Aminy biogenne w serach – występowanie i zagrożenia*)

GENOWEFA BONCZAR, MAGDA FILIPCZAK-FIUTAK,
AGNIESZKA PLUTA-KUBICA, IWONA DUDA

Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Otrzymano 17.03.2016

Zaakceptowano 29.11.2016

Bonczar G., Filipczak-Fiutak M., Pluta-Kubica A., Duda I.
Biogenic amines present in cheese – occurrence and threats

Summary

The review presents the general characteristics of biogenic amines present in cheese: the formation, the influence on the human body, the threats that ensue from the intake of them with food, the current limits of their amount in food and their ingestion, and also the methods of reducing the content of biogenic amines in food. Particular attention has been drawn to the presence of biogenic amines in cheese and the factors that determine the amount of these substances in cheese. The effect of microorganisms on the level of the amines in cheese, time and temperature of ripening and storing of cheese, as well as other factors like pH of cheese, salt concentration, pasteurization and homogenization of milk, accessibility of oxygen, redox potential, part of cheese and starter culture addition were discussed. The presented data indicate that biogenic amines are present in cheese in varying amounts, sometimes reaching levels toxic to humans. The main factors that increase the content of biogenic amines in cheese are microorganisms, in particular those not from the starter, long time and high temperature of ripening and storing. The decrease of biogenic amines content in cheese is favoured by pasteurization and homogenization of milk and by employment of high pressure on cheese (400-600 MPa). Other factors, such as pH, salt concentration, addition of starter cultures and herbs, accessibility of oxygen, redox potential also have an influence on the amount of biogenic amines in cheese; these, however, vary.

Keywords: biogenic amines, cheese, threats, microorganisms, factors

Aminy biogenne znajdujące się w produktach żywnościowych mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia człowieka, szczególnie po dużym jednorazowym ich spożyciu. Również w niektórych stanach fizjologicznych organizmu, chorobach czy przy stosowaniu pewnych leków nawet niewielkie ich ilości mogą wywołać niekorzystne reakcje organizmu. Jako źródło zagrożeń aminami biogennymi są wymieniane różne produkty spożywcze. Sery zajmują drugą po rybach pozycję pod względem zawartości tych związków.

Charakterystyka i oddziaływanie na organizm człowieka

Aminy biogenne są to związki biologicznie czynne, obecne w organizmach zwierzęcych, roślinnych i człowieka. W żywności są formowane przez mikrobiologiczną dekarboksylację aminokwasów, redukcijną aminację aldehydów i ketonów, transaminację albo hydrolityczną degradację związków azotu (3).

*) Praca została sfinansowana z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową DS-3705/WTŻ/2016.

W wyniku tych przemian mogą powstać monoaminy (np. etanoloamina, etyloamina), diaminy (kadaweryna, putrescyna) i poliaminy (spermidyna). Budowa amin pozwala na zaliczenie ich do związków alifatycznych (etanoloamina, etyloamina, putrescyna, kadaweryna, izopentyloamina, heksyloamina, heptyloamina), aromatycznych (histamina, tyramina, beta-fenyloetyloamina) albo heterocyklicznych (tryptamina). W organizmie człowieka są metabolizowane przez odpowiednie oksydazy (np. monoaminooksydazy lub diaminooksydazy), jednak przy wysokim spożyciu amin biogennych i braku lub ograniczonej aktywności enzymów metabolizujących poziom ich w organizmie człowieka zwiększa się, zagrażając zdrowiu, a nawet życiu (13, 23).

Histamina jest syntetyzowana w organizmie człowieka w komórkach tucznych, bazofilach, płytkach krwi, neuronach i in., a metabolizowana w wątrobie przez diaminooksydazę. Działa na hormony i neuroprzekaźniki, uczestniczy w reakcjach alergicznych przez wiązanie z receptorami wpływającymi m.in. na skurcz komórek mięśni gładkich (jelit, płuc, macicy),

rozszerzanie naczyń krwionośnych, a tym samym wpływ osocza krwi do błon śluzowych i tkanki podskórnej (13). W żywności powstaje jako wynik głębokich przemian proteolitycznych, doprowadzających do kumulacji aminokwasu histydy, która jest substratem dla tej aminy (13, 23).

U osób zdrowych histamina dostająca się z pokarmem ulega szybkiej detoksyfikacji przez oksydazę diaminową (DAO), jednak w przypadku spożycia jej w dużej ilości może nastąpić zaburzenie w utlenianiu z powodu nadmiaru substratu w stosunku do enzymu metabolizującego. Utlenianie histaminy może być też zachwiane w wypadku braku aktywności DAO spowodowanej np. predyspozycjami genetycznymi, chorobami żołądkowymi czy stosowaniem leków z inhibitorami DAO (13, 22). Dochodzi wówczas do wystąpienia objawów zatrucia, takich jak m.in.: bóle głowy, niedociśnienie, tachykardia, dodatkowe skurcze, wydzielina z nosa, skurcz oskrzeli, obrzęk powiek, pokrzywka, świąd, uderzenia gorąca, astma i in. (3, 8, 13, 23). Histamina pokarmowa jest uważana za czynnik promigrenowy w przypadku np. braków diaminooksydazy (13).

Tyramina, fenyloetyloamina i tryptamina są to aminy biogenne, które powstają przez dekarboksylację, odpowiednio, tyrozyny, fenyloalaniny i tryptofanu. U ludzi są one związane z funkcjami neuromodulacyjnymi, uważa się, że odgrywają rolę w takich chorobach człowieka, jak: schizofrenia, depresja, zespół nadpobudliwości czy Parkinsona. Aminy te dostając się z pokarmem w dużej ilości, mogą być przyczyną zwężenia naczyń krwionośnych i tym samym nadciśnienia, zwiększenia częstości akcji serca oraz innych objawów, jak: bóle głowy, pocenie się, wymioty, rozszerzenie źrenic (13).

