

STANOVENIE BIOGÉNNYCH AMÍNOV VO VZORKÁCH POTRAVÍN A NÁPOJOV

IVANA GERHARDOVÁ^a, JOZEF SOKOL^a,
MÁRIA MALIAROVÁ^a, NICHOLAS MARTINKA^b
a TIMOTEJ JANKECH^a

^a Katedra chémie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovensko, ^b Oddelenie klinickej biochémie, Nemocnica A. Wintera, Winterova 66, 921 01 Piešťany, Slovensko
ivka.gerhardtova@gmail.com

Došlo 5.5.22, prijaté 21.6.22.

Kľúčové slová: biogénne amíny, metódy stanovenia, dusíkaté zlúčeniny, potraviny, nápoje

• <https://doi.org/10.54779/chl20220528>

Obsah

1. Úvod
2. Úprava vzoriek potravín a nápojov
3. Metódy stanovenia biogénnych amínov
 - 3.1. Kvapalinová chromatografia
 - 3.2. Plynová chromatografia
 - 3.3. Kapilárna elektroforéza
4. Biogénne amíny vo vybraných druhoch potravín a nápojov
5. Záver

1. Úvod

Biogénne amíny (BA) sú biologicky aktívne nízko-molekulové dusíkaté zlúčeniny s dobrou chemickou stabilitou a tepelnou rezistenciou^{1,2}. Vyskytujú sa bežne v rôznych druhoch potravín a nápojov a sú produkované špecifickými mikroorganizmami ako výsledok metabolizmu niektorých voľných aminokyselín enzymatickou reakciou (exogénne amíny). Táto reakcia môže byť dekarboxylácia, redukčná aminácia, transaminácia aldehydov a ketónov (endogénne amíny) alebo degradácia určitého prekurzoru aminozlúčeniny^{3–5}.

Podľa štruktúry sa BA rozdeľujú na alifatické: putrescín (PUT), kadaverín (CAD), agmatín (AGM), spermin (SPM), spermidín (SPD); aromatické: tyramín (TYR), fenyletylamín (PEA); heterocyklické: histamín (HIS) a tryptamín (TRP)⁶.

Aj keď sa v živočíchoch nachádzajú amíny, ktoré sa podieľajú na fyziologických funkciách (kontrola krvného

tlaku, bunkového rastu, zmena pH žalúdka a čriev, metabolizmus, mozgová aktivita, a pod.), nadmerná konzumácia BA z potravín a nápojov môže spôsobiť alebo zvýšiť riziko nepriaznivých vplyvov na zdravie (tab. I), ako sú napríklad bolesti hlavy, nevoľnosť, alergické reakcie, vyrážky a zmeny krvného tlaku^{7,8}. Práve z tohto dôvodu je potrebné neustále vyvíjať a zdokonaľovať metódy na ich stanovenie, hlavne metódy s nízkou medzou detekcie. Keďže BA sa nachádzajú v každodenne konzumovaných potravinách či nápojoch, tento referát ponúka prehľad možností stanovenia BA v rozličných druhoch potravín a nápojov publikovaných za posledné 3 roky.

2. Úprava vzoriek potravín a nápojov

Najdôležitejším krokom analytického postupu je úprava vzorky. Správnou úpravou vzorky možno znížiť vplyv matrice či zvýšiť analytický signál sledovaných analytov. Extrakcia je prvým krokom k oddeleniu požadovaných analytov z matrice. Na získanie biogénnych amínov zo vzoriek potravín a nápojov sa používa mnoho extrakčných techník, medzi najpoužívanejšie patria extrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (LLE), extrakcia tuhou fázou (SPE), mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (LLME), disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (DLLME), mikroextrakcia tuhou fázou (SPME) a ultrazvukom podporená extrakcia (UAE) (obr. 1)^{9,41}.

LLE, a tiež jej miniaturizovaná forma LLME, je jednoduchá technika extrakcie analytov z kvapalnej vzorky do inej kvapaliny založená na rozdelení analytu medzi dve vzájomne nemiešateľné rozpúšťadlá. Zvyčajne sa analyt nachádza vo vodnej fáze a extrahuje sa do organického rozpúšťadla^{50–52}.

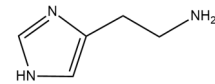
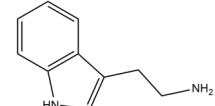
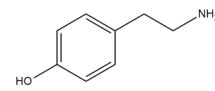
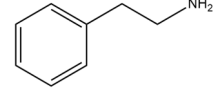
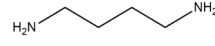
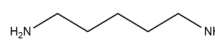
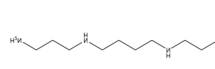
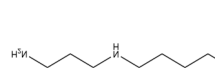
DLLME je príkladom miniaturizovanej techniky, ktorá na zvýšenie účinnosti extrakcie používa disperziu rozpúšťadla vo vzorke. Zmes extrakčného činidla a disperzného činidla sa rýchlo nastrekne do vodnej vzorky, čím sa vytvorí zakalená sústava obsahujúca malé kvapky extrakčného rozpúšťadla dokonale dispergované vo vodnej fáze⁵⁰.

