

ELAMINA. Elaborazioan eta heltzean proteolisi-maila handiak jasaten dituzten gaztetan dauden amina biogenoak ezabatzeko estrategien balorazioa

WEBGUNERAKO EMAITZAK

Esneki Zentroa

Markina-Xemein, 2024-ko urtarrilaren 31

EDUKIEN AURKIBIDEA

1. SARRERA	1
2. ELAMINA PROIEKTUAREN EMAITZAK.....	2
3. ONDORIO OROKORRAK	10



IRUDIEN AURKIBIDEA

2-1 irudia: Tiramina (ezkerrean) eta histamina (eskuinean) kontzentrazio altuen aurrean garatu ziren kolonietatik lortutako isolatuen xehetasuna.	4
2-2: Elaborazio unea (goian ezkerrean), afinazioa (goian eskuma) eta lote baten (C, L. casei; P, L. plantarum; K, control) laginketa (beheko argazkiak)	6
2-3 irudia: Laginetan identifikatutako bakterioen adarkatzea irudikatzen duen kladograma. Denbora-tarterako koloreztatuta agertzen dira beste denbora-tarte batekin alderatuta portzentai erlatibo nabarmen handiagoa duten mikroorganismoak.....	7
2-4 irudia: Laginetako bi denbora-tartetan egindako bi gazten irudiak. Ezkerreko irudiak 1. astean lagindutako gazta bat irudikatzen du, 3. Lotearen kontrolari dagokiona. Eskuineko irudiak 4. hilabetean lagindutako gazta bat irudikatzen du, 2. Lotean hartzigarri gisa L. Plantarum gehitu zaion elaborazioari dagokiona	8

TAULEN AURKIBIDEA

1 Taula: Jatordu batean pertsonako amina biogenoen kontsumoan segurutzat onartutako gehieneko dosiak (EFSA, 2011)	1
2 Taula: Histamina eta tiramina kontzentrazioa histamina eta tiramina gehigarriz egindako gazta esperimentaletan (mg/kg gazta estraktu lehor), hartzigarrien konbinazio desberdinekin eta hainbat ontze denboratan laginduta	9
3. Taula: Histaminaren eta tiraminaren kontzentrazioa, mg gazta-ano-ko (30 g gazta), histamina eta tiramina gehigarriz egindako gazta esperimentaletan, hartzigarrien konbinazio desberdinekin eta ontze-garai desberdinetan lagindutakoekin.	10

1. SARRERA

Elikadura-jatorriko amina biogenoek ondorio kaltegarriak dituzte herritarren osasunean: intoxikazio histaminikoa, "histaminarekiko intolerantzia" eta "gaztarekiko erreakzioa". Baimendutako gehieneko ahoratzea EFSAk ezarri zuen 2011n (1. taula).

1. Taula: Jatordu batean pertsonako amina biogenoen kontsumoan segurutzat onartutako gehieneko dosiak (EFSA, 2011)

	Histamina	Tiramina
Pertsona osasuntsuak	25-50mg	600mg
Pertsona sentikorrak	Histaminarekiko intolerantzia: Ausentzia	Hirugarren belaunaldiko IMAO-rekin medikatutako pertsonak: 50mg IMAO klasikoarekin medikatutako pertsonak: 6mg

Konposatu horien elikadura-jatorri nagusia arrainak, itsaskiak eta deribatuak dira, maila txikiagoan hartzitutako elikagaietatik datozenak, hala nola gaztetatik. Hala ere, eguneroko ahorakin osoaren baturak eragin ditzake ondorio horiek gizakien osasunean, eta arraina kontsumorako gomendatuta dagoen elikagai freskoa denez, histamina eta tiramina elikagai prozesatuetan/hartzituetan murriztea lortu behar da.

Amina biogenoak gaztan sortzen dira, aldez aurretik esne-frakzio proteikotik proteolisi bidez askatu diren histidina eta tirosina aminoazidoak deskarboxilatzean. Horrela, konposatu horien maila handienak dituzten gaztak jarduera proteolitiko altua dutenak dira: urdinak (490g/kg histamina eta 625g/kg tiramina), pasta prentsatukoak (egosiak – 210g/kg histamina eta 41 g/kg tiramina-; edo ez egosiak – 25,6g/kg histamina eta 238g/kg tiramina), eta ziur asko baita pasta bigunekoak eta/edo laktikoak ere.