Putrescyna i kadaweryna to diaminy, z których pierwsza powstaje głównie z ornityny, a druga z lizyny w obecności odpowiednich dekarboksylaz. Mogą być one degradowane (utleniane) przez odpowiednią diaminooksydazę z wytworzeniem aldehydów. Putrescyna jest ważnym składnikiem wszystkich komórek ssaków, prekursorem poliamin (spermidyny i sperminy), jest zaangażowana w różnych etapach namnażania zdrowych, a także nowotworowych komórek. Rola kadaweryny nie jest poznana. Spożycie dużej ilości tych diaminy wywołuje niepożądane skutki, jak: niedociśnienie, bradykardia, szczykościsk i niedowład kończyn (13). Ponadto putrescyna i kadaweryna mogą reagować z azotynami, tworząc rakotwórcze nitrozaminy (22).

Stwierdzono, że toksyczność amin biogennych u człowieka związana jest nie tylko z ilością pobranych z pokarmem i wcześniej wymienionych czynników, ale też obecnością innych amin, szczególnie putrescyny i kadaweryny, niektórymi stanami fizjologicznymi (np. u kobiet w ciąży), chorobami np. z przewlekłą pokrzywką, atopowym zapaleniem skóry, zapaleniem

układu oddechowego, chorobami układu krwionośnego (chorobą wieńcową, nadciśnieniem), z problemami żołądkowo-jelitowymi, ze zmienionymi komórkami nabłonka jelita, ze stanami zapalnymi i nowotworowymi błony śluzowej żołądka, w zespole jelita drażliwego, chorobie Crohna, z wrzodami żołądka i jelita oraz przy niedoborze wit. B6, a także przyjmowaniem leków blokujących oksydazy aminowe stosowane np. w leczeniu stresu, depresji, choroby Alzheimera i Parkinsona, a także leków przeciwbólowych, przeciwnadciśnieniowych, przeciwwgrzybiczych, antybiotyków, środków przeciwbiegunkowych, dymem nikotynowym, alkoholem, aldehydem octowym, fenolem i in. (13). Szacuje się, że 20% populacji może być nadwrażliwa na działanie amin biogennych z powodu stosowania tych leków, a 15% z powodu defektu genetycznego.

Sery, po rybach, są najczęstszą przyczyną zatrucia u ludzi związanych z obecnością amin, szczególnie histaminy (11, 12, 13). Na podstawie licznych badań European Food Safety Authority (EFSA) (13) podała, że do najbardziej toksycznych produktów spożywczych, poczynając od najmniej niebezpiecznych, należą w przypadku histaminy, kolejno: ryby i produkty rybne, fermentowane kielbaski, ser, sosy rybne, fermentowane warzywa, a w przypadku tyraminy – piwo, ser, fermentowane kielbaski, fermentowane mięso ryb, mięso konserwowane. Zatrucia aminami stwierdzono po spożyciu serów: goudy, szwajcarskiego, cheddara, gruyera, cheshire (11-14, 27). Epidemię wywołaną spożyciem tartego sera zawierającego histaminę w toksycznym stężeniu (od 850 do 1870 mg/kg) zanotowano w 2006 r. w Hiszpanii (13).

Ze względu na występowanie zagrożeń związanych z obecnością w niektórych produktach spożywczych amin biogennych od szeregu lat podejmowane są działania w celu ustalenia limitów dla zawartości amin biogennych w żywności oraz maksymalnych dawek jednorazowego pobrania tych amin przez konsumentów.

W niektórych krajach obowiązujący kodeks żywnościowy wyznacza limity dopuszczalnej zawartości amin biogennych w produktach spożywczych. Codex Alimentarius ustalił dla zawartości histaminy w rybach limit 200 mg/kg. W dokumentach prawnych USA limity te również odnoszą się do ryb i wynoszą < 0,20 mg/100 g, a w Kanadzie, Australii i Nowej Zelandii < 10 mg/100 g (9). W Republice Słowacji przyjęto limit do 200 mg/kg dla zawartości histaminy i tyraminy w rybach i produktach rybnych, w Turcji dopuszcza się w rybach poziom histaminy do 200 mg/100 g, a w winach do 10 mg/kg (8). Netherlands Institute for Dairy Research rekomenduje dla mięsa i produktów mięsnych limit dla histaminy 100-200 mg/kg (5, 6, 13, 28, 29, 32). El-Kosi i wsp. (9) podają za innymi autorami, że maksymalna zawartość histaminy w produktach spożywczych powinna mieścić się między 50 a 100 mg/kg, a tyraminy od 100 do 800 mg/kg,

zaś obecność histaminy w produktach spożywczych w ilości od 500 do 1000 mg/kg stanowi potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka. W żadnym kraju nie limituje się jednak poziomu amin biogennych w serach (9, 13).

Biorąc pod uwagę spożycie produktów żywnościowych i wynikające z niego potencjalne zagrożenia, EFSA (13) uznała, że nie ma negatywnych skutków dla zdrowia człowieka w przypadku spożycia 50 mg histaminy i 600 mg tyraminy przez zdrową osobę w czasie jednego posiłku. Dla putrescyny i kadaweryny nie proponowano limitów, ze względu na brak wystarczających danych.

Zawartość amin biogennych w serach

Obecność amin biogennych w produktach spożywczych jest związana z przebiegającymi w nich procesami proteolitycznymi. W serach, szczególnie dojrzewających, podstawą osiągnięcia pełnej dojrzałości, czyli właściwych, charakterystycznych cech sensorycznych, są m.in. procesy proteolityczne (6, 23, 28, 29). Proteoliza w serach jest skutkiem działania enzymów rodzimych mleka (np. plazminy), koagulanty (np. reniny z podpuszczki lub innych preparatów koagulujących), proteaz, peptydaz i innych enzymów (m.in. transaminaz, dekarboksylaz, deaminaz) pochodzenia mikrobiologicznego. W wyniku proteolizy na różnych etapach dojrzewania serów powstają polipeptydy, oligopeptydy, peptydy i wreszcie aminokwasy. Aminokwasy w dalszych przemianach mogą być przekształcane w inne związki: inne aminokwasy, aldehydy, ketony, aminy i inne produkty ich degradacji (23). Udowodniono, że dla niektórych dekarboksylaz substratami może być więcej niż jeden aminokwas (23). Dekarboksylazy są produkowane w komórkach zwierzęcych oraz przez bakterie. Im głębsze przemiany białek w serach, tym znajduje się w nich więcej aminokwasów, będących substratami do powstawania amin w wyniku działania dekarboksylaz aktywnych w stosunku do konkretnego aminokwasu.

