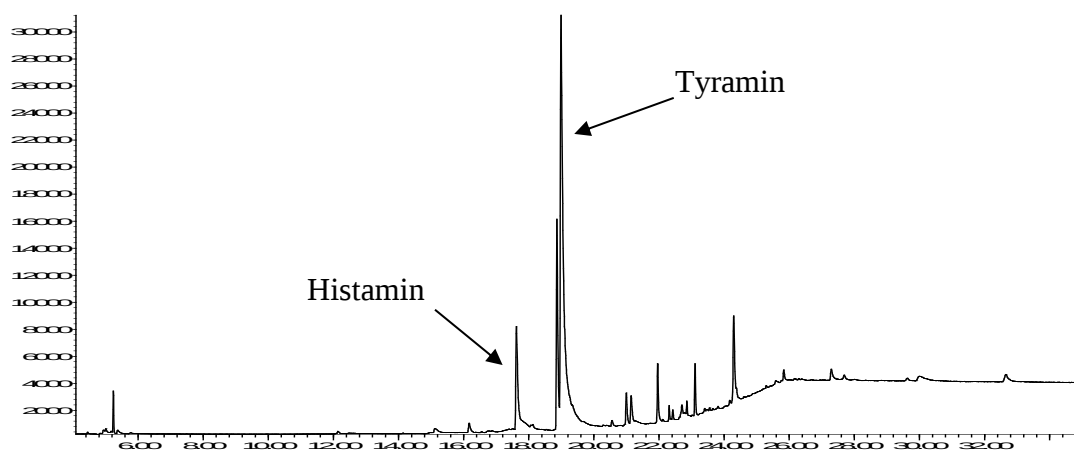


Obrázek 10 Derivatizace HA pomocí MCF a ECF. MW produktů: 169,18 [A], 227,22 [B], 183,20 [C] a 255,27 [D]

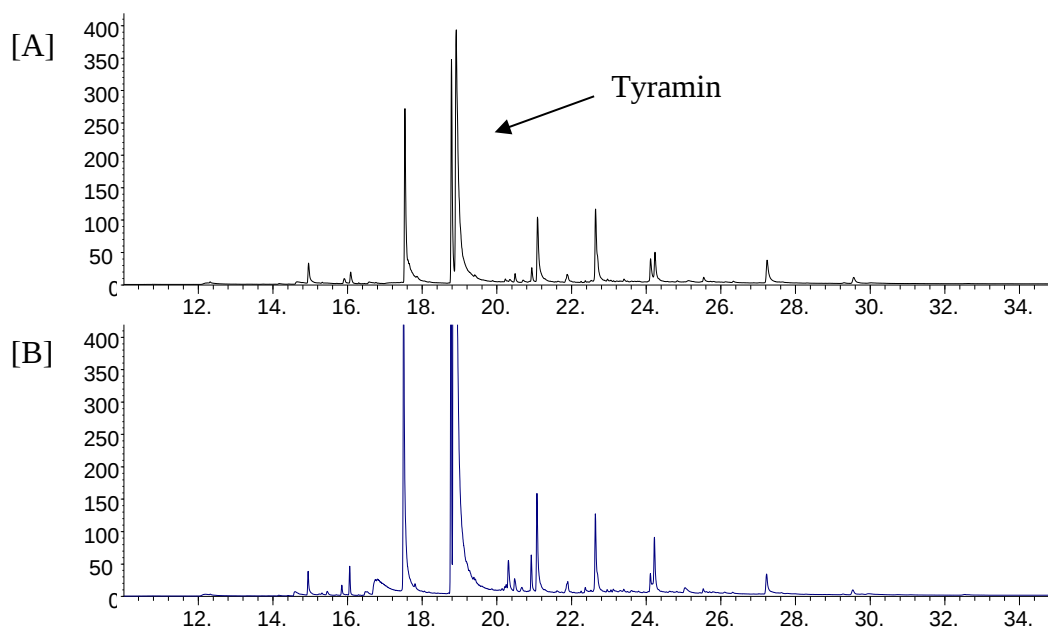
Jako vhodné derivatizační činidlo byl vybrán ECF, jelikož MCF poskytovalo slabý signál, který byl často překryt matricí. Množství extrakčního a disperzního rozpouštědla byly 3 mL, z důvodu snadnější manipulace se vzorky (menší pěnivost a odběr organické fáze po extrakci). Vzorky nebyly odpařovány, jelikož nebyl zjevný rozdíl mezi odpařeným a neodpařeným vzorkem, a tedy neodpaření vzorku značně zrychlí jeho přípravu. Jako vhodná koncentrace standardu bylo zvoleno množství 20 μL ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Vyšší koncentrace jsou zbytečné, jelikož ve vzorcích nejsou takové koncentrace BA a signál vzoru s přídavkem značně převyšuje signál vzorku bez přídavku.

4.2 Stanovení BA

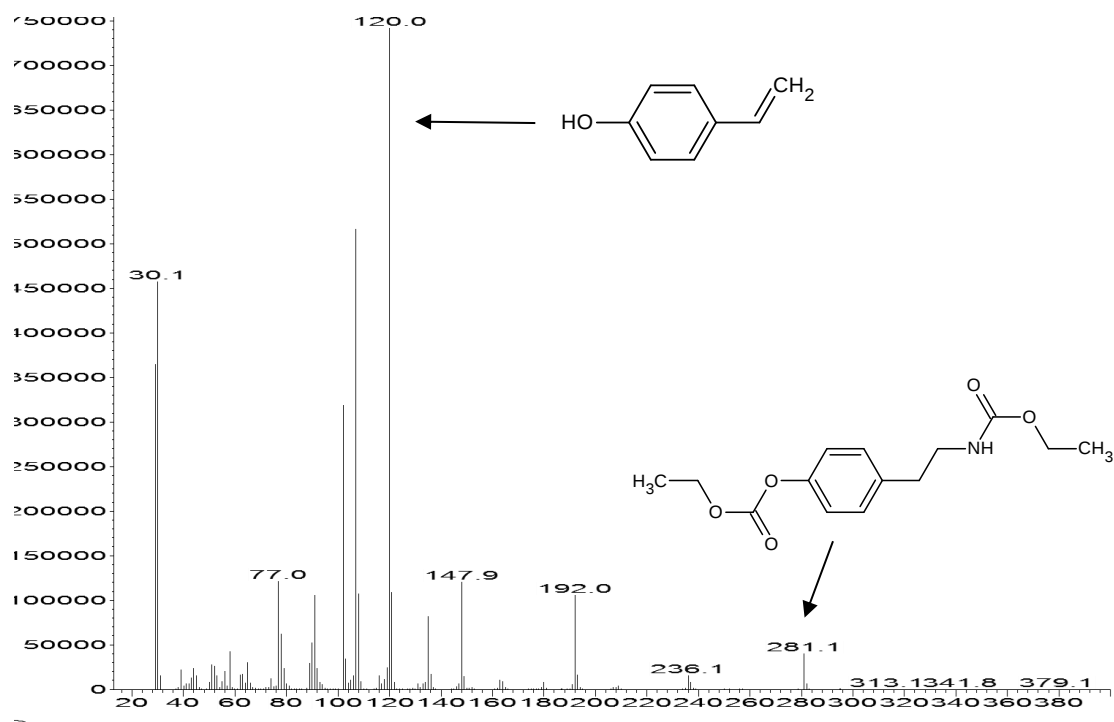
Stanovení BA proběhlo v 15 vzorcích pív. 13 lahvových a 2 výčepních. Ve většině byl obsah obou stanovovaných BA relativně nízký, až na jeden vzorek. Petrov 11° obsahoval jak v lahvové, tak čepované formě poměrně značné množství tyraminu, v případě lahvového dokonce nadlimitní koncentraci. Koncentrace TA a HA v jednotlivých pivech jsou zobrazeny v Tab. 2



