

**ELAMINA. Valoración de distintas estrategias para
la eliminación de las aminas biógenas presentes
en quesos que sufren grados elevados de
proteólisis en su elaboración y maduración**

RESULTADOS PARA LA WEB

Centro lácteo – *Esneki Zentroa*

Markina-Xemein, 31 de enero de 2024

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
2. RESULTADOS DEL PROYECTO ELAMINA	2
3. CONCLUSIONES GENERALES.....	11

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1: Detalle de los aislados obtenidos de las colonias que se desarrollaron en presencia de concentraciones elevadas de tiramina (izquierda) y de histamina (derecha).	4
Figura 2-2: Detalle de momentos de elaboración (arriba-izquierda), afinado (arriba derecha), y muestreo (fotos abajo) de un lote (C, L. casei; P, L. plantarum; K, control).	6
Figura 2-3: Cladograma donde se representa la ramificación de las bacterias identificadas en las muestras. Se muestran coloreadas para rango temporal aquellos microorganismos cuya abundancia relativa es significativamente más elevada con respecto a otro rango temporal.	7
Figura 2-4: Imagen que representa dos quesos de las elaboraciones realizadas en dos momentos temporales distintos de muestreo. La imagen izquierda representa un queso en la semana 1 de muestreo correspondiente a la elaboración control del lote 3. La imagen derecha identifica un queso en el mes 4 de muestreo correspondiente a la elaboración con L. plantarum añadido como fermento del lote 2.....	8

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Dosis máximas admitidas como seguras en el consumo de aminas biógenas por persona en una comida (EFSA, 2011).....	1
Tabla 2: Concentración de histamina y tiramina en los quesos experimentales (mg/kg de extracto seco de queso) elaborados con suplementación de histamina y tiramina, con distinta combinación de fermentos y muestreados en distintos tiempos de maduración.	9
Tabla 3: Concentración de histamina y tiramina en mg por ración de queso (30g de queso) en los quesos experimentales elaborados con suplementación de histamina y tiramina, con distinta combinación de fermentos y muestreados en distintos tiempos de maduración.	10

1. INTRODUCCIÓN

Las aminas biógenas de origen alimentario tienen efectos perjudiciales en la salud de la población: intoxicación histamínica, “intolerancia a la histamina” y “reacción al queso”. La ingesta máxima permitida la estableció la EFSA en 2011 (Tabla 1).

Tabla 1: Dosis máximas admitidas como seguras en el consumo de aminas biógenas por persona en una comida (EFSA, 2011).

	Histamina	Tiramina
Personas sanas	25-50mg	600mg
Personas sensibles	Intolerancia a la histamina: Ausencia	Personas medicadas con IMAO de tercera generación: 50mg Personas medicadas con IMAO clásicas: 6mg

El origen alimentario principal de estos compuestos son los pescados, mariscos y derivados, siendo menores las cantidades que provienen de alimentos fermentados como los quesos. Sin embargo, es la suma de la ingesta total diaria la que puede producir estos efectos en la salud humana y siendo el pescado un alimento fresco de consumo recomendado, la reducción de histamina y tiramina se debe lograr en los alimentos procesados/fermentados.

Las aminas biógenas se producen en el queso al descarboxilar los aminoácidos histidina y tirosina liberados previamente de la fracción proteica láctea por proteólisis. Así, los quesos con mayores niveles de estos compuestos son aquellos con una actividad proteolítica alta: los azules (490g/kg de histamina y 625g/kg de tiramina), de pasta prensada (cocidos – 210g/kg de histamina y 41 g/kg tiramina-; o no – 25,6g/kg de histamina y 238g/kg de tiramina), y probablemente también, los de pasta blanda y/o lácticos.

Sin embargo, no todos los microorganismos de los quesos son capaces de producir estos compuestos, y, lo que es mucho más interesante, existen otros microorganismos importantes en la industria quesera que son capaces de degradar la histamina y tiramina (por ejemplo, el *Lactobacillus casei*), eliminando su componente tóxico del alimento.

El proyecto ELAMINA ha sido un proyecto financiado por la convocatoria Berriker 2022 del Gobierno Vasco de una duración de 13 meses que ha liderado y llevado a cabo Esneki Zentroa - Leartiker SCOOP. El objetivo principal del proyecto era identificar las variables tecnológicas cuya modificación en la elaboración de quesos daría lugar a productos seguros libres de aminas biógenas.