Hala ere, gaztetako mikroorganismo guztiak ez dira gai konposatu horiek sortzeko, eta, askoz interesgarriagoa dena, badira beste mikroorganismo garrantzitsu batzuk gaztagintzan histamina eta tiramina degradatzeko gai direnak (adibidez, *Lactobacillus casei*), elikagaitik osagai toxikoa kenduz.

ELAMINA proiektua Eusko Jaurlaritzaren Berriker 2022 deialdiak finantzatutako proiektua izan da; 13 hilabeteko iraupena izan du, eta Esneki Zentroa - Leartiker SCOOPEk gidatu eta gauzatu du. Proiektuaren helburu nagusia aldagai teknologikoak identifikatzea zen. Aldagai teknologiko hauek aldatzean amina biogenorik gabeko produktu seguruak lortzeko.

2. ELAMINA PROIEKTUAREN EMAITZAK

2.1 Histamina eta tiramina kontzentrazio handia duten gazten karakterizazio mikrobianoa

Lehenik eta behin, mikrobioen karakterizazioa egin zen histamina eta tiramina kontzentrazio handiko pasta prentsatu gaztetan, konposatu kimiko horien kontzentrazio baxuko gaztekin alderatuta, biologia molekularreko tekniken bidez. Emaitzek erakutsi zuten amina biogenoen kontzentrazio handiak zituzten gaztetan, mikroorganismo gehiago zeudela kontzentrazio txikiko gaztetan baino (2. taula).

Bi gazta-kategorietan, *Lactococcus lactis* bakterioa eta *Streptococcus* generoa nagusi izan ziren portzentai erlatiboan gainerakoen aldean; hala ere, askoz ugariagoak izan ziren amina biogenoen kontzentrazio txikiko gaztetan, kontzentrazio handikoetan baino. *Lactococcus lactis* eta *Streptococcus thermophilus* hartzigarri komertzialetan erabili ohi diren espezie bakterianoak direnez, normala izan liteke bi gaztetan proportzio altuetan agertzea.

Gainera, amina biogenoen maila baxuko gaztek *Loigolactobacillus coryniformis* eta *Latilactobacillus* generoko bakterioak dituzte; besteek, berriz, ez. *Loigolactobacillus coryniformis* jada identifikatu da euskal merkatuetan ohikoak diren pasta prentsatu gazten esne-teknologia desberdineko gaztetan, hala nola turkiar jatorriko Tulum gaztan (Gumustop eta Ortakci, 2023) edo Portugalgo Beira Baixa gaztan, landare-gatzagiarekin egindako gazta dena (Cardinali et al., 2022), baina baita pasta prentsatua den Cheddar gaztan ere (Singh eta Singh, 2014), eta, beraz, ohikoa izan liteke gazta mota hauetan. Azkenik, *Latilactobacillus* generoaren barruan *L. curvatus* egon liteke, tirosinatik tiramina sortzeko gaitasuna duena eta Porrúa bezalako gaztez osatutako bakterio isolatu bat dena, gazta asturiar erdiondua (López et al., 1997) edo gazta holandarra (Pachlová et al., 2018). *L. curvatus* andui jakin batzuk amina biogenoak ekoizten dituzte (adibidez, Valentziako Unibertsitateko *L. curvatus* CECT 5786 andui hutsa), baina guztiak ez dira gai deskarboxilazio hori egiteko, hala nola *L. curvatus* DSM 20019 andui purua, DSMZ bilduma alemaniarrekoa.

Bi gazta-kategorietan zeuden, baina amina biogenoen kontzentrazio handia zeukaten gaztetan batez ere, *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* eta *Enterococcus* generoak identifikatu ziren. *Lactobacillus* edo *Brevibacterium* generoko anduiak gaztandegietan erabili ohi dira hartzigarri azidifikatzaile gisa; beraz, normala da gazta guztietan agertzea. *Brevibacteriumek* amina biogenoak degradatzen dituzte (Leuschner eta Hammes, 1998; Leuschner et al., 1998), baina andui guztiek ez dute gaitasun hori. *Staphylococcus* espeziearen presentzia ohikoa da gaztetan (Delcenserie

et al., 2014), baina ez da beti desiragarria izaten, espeziearen arabera, intoxikazioa eragin dezaketen bakterio patogenoak izan daitezkeelako (*S. aureus*). Era berean, *Enterococcus* espezie jakin batzuk gazta heltzen laguntzen duten bakterioak dira, eta desiragarriak diren zentzumen-gaitasunak ematen dituzte. Hala ere, badira elaborazio horietan ez-gomendagarriak diren beste espezie batzuk (Delcenserie et al., 2014). Azkenik, *pseudomonek* UV argiarekin tratatu gabeko uraren kutsadura adierazten dute gazta-ekoizpenaren punturen batean (esnearekin hasi eta ontze kameretaraino), hauek gazten ikusmen-akatsekin lotuta daude (Delcenserie et al., 2014).