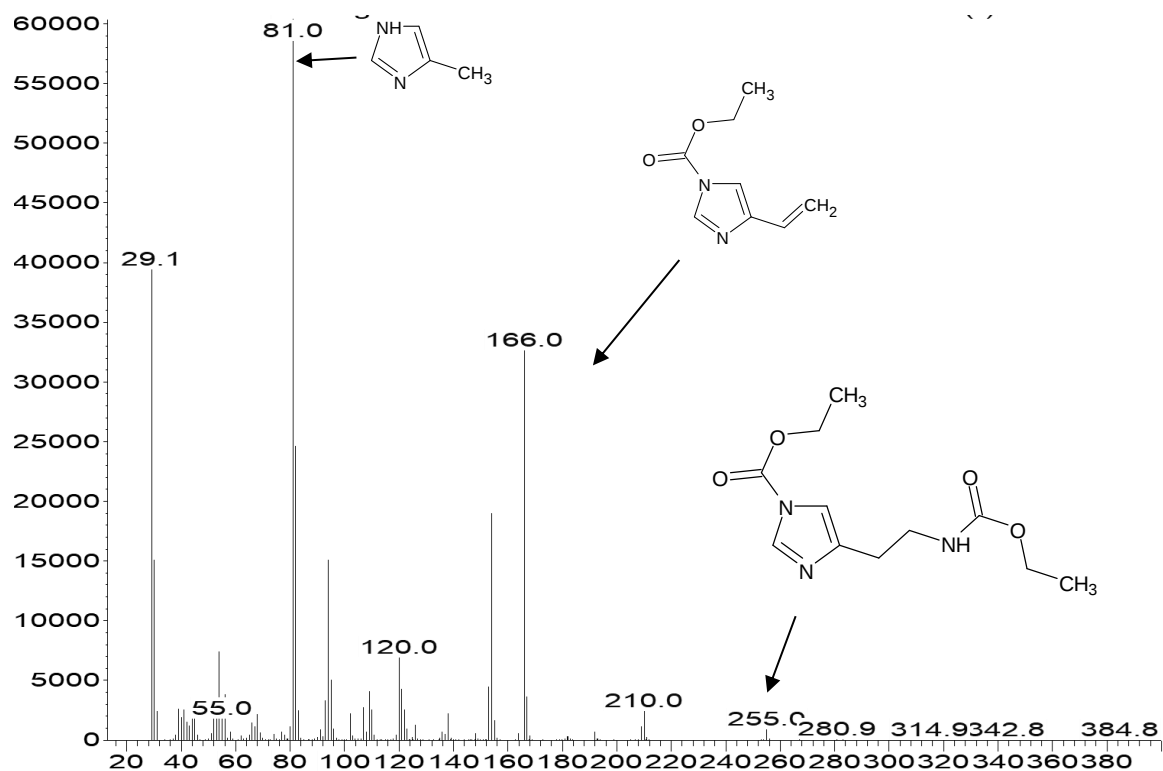
Obrázek 11 Chromatogram celkového iontového proudu (TIC) pro pivo Tvarg APA 12 s přídavkem HA a TA 40 mg·L⁻¹



Obrázek 12 Ionový chromatogram pro m/z 120 v pivu Argus 11. Bez přídavku [A], s přídavkem HA a TA 40 mg·L⁻¹ [B]



Obrázek 13 Hmotnostní spektrum připraveného derivátu, RT: 18,8 min.