Liczne badania wskazują na rolę enzymów pochodzenia mikrobiologicznego w powstawaniu amin biogennych. Udowodniono, że niektóre gatunki bakterii, drożdży i pleśni charakteryzują się bardzo wysoką aktywnością dekarboksylaz, z kolei inne takiej aktywności nie wykazują (13). Żywność fermentowana, której właściwości w znacznej mierze zależą od przemian m.in. proteolitycznych, może być potencjalnym źródłem amin biogennych, ze względu na nagromadzenie w niej aminokwasów i obecność dekarboksylaz pochodzenia mikrobiologicznego (13, 28, 29).

Sery dojrzewające lub niedojrzewające podpuszczkowe lub kwasowe są produktami fermentowanymi, gdzie proteoliza jest bardziej lub mniej zaawansowana w zależności od rodzaju sera, jakości surowca, metody produkcji, warunków dojrzewania i wielu innych czynników (23), których mnogość jest powo-

dem różnicowania serów pod względem zawartości amin biogennych, co obrazuje tab. 1. Z badań wielu autorów (7, 8, 11-14, 17, 25, 26, 30, 32) wynika, że w różnych serach mogą przeważać pojedyncze aminy, podczas gdy inne występują w mniejszych czy nawet śladowych ilościach. W jednych serach dominuje histamina, w innych zaś tyramina, w jeszcze innych putrescyna, kadaweryna, tyramina, fenyloetyloamina lub tryptamina (2, 7, 8, 18). Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 1, w serach zawartość amin biogennych waha się od 0 do 321 mg/kg w przypadku histaminy, do 2269,3 mg/kg – tyraminy, do 449 mg/kg – putrescyny, do 1302,86 mg/kg – kadaweryny, do 42,6 mg/kg – tryptaminy, do 305 mg/kg – fenyloetyloaminy, do 21,1 mg/kg – spermidyny, do 199,8 mg/kg – sperminy. Ogólna zawartość amin biogennych w różnych serach waha się średnio od 4,4 mg/kg do 2557,69 mg/kg (tab. 1).

Biorąc powyższe pod uwagę sery mogą być zaliczone do produktów o dużej zawartości amin biogennych. Według EFSA (13), pod względem poziomu histaminy jedynie ryby i produkty rybne wyprzedzają sery, zawierając jej trzykrotnie więcej, natomiast w dalszej kolejności są produkty alkoholowe i mięsne, zawierające 3-4 razy mniej histaminy w porównaniu z serami. Produkty mleczne, w tym sery, są głównym źródłem tyraminy, putrescyny, kadaweryny i tryptaminy, natomiast źródłem fenyloetyloaminy – produkty mięsne i rybne (13). Z zestawienia EFSA i innych badań (10, 13, 20) wynika, że świeże sery zawierają mniej amin biogennych w porównaniu z dojrzewającymi, z wyjątkiem serów kwasowych, w których stwierdzono wysoki poziom tych związków (tab. 1).

Czynniki warunkujące formowanie amin biogennych w serach

Drobnoustroje. Na zależność między zawartością amin biogennych w serach i obecnością w nich niektórych gatunków drobnoustrojów wskazują wyniki badań wielu autorów (8, 11, 12, 13, 24, 25, 28). Pintado i wsp. (24) badając tradycyjne portugalskie sery terrincho, stwierdzili wysokie i statystycznie istotne współczynniki korelacji między zawartością niektórych amin i liczbą komórek różnych drobnoustrojów. Podają, że współczynnik korelacji między liczbą komórek *Enterococcus* i zawartością fenyloetyloaminy wynosi $r = 0,868$, histaminy $r = 0,864$, między liczbą komórek *Lactococcus* i zawartością kadaweryny $r = 0,646$, tyraminy $r = 0,868$. Calzada i wsp. (6) podają, że korelacja między zawartością tyraminy i liczbą komórek *Lactobacillus* jest mniejsza niż z liczbą komórek *Enterococcus*, natomiast w przypadku histaminy jest mniejsza z liczbą komórek *Enterococcus* i *Lactococcus* niż z *Lactobacillus*.

Zdolność do wytwarzania histaminy stwierdzono u koagulazoujemnych i Gram-dodatnich bakterii. Według różnych autorów dekarboksylazę histydyny,