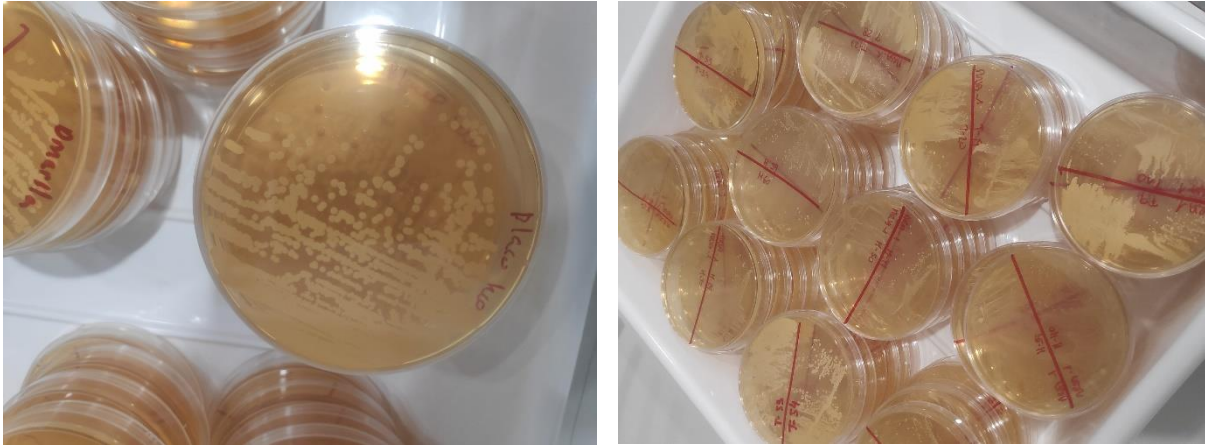
Beste aldean, amina biogenoen kontzentrazioa handia duten laginetan agertu eta, ordea, konposatu horien kontzentrazio txikia duten laginetan agertzen ez direnen artean, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus* eta beste 14 mikroorganismo aurkitzen dira. Azken 14 mikroorganismo hauek, portzetari erlatibo txikiagotan identifikatu ziren, baina mikroorganismo-dibertsitate handiko gazten pool honetan baino ez dira agertzen. Aipatutako generoak maiz erabiltzen dira gaztagintzan hartzigarri azidifikatzaile gisa, hala nola *Lactiplantibacillus plantarum* (Afshari et al., 2022).

Nolanahi ere, amina biogenoen kontzentrazio handia duten gaztek duten profil desberdin horrek adierazten du, ziurrenik gaitasun proteolitiko handiko esne gordinarekin eginda daudela adierazi nahi du.

2.2 Histamina eta tiramina sortzeko gaitasuna duten mikroorganismoen identifikazioa

Zeregin honetan, orain arte aipatutako amina biogenoen kontzentrazio handiak zituzten gaztetatik isolatutako bakterioak erabili ziren. Gazta hauei isolamenduan, histamina eta tiramina kontzentrazio handipean jarri ziren, baldintza horietan garatzeko gai ziren bakterioak isolatzeko. Histamina eta tiramina kontzentrazio altuetan garatu ziren kolonia guztiak isolatu ziren (2-1 irudia), eta histamina eta tiramina sortzeko, histidina eta tirosina deskarboxilatzeke gai diren geneen presentzia identifikatu zen.

Histaminaz nahiz tiraminaz aberastutako medioen 167 kolonia isolatuetatik, bakar batek ere ez zuen HdcA genea aurkeztu, eta horietako % 76,7k TdcA genea aurkeztu zuten. Emaitza horiek bat datoz Herrero-Fresko et al. (2012). Emaitzen arabera, HdcA geneari positiboak diren bakterioak egon behar izan dira gazta ontzen zen unereren batean, nahiz eta agian bere merkaturatze-garaian jada ez egon gaztaren eboluzio bakterianoaren ondorioz. Gainera, TdcA eta HdcA-ri negatiboak izandako koloniak, amina biogenoen kontzentrazio handiei biziraule huts, edo hauen degradatzaile kontsideratu daitezke. Gaitasun hau interesgarria litzateke gazta-merkaturako, kontuan hartuta ikerketa honetan HdcA eta TdcA negatibodun mikroorganismo kantitate handian azaldu direla.