2. RESULTADOS DEL PROYECTO ELAMINA

2.1. Caracterización microbiana de los quesos con concentración elevada de histamina y tiramina

Lo primero que se llevó a cabo fue la caracterización microbiana de los quesos de pasta prensada con concentración elevada de histamina y tiramina comparándolos con los de quesos de concentración baja de estos compuestos químicos mediante técnicas de biología molecular. Los resultados mostraron una mayor variedad de microorganismos presentes en la mezcla de quesos con elevados porcentajes de aminas biógenas que en los quesos con baja concentración (Tabla 2).

En ambas categorías de quesos la bacteria *Lactococcus lactis* y el género *Streptococcus* fueron predominante en abundancia relativa frente a las demás, sin embargo, lo fueron mucho más en los quesos baja concentración de aminas biógenas que en el de altas concentraciones. Dado que tanto *Lactococcus lactis* como *Streptococcus thermophilus* son especies bacterianas habitualmente usadas en los fermentos comerciales acidificantes, podría ser normal que aparezcan en proporciones elevadas en ambos quesos.

Además, los quesos con bajos niveles de aminas biógenas presentan *Loigolactobacillus coryniformis* y bacterias del género *Latilactobacillus*, mientras que los otros no. *Loigolactobacillus coryniformis* ha sido ya identificado en quesos de distinta tecnología láctea a los quesos de pasta prensada habituales en el mercado vasco como el Tulum de origen turco que se trata de una pasta blanda (Gumustop y Ortakci, 2023) o el queso de Beira Baixa de Portugal que se trata de un queso elaborado con cuajo vegetal (Cardinali et al., 2022), pero también en un queso Cheddar, que sí se trata de un queso de pasta prensada (Singh y Singh, 2014) por lo que podría ser habitual en este tipo de quesos. Por último, dentro del género *Latilactobacillus* podrían estar presentes el *L. curvatus*, con capacidad de producir tiramina a partir de tirosina y que es una bacteria aislada habitualmente de quesos como el Porrúa que se trata de un queso asturiano semicurado (López et al., 1997) o queso de tipo holandeses (Pachlová et al., 2018). Determinadas cepas de *L. curvatus* son productoras de aminas biógenas (por ejemplo, la cepa pura *L. curvatus* CECT 5786 de la Universidad de Valencia), sin embargo, no todas son capaces de realizar esta descarboxilación, como es el caso de la cepa pura de *L. curvatus* DSM 20019 de la colección alemana DSMZ.

Presentes en ambas categorías de quesos pero con ligeramente mayor proporción en lo que tenían una elevada concentración de aminas biógenas se identificaron en género *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Enterococcus*. Distintas cepas del género

Lactobacillus o *Brevibacterium* se usan habitualmente en queserías como fermentos acidificantes o adjuntos, por lo que es normal que aparezcan en todos los quesos. Los *Brevibacterium* están caracterizados como degradadores de aminas biógenas (Leuschner y Hammes, 1998; Leuschner et al., 1998), si bien no todas las cepas tienen por qué tener esta capacidad. La presencia de *Staphylococcus* es habitual en quesos (Delcenserie et al., 2014) si bien no siempre deseada puesto que dependiendo de la especie se podría estar hablando de presencia de bacterias patógenas con capacidad de producir intoxicación (*S. aureus*). Del mismo modo, determinadas especies de *Enterococcus* son bacterias que ayudan a la maduración del queso aportando aptitudes sensoriales deseadas, sin embargo, existen otras especies que se desaconseja en estas elaboraciones (Delcenserie et al., 2014). Por último, las *Pseudomonas* suelen indicar contaminación por agua no tratada con luz UV en algún punto de la producción quesera (desde la leche hasta la sala de maduración) estando asociado a defectos visuales en los quesos (Delcenserie et al., 2014).

En el lado extremo, con presencia en las muestras con elevada concentración de aminas biógenas y ausencia en las muestras con baja concentración de estos compuestos se encuentran los géneros *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus* y otros 14 microorganismos identificados con menor impacto en abundancia relativa pero únicamente presentes en este pool de quesos con diversidad microbiana elevada. Los géneros mencionados son de uso habitual en quesería como fermentos acidificantes y/o adjuntos como el *Lactiplantibacillus plantarum* (Afshari et al., 2022).

En cualquier caso, este perfil tan diverso de los quesos con alta concentración de aminas biógenas es indicativo de quesos probablemente elaborados con leche cruda con alta capacidad proteolítica.