Tab. 1. Zawartość amin biogennych w serach wg różnych autorów

Amina biogenna	Ser	Ilość [mg/kg sera]	Piśmiennictwo	Ser	Ilość [mg/kg sera]	Piśmiennictwo
Histamina	maziowe	0-54	(13, 25)	tradycyjne w Iranie	37,59-105,21	(27)
	Pecorino	0-261	(17, 28)	Rokpol	8-24	(14)
	Cazu Marzu	0-99,3	(17)	Gouda, Edam	0-450	(13, 14, 23, 33)
	Mish	9-31	(11)	sery świeże	3,2-38	(13)
	Ras	12-26	(11)	sery twarde	25-65	(13)
	blue cheese	3-910	(11, 13, 23, 33)	kwasowe	51,3-55	(13)
	Cheddar	0-2120	(13, 23, 33)	Parmezan	0-293	(23)
	Brie, Camembert	0-480	(14, 23, 33)	Civil ser turecki	94,76	(7)
	Ołomunieckie twarożki	165,7-321,1	(31)	Ementaler	69-650	(14, 23)
	Feta	84,6	(34)			
Tyramina	maziowe	8,8-220,5	(13, 25)	tradycyjne w Iranie	8,48-351,12	(27)
	Pecorino	0-1300	(17, 28)	Rokpol	17,7-62,5	(14)
	Cazu Marzu	0-231,4	(17)	Gouda, Edam	0,1-670	(13, 14, 23, 33)
	Mish	6-19	(11)	sery świeże	12,8-48	(13)
	Ras	3-14	(11)	sery twarde	67,1-103	(13)
	blue cheese	0-2269	(11, 13, 23, 33)	kwasowe	335	(13)
	Cheddar	0-1530	(13, 23, 33)	Parmezan	85-280	(23)
	Brie, Camembert	0-220	(14, 23, 33)	Civil ser turecki	138,16	(7)
	Ołomunieckie twarożki	224,9-524,2	(31)	Ementaler	0-917	(14, 23)
	Feta	246	(34)			
Putrescyna	maziowe	0-117,5	(25)	tradycyjne w Iranie	156-438	(27)
	Pecorino	0-579,6	(17, 28)	Gouda, Edam	7-20	(23)
	Cazu Marzu	1,9-165,8	(17)	sery świeże	5,5-41	(13)
	Mish	4-20	(11)	sery twarde	26,6-65	(13)
	Ras	6-16	(11)	maziowe	32,3-72	(13)
	blue cheese	1-62	(11, 13, 23)	kwasowe	449	(13)
	Ołomunieckie twarożki	212,9-426,9	(31)	Emmental	< 0,5	(23)
	Feta	193	(34)			
Kadaweryna	maziowe	0-311,1	(25)	tradycyjne w Iranie	282,34-701,05	(27)
	Pecorino	0-1302,86	(17, 28)	Gouda, Edam	17-48	(23)
	Cazu Marzu	3,1-470,7	(17)	sery świeże	10,7-45	(13)
	Mish	3-22	(11)	sery twarde	47,8-83	(13)
	Ras	0-20	(11)	maziowe	83,1-120	(13)
	blue cheese	4-42	(11, 13, 23)	kwasowe	628	(13)
	Ołomunieckie twarożki	300,9-470,5	(31)	Emmental	16-186	(23)
	Feta	82,8	(34)			
Tryptamina	maziowe	brak	(25)	Ołomunieckie twarożki	8,2-42,6	(31)
	Pecorino	0-13,5	(17)	Feta	5,74	(34)
	Cazu Marzu	0-41,8	(17)	Camembert	0-1100	(23)
	Mish	4-22	(11)	holenderskie	0-200	(23)
	Ras	10-20	(11)	Cheddar	0-300	(23)
	blue cheese	0-60	(11, 23)			
2-fenyl- -etyloamina	maziowe	brak	(25)	blue-cheese	0-10	(11, 23)
	Pecorino	0-305	(17, 28)	Emmental	< 0,1	(14)
	Cazu Marzu	0-90,9	(17)	Gouda, Edam	< 0,1	(23)
	Mish	0-12	(11)	Cheddar	0-300	(23)
	Ras	3-5	(11)			
Spermidyna	maziowe	0-21,1	(25)	Mish	1-4	(11)
	Pecorino	0-11,1	(17)	Ras	0-2	(11)
	Cazu Marzu	0	(17)	blue-cheese	0-3	(11)
				Ołomunieckie twarożki	3,1-5,5	(31)
Spermina	maziowe	23,4-199,8	(25)	Mish	0-2	(11)
	Pecorino	0,2-5,4	(17)	Ras	0-1	(11)
	Cazu Marzu	0	(17)	blue-cheese	0-2	(11)
	Ołomunieckie twarożki	5,1-16,2	(31)			
Ogólna zawartość amin biogennych	Pecorino	4,4-2557,69	(17, 28)	tradycyjne w Iranie	517,7-1426,9	(27)
	Cazu Marzu	62,9-1035,7	(17)	sery świeże	323-464	(13)
	Mish	27-132	(11)	sery twarde	940-1030	(13)
	Ras	34-98	(11)	maziowe	1000-1184	(13, 25)
	blue-cheese	21-1516	(11, 13)	kwasowe	2140	(13)
	Feta	617	(23)	sery różne tureckie	13,2-349,3	(7)

a tym samym histaminę produkują bakterie z rodzajów: *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, a także gatunków *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Oenococcus oeni*, *Pediococcus damnosus*, *Lactobacillus saerimieri*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus curvatus* (4-6, 9, 13, 19, 26, 29, 33). EFSA (13) podaje za innymi autorami, że aktywność dekarboksylazy histydyny nie zmniejsza się po autolizie komórek bakteryjnych, co może być przyczyną obecności amin biogennych w serach wyprodukowanych z mleka złej jakości higienicznej (o dużej liczbie komórek bakteryjnych), z kolei niektóre bakterie kultur starterowych (z rodzaju *Lactococcus*) nie produkują tej dekarboksylazy i dlatego w serach wyrabianych z mleka pasteryzowanego w higienicznych warunkach histamina nie występuje.

Według danych piśmiennictwa (4, 13, 26), głównymi producentami tyraminy w serach są bakterie Gram-dodatnie z rodzaju *Enterococcus* (np. *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium*), a następnie *Lactobacillus* (*Lactobacillus curvatus* i *Lactobacillus brevis*), znacznie mniej tyraminy produkują bakterie *Lactococcus* i *Leuconostoc*, a także *Carnobacterium* i *Staphylococcus*.

Feniloetyloamina produkowana jest głównie przez bakterie z rodzajów *Enterococcus* i *Staphylococcus*, a także gatunek *Lactobacillus curvatus*, natomiast putrescyna i kadaweryna przez bakterie Gram-ujemne, zwłaszcza z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* i *Shigella*), a także rodzajów *Pseudomonaceae*, *Shewanellaceae*, *Staphylococcaceae* i *Lactobacillaceae* (13).

Znaczącą rolę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w tworzeniu amin biogennych wykazali Marino i wsp. (19), którzy wyizolowali z dojrzałych serów z przerostem pleśni 104 szczepy zaliczane do tej rodziny (z rodzajów *Enterobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Arizona*, *Citrobacter* i *Klebsiella*) i wykorzystujące lizynę, niektóre ornitynę, a tylko nieliczne tyrozynę i histydynę, produkując odpowiadające im aminy: kadawerynę, putrescynę, tyraminę i histaminę. Wyniki badań innych autorów (19, 28) potwierdzają, że zdolność dekarboksylacji więcej niż jednego aminokwasu wykazuje wiele gatunków drobnoustrojów z rodzajów np.: *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shewanella*, *Shigella*, *Plesiomonas* oraz bakterii kwasu mlekowego. Badania mikrobiologiczne serów pleśniowych i maziowych oraz zawartości w nich amin biogennych dały podstawy do stwierdzenia, że bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, a także z rodzajów *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Bacillus*,