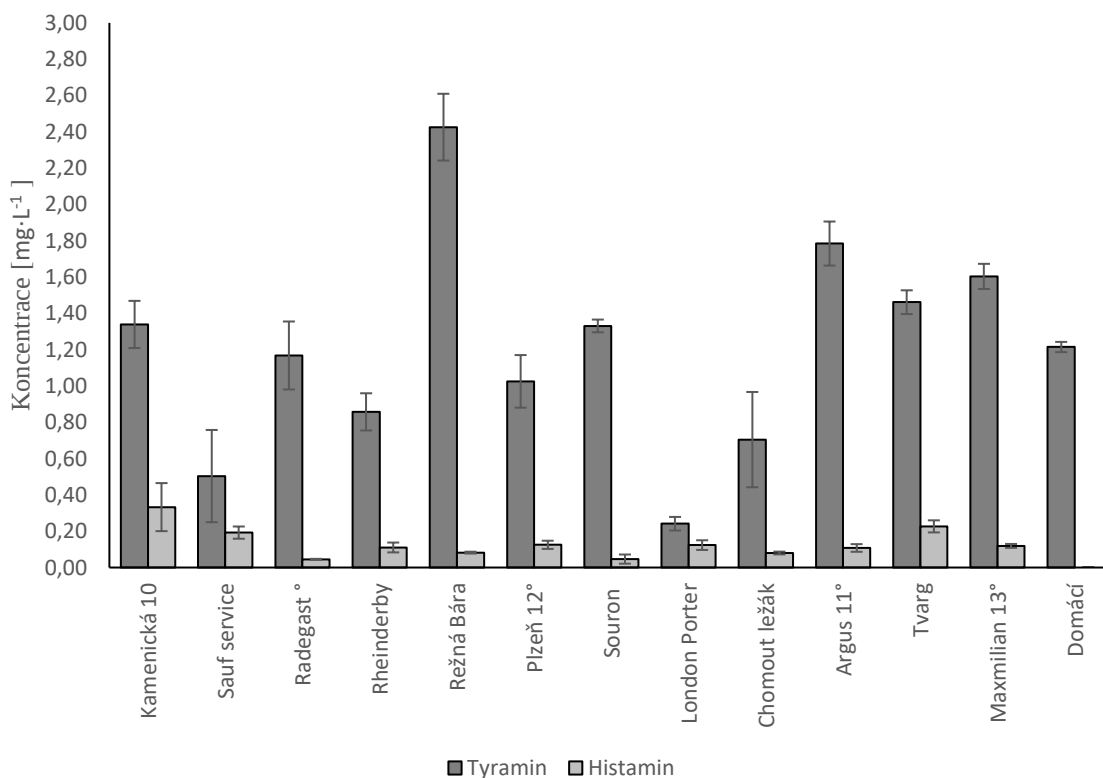


Obrázek 14 Hmotnostní spektrum připraveného derivátu HA, RT: 17,5 min

Tabulka 2 Množství TA a HA v ve vzorcích piva

Pivo	TA [mg·L ⁻¹]	HA [mg·L ⁻¹]
Petrov 11 ^b	63,92 ± 0,00016	0,68 ± 0,02
Petrov 11 ^a	106,16 ± 50,58	0,21 ± 0,0093
Kamenická 10 ^a	1,34 ± 0,13	0,33 ± 0,13
Sauf service ^a	0,50 ± 0,25	0,19 ± 0,034
Radegast 12 ^{o a}	1,17 ± 0,19	0,045 ± 0,0026
Rheinderby ^a	0,86 ± 0,1	0,11 ± 0,027
Režná Bára ^a	2,43 ± 0,18	0,082 ± 0,0051
Plzeň 12 ^{o a}	1,03 ± 0,14	0,13 ± 0,023
Souron ^a	1,33 ± 0,035	0,047 ± 0,025
London Porter ^a	0,24 ± 0,037	0,12 ± 0,027
Chomout ležák ^a	0,70 ± 0,026	0,08 ± 0,0077
Argus 11 ^{o a}	1,78 ± 0,012	0,11 ± 0,021
Tvarg APA ^a	1,46 ± 0,065	0,23 ± 0,033
Maxmilian 13 ^{o b}	1,60 ± 0,069	0,12 ± 0,011
Domáci ^a	1,21 ± 0,028	nd ^c

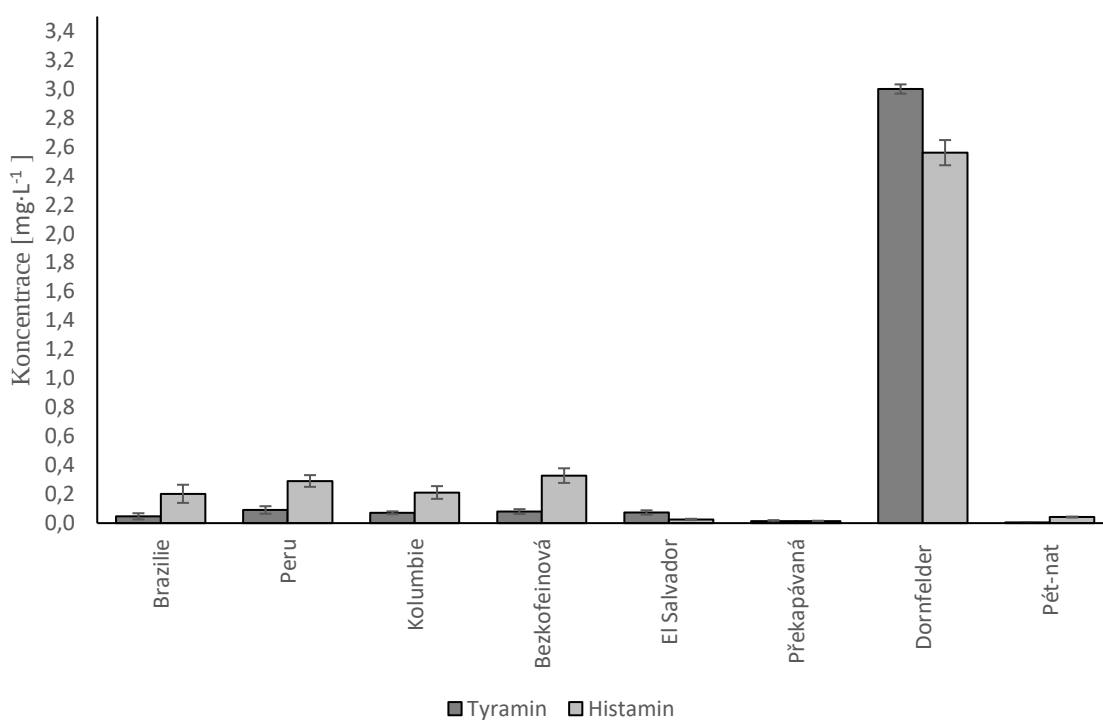
^a lahvé, ^b výčepní, ^c nedetekováno, MIN TA – 0,24; HA 0,045; MAX TA – 106,16; HA – 0,68



Graf 1 Koncentrace TA a HA ve vzorcích piva. Nejsou zobrazena data Petrov 11^o výčepní a Petrov 11^o lahvový z důvodu zkreslení grafu.

Tabulka 3 Množství TA a HA ve vzorcích kávy a vína

Matrice	TA [mg·L ⁻¹]	HA [mg·L ⁻¹]
Brazílie	0,047 ± 0,021	0,2 ± 0,063
Peru	0,091 ± 0,026	0,026 ± 0,29
Kolumbie	0,071 ± 0,01	0,01 ± 0,21
Bezkofeinová	0,08 ± 0,017	0,017 ± 0,33
El Salvador	0,073 ± 0,015	0,015 ± 0,025
Překapávaná	0,013 ± 0,008	0,008 ± 0,014
Dornfelder	2,99 ± 0,032	0,032 ± 2,56
Pét-nat	0,0054 ± 0,00077	0,00077 ± 0,042
MIN TA – 0,0054; HA 0,014; MAX TA – 2,99; HA – 2,55		



Graf 2 Koncentrace TA a HA ve vzorcích kávy a vína.

5 Diskuse

5.1. Optimalizace

Optimalizace vycházela z článku Almeida, Fernandes a Cunha, 2012. Jeden z hlavních rozdílů spočívá ve volbě derivatizačního činidla. Mnoho autorů využívá isobutylchlorformiát (např. Almeida a kol., 2012; Fernandes a kol., 2001; Lundh a Åkesson, 1993), dansylchlorid (např. Chenggang a kol., 2017; Casal a kol., 2004; Restuccia a kol., 2014) nebo benzoylchlorid (např. Milheiro a kol., 2019; Aflaki a kol., 2014) a případná další specifická činidla. Ethylchlorformiát se nabízí jako vhodné derivatizační činidlo, zvláště pro využití v plynové chromatografii. Je levný, relativně netoxický a jeho deriváty jsou dobře těkavé. Róžaňská a kol., 2022 ho uvádí jako vhodný a ekologičtější pro determinaci BA. Z výsledků také vyplývá, že TA byl derivatizován na obou koncích, tedy jak na bazické -NH₂ skupině, tak na kyselé -OH. V případě histaminu tomu bylo podobně a derivatizace proběhla jak na -NH₂ skupině, tak na indolovém kruhu.