2-1 irudia: Tiramina (ezkerrean) eta histamina (eskuinean) kontzentrazio altuen aurrean garatu ziren kolonietatik lortutako isolatuen xehetasuna.

TdcA-rako bakterio positiboak dira gaztan tiraminaren kontzentrazio handiaren erantzuleak, baina ezin da baztertu gaztaren ontzean beste bakterio batzuk egon izana, konposatu horien sorreran ere esku hartu dutenak eta bere garaian material genetikoaren degradazioagatik identifikatu ezin izan direnak.

Jarraian, TdcA genearen 5 kolonia positibo hartu ziren, morfologia desberdinarekin, eta espeziea identifikatzeko WGS teknikaren bidez sekuentziatu ziren. Hauek izan ziren: *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium variable*, *Corynebacterium flavescens*, *Corynebacterium glyciniphylum* eta *Yarrowia lipolytica*. Delcenserie et al-en arabera (2014), *E. faecalis*-en ugaritasun handiena esne gordinetik abiatutako heltze-aldi altuetako gaztekin lotuta dago, esne pasteurizatutik abiatutakoekin alderatuta. *Corynebacterium* generoa garbitutako azala duten gazten ekoizpenarekin lotuta daude, beste mikroorganismo batzuekin batera gazta-teknologia honetan ohikoak diren afinazio-hartzigarriak baitira (Brennan et al., 2002; Feurer et al., 2004).

Azkenik, *Yarrowia lipolytica* legamia modu naturalean egon liteke esne gordinetan (Boutru eta Gueguen, 2005), baina hartzigarri erantsi gisa erabiliko litzateke heltze laburreko gazta batzuen ezaugarri sensorialak hobetzeko (Centeno et al., 2017), eta modu naturalean ere sar liteke afinazioa-kameretan. Horrela, mota guztietako gazta-teknologiarekin egindako gaztetan identifikatu da, batez ere artisau-elaboraziokoetan (Bintsis, 2021).

2.3 Histaminarik eta/edo tiraminarik gabeko kalitatezko gaztak sorrarazten dituzten berariazko hartzigarrien identifikazioa

Pasta prentsatu ez-egosien ontzean, bakterio-komunitateak edo haren metabolitoek eragindako lipolisia eta proteolisia gertatzen da. Horren ondorioz, produktuaren berezko zaporeak eta usainak

sortzen dira, eta, gainera, aminoazidoak askatzen dira. Aminoazido hauek bakterio-entzimatarako substratua izan daitezke amina biogenoak ekoitziz. Izan ere, Esneki Zentroak GAZTAMINA proiektuaren emaitza partzialetan lortutako datuen arabera, 30,30 mg histamina eta 43,80 mg tiramina ere aurkitu ziren gazta-anoa bakoitzeko (30g). Egia da, halaber, emaitzak oso desberdinak izan zirela baloratutako gazta-kategoria bakoitzerako, era guztietako gaztak egon baitziren histaminarik eta tiraminarik gabe. Literatura zientifikoan deskribatzen denez, mikroorganismo guztiek ez dute aminoazidoetatik abiatuta amina biogenoak ekoizten dituzten entzimak askatzeko gaitasuna, eta, gainera, horiek degradatzeko gai diren beste mikroorganismo batzuk identifikatu dira andui mailan (Herrero-Fresco et al., 2012). Bakterio azido-laktikoak (BAL) dira elaborazioan gaitasun teknologiko handienak dituzten mikroorganismoak eta gazta bakterioen artean gehien nabarmentzen direnak. Amina biogenoak ekoizteko gaitasuna duten gaztetan dauden BALen familiako hainbat mikroorganismo identifikatu dira, hala nola *Enterococcus durans* edo *Lactobacillus curvatus*, tiraminaren ekoizlea (Fernandez et al., 2007), eta *Lactobacillus parabunchneri*, histaminaren ekoizlea (Díaz et al., 2016; Wechsler et al., 2021). Hala ere, beste BAL espezie batzuek, hala nola *E. lactis*, *L. plantarum*, *L. casei*, *Pediococcus spp.*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *S. gallolyticus*, *S. thermophilus*, *W. paramesenteroides*, era berean, in vitro amina biogenoak degradatzeko gaitasuna aurkeztu dute (Leuschner et al, 1998), ardotan (García-Ruiz et al., 2011), eta gaztetan (Anderegg et al., 2020; Renes et al., 2018; Herrero-Fresno al., 2012; Guarcello et al., 2014). Kultibo abiarazlea atxikitako beste mikroorganismo batzuek, gaztetan ere egon ohi direnek, amina biogenoak degradatzeko gaitasuna erakutsi dute, hala nola *Brevibacterium* bai in vitro (Leuschner et al, 1998) bai gaztan (Leuschner eta Hammes, 1998), eta *Micrococcus* in vitro (Leuschner et al, 1998).