Actinobacteria oraz gatunków *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* są głównymi producentami w nich amin biogennych: histaminy, tyraminy, feniloetyloaminy, tryptaminy, putrescyny, kadaweryny, spermidyny i sperminy. O roli bakterii z gatunku *Escherichia coli* w tworzeniu amin biogennych w serach świadczą wyniki badań Budrychowej i Komprdy (4). Cytowani autorzy stwierdzili istotnie większą zawartość wszystkich amin biogennych w serach z dodatkiem *E. coli* w porównaniu z serami z dodatkiem szczepów *Lactobacillus*. Nilgun Filiz Budak i wsp. (20) stwierdzili, że w czasie dojrzewania serów zmniejszała się w nich stopniowo liczba paciorkowców mlekowych, natomiast wzrastała liczba bakterii *Escherichia coli* oraz zawartość tyraminy. Producentami amin biogennych są również drożdże, czego dowiedli Bäumlisberger i wsp. (3), którzy wykazali, że połowa z dwudziestu sześciu badanych szczepów drożdży, hodowanych na odpowiednio przygotowanym podłożu, produkowała jedną lub więcej amin biogennych. Szołtysik i wsp. (31) stosując szczep drożdży *Yarrowia lipolytica* JIII1c jako kulturę wspomagającą w produkcji sera typu holenderskiego, stwierdzili jednoczesne zwiększenie populacji komórek tych mikroorganizmów aż do 8. tygodnia dojrzewania serów i kilkakrotne zwiększenie zawartości tyraminy, putrescyny i feniloetyloaminy w stosunku do serów kontrolnych. Natomiast stężenie histaminy było zbliżone w obu próbach serów. Bäumlisberger i wsp. (3) oraz Ekici i wsp. (8) wykazali, że niektóre drobnoustroje mają zdolność do zmniejszania poziomu amin biogennych. Na przykład bakterie z gatunku *Brevibacterium linens* mogą zmniejszyć zawartość histaminy w serach nawet o 55-70% (3, 8).

Inne czynniki warunkujące poziom amin biogennych w serach. Czynniki warunkującymi zawartość amin biogennych w serach może być dostępność substratu, temperatura i czas dojrzewania, pH serów, zawartość NaCl, wysokie ciśnienie, pasteryzacja mleka, dostępność tlenu, potencjał redox, poziom cukru czy dodatek ziół (1, 3-6, 12, 26, 29, 30).

Dostępność substratu – aminokwasów. Sery dojrzewające są bogatym źródłem aminokwasów, szczególnie sery twarde, ze względu na dużą głębokość dojrzewania (procent udziału aminokwasów w białku) oraz sery miękkie (maziowe i pleśniowe z porostem i przerostem pleśni) z uwagi na szeroki zakres dojrzewania (procent udziału związków azotowych rozpuszczalnych w białku sera) (23). Im głębiej zaawansowany jest proces dojrzewania, tym więcej w serze wolnych aminokwasów. W takich warunkach i w obecności drobnoustrojów z wysoką aktywnością dekarboksylaz produkcja amin biogennych może być duża. Ilość wolnych aminokwasów zależy m.in. od rodzaju sera, warunków dojrzewania oraz od ilości i aktywności wszystkich enzymów biorących udział w procesach proteolitycznych (23). Calzada i wsp. (5)

nie stwierdzili zależności między zawartością aminokwasów w serach i poziomem odpowiadających im amin biogennych. Marino i wsp. (19) uważają, że bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, mając dostęp do pełnej gamy aminokwasów, wykorzystują do produkcji amin tylko niektóre z nich, co świadczy o aktywności różnych dekarboksylaz.

Temperatura i czas dojrzewania/przechowywania. Wyniki wielu badań dowiodły, że wraz z upływem czasu dojrzewania zwiększa się w serach zawartość amin biogennych, zwiększeniu tego poziomu sprzyja również wysoka temperatura dojrzewania i przechowywania serów (1, 2, 5, 6, 10-12, 18, 22, 33). Standarová i wsp. (30) badali zawartość amin biogennych w tradycyjnych czeskich serkach (ołomunieckie twarożki) przechowywanych kilka tygodni w różnych temperaturach (5°C i 20°C) i stwierdzili, że serki zawierały najwięcej kadaweryny, następnie tyraminy, putrescyny i histaminy, a ich poziom zwiększał się wraz z upływem czasu i wzrostem temperatury przechowywania. Ogólna zawartość amin biogennych w serkach przechowywanych w temperaturze 20°C była trzykrotnie większa niż w przypadku serków przechowywanych w 5°C. Autorzy stwierdzili, że toksyczny poziom sumy czterech amin biogennych (histaminy, tyraminy, putrescyny i kadaweryny), wynoszący 900 mg/kg, został przekroczony 17 dni później w serkach przechowywanych w temperaturze 5°C. Badaniem wpływu czasu (7 do 120 dni) i temperatury (7°C, 22°C i 32°C) przechowywania na zawartość amin biogennych zajmowali się też El-Kosi i wsp. (9), analizując tradycyjne egipskie sery ras. Uzyskane przez nich wyniki potwierdziły poglądy o stymulującym wpływie długiego czasu i wysokiej temperatury przechowywania na wzrost poziomu amin biogennych w serach, przy czym w serach najwięcej stwierdzono histaminy, następnie kadaweryny, putrescyny, tryptaminy, a najmniej tyraminy. Zdaniem cytowanych autorów, optimum temperatury dla powstania amin biogennych w przypadku bakterii mezofilnych mieści się między 20°C i 37°C, podczas gdy produkcja tych substancji zmniejsza się poniżej 5°C i powyżej 40°C (9). Calzada i wsp. (5, 6) nie stwierdzili w serach świeżych obecności amin biogennych, ale w serach dojrzających były obecne tyramina, putrescyna, kadaweryna i histamina; współczynniki korelacji między czasem przechowywania a zawartością amin biogennych były duże i istotne statystycznie od: $r = 0,891$ dla histaminy do $r = 0,984$ dla tyraminy.