SPE predstavuje v súčasnosti vysokovýkonnú techniku na rýchlu a do určitej miery aj selektívnu úpravu vzorky. Extrakcia prebieha v kolónke (z polypropylénu alebo skla) naplnenej sorbentom. Princíp SPE spočíva v sorpcii analytu/zmesi analytov na tuhú fázu. Extrakcia sa uskutočňuje tak, že sa cez sorbent prepúšťa kvapalná alebo plynná vzorka^{50,51}.

SPME je založená na sorpcii prchavých a semiprchavých látok na vlákno potiahnuté sorbentom, a to buď priamo vo vzorke (priama SPME) alebo v priestore nad hladinou vzorky (headspace SPME). Analyt sa sorbuje na po-

Tabuľka I

Základné fyzikálno-chemické vlastnosti niektorých významných biogénnych aminov a ich fyziologické účinky na organizmus

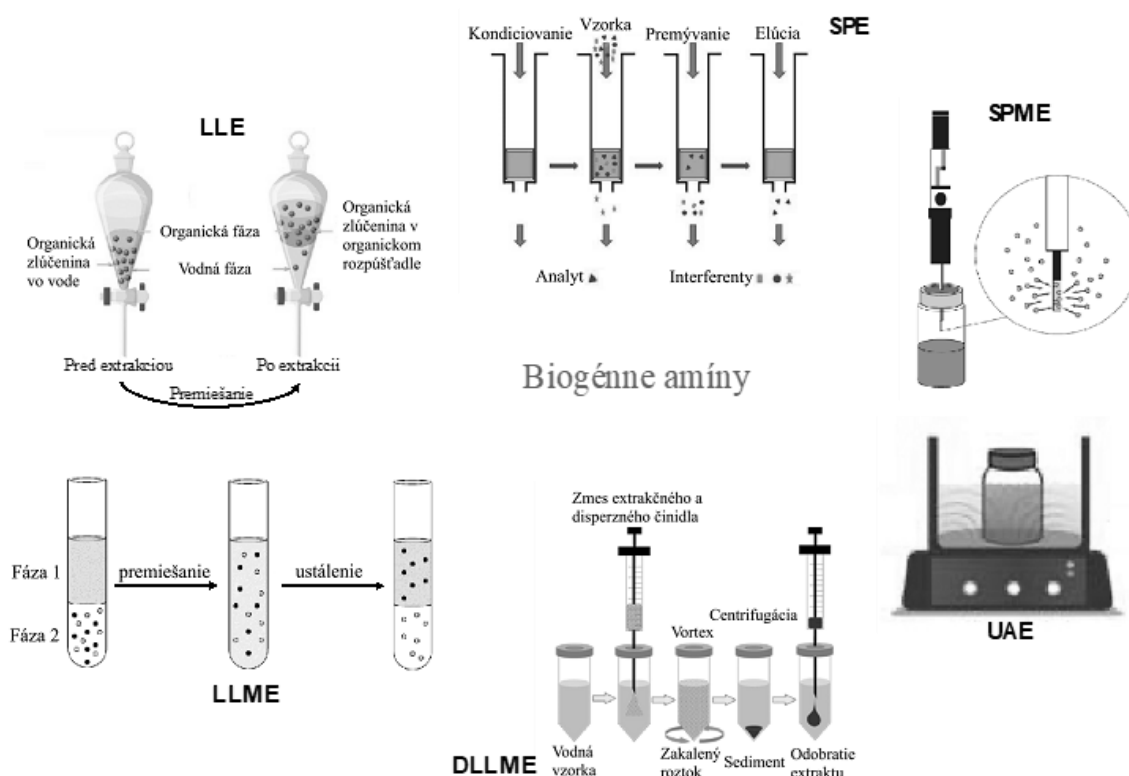
Názov (skratka)	Štruktúrny a molekulový vzorec	Molárna hmotnosť [g mol ⁻¹]	Význam biogénnych aminov ^a
Histamín (HIS)	 C ₅ H ₉ N ₃	111,15	+ regulácia teploty tela, pH žalúdka, regulácia mozgových aktivít, ovplyvňuje funkcie v črevách a množstvo bielych krviniek – bolesti hlavy, alergické reakcie, nevoľnosť, poruchy s dýchaním, žalúdočné a srdcové poruchy, neurotoxicita
Tryptamín (TRP)	 C ₁₀ H ₁₂ N ₂	160,21	+ zvyšuje krvný tlak, neurotransmitter, neuromodulátor – halucinogén, agresivita, bolesti hlavy
Tyamín (TYR)	 C ₈ H ₁₁ NO	137,18	+ antioxidant, uvoľňuje noradrenalin – zvyšuje krvný tlak a srdcovú frekvenciu – kardiovaskulárne problémy, bolesti hlavy, nevoľnosť
Fenyletylamín (PEA)	 C ₈ H ₁₁ N	121,18	+ neurotransmitter, regulácia hladiny noradrenalinu, – halucinogén, zrýchľuje srdcový tep, zvyšuje krvný tlak, vyvoláva úzkosť, nepokoj
Putrescín (PUT)	 C ₄ H ₁₂ N ₂	88,15	+ syntéza DNA, RNA a bielkovín, nevyhnutný pre metabolizmus, rast, obnovu všetkých orgánov tela, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – bolesti hlavy, žalúdočné a črevné problémy
Kadaverín (CAD)	 C ₅ H ₁₄ N ₂	102,18	+ syntéza DNA, RNA a bielkovín, nevyhnutný pre metabolizmus, rast, obnovu všetkých orgánov tela, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – bolesti hlavy, žalúdočné a črevné problémy
Spermín (SPM)	 C ₁₀ H ₂₆ N ₄	202,34	+ syntéza DNA, RNA a bielkovín, regulácia bunkového rastu a proliferácie, obnova všetkých orgánov tela, úprava imunitnej odpovede, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – zníženie krvného tlaku, respiračné problémy, nefrotoxicita, podieľa sa na karcinogéze
Spermidín (SPD)	 C ₇ H ₁₉ N ₃	145,25	+ syntéza DNA, RNA a bielkovín, regulácia bunkového rastu a proliferácie, obnova všetkých orgánov tela, úprava imunitnej odpovede, udržanie metabolickej aktivity, antioxidant – zníženie krvného tlaku, respiračné problémy, nefrotoxicita, podieľa sa na karcinogéze