Je otázkou, proč např. Almeida a i jiní autoři odpařovali toluenový extrakt pod dusíkem a následně odparek znovu rozpouštěli v toluenu, ale pravděpodobně z důvodu odstranění zbytků disperzního činidla a zakoncentrování vzorku v čistém rozpouštědle. Z výsledků vyplývá, že v případě použití ACN jako disperzního činidla je odpařování zbytečné a ACN nijak neinterferuje se vzorkem. Vyjmutím tohoto kroku se tedy značně zrychlí celá příprava vzorku a následná analýza.

Téměř všichni výše uvedení autoři používají pro kvantitativní stanovení metodu interního standardu. Obvyklé jsou deuterované nebo jinak upravené aminy, které sice splňují podmínku vnitřních standardů, a to že se v pivě přirozeně nevyskytují a mají jiný retenční čas, ale jsou nákladné na pořízení. Alternativou může být využití 1,7-diaminoheptanu (Mozzon a kol., 2015). Využití metody standardního přídatku snižuje množství potřebných chemikálií a zjednodušuje přípravu.

Z výsledků vyplývají rozdíly mezi Almeida a kol., 2012 a optimalizovaným postupem. Lze účinně využít i jiné derivatizační činidlo, a není nutné vzorek odpařovat. Almeida ještě využívá 0,5 M fosfátový pufr a následně upravuje pH na 12. Přídavek 300 mg Na₃PO₄ resp. 400 mg v případě piv typu sour je naprosto dostačující a pH kolem 12 je tím dosaženo též.

5.2 Stanovení biogenních aminů v pivu

Tyramin a histamin byly stanovovány v celkem 15 pivech z nichž byla 2 výčepní a 13 lahvových. 8 z nich bylo spodně a 7 svrchně kvašených. Celkově obsah TA ($0,24 - 106,16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) i HA ($0,045 - 0,68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) odpovídá literatuře. Tab. 4 uvádí příklady studií, které se stanovením BA zabývaly.

Tabulka 4 Rozsah obsahu biogenních aminů uváděný v pivech.

Země	TA [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]	HA [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]	Autor
Portugalsko	0,017 – 1,339	0,8 – 6,5	Almeida a kol., 2012
Česko	0,3 – 1,19	4,68 – 12,7	Kalač a kol., 1997
Česko	<10 – 100	-	Buňka a kol., 2012
Polsko	0,9 – 1,2	0,4 – 0,7	Slomkowska a kol., 2002
Korea	1,0 – 49,6	1,3 – 26,5	Choi a kol., 2012
Různé státy	0 – 0,48	0 – 0,6	Aflaki a kol., 2014

Tyramin i histamin byly stanovovány ve dvou pivech typu sour (Souron a Sauf service) a to z důvodu, že při fermentaci těchto piv byly využity LAB. Ty produkují vyšší množství BA, a to až dvojnásobné množství, zejména TA (Poveda a kol., 2017; Lorencová a kol., 2012). Nicméně z dat vyplývá, že v případě zkoumaných vzorků tomu tak není. Může to být např. z toho důvodu, že při fermentaci byly použity jiné druhy LAB, fermentace probíhala pouze krátkou dobu, nebo byla piva uměle okyselená.

Podle Lorencové a kol., 2020, se v pivech z malých pivovarů zvyšuje množství BA. Může to být dáno technologií výroby. U malých pivovarů není fermentace kontrolována pomocí laboratoře, případně nemusí být dodrženy správné hygienické podmínky výroby a skladování. Díky tomu může docházet ke kontaminaci MO produkujícími BA. Z celkem 7 zkoumaných piv z malých pivovarů (Maxmilián 13, Sauf service, Rheinderby, Režná Bára, Ležák Souron, Domáci) nebyl v žádném obsah významně vyšší. To může svědčit o kvalitě výrobního procesu.

Nároky na hygienu je nutné dodržet i v případě čepovaných piv (Mallett a kol., 2017) (Maxmilián 13 a Petrov 11). Zde může snadno dojít ke kontaminaci MO produkujícími BA. Maxmilián 13 ani zdaleka nepřesahoval legislativou dané hodnoty (HA $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, TA $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Pivo Petrov 11 s obsahem TA $63,92 \pm 0,00016 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ se této hodnotě blíží a konzumace 4 běžných piv v kratším horizontu by mohla mít zdravotní následky. Protože toto pivo mělo výrazně vyšší obsah, byla zde možnost, že v průběhu mezi výrobou a měřením došlo ke kontaminaci. Proto bylo zakoupeno stejné pivo, tentokrát v lahvové

formě pro ověření. I v tomto případě bylo množství TA velmi vysoké ($106,16 \pm 50,58 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Z toho lze usuzovat, že by pivo mohlo být špatné kvality.

5.3 Stanovení BA ve vínu a kávě

Pro porovnání robustnosti metody byly BA stanoveny i v jiných nápojích. U kávy množství BA závisí na několika faktorech. Jednak na druhu kávovníku a způsobu zpracování kávy (Dias a kol., 2012) a jednak na stupni pražení, během kterého se značná část BA vytratí (Oliviera a kol., 2005) a po upražení jsou hodnoty menší než $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Většina předchozích studií byla prováděna na tmavě pražené kávě různé kvality. Macheiner a kol., 2022 analyzoval světle praženou výběrovou kávu, kde hodnoty TA byly kolem $17 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Naměřené výsledky ukazují hodnoty mnohonásobně menší. Důvodem může být, že výše uvedení autoři zjišťovali obsah v pražené kávě, a nikoliv v nápoji. BA se do nich nemusí extrahovat, nebo mohou v případě espressa podléhat degradaci, nebo u překapávané kávy výraznému ředění.

Je obecně známo, že víno, obzvláště červené, obsahuje vyšší množství HA. To bylo ověřeno i v mnoha studiích (např. Milheiro a kol., 2019; Anli a kol., 2004), a potvrzují to i naměřená data. V červeném vínu byly hodnoty vyšší než v pivu, kávě nebo bílém vínu.

Při konzumaci jakýchkoliv fermentovaných potravin je nutné dbát na jejich nezávadnost. V případě vyšší citlivosti na migrény je nutné vyhýbat se zdrojům TA. V případě léčby preparáty, které blokují fyziologické procesy k odstranění BA (MAO a DAO), je nutné dodržovat dietární opatření a omezit potraviny, které jsou zdrojem BA. Může dojít k jejich hromadění v organismu a následným nežádoucím až život ohrožujícím stavům.