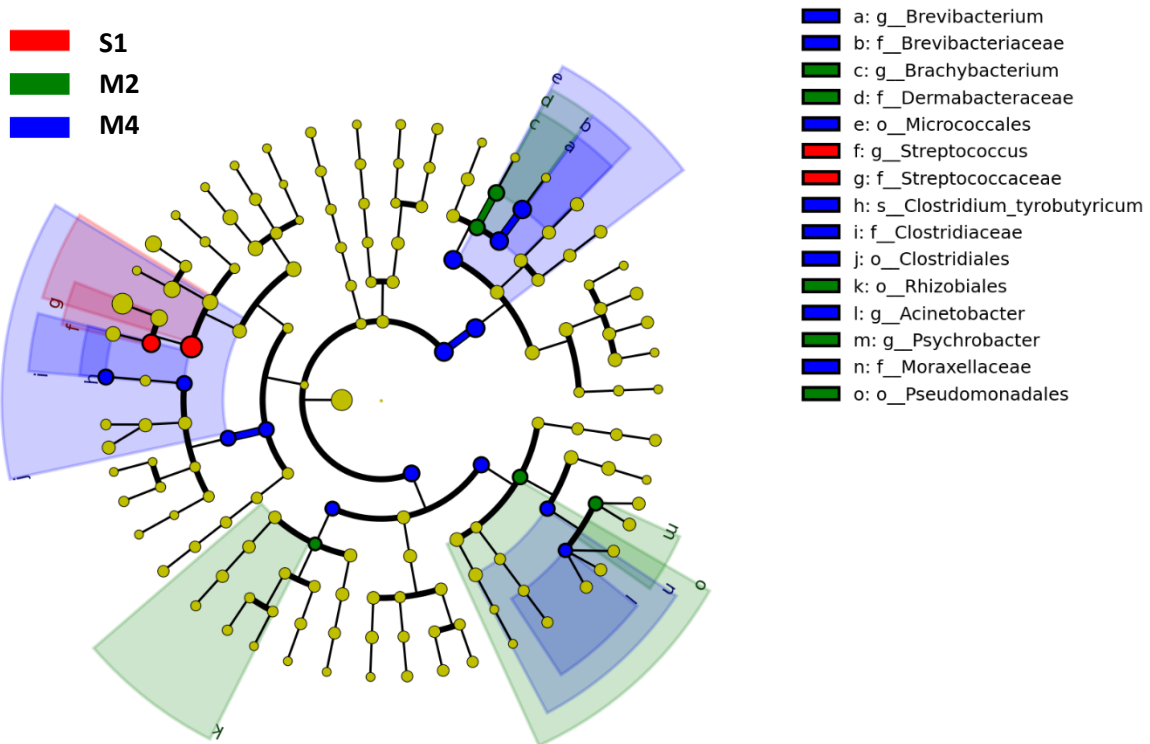
Pasta prentsatu ez-egosiko gaztak egiteko erabili ohi diren hartzigarri komertzialak hainbaten konbinazioak dira. Adibidez, Esneki Zentroan – Leartikerren erabili ohi dena eta kontrol gisa berriz erabili zena, MA 4001 izan zen, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* eta *Streptococcus thermophilus* konbinazioa duena. Aipatutako teoriarekin bat etorritik, *Lactococcus lactis* edo *Streptococcus thermophilus* azpiespezie guztiek amina biogenoen eragin degradatzailea izan zezaketen, eta, beraz, espezie hori ez zen egokitzat jo proposatutako esperimentaletan konposatu horiek neutralizatuz eragin lagungarri posibletzat ikertzeko. Bestalde, *Brevibacterium* eta *Micrococcus* amina biogenoen degradatzailetzat hartzen zituzten erreferentziak zaharragoak ziren *L. plantarum* eta *L. casei*-ren gaitasun horri erreferentzia egiten diotenak baino. Bestalde, azken bi espezie hauek ohikoak dira pasta presentatutako gaztetan, eta, beraz, ez lukete eragingo mota horretako gaztetan. Horregatik, berrikuspen bibliografikoaren eta egindako azterketaren ondoren, bi hartzigarri horiekin lan egin ziren ondoren azalduko diren elaborazio esperimentaletan.