2.2. Identificación de microorganismos con capacidad productora de histamina y tiramina

En esta tarea se partió de bacterias aisladas de los quesos con elevadas concentraciones de aminas biógenas comentadas hasta ahora. Durante el aislamiento se les sometió a altas concentraciones de histamina y de tiramina con el objetivo de aislar aquellas capaces de desarrollarse en estas condiciones. Se aislaron todas las colonias que se habían desarrollado en altas concentraciones de histamina y de tiramina (Figura 2-1), y se identificó la posible presencia del gen que les permitiría descarboxilar histidina y tirosina para producir histamina y tiramina.

De las 167 colonias aisladas tanto de los caldos enriquecidos en histamina como en tiramina, ninguna de ellas presentó el gen HdcA y un 76,7% de ellas lo presentó para TdcA. Estos resultados están en línea con lo descrito por Herrero-Fresco et al. (2012). Los resultados hacen plantear que han tenido que existir bacterias positivas al gen HdcA en algún momento de la maduración del queso, aunque quizá en su momento de comercialización ya no estén presentes por la evolución bacteriana de la pasta. Además, las colonias negativas a TdcA y HdcA se podrían considerar meras supervivientes a las elevadas concentraciones de aminas biógenas o incluso degradadoras de ella, lo que sería de interés para el mercado quesero dado el elevado nº de microorganismo negativos a HdcA y TcdA de esta parte del experimental.

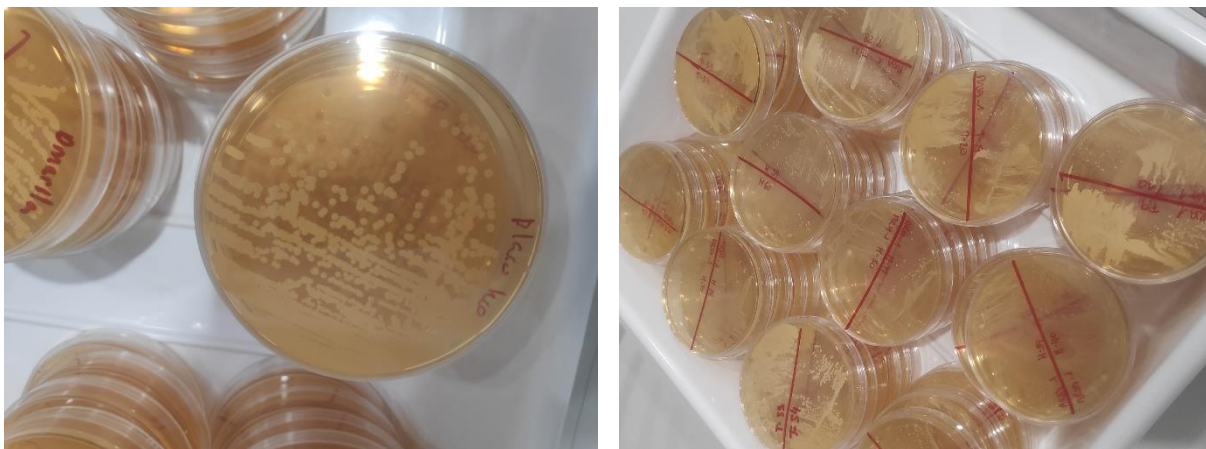


Figura 2-1: Detalle de los aislados obtenidos de las colonias que se desarrollaron en presencia de concentraciones elevadas de tiramina (izquierda) y de histamina (derecha).

Las bacterias positivas para TdcA se consideran las responsables de la elevada concentración de tiramina en el queso, si bien no se puede descartar que haya habido otras bacterias presentes en el queso a lo largo de su periodo de maduración que también hayan intervenido en la creación de estos compuestos y que no se hayan podido identificar en su momento de análisis por degradación de su material genético.