pH. Jest ważnym czynnikiem wpływającym na aktywność enzymów, w tym dekarboksylaz aminokwasowych. Dodatkowo zwiększenie kwasowości wpływa hamująco na rozwój mikroorganizmów, natomiast w środowisku o niskiej wartości pH bakterie są stymulowane do wytwarzania dekarboksylazy jako części mechanizmu ich obrony przeciw kwasowości. Te dwa czynniki kolidują ze sobą, zaś wynik zależy od

ich równowagi (9). Według El-Kosi i wsp. (9), w miarę dojrzewania serów zwiększa się wartość pH, a także poziom amin biogennych. Cytowani autorzy uważają, że pH z zakresu 5,5-6,0 stanowi optimum dla aktywności większości dekarboksylaz. Również Vallejos i wsp. (32) podają za innymi autorami, że środowisko kwaśne (szczególnie o pH między 4,0 i 5,5) sprzyja dekarboksylacji aminokwasów. Zależności między produkcją amin biogennych, wartością pH serów i obecnością w nich drobnoustrojów zaobserwowali Marino i wsp. (19) wykazując, że bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* produkują różne aminy biogenne w różnym pH – najwięcej kadaweryny w podłożu o pH 6,3 a najmniej przy pH 7,8, natomiast histaminy najwięcej przy pH 5,8-7,1, zaś niewiele przy pH 7,8, putrescyny najwięcej przy pH 6,2, a najmniej przy 8,1-8,9 pH. Również Greif i wsp. (15) stwierdzili, że pH sera ma istotny wpływ na produkcję amin biogennych, w zależności od wartości pH, drobnoustroje produkują różne aminy.

Zawartość soli. Zawartość soli ma również istotny wpływ na aktywność dekarboksylaz produkowanych przez drobnoustroje, a tym samym na zawartość amin biogennych w serach. Badania Aliakbarlu i wsp. (1) wykazały negatywny wpływ stężenia soli na zawartość amin biogennych w serach. Autorzy stwierdzili, że w serach solankowych, ze względu na duże zasolenie, zawartość amin biogennych jest niewielka. Wyniki badań Valsamaki i wsp. (33) również potwierdzają negatywny wpływ soli na produkcję amin biogennych w serach. EFSA (13) podaje, że przy wysokim stężeniu chlorku sodu dekarboksylazy produkowane przez *Staphylococcus capitis*, *Enterobacter cloacae* i *Pantoea agglomerans* mają zahamowaną aktywność. Natomiast osmotolerancyjne bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, które wykryto w anchois, charakteryzuje wysoka aktywność dekarboksylaz. Greif i wsp. (15) wykazali, że różne szczepy z rodzaju *Enterobacter* produkują najwięcej kadaweryny i histaminy przy 3% zasoleniu, a najmniej przy 4,5% i 6,8%, natomiast putrescyny najwięcej przy 0,5%, a najmniej przy 3% NaCl.

Wysokie ciśnienie. Wyniki badań niektórych autorów (5, 6, 21) wskazują na hamujący wpływ wysokiego ciśnienia na powstawanie amin biogennych w serach. Calzada i wsp. (5) wykazali, że ogólna zawartość amin biogennych w serkach poddanych ciśnieniu 400 MPa była niższa w porównaniu z kontrolnymi o 27%-33%, a w serach poddanych ciśnieniu 600 MPa o 40%-65%. W innych badaniach (6) stwierdzono, że w serach z przerostem pleśni, uzyskanych z surowego mleka owczego poddanego działaniu wysokiego ciśnienia 400 i 600 MPa, nastąpiło zmniejszenie zawartości tyraminy, ale zawartość tryptaminy, fenyloetyloaminy i putrescyny uległa zwiększeniu w porównaniu z serami kontrolnymi. We wszystkich badanych serach pleśniowych nie stwierdzono obec-

ności histaminy, kadaweryny i sperminy. Wysokie ciśnienie zmniejszało liczbę komórek bakterii kwaszących o ponad 4 jednostki logarytmiczne, zaś pleśni aż o ponad 6 jednostek (6). Novella-Rodriguez i wsp. (21) badali wpływ wysokiego ciśnienia (400 MPa/5 minut, 50 MPa/72 godz.) lub kombinacji obu na zawartość amin biogennych w serach z mleka owczego, w czasie 28 dni ich dojrzewania. Stwierdzili, że działanie ciśnienia 400 MPa przez 5 min lub kombinacja ciśnień nie zmieniły lub nieco zmniejszyły poziom amin biogennych, natomiast obróbka 50 MPa/72 godz. spowodowała istotne zwiększenie zawartości amin biogennych w serach poddanych ciśnieniu w porównaniu z serami kontrolnymi.

Pasteryzacja, baktofugacja i homogenizacja mleka. Dowiedziono, że pasteryzacja mleka, jako czynnik niszczący mikroorganizmy, wpływa na zmniejszenie produkcji amin biogennych w serach (10, 13, 22). Elsanhoty i wsp. (10) stwierdzili, że miękkie sery domiati z bawolego mleka pasteryzowanego, z dodatkiem lub bez kultur starterowych, zarówno świeże, jak i po 120 dniach dojrzewania, zawierają kilkakrotnie mniej amin biogennych w porównaniu z takimi samymi serami z mleka surowego. Według Novella-Rodriguez i wsp. (22), sery z mleka surowego nie tylko zawierają więcej amin biogennych niż z mleka pasteryzowanego, ale różnią się też ich rodzajem, a także liczbą i rodzajem występujących drobnoustrojów. Przeważa w nich tyramina, podczas gdy w serach z mleka pasteryzowanego głównie kadaweryna i putrescyna. Lanciotti (cyt. 18) stwierdził, że homogenizacja mleka zmniejsza kilkakrotnie poziom amin biogennych w serach. Z kolei Valsamaki i wsp. (33) podają za innymi autorami, że baktofugacja nie ma wpływu na zawartość tyraminy w serach ementalskich.

Dostępność tlenu i potencjał redoks. EFSA (13) podaje za innymi autorami, że w środowisku beztlenowym bakterie z rodzajów *Enterobacter* i *Klebsiella* wytwarzają o połowę mniej putrescyny, a *Klebsiella* również mniej kadaweryny niż w warunkach tlenowych. Redukcja zaś potencjału redoks stymuluje produkcję histaminy i aktywność dekarboksylazy histydyny.