2-2: Elaborazio unea (goian ezkerra), afinazioa (goian eskuma) eta lote baten (C, *L. casei*; P, *L. plantarum*; K, control) laginketa (beheko argazkiak)

Esneki Zenotran – Leartikerren, ELAMINA proiektuan, esne pasteurizatutik abiatuta pasta prentsatu ez-egosiren 3 lote egin ziren, horietako bat MA 4001 hartzigarriarekin bakarrik, beste bat MA 4001 eta *L. casei*ekin eta beste bat MA 4001 eta *L. plantarum*-ekin (2-2 irudia). Elaborazio horiek tiramina eta histamina kontzentrazio handiekin dopatu ziren, heltze-aldian 4 hilabetera arte erabilitako hartzigarri komertzialen degradazio-ahalmena baloratu ahal izateko.

Biologia molekularren emaitzek adierazi zuten hartzigarri komertzial desberdinak zituzten 3 elaborazioen bakterio-komunitatea berdina izan zela, elaborazioetan nahita *L. casei* eta *L. plantarum* gehitu zirenetan izan ezik. Gainera, lagin guztietan portzentai erlatibo handiena *L. lactis* izan zela ikusi zen, eta ondoren *Streptococcus* generoa eta *Lactococcus* generoa. Horrek zentzua du, lote guztiak aurretik deskribatutako MA 4001 hartzigarri komertzialarekin abiatzen baitira. Bestalde, ikusi zen mikroorganismo jakin batzuek bakterioen komunitatea eta elaborazio guztiak bereizten zituztela heltze-aldian (1. astekoak, 2. hilekoak eta 4. hilekoak, haien artean heltze-prozesukoak; 2-3 irudia).



2-3 irudia: Laginetan identifikatutako bakterioen adarkatzea irudikatzen duen kladograma. Denbora-tarterako koloreztatuta agertzen dira beste denbora-tarte batekin alderatuta portzentai erlatibo nabarmen handiagoa duten mikroorganismoak.

Horrela, 1. astea *Streptococcus* generoko populazio handiagoa izateagatik bereizi zen, ziurrenik MA4001 hartzigarri azidifikatzaileak duen *Streptococcus thermophilus*-aren ondorioz, zein, ontze denboran zehar populazio maila murrizten joan zen. 2. hilabeteari dagokionez, *Brachybacterium* generoaren presentziagatik eta *Psychrobacter* generoaren presentziagatik bereizi zen, baina azken hori oso esanguratsua ez zen portzentai erlatibo batean identifikatu zen. *Brachybacterium* generoaren kasuan, *Brachybacterium nesterenkovi* espeziearen presentziagatik izan liteke, aurretik esnetik isolatuta eta potentzial proteolitiko eta lipolitikoagatik esnea hondatzea eragin dezakeen bakterio termoduriko potentzial gisa identifikatuta (Gvozdyak et al., 1992; Ribeiro Júnior et al., 2017).

Azkenik, ontzearen 4. hilabeteen hartutako laginak *Brevibacterium*, *Acinetobacter* eta *Clostridium tyrobutyricum* generoen presentziagatik bereizi ziren. *Brevibacterium* generoa ohikoa da gaztagintzan, batez ere azal garbituko gaztetan, azal "gorriak" lortzeko. Esneki Zentroa-Leartikerren mota honetako gaztak ganbera berean heldu dira, eta azal lezake gaztandegietan ohikoa den bezala partekatutako kamaretan ontze-denborarekin ingurunean sakabanatutako bakteriologia-gurutzaketa mota hori gertatzea. Bestalde, 4. hilabeteen *Clostridium tyrobutyricum* espeziea agertu zen. Loteen ontzean zehar, gehienak puzeen hasi zirela ikusi zen (2-6 irudia, gazta-akats ohikoa behi-esnearekin egindako

gaztetan; izan ere, gazten barruan bakterio butirikoen hazkuntza dela eta. Bakterio horiek baldintza anaerobikoetan garatzen dira, eta animaliek kontsumitzen duten siloetan ohikoa den bakterioa da, hortik esnera pasatuz.