A continuación, se tomaron 5 colonias positivas al gen TdcA con morfología diferente y se secuenciaron mediante la técnica WGS para identificar la especie. Estas resultaron ser *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium variable*, *Corynebacterium flavescens*, *Corynebacterium glyciniphylum* e *Yarrowia lipolytica*. Según Delcenserie et al (2014), la mayor abundancia de *E. faecalis* estaría vinculada a quesos de altos periodos de maduración que partieron de leche cruda con respecto a los que partieron de leche pasteurizada. El género *Corynebacterium* estaría vinculado a la producción de quesos de corteza lavada puesto que se trata de un fermento de afinado habitual en esta tecnología quesera junto con

otros (Brennan et al., 2002; Feurer et al., 2004). Por último, la levadura *Yarrowia lipolytica*. podría estar presente de forma natural en la leche cruda (Boutru y Gueguen, 2005), se utilizaría como fermentos adjuntos para la mejora sensorial de algunos quesos de corta maduración (Centeno et al., 2017), y también podría incorporarse de forma natural en las cámaras de afinado. Así, se ha identificado en quesos elaborados bajo todo tipo de tecnología quesera, sobre todo de elaboración artesanal (Bintsis, 2021).

2.3. Identificación de fermentos específicos que den lugar a quesos de calidad libres de histamina y/o tiramina

En el queso de pasta prensada no cocida durante su maduración, se produce una lipólisis y proteólisis provocada por la comunidad bacteriana o sus metabolitos que da lugar a sabores y olores característicos del producto y que, además, da lugar a la liberación de aminoácidos que puede ser sustrato para las enzimas bacterianas en la producción de aminas biógenas. De hecho, según los datos obtenidos por Esneki Zentroa en los resultados parciales del proyecto GAZTAMINA, se llegaron a encontrar 30,30 mg de histamina y hasta 43,80 mg de tiramina por ración de queso (30g). También es cierto que los resultados fueron muy diversos para cada categoría de queso valorada, ya que hubo quesos de todo tipo con ausencia de histamina y tiramina.

La literatura científica ha descrito que no todos los microorganismos tienen la capacidad de liberar enzimas productoras de aminas biógenas a partir de aminoácidos y, además, se han identificado a nivel de cepa otros microorganismos que son capaces de degradarlas (Herrero-Fresco et al., 2012). Los microorganismos con mayores aptitudes tecnológicas en la elaboración y los más predominantes en la población bacteriana del queso son las bacterias ácido-lácticas (BAL). Se han identificado varios microorganismos de la familia de las BAL presentes en los quesos con capacidad de producir aminas biógenas como son el *Enterococcus durans* o *Lactobacillus curvatus*, productor de tiramina (Fernandez et al., 2007), y el *Lactobacillus parabunchneri*, productor de histamina (Díaz et al., 2016; Wechsler et al., 2021). Sin embargo, otras especies BAL como *E. lactis*, *L. plantarum*, *L. casei*, *Pediococcus spp.*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis*, *Lueconostoc mesenteroides*, *S. gallolyticus*, *S. thermophilus*, *W. paramesenteroides* han presentado, a su vez, capacidad de degradación de aminas biógenas in vitro (Leuschner et al, 1998), en vino (García-Ruiz et al., 2011), y en quesos (Anderegg et al., 2020; Renes et al., 2018; Herrero-Fresno et al., 2012; Guarcello et al., 2014). Otros microorganismos adjuntos a los cultivos iniciadores y que también suelen estar presentes en quesos, han mostrado capacidad de degradación de aminas biógenas como los *Brevibacterium* tanto in vitro (Leuschner et al, 1998) como en queso (Leuschner y Hammes, 1998), y los *Micrococcus* in vitro (Leuschner et al, 1998).

Los fermentos comerciales habitualmente utilizados para la elaboración de quesos de pasta prensada no cocida son una combinación de varios. Por ejemplo, el que habitualmente se usa en Esneki Zentroa – Leartiker y que nuevamente iba a ser utilizado como control, el MA 4001 es una combinación de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* y *Streptococcus thermophilus*. Por sí mismo, acorde con la teoría mencionada, todas las subespecies de *Lactococcus lactis* o incluso *Streptococcus thermophilus* podrían tener efecto degradador de aminas biógenas, por lo que esta especie no se consideró apropiada para investigar como posible efecto coadyuvante neutralizando de estos compuestos en los experimentales propuestos. Por otro lado, las referencias que indicaban a *Brevibacterium* y *Micrococcus* como degradadoras de aminas biógenas eran más antiguas que las que hacen referencias a esta capacidad del *L. plantarum* y *L. casei*. Por su parte, además, estas dos últimas especies son habituales en los quesos de pasta prensada por lo que no interferirían como adjuntos en quesos de este tipo. Es por ello, que, tras la revisión bibliográfica y el análisis realizado, se procedió a trabajar con estos dos fermentos en las elaboraciones experimentales que se expondrán a continuación.