^a + Pozitívne účinky BA v tele, – negatívne účinky pri predávkovaní sa BA

vrchu vlákna a po uplynutí definovaného času, potrebného na dosiahnutie rovnovážneho stavu, sa desorbuje priamo do prístroja^{50,51}.

Pri UAE sa pri extrakcii využíva energia ultrazvukových vln (frekvencia viac ako 20 kHz). Ultrazvuk v rozpúšťadle vytvárajúci kavitáciu urýchľuje rozpúšťanie a difúziu rozpustenej látky, ako aj prenos tepla, čo zlepšuje účinnosť extrakcie^{53,54}.

Cao a spol. vyvinuli citlivú metódu na stanovenie šiestich BA (TRP, PEA, HIS, TYR, SPD a SPM) v potravinových matriciach. V tejto metóde využili na extrakciu BA zo vzoriek techniku DLLME. K 5 ml roztoku vzorky s pH 9 sa pridalo 400 µl derivatizačného činidla, zmes bola dôkladne premiešaná a inkubovaná počas 15 min pri 60 °C. Na odstránenie prebytočného derivatizačného činidla bolo pridaných 60 µl 25% hydroxidu



Obr. 1. Techniky využívané na extrakciu biogénnych aminov

amónneho. Následne sa na extrakciu pridalo 20 mg magnetickéj iónovej kvapaliny – trihexyltetradecylfosfónium tetrachlórkobaltu (MIL) a 300 μl metanolu a zmes sa vortexovala. Z tejto zmesi pomocou silného magnetu získali MIL spolu s analytom, ktoré rozpustili v 500 μl metanolu, prefiltrovali cez 0,22 μm PTFE filter a analyzovali pomocou HPLC (cit.⁵⁵).

UAE využili vo svojej práci¹³ na kvantifikáciu 6 BA v potravinách. Vzorka (2 g) bola zmiešaná s 20 ml roztoku 5% HClO_4 a vortexovaná 5 min a ultrazvukovaná v kúpeli počas 20 min. Po centrifugácii bola k supernatantu opäť pridaná HClO_4 a extrakcia sa zopakovala. Supernatant bol upravený na pH 3 s použitím NaOH a rozpustený na objem 50 ml v 0,5% HClO_4 . Následne boli 2 ml extraktu zmiešané s 5 ml hexánu, po ustálení bolo odobratých zo spodnej fázy 0,25 ml a zmiešaných s 0,75 ml acetonitrilu, roztok bol prefiltrovaný a analyzovaný HPLC-MS/MS.

LLME s GC-MS bola využitá na stanovenie BA v ovocných džúsoch. Extrakcia BA prebiehala nasledovne: v 2 ml ependorfke bolo zmiešaných 65 μl vzorky s 32,5 mg chloridu sodného. Následne bola vykonaná derivatizácia etylchloroformátom pri izbovej teplote – 11 μl 1 M NaOH bolo pridaných ku vzorke na úpravu pH, nasledované prídavkom 1,2 μl derivatizačného činidla a 1,2 μl trietylamínu. Zmes bola zmiešaná s 260 μl etylacetátu a vortexovaná po dobu 1 min, následne bola zmes centrifugovaná 2 min pri 3500 rpm a analyzovaná pomocou GC-MS (cit.³⁵).

Stanovením BA v alkoholických nápojoch sa zaoberali Gil a spol.⁴⁶. Vzorky nápojov boli odplynené v ultrazvukovom kúpeli, prefiltrované cez 0,2 μm nylonový filter a prečistené pomocou SPE – cca 1 ml vzorky bol nanosený na kolónku a dvakrát vymytý s 1 ml ultračistej vody. Analyty boli kvantitatívne izolované po trojitej elúcii s roztokom metanol : NH_4OH (95 : 5, v/v). Eluát bol vysušený pod prúdom N_2 a rekonštituovaný v 1 ml počiatkovej mobilnej fázy. Pred chromatografickou analýzou bol roztok prefiltrovaný.

3. Metódy stanovenia biogénnych aminov

Na stanovenie biogénnych aminov vo vzorkách sa používa viacero analytických techník, ako sú vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC), plynová chromatografia (GC), kapilárna elektroforéza (CE) a tenkovrstvová chromatografia (TLC)⁹.