6 Závěr

V teoretické části této práce jsou shrnuty informace, týkající se procesu výroby piva s důrazem na fermentaci a mikroorganismy. Dále jsou uvedeny a popsány jednotlivé skupiny látek vznikajících v pivu při výrobním procesu. Je zde popsána problematika biogenních aminů, a to především tyraminu a histaminu, jakožto hlavních biogenních aminů v potravinách s nejzřetelnějším fyziologickým působením, ale i ostatních významných biogenních aminů. Práce také shrnuje princip disperzní extrakce kapalina-kapalina a využití chromatografických technik v analýze potravin. Experimentální část se věnovala optimalizaci metody stanovení histaminu a tyraminu pomocí GC-MS s následnou aplikací tohoto postupu na vybraná piva a další nápoje. Cílem optimalizace bylo zjednodušit a zrychlit proces a ověřit, zda je možné využít k derivatizaci i jiná než obvykle používaná činidla pro stanovení biogenních aminů. Dalším cílem bylo stanovit množství histaminu a tyraminu v pivu a nápojích. Z výsledků vyplývá, že většina piv obsahovala bezpečné koncentrace, nehledě na to, zda šlo o pivo z velkého či malého pivovaru. Koncentrace nebyly zvýšeny ani v případě kyselých piv, fermentovaných za použití bakterií mléčného kvašení. Výjimku tvořilo spodně kvašené pivo Petrov 11°, kde koncentrace tyraminu přesahovala bezpečnou koncentraci. Metoda je aplikovatelná i na další nápoje. Oba stanovované biogenní aminy byly detekovatelné jak ve vínu, tak ve stopových koncentracích i v kávě. Výše popsané cíle práce byly splněny.

Seznam použité literatury

1. Aflaki F., Ghoulipour V., Saemian N. a Salahinejad M. (2014) A simple method for benzoyl chloride derivatization of biogenic amines for high performance liquid chromatography. *Anal. Met.*, **6**(5) 1482–1487.
2. Almeida C., Fernandes J.O. a Cunha S.C. (2011) A novel dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of eighteen biogenic amines in beer *Food Control*, **25** 380–388.
3. Ancin-Azpilicueta C., Gonzales-Marco A. a Jimenez-Moreno N. (2008). Current knowledge about the presence of amines in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **48** 257–275.
4. Anderson M.C., Hasan F., McCrodden J.M. a Tipton K.F. (1993) Monoamine oxidase inhibitors and the cheese effect *Neurochem. Res.*, **18**(11) 1145–9.
5. Anlı R. E., Vural N., Yılmaz S., Vural H., (2004): The determination of biogenic amines in Turkish red wines. *J. Food Comp. Anal.*, **17** 53–62.
6. Barth R. *The Chemistry of Beer* (John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2013) 153.
7. Basařová G. a Čepička J. (1985) *Sladařství a pivovarství*. SNTL, Praha.
8. Basařová G. (2010) *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. VŠCHT, Praha.
9. Beer&brewing <https://beerandbrewing.com/cbb-beer-reviews/top/Sour%20Beer> (cit. 27.7. 2022).
10. Bernal J.L., Martín M.T. a Toribio L. (2013) Supercritical fluid chromatography in food analysis *J. Chromatogr. A*, **1313** 24–36.
11. Berry M.D. (2004) Mammalian central nervous system trace amines. Pharmacologic amphetamines, physiologic neuromodulators. *J. Neurochem.*, **90**(2) 257–71.
12. Bossaert S., Crauwels S., De Rouck G., Lievens B. a Fachverlag H.C., The Power of Sour - A Review: Old Traditions, New Opportunities. *Brew. Sci.*, **72**(3) 78–88.
13. Brandolini V., Menziani E., Mazzotta D., Cabras P., Tosi B. a Lodi G. (1995) Use of AMD-HPTLC for Carbohydrate Monitoring in Beers *J. Food Compos. Anal.*, **8** 336–343.
14. Branyik T., Vicente A. A., Dostalek P. a Teixeira, J. A. (2008) A review of flavour formation in continuous beer fermentations, *J. Inst. Brew.*, **114** 3–13.

15. Bundesgesetzblatt <http://archiv.jura.uni-saarland.de/BGBl/TEIL1/1993/19931400.1.HTML> (cit. 27.7. 2020).
16. Buňka F., Budinský P., Čechová M., Drienovský V., Pachlová V., Matoulková D. a Buňková L. (2012) Content of biogenic amines and polyamines in beers from the Czech Republic. *J. Inst. Brew.*, **118**(2) 213–216.
17. Cabras I. a Higgins D.M. (2016) Beer, brewing, and business history, *Bus. Hist*, **58**(5) 609–624.
18. Callemien D., Jerkovic V., Rozenberg R. a Collin S. (2005) Hop as an interesting source of resveratrol for brewers: optimization of the extraction and quantitative study by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **53** 424–429.
19. Campo E., Cacho J. a Ferreira V. (2007) Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages, *J. Chromatogr. A*, **1140**, 180–188.
20. Casal S., Mendes E., Alves M.R., Alves R.C., Beatriz M., Oliveira P.P. a Ferreira M. A. (2004) Free and conjugated biogenic amines in green and roasted coffee beans. *J. Agric. Food Chem.*, **52**(20) 6188–6192.
21. Cela N., Galgano F., Perretti G., DiCairano M., Tolve R. a Condelli N. (2022) Assessment of brewing attitude of unmalted cereals and pseudocereals for gluten free beer production *Food Chem.*, **384** 132621.
22. Corkery J.M., Durkin E., Elliott S., Schifano F. a Ghodse H.A. (2012) The recreational tryptamine 5-MeO-DALT (N,N-diallyl-5-methoxytryptamine): A brief review. *Prog. Neuropsychopharm. Biol. Psychiatry*, **39**(2) 259–262.
23. Cortecero-Ramírez S, Hernáinz-Bermúdez de Castro M, Segura-Carretero A, Cruces-Blanco C a Fernández-Gutiérrez A. (2003) Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods. *Trends. Anal. Chem.*, **22** 440–455.
24. De Brackeleire C, Harmegnies F, Tiget R a Mendes J.P. (2000). Fine rindig in water. *Brauwelt Int*, 372–380.
25. Di Stefano V., Avellone G., Bongiorno D., Cunsolo V., Muccilli V., Sforza S., Dossena A., Drahos L. a Vékey K. (2012) Applications of liquid chromatography–mass spectrometry for food analysis *J. Chromatogr. A*, **1259** 74–85.