Figura 2-2: Detalle de momentos de elaboración (arriba-izquierda), afinado (arriba derecha), y muestreo (fotos abajo) de un lote (C, *L. casei*; P, *L. plantarum*; K, control).

En Esneki Zenotra – Leartiker se realizaron en el proyecto ELAMINA 3 lotes de quesos de pasta prensada no cocida a partir de leche pasteurizada, uno de ellos únicamente con los fermentos MA 4001, otro con MA 4001 y *L. casei* y otro con MA 4001 y *L. plantarum* (Figura 2-2). Estas elaboraciones fueron dopadas con concentraciones elevadas de tiramina y de histamina para poder valorar la

capacidad de degradación de los fermentos comerciales utilizados a lo largo del periodo de maduración hasta los 4 meses.

Los resultados de biología molecular indicaron que la comunidad bacteriana de las 3 elaboraciones con fermentos comerciales diferentes fue igual a excepción de la presencia de *L. casei* y *L. plantarum* en las elaboraciones donde se añadió deliberadamente. Además, se observó que la mayor abundancia relativa en todas las muestras fue *L. lactis* seguido por el género *Streptococcus* y el género *Lactococcus* lo cual tiene sentido ya que todos los lotes parten en su elaboración con el fermento comercial MA 4001 descrito anteriormente. Por otro lado, se observó que hubo determinados microorganismos que diferencian la comunidad bacteriana de todas las elaboraciones durante el periodo de maduración (de la semana 1, mes 2 y mes 4 de maduración entre ellos; Figura 2-3).

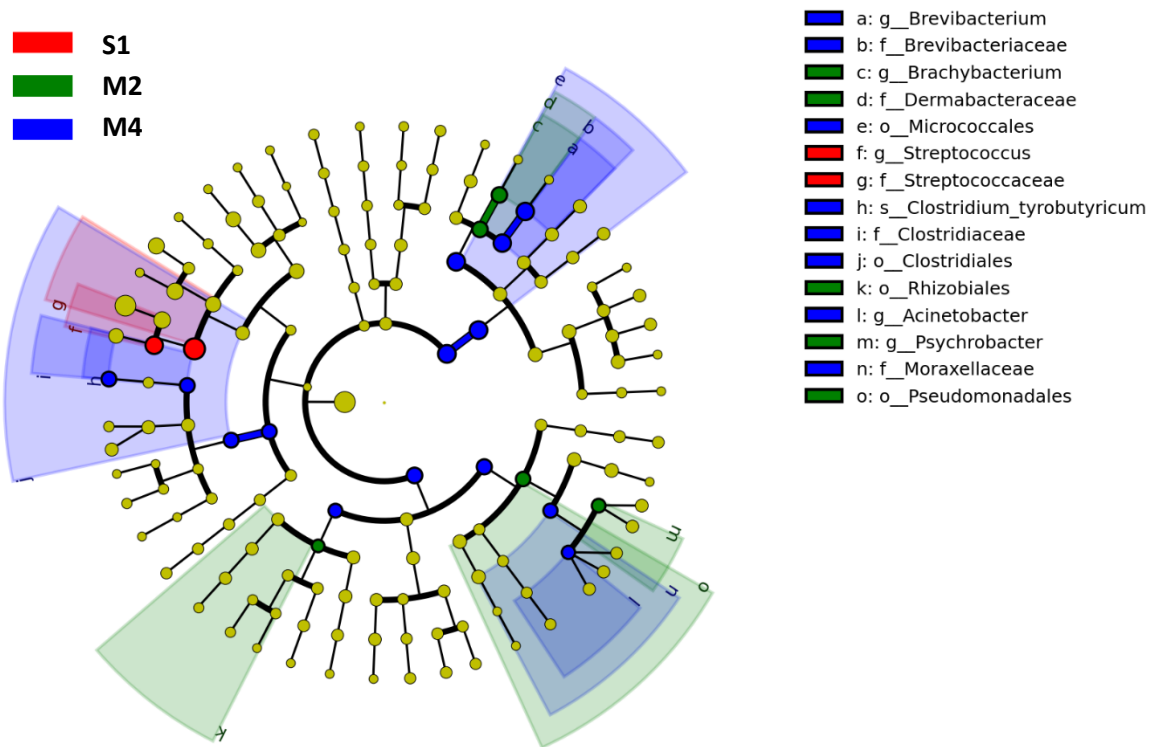


Figura 2-3: Cladograma donde se representa la ramificación de las bacterias identificadas en las muestras. Se muestran coloreadas para rango temporal aquellos microorganismos cuya abundancia relativa es significativamente más elevada con respecto a otro rango temporal.