3.1. Kvapalinová chromatografia

Najčastejšie používanou metódou na stanovenie BA v potravinách je HPLC na reverzných fázach (RP-HPLC). Na separáciu BA sa v najväčšej miere využívajú stacionárne fázy C18 a C8. Mobilnú fázu tvorí voda^{10,11} alebo tlmivý roztok, najčastejšie octanový¹² alebo mravčanový^{13,14}

a organickú fázu tvorí zvyčajne acetonitril^{10,11,14}. Najpoužívanějšími typmi detekcie a kvantifikácie BA sú ultrafialová (UV)^{7,15}, fluorescenčná (FLD)^{16,17} či hmotnostne spektrometrická (MS)^{18–20}. V závislosti od typu detekcie je potrebné dodanie chromofórov prostredníctvom vhodného derivatizačného činidla. Najčastejšie využívané derivatizačné činidlá pri UV či fluorescenčnej detekcii sú *o*-ftalaldehyd (OPA)^{17,20}, 9-fluoroenylmetyloxykarbonyl chlorid (FMOC-Cl)²⁰, dietyl-etoxy-metylmalonát (DEEMM) (cit.^{21–23}), dansyl chlorid (Dns-Cl)^{15,20,24,25}, fenylizotiokyanát (PITC)^{26,27} a 6-aminochinoly-*N*-hydroxysukcinimidyl-karbamát (AQC)^{9,28}.

Do tejto kategórie patrí aj TLC alebo jej výkonnejšia forma – vysokoúčinná tenkovrstvová chromatografia (HPTLC), ktorá sa pre svoje obmedzenia (pracnosť, citlivosť, obmedzené možnosti kvantifikácie) využíva na stanovenie BA v oveľa menšej miere. Aj napriek tomu niektorí autori túto techniku dodnes využívajú^{29,30}. V oboch uvedených prácach sa autori venovali stanoveniu histamínu v morských živočíchoch. Všeobecne sa ako stacionárne fázy využívajú hliníkové platne potiahnuté silikagélom³⁰, prípadne modifikovaným silikagélom. Mobilnými fázami sú najčastejšie chloroform³¹, trimetylamín³¹, dietyléter³² (samostatne alebo v zmesi) či iné rozpúšťadlá podľa typu zvolenej stacionárnej fázy.

3.2. Plynová chromatografia

Priame stanovenie BA vo vzorkách pomocou GC je náročné vzhľadom na ich relatívne nízku prchavosť a množstvo interferentov v zložitých maticiach. Tieto nedostatky je možné zmierniť extrakciou a derivatizáciou, ktorá zvyšuje prchavosť aminov a uľahčuje detekciu v plynovochromatografickej analýze³³. Na separáciu sa využívajú najčastejšie dimetylpolsiloxánové kapilárne kolóny s mobilnou fázou héliom a MS detekciou^{33–37}. Príkladom využitia GC na stanovenie BA je práca³⁵ popisujúca novú mikroextrakčnú techniku v spojení s GC-MS na stanovenie BA v ovocných šťavách.

3.3. Kapilárna elektroforéza

Kapilárna elektroforéza je menej často využívaná technika na kvantifikáciu BA pre jej nízku senzitivitu na tieto analyty³⁸. Za posledné 3 roky je dostupných iba málo publikácií zaoberajúcich sa stanovením BA vo vzorkách potravín či nápojov^{39,40}. Mantoanelli a spol. optimalizovali metódu CE spojenú so spektrofotometrickou detekciou, ktorou stanovili obsah BA (CAD, HIS, PUT, TRP a TYR) v jogurtoch a syroch³⁹. Vo väčšej miere sa využíva CE na stanovenie BA vo vzorkách moču a v iných telových tekutinách^{41–43}. Napríklad práca⁴³ je zameraná na stanovenie serotonínu v moči pomocou dvojdimenzionálnej kapilárnej izotachofórey – kapilárnej zónovej elektroforézy s MS/MS detekciou.

4. Biogénne amíny vo vybraných druhoch potravín a nápojov

V tab. II je uvedený prehľad prác so stanovením BA vo vzorkách potravín.

Wang a spol.²⁴, Ochi¹⁸ a Shiono a spol.¹⁹ stanovovali obsah BA vo vzorkách rýb pomocou HPLC s PDA (detektor s poľom diód), resp. MS/MS detekciou. Koncentrácie týchto analytov boli v prácach porovnateľné, avšak v mletom rybacom mäse¹⁹ bol ich obsah vyšší ako v čerstvých rybách či konzervovaných. V práci Tsai a spol.⁴⁴ sa zamerali na stanovenie BA vo fermentovanej rybacej omáčke, kde boli ich koncentrácie viac ako 10násobne vyššie v porovnaní s predchádzajúcimi prácami kvôli fermentácii produktu. Pre porovnanie je v tab. II uvedené aj stanovenie BA v sójovej omáčke, kde sú ich hodnoty oproti BA v rybacej omáčke oveľa nižšie (1,99–37,40 mg kg⁻¹)¹³.

Wojnowski a spol.³³ porovnávali obsah BA v kuracom, bravčovom a hovädzom mäse s využitím GC-MS. Obsahy všetkých analytov vo vzorkách boli do 10 mg kg⁻¹, avšak obsahy SPM boli v každom druhu mäsa vyššie, najvyššie v prípade hovädzieho mäsa, a to 23,30 mg kg⁻¹. Naopak, koncentrácia TYR bola vo vzorke hovädzieho mäsa najnižšia (0,2086 mg kg⁻¹). Okrem toho rovnakí autori sledovali čerstvosť vybraných druhov mäsa z hľadiska koncentrácie BA skladovaných pri rôznych podmienkach. Autori vo výsledkoch uvádzajú, že obsah TRP, CAD, PEA a PUT môže poukazovať na čerstvosť mäsa³³.