26. Dias E.C., Pereira R.G.F.A., Borém F.M., Mendes E., de Lima R.R., Fernandes J.O. a Casal S. (2012) Biogenic Amine Profile in Unripe Arabica Coffee Beans Processed According to Dry and Wet Methods. *J. Agric. Food Chem.*, **60**(16) 4120–4125.
27. Doeun D., Davaatseren M. a Chung MS. (2017) Biogenic amines in foods *Food Sci Biotechnol* **26**, 1463–1474.
28. Drug Bank <https://go.drugbank.com/drugs/DB08841> (28.7. 2022).
29. Dufour J.P., Alwarex P., Dewreux A. a Gerardi W. (1986) Influence of the filtration procedure on relationship between wort turbidity and its lipid content. *Monatssachr. Brauerei*, **39** 115–121.
30. Dymerski T. (2018). Two-Dimensional Gas Chromatography Coupled With Mass Spectrometry in Food Analysis *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **48**(4), 252–278.
31. Dysvik A, La Rosa S.L., Liland K.H., Myhrer K.S., Østlie H.M., De Rouck G., Rukke E-O, Westereng B. a Wicklund T. (2020b) Co-fermentation Involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* Species Tolerant to Brewing-Related Stress Factors for Controlled and Rapid Production of Sour Beer. *Front. Microbiol.*, **11**(27) 279.
32. Dysvik A., La Rosa S. L., De Rouck G., Rukke E.O., Westereng B. a Wicklund T. (2020a). Microbial dynamics in traditional and modern sour beer production. *App. Environ. Microbiol.*, **86**(14) e00566–20.
33. Esposito F., Montuori P., Schettino M., Velotto S., Stasi T., Romano R. a Cirillo T. (2019) Level of Biogenic Amines in Red and White Wines, Dietary Exposure, and Histamine-Mediated Symptoms upon Wine Ingestion. *Molecules*, **24**(19) 3629.
34. Fernandes J.O., Judas I.C., Oliviera M.B. Ferreira I.M.P.L.V.O. a Ferreira M.A. (2001) A GC-MS method for quantitation of histamine and other biogenic amines in beer *Chromatographia*, **53**(2) 327–331.
35. Fillaudeau L., Blanpain-Avet P. a Daufin G. (2006) Water, wastewater and waste management in brewing industries. *J. Clean. Prod.*, **14**(5), 463–471
36. Finkielstain G., Jha S. a Merke, D. (2021) Adrenal disorders. *Biochemical and Molecular Basis of Pediatric Disease* 267–296.
37. Garofalo C., Osimani A., Milanovic V., Taccari M., Aquilanti L. a Clementi F. (2015) The Occurrence of Beer Spoilage Lactic AcidBacteria in Craft Beer Production *J. Food Sci.*, **80**(12) M2845–M2852.

38. Gee D. A. a Ramirez W. F. (1994) A flavour model for beer fermentation, *J. Inst. Brew.*, **100** 321–329.
39. Gillman, K. (2020) Monoamine oxidase inhibitors, dietary tyramine and drug interactions *PsychoTropical Commentaries*, **1** 1–70.
40. Gogus F., Ozel M.Z. a Lewis A.C. (2006) Analysis of the Volatile Components of Cheddar Cheese by Direct Thermal Desorption-GCx GC-TOF/MS. *J. Sep. Sci.*, **29** 1217–1222.
41. Gorbunova M. V., Gutorova S. V., Berseneva D. A., Apyari V. V., Zaitsev V. D., Dmitrienko S. G. a Zolotov Y. A. (2018) Spectroscopic methods for determination of catecholamines: A mini-review *Appl. Spectrosc. Rev.*, 1–22.
42. Haseleu G., Lagemann A., Stephan A., Intelmann D., Dunkel A. a Hofmann, T. (2010). Quantitative Sensomics Profiling of Hop-Derived Bitter Compounds Throughout a Full-Scale Beer Manufacturing Process. *J. Agric Food Chem*, **58**(13) 7930–7939.
43. He Y., Dong J., Yin H., Zhao Y., Chen R., Wan X., Chen P., Hou X., Liu J. a Chen L. (2014). Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer - a review *J. Inst. Brew.*, **120**(3) 157–163.
44. Headaches <https://headaches.org/tyramine/> (25.7. 2022).
45. Hu X., Jin Y. a Du, J. (2018) Differences in protein content and foaming properties of cloudy beers based on wheat malt content. *J. Inst. Brew.*, **125**(2) 235–241.
46. Chenggang C. a Ruyi S. (2017) Optimization of dansyl chloride derivatization conditions for biogenic amines determination and survey of biogenic amines in some fermented foods. *Res. J. Biotech.*, **12**(3) 7–81.
47. Choi S., Lee J.K., Shukla S. a Kim M. (2012) Physiochemical properties and determination of biogenic amines in Korean microbrewery beer products. *J. Food Bioch.*, **36**(6) 766–773.
48. Iimure T. a Sato K. (2013) Beer proteomics analysis for beer quality control and malting barley breeding *Food Res. Int.*, **54**(1) 1013–1020.
49. Izquierdo-Pulido M., Carceller-Rosa J.M. Marine-Font A. a Vidal-Caro C.M. (1997) Tyramine Formation by *Pediococcus* spp. during Beer Fermentation *J. Food Prot.*, **60**(7) 831–836.
50. Jespersen L. a Jakobsen M. (1996) Specific spoilage organisms in breweries and laboratory media for their detection, *Int. J. Food Microbiol.*, **33** 139–155.

51. Kalač P. a Křížek K. (2003) A Review of Biogenic Amines and Polyamines in Beer *J. Inst. Brew.*, **109**(2) 123–128.
52. Kalač P., Hlavatá V. a Křížek M. (1997) Concentrations of five biogenic amines in Czech beers and factors affecting their formation. *Food Chem.*, **58**(3) 209–214
53. Kántor A., Kačániová M. a Pachlová V. (2015) Biogenic Amines Content In Different Wine Samples *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, **4**(1) 37–40.
54. KEGG <https://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map00350.html> (28.7. 2022)
55. Kirin https://www.kirinholdings.com/en/newsroom/release/2022/0127_04.html [cit. 20.6. 2022]
56. Kobayashi M., Nagahisa K., Shimizu H. a Shioya S. (2006) Simultaneous control of apparent extract and volatile compounds concentrations in low-malt beer fermentation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **73** 549–558.
57. Kok Y. J., Ye L., Muller J., Ow D. S.-W. a Bi, X. (2018) Brewing with malted barley or raw barley: what makes the difference in the processes? *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **103**(3) 1059–1067.
58. Komprda T., Burdychová R., Dohnal V., Cwиковá O., Sládková P., a Dvořáčková H. (2008) Tyramine production in Dutch-type semi-hard cheese from two different producers. *Food Microbiol.*, **25** 219–227.
59. Konečná H., Müller L., Dosoudilová H., Potěšil D., Buršíková J. a Šedo O. (2012) Exploration of beer proteome using OFFGEL prefractionation in combination with two-dimensional gel electrophoresis with narrow pH range gradients *J. Agric. Food Chem.*, **60** 2418–2426.
60. Křížek M. a Hlavatá V. (1995) Stanovení biogenních aminů v pivu. *Kvasný průmysl* **41**(9) 266–269.
61. Kulma A. a Szopa J. (2007) Catecholamines are active compounds in plants *Plant Sci.*, **172**(3) 433–440.
62. Kusche J., Bieganski T. a Hesterberg, R. (1980) The influence of carcinoma growth on diamine oxidase activity in human gastrointestinal tract. *Agents Act.*, **10** 110–3.
63. Latorre-Moratalla M.L., Comas-Basté O., Bover-Cid S. a Vidal-Carou M.C. (2016) Tyramine and histamine risk assessment related to consumption of dry fermented sausages by the Spanish population, *Food Chem. Tox.*, **99** 78–85.
64. Lehotay S.J a Hajšlová J. (2002) Application of gas chromatography in food analysis *TrAC*, **21**(9–10) 686–697.