Mikroorganismo hau, hazkuntzarako aurkako baldintzetan dagoenean, hala nola esnean edo ingurugiroan, bere espora formara pasatzen da. Denborarekin, gazta osatu batean, barnean dituen baldintzak ezin hobekak dira eta egoera biologikoki aktibora pasatzen da. Anaerobiosian dagoenez, bere metabolismoaren ondorioz gas karbonikoa sortzen du, gazta puztuz (USAL, 2023). Normalean inplikaturako bakterioak *Clostridium tyrobutiricum* eta *Clostridium butyricum* (USAL, 2023) dira.



2-4 irudia: Laginetako bi denbora-tartetan egindako bi gazten irudiak. Ezkerreko irudiak 1. astean lagindutako gazta bat irudikatzen du, 3. Lotearen kontrolari dagokiona. Eskuineko irudiak 4. hilabeteen lagindutako gazta bat identifikatzen du, 2. Lotean hartzigarri gisa *L. Plantarum* gehitu zaion elaborazioari dagokiona

Gazta eta amina biogenoak egiteko erabiliko zen esnearen konposizio kimikoaren emaitzek (2. taula) erakutsi zuten *L. casei* edo *L. plantarum* hartzigarri komertzialak gehitzeak ez zuela lagundu gaztaren histamina edo tiramina kentzen ontzearen une batean ere ez. Biologia molekularren emaitzak eztabaidatu diren atalean, ikusi zen elaborazio bakoitzeko bakterio-komunitateak ia berdinak zirela elaborazioen artean, eta, beraz, bakterio-metabolismoa, amina biogenoak dagokienez (biziraupena, metabolitoen sorrera, metabolitoen suntsipena), berdina izan zela elaborazio guztietarako.

Proiektuaren beharrak zirela eta, gazta txikiagoak egin izan behar ziren eta denborak aurrera egin ahala hezetasun handia galtzea eragin zuen (2-4 irudia), honek bakteriologiaren hazkuntza eragotzi zuen eta beraz, ez zen lortu esperotako amina biogenoen degradazioa. Beste aukera bat batzuk dira, gehitutako andui komertzialek ez dutela amina biogenoen degradazio portaera berezirik, edo bakterio-komunitatean beste bakterio batzuek ahalmen degradatzaile handiagoa dutenez, elaborazioetan gehitutako bi bakterio horien eragin estali zutela, hala nola *L. lactis* bakterioaren portzentai erlatibo zabala.

2. Taula: Histamina eta tiramina kontzentrazioa histamina eta tiramina gehigarri egindako gazta esperimentaletan (mg/kg gazta estraktu lehor), hartzigarrien konbinazio desberdinekin eta hainbat ontze denboratan laginduta.

Hartzigarri	Laginketa	Histamina (mg/kg EL gazta)		Tiramina (mg/kg EL gazta)	
		Media	DS	Media	DS
kontrola	S1	518,45	23,87	612,99	25,44
	M1	418,04	98,67	441,44	84,11
	M2	348,09	85,18	319,37	43,16
	M4	219,68	46,39	268,62	41,76
L. casei	S1	533,39	60,26	629,62	69,04
	M1	484,75	25,80	538,18	73,21
	M2	373,46	25,21	370,34	33,99
	M4	298,97	29,03	404,39	97,84
L. plantarum	S1	534,82	28,70	619,21	35,34
	M1	409,88	78,44	424,92	100,49
	M2	352,59	79,14	333,35	76,55
	M4	253,86	61,23	337,63	79,11

Hala ere, heltze-denborak aldeak erakusten ditu amina biogenoen kontzentrazioan. Guztira, 1. astetik 4. astera bitartean, histamina % 51,31 jaitsi zen eta tiramina % 45,72; hori bat dator, halaber, gazten populazio mikrobiotarraren aldaketekin, ontze denborak aurrera egin ahala, gehitutako hartzigarri komertzial edozein izanda ere.

Egindako gazten beste mantengai batzuei dagokienez, aminoazido guztien eta funtsezko aminoazidoen batukaria nabarmen handitzen joan zen ontze-garaiarekin batera, eta amina biogenoen batukariak, ordea, alderantzizko portaera izan zuen, laginketa-puntu bakoitzean diferentzia esanguratsuekin murriztuz. Horrela, ontze denborak aurrera egin ahala, proteolisiaren eta, beraz, aminoazido libreen balioa handitu arren, kontzentrazio hori ez dago lotuta elikagai-matrizean substratua izateagatik sortzen den amina biogenoen sorrera handiagoarekin.