Dodatek kultur starterowych. W serach z mleka pasteryzowanego z dodatkiem kultur starterowych stwierdzono mniej amin biogennych niż w serach z mleka surowego bez dodatku zakwasu (10), co może być wynikiem rozwoju w tych ostatnich szkodliwych mikroorganizmów m.in. z rodziny *Enterobacteriaceae*. Tylko niektóre szczepy bakterii kwaszących mają zdolność produkowania amin, ale większość z nich takich zdolności nie wykazuje (8, 13). Jednak uważa się, że bakterie fermentacji mlekowej, szczególnie z rodzaju *Lactobacillaceae*, przyczyniają się do powstania amin biogennych, gdyż prowadząc proteolizę, uwalniają aminokwasy będące substratem dla dekarboksylaz.

Dodatek ziół. Andić i wsp. (2) stwierdzili, że dodatek ziół do serów istotnie zwiększa zawartość w nich fenyloetyloaminy, natomiast nie wpływa na poziom histaminy i tyraminy w porównaniu z serami kontrolnymi (bez dodatku ziół). Innego zdania są Ekici i wsp. (8), według których dodatek ziół do serów powoduje zwiększenie zawartości w nich histaminy. Autorzy nie podają przyczyn takiego wpływu ziół.

Część sera. Marijan i wsp. (18) uważają, że zawartość amin biogennych jest zróżnicowana w zależności od miejsca pobrania próby z sera. Cytowani autorzy stwierdzili dwukrotnie większe nagromadzenie amin biogennych wewnątrz sera niż w jego skórce, przy czym w środku sera przeważały histamina i tyramina, natomiast putrescyna i spermina występowały w mniejszych ilościach, putrescyna tylko wewnątrz sera, zaś spermina w powierzchniowej warstwie, co prawdopodobnie jest efektem różnego rozwoju bakterii wykazujących aktywność dekarboksylaz wewnątrz i na zewnątrz sera.

Możliwości redukcji zawartości amin biogennych w serach. Zagrożenia wynikające z obecności amin biogennych w żywności, również w serach są powodem szukania metod ich redukcji. Formowanie amin biogennych w żywności jest tradycyjnie hamowane metodami ograniczającymi wzrost mikroorganizmów: działaniem wysokiej (pasteryzacja) lub niskiej (mrożenie) temperatury, stosowaniem dodatków do żywności np. soli, wysokiego ciśnienia hydrostatycznego, naświetlania promieniami gamma, kontrolowanego pakowania, stosowaniem wyspecjalizowanych kultur starterowych o małych zdolnościach produkowania amin, a przede wszystkim produkcją serów w oparciu o zasady GHP, GMP i HACCP, pozwalające uzyskać produkt o kontrolowanej jak najlepszej jakości (3, 10, 13, 20).

Korzystając z faktu, że niektóre drobnoustroje mają zdolność do redukcji poziomu amin biogennych w żywności, są podejmowane próby stosowania w serach różnych mikroorganizmów w tym kierunku, m.in. z gatunków *Kocuria varians*, *Natrinema gari*, *Brevibacterium linens*, *Staphylococcus xylosum*, *Virgibacillus* i różnych szczepów z rodzaju *Lactobacillus* (3). Według Bäumlisberger i wsp. (3), osmotolerancyjne drożdże z gatunku *Debaryomyces hansenii*, często identyfikowane w serach o wysokim zasoleniu, mogą być w tych serach stosowane razem z kulturami starterowymi do redukcji amin biogennych. Wiadomo, że niektóre szczepy kultur starterowych produkują mniej amin niż inne, dlatego powinno się je wykorzystywać do produkcji serów i zapobiegać rozwojowi kultur niestarterowych.

Były opisywane próby usuwania amin biogennych z produktów spożywczych przez dodatek oksydazy mono- lub diaminowej albo stosowanie promieniowania gamma, jednak takie metody nie są zgodne z ogólnymi zasadami higieny żywności, polegający-

mi na zapobieganiu, a nie eliminowaniu zagrożeń, zwłaszcza, że takie metody nie okazały się skuteczne w warunkach przemysłowych (13). Nie mogą mieć również zastosowania w przypadku serów.

Podsumowanie

Aminy biogenne są to substancje negatywnie oddziałujące na organizm człowieka. Znajdują się w produktach żywnościowych, w tym w serach w różnej ilości, osiągając niekiedy poziom toksyczny dla człowieka. Głównymi czynnikami zwiększającymi zawartość amin biogennych w serach są drobnoustroje, szczególnie nie pochodzące ze starterów oraz długi czas i wysoka temperatura dojrzewania i przechowywania serów. Ograniczeniu powstawania amin biogennych w serach sprzyjają pośrednio niektóre procesy technologiczne, np. pasteryzacja i homogenizacja mleka oraz stosowanie wysokiego ciśnienia (400-600 MPa). Inne czynniki, takie jak: pH, stężenie soli, dodatek kultur starterowych, dodatek ziół, dostępność tlenu, potencjał redoks również mają wpływ, choć różny, na zawartość amin biogennych w serach. Sery o zawartości amin biogennych przekraczającej dopuszczalne limity mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów.