Pomocou HPLC-UV s off-line predkolónovou derivatizáciou boli stanovené BA v rozličných mäsových výrobkoch (sušená šunka⁷, saláma⁴⁵, párky⁴⁶). Najnižší podiel týchto analytov sa nachádzal v sušenej šunka, niekoľkonásobne vyšší v párkoch, avšak vo vzorke salámy koncentrácie BA (okrem CAD, PEA a SPD) dosahovali viac ako 100 mg kg⁻¹, PUT až 818,5 mg kg⁻¹. Obsah HIS v tejto vzorke (214,1 mg kg⁻¹) dokonca prevyšoval povolený limit HIS v potravinách (200 mg kg⁻¹)⁴⁵.

Dlhším skladovaním potravín dochádza k mikrobiálnej aktivite, a tým k zvýšeniu koncentrácie BA vo vzorkách. Kvantifikáciu BA v zaváraných uhorkách¹³ vykonali Zhang a spol. Koncentrácie BA v tejto vzorke boli nasledovné: CAD 1,76 mg kg⁻¹, PUT 9,13 mg kg⁻¹, TYR 23,32 mg kg⁻¹, PEA 1,36 mg kg⁻¹, HIS 3,63 mg kg⁻¹. Obsahom BA v kyslej kapuste⁷ sa zaoberali Fong a spol. Títo autori porovnávali obsahy BA v kyslej kapuste z obchodu s BA v domácej kyslej kapuste. Zistili, že v domácej kyslej kapuste je obsah BA niekoľkonásobne vyšší oproti kupovanej kapuste. Tieto rozdiely v obsahu možno pripísať hlavne rozdielom v podmienkach skladovania.

V kvasenej kyslej kapuste bol obsah BA niekoľkonásobne vyšší v porovnaní so zaváranými uhorkami. Napríklad obsah PUT bol v kyslej kapuste viac ako 10násobne vyšší v porovnaní s obsahom PUT v zaváraných uhorkách.

Významný obsah BA sa nachádza v mliečnych výrobkoch, hlavne v syroch. Renes a spol.²¹ sledovali zmeny koncentrácie vybraných BA v ovčích syroch na základe

Tabuľka II
Stanovenie BA vo vybraných druhoch potravín

Matrica	Metóda stanovenia	Koncentrácia BA vo vzorke v mg kg ⁻¹	
Konzervované ryby ²⁴	HPLC-PDA	CAD 1,40–3,37 PEA 0,94–1,84 PUT 1,19–2,24 SPD 0,90–2,73	SPM 0,69–2,54 TRP 1,57–5,14 TYR 0,92–1,67
Makrela ¹⁸	LC-MS/MS	PUT 1,23 SPD 3,44	SPM 3,40
Mleté sardinky ¹⁹	LC-MS/MS	CAD 39–75 HIS 2,1–49	TYR 2,2–31
Rybacia omáčka ⁴⁴	HPLC-UV	CAD 759,1 HIS 247,3 PUT 284,9	SPD 138,7 SPM 249,6 TYR 426,2
Kuracie mäso ³³	GC-MS	CAD 8,706 HIS 4,332 PUT 1,116	SPM 15,76 TRP 2,132 TYR 3,116
Bravčové mäso ³³	GC-MS	CAD 6,330 HIS 3,752 PUT 0,762	SPM 10,180 TRP 4,42 TYR 1,118
Hovädzie mäso ³³	GC-MS	HIS 1,266 SPM 23,30	TRP 7,582 TYR 0,2086
Sušená šunka ⁷	HPLC-UV	CAD 6,4 PEA 0,1 PUT 2,2 SPD 1,6	SPM 8,2 TRP 0,2 TYR 1,9
Saláma ⁴⁵	HPLC-DAD	CAD 54,5 HIS 214,1 PEA 52,4 PUT 818,5	SPD 54,5 SPM 128,6 TRP 123,9 TYR 346,9
Cottage párky ⁴⁹	HPLC-UV	CAD 31,0 HIS 8,7 PUT 17,7 SPD 26,1	SPM 76,3 TRP 13,3 TYR 10,8
Zavárané uhorky ¹³	HPLC-MS/MS	CAD 1,76 HIS 3,63 PEA 1,36	PUT 9,13 TYR 23,32
Kyslá kapusta ⁷	HPLC-PDA	CAD 41,1	PUT 98,3
Sójová omáčka ¹³	HPLC-MS/MS	HIS 13,90 PEA 1,99	PUT 3,75 TYR 37,40
Probiotický jogurt ¹⁰	RP-HPLC-DAD	CAD 8,22 PUT 4,18 SPD 4,83	SPM 6,34 TYR 14,20
Ovčí syr ²¹ (doba zretia 240 dní)	UHPLC-PDA	CAD 89,47 PEA 69,79	PUT 75,45 TYR 585,47

rôznej doby zretia týchto syrov. Koncentrácia CAD, PEA, PUT a TYR v syre po 240 dňoch zretia je uvedená v tab. II. Na základe teoretických poznatkov o mikrobiologických procesoch, ktoré potvrdili aj výsledky práce týchto autorov, je zrejme, že čím dlhšia je doba zretia syrov, tým vyšší obsah BA sa v syre nachádza.