Gainera, kontuan izan behar da elaborazio esperimental horiek histamina eta tiramina dosi altuekin doitu zirela esnetan. Gogoratu behar da gehieneko dosi onartuak daudela (1. taula); hala ere, ez da inolaz ere gainditzen bi analitoetako baten dosi maximoa pertsona osasuntsuentzako gazta-anoa batean. Arriskutsua da histaminarekiko sentikorrek diren eta IMAOrekin medikatutako pertsonentzat, baina hirugarren belaunaldiko IMAOrekin medikatzen badira ez (3. taula).

3. Taula: Histaminaren eta tiraminaren kontzentrazioa, mg gazta-ano-ko (30 g gazta), histamina eta tiramina gehigarri egindako gazta esperimentaletan, hartzigarrien konbinazio desberdinekin eta ontze-garai desberdinetan lagindutakoekin.

	Histamina (mg/30g)		Tiramina (mg/39g)	
	Media	DS	Media	DS
Kontrola	7,14	1,91	7,79	2,08
S1	9,00	0,34	10,65	0,35
M1	7,67	1,65	8,11	1,40
M2	6,97	1,74	6,39	0,92
M4	4,91	1,04	6,01	0,95
L. casei	8,26	1,28	9,52	1,84
S1	9,43	1,01	11,13	1,14
M1	9,18	0,48	10,19	1,38
M2	7,65	0,49	7,59	0,72
M4	6,78	0,61	9,16	2,15
L. plantarum	7,55	1,84	8,37	2,16
S1	9,51	0,51	11,02	0,62
M1	7,72	1,64	8,01	2,05
M2	7,22	1,71	6,83	1,66
M4	5,75	1,40	7,64	1,80
Guztira	7,65	1,72	8,56	2,10

3. ONDORIO OROKORRAK

- Histamina eta tiramina kontzentrazio handiak dituzten gaztek aniztasun bakteriano handiagoa dute konposatu nitrogenatu horien maila baxuko gaztek baino. Amina biogenoak sortzeko edo degradatzeko gaitasuna anduiaren mende dago.
- *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium variable*, *Corynebacterium flavescens*, *Corynebacterium glyciniphylum* eta *Yarrowia lipolytica* legamia tirocina tiraminara deskarboxilatze gaitasunarekin identifikatu dira.
- Histamina- eta tiramina-inokulazioa duten behi-esnearen egosi gabeko pasta prentsatuکو gazten elaborazioetan hartzigarri azidifikatzaileekin batera komertzialak diren *L. casei* eta *L. plantarum* anduiak gehitzeak ez zuen ekarri gaztaren histamina eta tiramina gehiago desagerraraztea ontze-denborako edozein unetan, kontrolarekin alderatuta
- Heltze-denborak histamina-kontzentrazioa (% 51,31) eta tiramina-kontzentrazioa (% 45,72) murriztea ekarri zuen, histamina-inokulazioarekin eta esne-tiraminarekin batera egosi gabeko pasta prentsatuکو gaztetan.

- Aminoazidoen kontzentrazioa (guztizkoak, funtsezkoak eta ez funtsezkoak) nabarmen handiagoa izan zen gaztaren ontze-denbora handitu ahala. Ordea, amina biogeno guztien kontzentrazioa nabarmen murriztu zen.
- Nahiz eta esnean histamina eta tiramina dosi handietan inokulatu gaztak egiterako orduan, inola ere ez dira gaintitzen bi konposatuetakoko dosi maximoak 30 g-ko gazta-anoa batean pertsona osasuntsuentzat. Arriskua dago histaminarekiko eta tiraminarekiko sentikorrek diren pertsonentzat.
- Gazta-elaborazio esperimentalak tamaina askoz txikiagokoak izan ziren merkataritza-mailan espero zenarekin alderatuta, eta horrek hezetasun-galera agresiboegia ekarri zuen ontze aldian. Honek, gehitutako hartzigarri esperimentalen eragina eta, beraz, amina biogenoen degradazioa oztopatu zuen. Gomendatuko litzateke esperimentala, diseinua aldaketa batzuekin erreplikatzeari, besteak beste azpilote bakoitza eskala errealeko elaborazio bat izanik, eta azaleratu daitezkeen aldaketak behatu, eta, gainera, proiektu honen ondoriozko beste hartzigarri interesgarri batzuk gehitzeko aukera baloratzea.



Leartiker