65. Leong M-I., Fuh M-R. a Huang S-D. (2014) Beyond dispersive liquid–liquid microextraction *J Chromatogr. A*, **1335** 2–14.
66. Lewis M. J. a Young T. W. (2002) *Brewing*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002, 398.
67. Colen L. a Swinnen J.F.M. (2010) *Beer Drinking Nations - The Determinants of Global Beer Consumption.*, LICOS Discussion paper, No. 270, Katholieke Universiteit Leuven.
68. Linares D. M., Martín M., Ladero V., Alvarez M. A. a Fernández, M. (2011) Biogenic Amines in Dairy Products *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **51**(7) 691–703.
69. Liu S.Q. a Quek A.Y.H. (2016) Beer Fermented with Williopsis Yeast *Food Tech. Biotechnol.*, **54**(4) 403–412.
70. Lodolo E. J., Kock J. L. F., Axcell B. C. a Brooks, M. (2008) The yeast *Saccharomyces cerevisiae* the main character in beer brewing, *FEMS Yeast Res.*, **8** 1018–1036.
71. Lorencová E., Buňková L., Matoulková D., Dráb V., Pleva P., Kubán V. a Buňka, F. (2012) Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from dairy products and beer. *Int. J. Food Sci. Tech.*, **47**(10) 2086–2091.
72. Lundh T. a Åkesson B. (1993) Gas chromatographic determination of primary and secondary low-molecular-mass aliphatic amines in urine using derivatization with isobutyl chloroformate. *J. Chromatogr. B*, **617**(2) 191–196.
73. Macinková M. (2017) *Technologie výroby speciálních ochucených druhů piva*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
74. Macrobal A., Martin-Alvarez P.J., Polo M.C., Munoz, R. a Moreno-Arribas, M.V. (2006) Formation of biogenic amines throughout the industrial manufacture of red wine. *J. Food Prot.*, **69** 397–404.
75. Macheiner M., Schmidt A., Wagner M. a Mayer H.K. (2022) Thermogenic formation of biogenic amines during commercial coffee roasting processes *LWT-Food Sci. Tech.*, **154** 112664.
76. Mallett J. R., Stuart M. S., a Quain, D. E. (2018) Draught beer hygiene: a forcing test to assess quality. *J. Inst. Brew.*, **124** 31–37.
77. Martens H., Dawoud E. a Verachtert H. (1992) Synthesis of aroma compounds by wort enterobacteria during the first stage of lambic fermentation *J. Inst. Brew.*, **98** 421–425.

78. Martín-Álvarez P.J., Marcobal Á., Polo C. a Morreno-Aribas M. (2006) Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. *Eur. Food Res. Technol.*, **222** 420–424.
79. Milheiro J., Ferreira L.C., Filipe-Ribeiro L., Cosme F. a Nunes F.M. (2019) A simple dispersive solid phase extraction clean-up/concentration method for selective and sensitive quantification of biogenic amines in wines using benzoyl chloride derivatisation. *Food Chem.*, **274** 110–117.
80. Miller G.M. (2011) The emerging role of trace amine-associated receptor 1 in the functional regulation of monoamine transporters and dopaminergic activity *J. Neurochem.* **116**(2) 164–176.
81. Montel M.C., Masson F., Talon R. (1999) Comparison of biogenic amine content in traditional and industrial French dry sausages *Sciences des Aliments*, **19** 247–254.
82. Morcol T. B., Negrin A., Matthews P. D. a Kennelly E. J. (2020) Hop (*Humulus lupulus* L.) terroir has large effect on a glycosylated green leaf volatile but not on other aroma glycosides. *Food Chem.*, **321** 126644.
83. Mozzon M., Boselli E., Obiedziński M.W. a Frega N.G. (2015) Occurrence of biogenic amines in beers produced with malted organic Emmer wheat (*Triticum dicoccum*). *Food Add. Contam. A*, **32**(5) 756–767.
84. Niraj G.M.M. a Pandey S., (2012) Histamine Biosensor: A Review. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, **3**(11) 4158–4168.
85. Nogueira L. C., Silva F., Ferreira, I. M. a Trugo L. C. (2005) Separation a quantification of beer carbohydrates by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *J. Chromatogr. A*, **1065**(2), 207–210.
86. Novella-Rodriguez S., Veciana-Nogues M.T., Izquierdo-Pulido M. a Vidal-Carou M.C. (2003) Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *J. Food Sci.*, **68** 750–755.
87. Nuñez M., del Olmo A. a Calzada, J. (2016) Biogenic Amines. *Encyclopedia of Food and Health*, 416–423.
88. Olesen K., Felding T., Gjermansen C. a Hansen, J. (2002) The dynamics of the brewing yeast transcriptome during a production-scale lager beer fermentation. *Fems. Yeast Res.*, **2** 563–573.

89. Oliveira S.D., Franca A.S., Glória M.B.A. a Borges M.L.A. (2005) The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities. *Food Chem.*, **90**(1–2) 287–291.
90. Olšovská J. (2017) Senzorická analýza piva. Vyd. 1. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský.
91. Peddie H. A. B. (1990) Ester formation in brewery fermentations, *J. Inst. Brew.*, **96** 327–331.
92. Pegg A. E. (2013) Toxicity of polyamines and their metabolic products. *Chem. Res. Toxicol.*, **26** 1782–1800.
93. Pegg A.E. (2016) Functions of Polyamines in Mammals *J. Biol. Chem.*, **291**(29) 14904–14912.
94. Perpte P. a Collin S., (2000) Influence of beer ethanol content on the wort flavour perception. *Food Chem.*, **71**(3), 379–385.
95. Piazzon A., Forte M. a Nardini M. (2010) Characterization of Phenolics Content and Antioxidant Activity of Different Beer Types. *J. Agric. Food Chem*, **58**(19) 10677.
96. Pircher A., Bauer F. a Paulsen, P. (2006) Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses. *Eur. Food Res. Tech.*, **226**(1–2) 225–231.
97. Pircher A., Friedrich B., Paulsen P. (2007) Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses *Eur. Food Res. Techn.*, **226** 225–231.
98. Plotka-Wasyłka J., Simenov V. a Namiesnik J. (2016) An in situ derivatization – dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas-chromatography – mass spectrometry for determining biogenic amines in home-made fermented alcoholic drinks *J. Chromatogr. A*, **1453** 10–18.
99. Postigo V., Sánchez A., Cabellos J.M. a Arroyo T. (2022) New Approaches for the Fermentation of Beer: Non-Saccharomyces Yeasts from Wine. *Fermentation*, **8**(6).
100. Poveda J.M., Ruiz P., Sesena S. a Palop M.L. (2017) Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria during a craft brewing process. *LWT-Food Sci. Tech.*, **85** 129–136.