Vieira a spol.¹⁰ vyvinuli RP-HPLC-DAD metódu na stanovenie BA vo viacerých druhoch jogurtov

(probiotický, prírodný, grécky, sladený, bezlaktózový, atď.). Obsahy vybraných BA v probiotických jogurtoch boli v rozmedzí 4,18–14,20 mg kg⁻¹. Vzorky probiotických jogurtov vykazovali najvyššiu koncentráciu celkových BA. To môže byť spôsobené niektorými kmeňmi probiotík, u ktorých je hlásená vyššia schopnosť produkcie BA.

V tab. III je uvedený prehľad prác so stanovením BA vo vzorkách nápojov.

V roku 2019 bola publikovaná práca¹⁶, cieľom bolo zistiť obsah BA v rôznych druhoch rastlinného mlieka kvôli vhodnosti tohto nápoja pri histamínovej intolerancii. Obsahy BA v jačmennom a ovsenom mlieku sú uvedené v tab. III. Ako vyplýva z tejto tabuľky, koncentrácia CAD bola v jačmennom mlieku 5× vyššia ako v ovsenom mlieku. Naopak, v ovsenom mlieku bola koncentrácia HIS takmer 3× vyššia ako v jačmennom mlieku.

V rámci kvantifikácie BA vo vzorkách nápojov sa značná pozornosť venuje ich stanoveniu v pive, nakoľko táto matrica obsahuje rôzne hodnoty BA. V práci⁴⁶ na stanovenie využili HPLC s potenciometrickou detekciou, zatiaľ čo v práci⁴⁷ stanovenie prebiehalo s využitím CE v spojení s MS/MS. Na základe výsledkov z oboch analýz (tab. III) môžeme tvrdiť, že koncentrácie BA sú porovnateľné.

Rôzne metódy na sledovanie obsahu BA vo vzorkách vín využili aj Han a spol.²⁵ či Daniel a spol.⁴⁷, kde autori²⁵ využili ultravysokoučinnú kvapalinovú chromatografiu (UHPLC) s PDA detektorom a autori⁴⁷ využili už spomínanú CE s MS/MS. Z výsledkov vyplýva, že priemerné koncentrácie všetkých BA sú vo vzorkách červeného vína

vyššie ako vo vzorkách bieleho vína kvôli dlhšej dobe kvasenia červeného vína. Taktiež v oboch prácach PUT prevyšuje koncentrácie ostatných BA. Vo všeobecnosti je obsah PUT vyšší v červených vínach ako v bielych z dôvodu prítomnosti šupky a dužiny hrozna, z ktorých sa do vína uvoľňuje PUT (cit.⁴⁸).

Všeobecne najviac používanou technikou na stanovenie BA vo vzorkách potravín a nápojov je HPLC, resp. UHPLC s MS detekciou. Táto metóda je vysokocitlivá a v spojení s MS detekciou nevyžaduje derivatizáciu týchto analytov. GC sa na stanovenie BA v potravinových matriciach využíva menej často kvôli množstvu interferentov zo zložitej matrice a nízkej prchavosti BA. CE je v posledných rokoch málo využívanou technikou kvantifikácie BA v potravinách a nápojoch pre jej nízku senzitivitu na tieto analyty.

5. Záver

Tento prehľadný referát je venovaný metódam stanovenia BA vo vzorkách potravín a nápojov publikovaných za posledné 3 roky. Je dôležité monitorovať hladiny BA v potravinách a nápojoch vzhľadom na ich význam pre

Tabuľka III
Stanovenie BA vo vybraných druhoch nápojov

Matrica	Metóda stanovenia	Koncentrácia BA vo vzorke v mg l ⁻¹	
Jačmenné mlieko ¹⁶	RP-HPLC-FLD	CAD 3,10	SPM 0,12
		HIS 2,55	TYR 0,43
		SPD 0,21	
Ovsené mlieko ¹⁶	RP-HPLC-FLD	CAD 0,67	SPD 0,57
		HIS 7,20	SPM 0,13
Pivo ⁴⁶	HPLC s potenciometrickou detekciou	CAD 0,25	SPD 0,34
		HIS 0,21	SPM 0,58
		PEA 0,50	TRP 0,59
		PUT 0,30	TYR 0,74
Pivo ⁴⁷	CE-MS/MS	CAD 0,28	SPD 0,47
		HIS 0,75	SPM 2,24
		PEA 0,37	TRP 0,59
		PUT 5,89	TYR 1,17
Víno ⁴⁷	CE-MS/MS	CAD 0,17	SPM 0,12
		HIS 2,08	TRP 1,14
		PUT 9,27	TYR 0,29
		SPD 0,75	
Biele víno ²⁵	UPLC-PDA	CAD 0,90 ^a	SPD 0,60 ^a
		HIS 1,34 ^a	SPM 0,05 ^a
		PEA 1,63 ^a	TRP 2,27 ^a
		PUT 3,60 ^a	TYR 1,19 ^a
Červené víno ²⁵	UPLC-PDA	CAD 1,36 ^a	SPD 1,37 ^a
		HIS 2,04 ^a	SPM 0,31 ^a
		PEA 2,25 ^a	TRP 2,72 ^a
		PUT 8,02 ^a	TYR 2,47 ^a

^a Priemerná hodnota koncentrácie aminu z rôznych druhov vína

ľudské zdravie a bezpečnosť potravín. Koncentrácie BA, ako sú HIS, CAD, PUT, SPD a TYR, dávajú informácie o čerstvosti potravín. Stanovenie BA v čerstvých a spracovaných potravinách je veľmi zaujímavé nielen kvôli ich toxicite, ale aj preto, že môžu byť užitočným indikátorom dozrievania alebo znehodnotenia potravín.