Así, la semana 1 se diferenció por tener una mayor población del género *Streptococcus*, probablemente debido al *Streptococcus thermophilus* añadido en los fermentos acidificantes MA4001 el cual con el tiempo de maduración fue disminuyendo en población. En cuanto al mes 2, se diferenció

debido a la presencia del género *Brachybacterium* y por la presencia del género *Psychrobacter*, si bien este último, se identificó en una abundancia relativa poco significativa. En el caso del género *Brachybacterium*, esto podría haberse debido a la presencia de *Brachybacterium nesterenkovi*, previamente aislada de leche e identificada como una bacteria termodúrica potencial que puede generar el deterioro de la leche por su potencial proteolítico y lipolítico (Gvozdyak et al., 1992; Ribeiro Júnior et al., 2017).

Por último, las muestras tomadas en el mes 4 de maduración se diferenciaron por la presencia de los géneros *Brevibacterium*, *Acinetobacter* y de la especie *Clostridium tyrobutiricum*. El género *Brevibacterium* es habitual en quesería, sobre todo en los quesos de corteza lavada para lograr cortezas “del rojo”. En Esneki Zentroa-Leartiker se han realizado este tipo de quesos los cuales han madurado en la misma cámara y podría explicar que con el tiempo de maduración en cámaras compartidas como es habitual en las queserías, se produzca este tipo de cruzamiento de bacteriología dispersa por el ambiente. Por su parte, la presencia de *Clostridium tyrobutiricum* en el mes 4 de maduración era algo esperable por el equipo de trabajo. A lo largo de la maduración de los lotes, se observaron que la mayoría comenzó a hincharse (Figura 2-6), defecto quesero habitual en quesos elaborados con leche de vaca que han consumido silo debido al crecimiento de bacterias butíricas en el interior de los quesos. Estas bacterias, se desarrollan en condiciones anaeróbicas, por lo que es una bacteria habitual en los silos consumidos por los animales y, de ahí, pasan a la leche. Cuando dicho microorganismo se encuentra en una situación desfavorable para su desarrollo como es en la leche o el ambiente, pasa a su estado de spora y, con el tiempo, ya en un queso formado, en su interior se vuelven a dar las condiciones ideales para pasar a su estado biológicamente activo, en anaerobiosis y generando gas carbónico durante su metabolismo hinchando los quesos (USAL, 2023). Las bacterias habitualmente implicadas son los *Clostridium tyrobutiricum* y *Clostridium butyricum* (USAL, 2023).



Figura 2-4: Imagen que representa dos quesos de las elaboraciones realizadas en dos momentos temporales distintos de muestreo. La imagen izquierda representa un queso en la semana 1 de muestreo correspondiente a la elaboración control del lote 3. La imagen derecha identifica un queso

en el mes 4 de muestreo correspondiente a la elaboración con *L. plantarum* añadido como fermento del lote 2.

Los resultados de la composición química de la leche con la que se iba a elaborar los quesos y de aminas biógenas (Tabla 2) mostraron que añadir los fermentos comerciales *L. casei* o el *L. plantarum*, no ayudó a eliminar histamina ni tiramina del queso en ningún momento del periodo de maduración. En la sección donde se han discutido los resultados de biología molecular, se vio que las comunidades bacterianas de cada una de las elaboraciones eran prácticamente igual entre las elaboraciones, por lo que el metabolismo bacteriano con respecto a las aminas biógenas (supervivencia, generación de metabolitos, destrucción de metabolitos) fue, también, igual para todas las elaboraciones. Esto pudo deberse a las necesidades del proyecto llevaron a realizar quesos pequeños que con el paso del tiempo perdieron mucha humedad (Figura 2-4) y han podido interferir en el desarrollo esperado de la bacteriología de la que se esperaba una acción degradante de aminas biógenas. Otras posibilidades son que las cepas comerciales añadidas no tienen un especial comportamiento degradador de aminas biógenas, o bien porque en la comunidad bacteriana existen otras bacterias con capacidad degradadora mayor que enmascara la acción de estas dos bacterias añadidas durante las elaboraciones, como podría ser la amplia abundancia relativa de *L. lactis*.