101. Procopio S., Qian F. a Becker T. (2011) Function and regulation of yeast genes involved in higher alcohol and ester metabolism during beverage fermentation, *Eur. Food Res. Tech.* **233**, 721–729.
102. PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine> (26.7. 2022)
103. Raithel M., Kufner M., Ulrich P a Hahn E.G. (1999) The involvement of the histamine degradation pathway by diamine oxidase in manifest gastrointestinal *Allergies Inflamm. Res.*, **48** 75–76.
104. Raithel M., Ulrich P., Hochberger J. a Hahn, EG. (1998) Measurement of gut diamine oxidase activity. Diamine oxidase as a new biologic marker of colorectal proliferation? *Ann. N Y Acad. Sci.* **859** 262–266.
105. Rao Sathyanarayana T.S. a Yeragani V.K. (2009) Hypersensitive crisis and cheese *Indian J. Psychiatry* **51**(1) 65–66.
106. Restuccia D., Spizzirri U.G., Parisi O.I., Cirillo G. a Picci N. (2015) Brewing effect on levels of biogenic amines in different coffee samples as determined by LC-UV. *Food Chem.*, **175** 143–150.
107. Rezaee M., Assadi Y., Hosseini M.R.M., Aghaee E., Ahmadi F. a Berijani S. (2006) Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction *J. Chromatogr. A*, **1116** 1–9.
108. Ridolo E., Senna G., Martignago I., Ricci G. (2016) Scombroid syndrome: it seems to be fish allergy but... it isn't; *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, **16**(5) 516–521.
109. Robinson A. L., Boss P. K., Heymann H., Solomon P. S. a Trengove R. D. (2011) Influence of Yeast Strain, Canopy Management, and Site on the Volatile Composition and Sensory Attributes of Cabernet Sauvignon Wines From Western Australia. *J. Agric. Food Chem.*, **59** 3273–3284.
110. Różańska A., Fabjanowicz M., Kalinowska K., Polkowska Ż. a Płotka-Wasyłka, J. (2022) Green, simple analytical method for biogenic amines determination in fruit juice samples using salting-out assisted liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chem.*, **384** 132557.
111. Ryser L.T., Arias-Roth E., Berthoud H., Delbès-Pausc C., Chassard C., Bruggmann R. a Irmeler S. (2022) Cadaverine, putrescine, and histamine formation of *Morganella morganii* in raclette-type cheese *Int. Dairy J.*, **129** 105362.

112. S. Hieronymus, *For the Love of Hops: The Practical Guide to Aroma, Bitterness and the Culture of Hops* (Brewers Publications: Boulder, Colorado, 2012).
113. Saerens S. M. G., Delvaux F., Verstrepen K. J., van Dijck P., Thevelein J. M. a Delvaux F. R. (2008) Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation, *Appl. Environ. Microbiol*, **74** 454–461.
114. Shellie R. a Marriott P. J. (2002) Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography With Fast Enantioseparation. *Anal. Chem.*, **74** 5426–5430.
115. Sherma J., (2000) Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis *J. Chromatogr. A*, **880**(1–2) 129–147.
116. Slomkowska A. a Ambroziak W. (2002) Biogenic amine profile of the most popular Polish beers. *Eur. Food Res. Techn.*, **215**(5) 380–383.
117. Smolinska S, Jutel M, Crameri R, O’Mahony L. (2014) Histamine and gut mucosal immune regulation. *Allergy*, **69** 273–281.
118. Sørensen S. B., Bech L. M., Muldbjerg M., Beenfeldt T. a Breddam K. (1993) Barley lipid transfer protein 1 is involved in beer foam formation *Tech. q.- Master Brew. Assoc. Am*, **30** 136–145.
119. Spaepen M., Vanoevelen D. a Verachtert H. (1978) Fatty acids and esters produced during spontaneous fermentation of lambic and gueuze, *J. Inst. Brew.*, **84** 278–282.
120. Statista <https://www.statista.com/statistics/270275/worldwide-beer-production/> [cit. 20.6. 2022].
121. Suzzi G. a Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review (2003) *Int. J. Food Microbiol.*, **88**(1) 41–54.
122. Ten Brink B., Damink C., Joosten H. M. L. J., a Huis In ’T Veld, J. H. J. (1990) Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **11** 73–84.
123. Tittarelli R., Mannocchi, G., Pantano, F. a Romolo, F. (2015) Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines. *Curr Neuropsychopharmacol*, **13**(1) 26–46.
124. Tortorella V., Masciari P., Pezzi M., Mola A., Tiburzi S.P., Zinzi M.C., Scozzafava A. a Verre, M. (2014) Histamine poisoning from ingestion of fish or scombroid syndrome. *Case. Rep. Emerg. Med.*, 482531.

125. Tsujikawa T., Uda K., Ihara T., Andoh A., Fujiyama Y. a Bamba T. (1999) Changes in serum diamine oxidase activity during chemotherapy in patients with hematological malignancies *Cancer Lett.*, **147** 195–8.
126. van Ruth S.M. (2004) Evaluation of two gas chromatography–olfactometry methods: the detection frequency and perceived intensity method *J. Chromatogr. A*, **1054**(1-2) 33–37.
127. Vanderhaegen B., Neven H., Coghe S., Verstrepen K.J., Derde-linckx G., Verachtert H. (2003) Bioflavoring and beer refermentation *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **62** 140–150.
128. Wieser H., Koehler P. a Konitzer K. (2014) Celiac Disease and Gluten - Multidisciplinary Challenges and Opportunities (1st ed.). Academic Press Elsevier.
129. Willaert R. (2007) The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation. *Handbook of Food Products Manufacturing*, 443–506.
130. Wunderlichová L., Buňková L., Koutný M., Jančová P. a Buňka, F. (2014) Formation, Degradation, and Detoxification of Putrescine by Foodborne Bacteria: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **13**(5) 1012–1030.
131. Wyder M.T., Bachmann H.P. a Puhan Z. (1999) Role of selected yeasts in cheese ripening: An evaluation in foil wrapped Raclette cheese. *Lebensm. Wiss. Technol.* **32** 333–343.
132. Yu Z., Fu W., Fu., Y., Tang W., Li R. Li X. (2021) The biogenic amine-producing bacteria from craft beer and their kinetic analysis between growth characteristics and biogenic amine formation in beer *J. Food Sci.*, **86** 4991–5003.