Piśmiennictwo

- Aliakbarlu J., Alizadeh M., Razavi-Rohani S. M., Vahabzade Z., Saei S. S., Agh N.: Effects of processing factors on biogenic amines production in Iranian white brine cheese. *Res. J. Biol. Sci.* 2009, 4, 23-28.
- Andić S., Tunçtürk Y., Javidipour I., Gençlepe H.: Effects of different herbs on biogenic amine contents and some characteristics of herby cheese. *Central Research Institute of Food and Feed Control Republik of Turkey (GIDA)* 2015, 40, 1-8.
- Bäumlißberger M., Moelleken U., König H., Claus H.: The potential of the Yeast *Debaryomyces hansenii* H525 to Degrade Biogenic Amines in Food. *Microorganisms* 2015, 3, 839-850.
- Budrychova R., Komprda T.: Biogenic amine-forming microbial communities in cheese. *FEMS Microbiol. Lett.* 2007, 276, 149-155.
- Calzada J., del Olmo A., Picón A., Gaya P., Nuñez M.: Reducing biogenic-amine-producing bacteria, decarboxylase activity, and biogenic amines in raw milk cheese by high-pressure treatments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013, 79, 1277-1283.
- Calzada J., del Olmo A., Picón A., Nuñez M.: Proteolysis and biogenic amine buildup in high-pressure treated ovine milk blue-veined cheese. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 4816-4829.
- Durlu-Özkaya F.: Biogenic amine content of some Turkish cheeses. *J. Food Process. Preserv.* 2002, 26, 259-265.
- Ekici K., Coskun H., Sienkiewicz T.: Histamine Formation and Its Control in Cheese: A Review. *J. Food Technol.* 2005, 3, 60-63.
- El-Kosi O. H. R., Abdel-Hakim E. H., Ayesh A. M., Mohamed J. I. I.: Effect of different storage temperatures and periods on biogenic amines formation in Ras cheese. *Suez Canal Vet. Med. Journal* 2009, 1, 207-219.
- Elsanhoty R. M., Mahrous H., Ghanaïmy G. A.: Chemical, microbial counts and evaluation of biogenic amines during the ripening of Egyptian soft Domiat cheese made from raw and pasteurized buffaloes milk. *Inter. J. Dairy Sci.* 2009, 4, 80-90.
- El-Zahar K. M.: Biogenic amines and microbiological profile of Egyptian cheeses. *Univ. J. Food Nutr. Sci.* 2014, 2, 18-26.
- El-Zahar K. M., El-Zahar A. M. A., Ramadan M. F.: Levels of biogenic amines in cheeses and their impact on biochemical and histological parameters. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 2014, 57, 73-81.
- European Food Safety Authority: Scientific Opinion on risk based of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Panel of Biological Hazards (BIOHAZ)*. *EFSA J.* 2011, 9, 2393, 1-93.
- Fonberg-Broczek M., Sawilska-Rautenstrauch D.: Zawartość histaminy i tyraminy w serach dojrzewających pobranych z obrotu. *Roczniki PZH* 1995, 46, 3, 243-246.
- Greif G., Greifova M., Karovicova J.: Effects of NaCl concentration and initial pH value on biogenic amine formation dynamics by *Enterobacter* spp. bacteria in model conditions. *J. Food Nutr. Res.* 2006, 45, 21-29.
- Komprda T., Novicka K., Kalhota L., Smela D.: Biogenic amine content in sterilised and pasteurised long-term stored processed cheese. *Czech J. Food Sci.* 2005, 23, 209-216.
- Manca G., Porcu A., Ru A., Salaris M., Franco M., De Santis E.: Comparison of γ -aminobutyric acid and biogenic amine content of different types of ewe's milk cheese produced in Sardinia, Italy. *Italian J. Food Saf.* 2015, 4:4700, 123-128.
- Marijan A., Džaja P., Bogdanović T., Škoko I., Cvetnić Ž., Dobranić V., Zdolec N., Šatrović E., Deverin K.: Influence of ripening time on the amount of certain biogenic amines in rind and core of cow milk Livno cheese. *Mljekarstvo* 2014, 64, 159-169.
- Marino M., Maifreni M., Moret S., Rondinini G.: The capacity of *Enterobacteriaceae* species to produce biogenic amines in cheese. *Lett. Appl. Microbiol.* 2000, 31, 169-173.
- Nilgun Filiz Budak H., Gul Karahan A., Lutfu Cakmaci M.: Factors affecting histamine and tyramine formation in Turkish White Cheese. *Hacettepe J. Biol. Chem.* 2008, 36, 197-206.
- Novella-Rodríguez S., Veciana-Nogués M. T., Saldo J., Vidal-Carou C.: Effects of high hydrostatic pressure treatments on biogenic amine contents in goat cheeses during ripening. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 7288-7292.
- Novella-Rodríguez S., Veciana-Nogues T., Roig-Sagues A., Trujillo-Mesa A., Vidal-Carou C.: Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *J. Dairy Res.* 2004, 71, 245-252.
- O'Brien N. M., O'Connor T. P., Callaghan J. O., Dobson A. D. W.: Toxins in cheese, [w:] Fox P. (ed.): *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1. General Aspects. Elsevier Applied Science, London 2004, 561-571.
- Pintado A. I. E., Pinho O., Ferreira I. M. P. L. V. O., Pintado M. M. E., Gomes A. M. P., Malcata F. X.: Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. *Int. Dairy J.* 2008, 18, 631-640.
- Pleva P., Bunkova L., Theimrova E., Bartosakova V., Bunka F., Purevdorj K.: Biogenic amines in smear and Mould-ripened cheeses. *Potravinarstvo* 2014, 8, 321-327.
- Rohani S. M. R., Aliakbarlu J., Ehsani A., Hassanzadazar H.: Biogenic amines determination in some traditional cheeses in West Azerbaijan province of Iran. *Vet. Res. Forum* 2013, 4, 115-118.
- Sawilska-Rautenstrauch D., Fonberg-Broczek M., Gawarska H., Starski A., Jędra M., Karłowski K.: Występowanie amin biogennych w serach dojrzewających pochodzących z rynku warszawskiego. *Roczniki PZH* 2010, 61, 361-365.
- Schirone M., Tofalo R., Mazzone G., Corsetti A., Suzzi G.: Biogenic amine content and microbiological profile of Pecorino di Farindola cheese. *Food Microbiol.* 2011, 28, 128-136.
- Schirone M., Tofalo R., Visciano P., Corsetti A., Suzzi G.: Biogenic amines in Italian Pecorino cheese. *Front. Microbiol.* 2012, 3, 1-9.
- Standarová E., Vorlová L., Kordiovská P., Janštvá B., Dračková M., Borokovcová I.: Biogenic amine production in Olomouc curd cheese (Olomoucké tvarůžky) at various storage conditions. *Acta Vet. Brno* 2010, 79, 147-156.
- Szoltysik M., Dąbrowska A., Babij K., Pokora M., Zambrowicz A., Polomska X., Wojtatowicz M., Chrzanowska J.: Biochemical and microbiological changes in cheese inoculated with *Yarrowia lipolytica* Yeast. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość* 2013, 4, 49-64.
- Vallejos M. J. M., Pham L. J., Barraquio V. L.: Biogenic amines in some natural and processed cheeses sold in Laguna Province, Philippines. *Philippine J. Sci.* 2012, 141, 111-115.
- Valsamaki K., Michaelidou A., Polychroniadou A.: Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chem.* 2000, 71, 259-266.

Adres autora: prof. dr hab. inż. Genowefa Bonczar, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków; e-mail: g.bonczar@ur.krakow.pl