Tabla 2: Concentración de histamina y tiramina en los quesos experimentales (mg/kg de extracto seco de queso) elaborados con suplementación de histamina y tiramina, con distinta combinación de fermentos y muestreados en distintos tiempos de maduración.

Fermentos	Muestreo	Histamina (mg/kg ES queso)		Tiramina (mg/kg ES queso)	
		Media	DS	Media	DS
Control	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
<i>L. casei</i>	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
<i>L. plantarum</i>	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

Sin embargo, el tiempo de maduración sí mostró diferencias en la concentración de aminas biógenas. En total, entre la semana 1 y el mes 4 de maduración hubo un descenso del 51,31 % de histamina y del 45,72 % tiramina, lo que encaja también con los cambios en la población microbiana de los quesos con el paso del tiempo de maduración independientemente del fermento comercial suplementario añadido.

En cuanto a otros nutrientes de los quesos elaborados, el sumatorio de los aminoácidos totales y esenciales fue incrementando significativamente con el periodo de maduración, mientras que el sumatorio de aminas biógenas tiene un comportamiento inverso, disminuyendo en cada punto de muestreo con diferencias significativas. Así, con el paso del tiempo de maduración, pese a incrementar el valor de la proteólisis y, por tanto, de aminoácidos libres, esta concentración no se ve vinculada con la mayor generación de aminas biógenas por disponer del sustrato en la matriz alimentaria.

Además, se debe tener en cuenta que estas elaboraciones experimentales se doparon inicialmente con altas dosis de histamina y tiramina en leche. Se debe recordar que existen dosis máximas admitida (Tabla 1), así, pese a ello, en ningún caso se sobrepasa la dosis máxima de ninguno de los dos analitos en una ración de queso para personas sanas, existiendo un riesgo para personas sensibles a la histamina y medicadas con IMAO clásicas, pero no si son medicadas con IMAO de tercera generación (Tabla 3).

Tabla 3: Concentración de histamina y tiramina en mg por ración de queso (30g de queso) en los quesos experimentales elaborados con suplementación de histamina y tiramina, con distinta combinación de fermentos y muestreados en distintos tiempos de maduración.

	Histamina (mg/30g)		Tiramina (mg/39g)	
	Media	DS	Media	DS
Control	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
Total general	7,65	1,72	8,56	2,10

3. CONCLUSIONES GENERALES

- Los quesos con altas concentraciones de histamina y tiramina tienen una mayor diversidad bacteriana que los quesos con bajos niveles de estos compuestos nitrogenados. La capacidad de formación o degradación de aminas biógenas es dependiente de cepa.
- *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium variable*, *Corynebacterium flavescens*, *Corynebacterium glyciniphylum* y la levadura *Yarrowia lipolytica* han sido identificados con capacidad de descarboxilar tirosina a tiramina.
- En elaboraciones de queso de pasta prensada no cocida de leche de vaca con inoculación de histamina y tiramina, el efecto de añadir junto a los fermentos acidificantes cepas comerciales de *L. casei* y de *L. plantarum* no supuso poder eliminar más histamina ni tiramina del queso en ningún momento del periodo de maduración con respecto al control.
- El tiempo de maduración supuso una disminución de la concentración de histamina (51,31 %) y de tiramina (45,72 %) en quesos de pasta prensada no cocida de leche de vaca con inoculación de histamina y tiramina en leche.
- La concentración de aminoácidos (totales, esenciales y no esenciales) resultó ser significativamente más elevada a medida que aumentaba el periodo de maduración del queso, al contrario que las aminas biógenas totales, que fueron disminuyendo significativamente.
- Pese a la inoculación en grandes dosis de histamina y tiramina en la leche para elaborar los quesos, en ningún caso se sobrepasa la dosis máxima de ninguno de los dos compuestos en una ración de queso de 30g para personas sanas, existiendo un riesgo para personas sensibles a la histamina y tiramina.
- Las elaboraciones de queso experimentales resultaron ser de tamaño bastante inferior en comparación a lo esperado a nivel comercial, lo que supuso una pérdida de humedad demasiado agresiva durante el periodo de maduración que podrían haber interferido en la acción de los fermentos experimentales añadidos y, por tanto, en la degradación de las aminas biógenas. Se recomendaría replicar el experimental con un cambio del diseño en el que cada sub lote fuese una elaboración a escala real y observar los cambios que se podrían observar y, además, valorar la posible adición de otros fermentos de interés resultado de este proyecto.



Leartiker