V súčasnosti je na stanovenie BA v týchto maticiacich najviac využívaná metóda HPLC spojená so spektrofotometrickou alebo MS detekciou. TLC, GC a CE sa na kvantifikáciu BA pre ich obmedzenia využívajú v oveľa menšej miere ako HPLC. Potreba vyvíjať citlivé metódy s nízkou medzou stanovenia BA narastá so zvýšeným výskytom alergických reakcií po konzumácii potravín obsahujúcich vyššie koncentrácie BA. Okrem týchto výkonných separačných techník sa do budúcnosti ako perspektívne na stanovenie BA javí využitie biosenzorov alebo elektrochemických senzorov.

Vypracované s podporou grantovej agentúry (APVV-17-0113, KEGA 025UCM-4/2021).

LITERATÚRA

- Zhang Y., Zhang Y., Zhou Y., Li G., Yang W., Feng X.: *J. Chromatogr. A* 1605, 360 (2019).
- Jaguey-Hernández Y., Aguilar-Arteaga K., Ojeda-Ramirez D., Añorve-Morga J., González-Olivares L. G., Castañeda-Ovando A.: *Food Res. Int.* 144, 110341 (2021).
- Michalski R., Pecyna-Utylska P., Kernert J.: *J. Chromatogr. A* 1651, 462319 (2021).
- Vasconcelos H., de Almeida J. M. M. M., Matias A., Saraiva C., Jorge P. A. S., Coelho L. C. C.: *Trends Food Sci. Technol.* 113, 86 (2021).
- Maddaloni L., Grasso S., De Gara L., Pennazza G., Zompanti A., Rapa M., Ruggieri R., Vinci G., Santonico M.: *Sens. Actuators, B* 347, 130648 (2021).
- Park Y. K., Lee J. H., Mah J.-H.: *Food Chem.* 278, 1 (2019).
- Fong F. L. Y., El-Nezami H., Sze E. T. P.: *NFS J.* 23, 52 (2021).
- Arulkumar A., Paramithiotis S., Paramasivam S.: *Aquac. Fish.*, v tlači, doi: 0.1016/j.aaf.2021.02.001.
- Nalazek-Rudnicka K., Kubica P., Wasik A.: *Microchem. J.* 159, 105574 (2020).
- Vieira C. P., Costa M. P., Silva V. L. M., Frasco B. S., Aquino L. F. M. C., Nunes Y. E. C. O., Conte-Junior C. A.: *Arabian J. Chem.* 13, 1582 (2020).
- Mirzaei H., Mogaddam M. R. A., Khandaghi J.: *Microchem. J.* 177, 107313 (2022).
- Huang Y., Song Y., Chen F., Jiang Z., Che Z., Yang X., Chen X.: *Food Chem.* 353, 129423 (2021).
- Zhang X., Hui Y., Jiang M., Cai Y., Huang D., Yang G., Kong C.: *J. Chromatogr. A* 1653, 462415 (2021).
- Gil R. L., Amorim C. G., Montenegro M. C. B. S. M., Araújo A. N.: *Electrochim. Acta* 378, 138134 (2021).
- Wei L., Zhao J., Meng Y., Guo Y., Luo C.: *LWT – Food Sci. Technol.* 118, 108874 (2020).
- Gobbi L., Ciano S., Rapa M., Ruggieri R.: *Beverages* 5, 40 (2019).
- Kouti E., Tsiasioti A., Zacharis C. K., Tzanavaras P. D.: *Microchem. J.* 168, 106513 (2021).
- Ochi N.: *J. Chromatogr. A* 1601, 115 (2019).
- Shiono K., Tsutsumi T., Nabeshi H., Ikeda A., Yokoyama J., Akiyama H.: *J. Chromatogr. A* 1643, 462046 (2021).
- Lkhagva A., Shen C.-C., Leung Y.-S., Tai H.-C.: *J. Chromatogr. A* 1610, 460536 (2020).
- Renes E., Ladero V., Tornadizo M. E., Fresno J. M.: *Food Microbiol.* 78, 1 (2019).
- Maciel L. S., Marengo A., Rubiolo P., Leito I., Herodes K.: *J. Chromatogr. A* 1656, 462555 (2021).
- Poveda J. M.: *Food Control* 96, 227 (2019).
- Wang J., Liu Z., Qu Y.: *J. Chromatogr. A* 1636, 461768 (2021).
- Han B., Han X., Deng H., Wu T., Li Ch., Zhan J., Huang W., You Y.: *Food Control* 136, 108859 (2022).
- Taubert J., Adolph S., Scherer R., Südekum K.-H.: *Anim. Feed Sci. Technol.* 258, 114305 (2019).
- Kim K.-Y., Kwon H.-J., Cho S.-H., Nam M., Kim C.-W.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 172, 33 (2019).
- Macheiner L., Schmidt A., Wagner M., Mayer H. K.: *LWT – Food Sci. Technol.* 154, 112664 (2022).
- Tan A., Zhao Y., Sivashanmugan K., Squire K., Wang A. X.: *Food Control* 103, 111 (2019).
- Zhang Y., Yu J., Lai S., Song J., Wu X., Wang D., Pang L., Chai T.: *Food Control* 122, 107816 (2021).
- Topić Božič J., Butinar L., Bergant Marušič M., Korte D., Mozetič Vodopivec B.: *LWT – Food Sci. Technol.* 156, 112908 (2022).
- Silva I. P., Dias L. G., Silva M. O., Machado C. S., Paula V. M. B., Evangelista-Barreto N. S., Carvalho C. A. L., Estevinho L. M.: *LWT – Food Sci. Technol.* 121, 108969 (2020).
- Wojnowski W., Namieśnik J., Płotka-Wasyłka J.: *Microchem. J.* 145, 130 (2019).
- Stój A., Płotka-Wasyłka J., Simeonov V., Kapłan M.: *Food Chem.* 371, 131172 (2022).
- Róžańska A., Fabjanowicz M., Kalinowska K., Polkowska Z., Płotka-Wasyłka J.: *Food Chem.* 384, 132557 (2022).
- Niedźwiedz I., Płotka-Wasyłka J., Kapusta I., Simeonov V., Stój A., Waško A., Pawłat J., Polak-Berecka M.: *Food Chem.* 381, 132257 (2022).
- Özogul İ., Kuley E., Ucar Y., Yazgan H., Özogul Y.: *Food Biosci.* 41, 101087 (2021).
- Nayik G. A., Kour J. (ed.): *Handbook of Plant and Animal Toxins in Food: Occurrence, Toxicity, and Prevention*. CRC Press, Boca Raton 2022.
- Mantoanelli J. O. F., Gonçalves L. M., Pereira E. A.: *Chromatographia* 83, 767 (2020).
- Pashangeh S., Shekarforoush S. S., Aminlari M., Hosseinzadeh S., Nizet V., Dahesh S., Rahmdel S.: *Food Sci. Nutr.* 10, 354 (2022).
- Maráková K., Piešťanský J., Zelinková Z., Mikuš P.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 186, 113294 (2020).
- Hrušková H., Voráčová I., Řemínek R., Foret F.: *J. Sep. Sci.* 45, 305 (2022).

43. Piešťanský J., Matušková M., Čizárová I., Majerová P., Kováč A., Mikuš, P.: *J. Chromatogr. A* 1648, 462190 (2021).
44. Tsai Y.-C., Chen K.-R., Liao F.-Y., Weng J.-R., Feng C.-H.: *J. Chromatogr. A* 1659, 462629 (2021).
45. Roselino M. N., Maciel L. F., Sirocchi V., Caviglia M., Sagratini G., Vittori S., Taranto M. P., Cavallini D. C. U.: *J. Food Compos. Anal.* 94, 103649 (2020).
46. Gil R. L., Amorim C. G., Montenegro M. C. B. S. M., Araújo A. N.: *Food Chem.* 372, 131288 (2022).
47. Daniel D., Santos V. B., Vidal D. T. R., Lago C. L.: *J. Chromatogr. A* 1416, 121 (2015).
48. Esposito F., Montuori P., Schettino M., Velotto S., Stasi T., Romano R., Cirillo T.: *Molecules* 24, 3629 (2019).
49. Surówka K., Maciejaszek I., Walczak K., Walczycka M., Surówka B., Rzepka M., Banaś J.: *Czech J. Food Sci.* 37, 325 (2019).
50. Labuda J., Špánik I., Tarapčík P., Hrouzková S., Vrábek V., Benická E., Hroboňová K., Sádecká J., Beinrohr E., Liptaj T.: *Analytická chémia*. Nakladateľstvo STU, Bratislava 2014.
51. Mikuš P., Piešťanský J., Dokupilová S.: *Kvapalinová chromatografia, hmotnostná spektrometria a ich kombinácie vo farmaceutickej a biomedicínskej analýze*. VEDA – vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava 2018.
52. Molaei R., Tajik H., Moradi M.: *Food Control* 101, 1 (2019).
53. Abubakar A. R., Haque M.: *J. Pharm. Bioallied Sci.* 12, 1 (2020).
54. Zhang Q.-W., Lin L.-G., Ye W.-C.: *Chin. Med.* 13, 20 (2018).
55. Cao D., Xu X., Xue S., Feng X., Zhang L.: *Talanta* 199, 212 (2019).

I. Gerhardtová^a, J. Sokol^a, M. Maliarová^a, N. Martinka^b, and T. Jankech^a (^a*Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, University of Ss. Cyril and Methodius in Trnava, Trnava*, ^b*Department of Clinical Biochemistry, A. Winter Hospital, Piešťany*): **Determination of Biogenic Amines in Food and Beverage Samples**

Biogenic amines are low-molecular-weight nitrogen compounds that are formed primarily by the decarboxylation of amino acids by microbial enzymes. These active substances are found mainly in various types of food or beverages. At certain concentrations, biogenic amines are essential for many physiological functions but toxic if consumed in large quantities. Therefore, the development and optimization of methods sensitive to determine these substances are very much needed. The determination of biogenic amines in food and beverages by the most commonly used separation methods with different types of detection is covered in this review.

Keywords: biogenic amines, methods of determination, nitrogen compounds, food, beverages

- Gerhardtová I., Sokol J., Maliarová M., Martinka N., Jankech T.: *Chem. Listy* 116, 528–535 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220528>