

# DETERMINACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS EN QUESOS MADURADOS

## Biogenic Amines Determination in Ripened Cheeses

Mary Contreras<sup>1</sup>, Pedro Izquierdo<sup>2</sup>, María Allara<sup>2</sup>, Aiza García<sup>2</sup>, Gabriel Torres<sup>2</sup> y Euclimar Céspedes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Postgrado Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería. <sup>2</sup> Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

E-mail: izquier@cantv.net - allara2004@hotmail.com

### RESUMEN

Durante la maduración de los quesos se presentan condiciones (temperatura, pH, humedad, concentración de sales, disponibilidad de sustrato) que favorecen la actividad descarboxilante de las bacterias productoras de aminas biógenas. El objetivo de esta investigación fue identificar y cuantificar las aminas biógenas: triptamina, putrescina, cadaverina, tiramina, histamina, espermina y espermidina, en 3 tipos de quesos madurados de producción nacional (Manchego, Brie y Parmesano), así como identificar *Streptococcus*, *Brevibacterium* y bacterias ácido lácticas presentes en estos quesos. Se analizaron 2 marcas para cada tipo de queso, por medio de la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), y se logró detectar 7 aminas biógenas. En el queso Manchego las aminas biógenas encontradas en mayor y menor concentración, respectivamente, fueron espermidina (120,22 ppm) y tiramina (43,10 ppm); en el queso Brie, la putrescina presentó la mayor concentración (145,25 ppm) mientras que la cadaverina fue detectada en menor concentración (38,41 ppm); en el queso Parmesano, espermina (142,88 ppm) y espermidina (49,82 ppm) fueron las aminas detectadas en mayor y menor concentración, respectivamente. Los contenidos promedios (ppm) de aminas biógenas por marca de queso madurado fueron: Manchego (M1): 617,60; (M2): 549,51; Brie (M1): 630,80; (M2): 823,67; Parmesano (M1): 667,72 y (M2): 633,47. Ninguno de los valores obtenidos excedió los límites máximos establecidos por la FAO/WHO como tolerables. El efecto de la marca de queso sobre la concentración de aminas biógenas no fue determinante, mientras que el efecto del tipo de queso influyó significativamente en la concentración de estas aminas. Se detectó la presencia de *Streptococcus*, *Brevibacterium* y bacterias ácido lácticas en cantidades inferiores a las reportadas en

otras investigaciones. La ingesta de estos quesos madurados por consumidores susceptibles a los efectos tóxicos de estas aminas biógenas, representaría un potencial problema de Salud Pública.

**Palabras clave:** Quesos madurados, aminas biógenas, cromatografía.

### ABSTRACT

There are conditions during cheese ripening (Temperature, pH, humidity, salt concentration, substrate availability) that induce decarboxylating activity by bacteria producing biogenic amines. The objective of this research was to identify and to quantify the presence of biogenic amines: triptamine, putrescine, cadaverine, tiramine, histamine, spermine and spermidine in three types of cheese (Manchego, Brie and Parmesano), produced in Venezuela and to identify microorganisms *Streptococcus*, *Brevibacterium* and Lactic Acid Bacteria present in these cheeses. Two commercial brands of each type of cheese were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), and seven biogenic amines were identified. In Manchego cheese the biogenic amines detected in higher and lower concentration were spermidine (120.22 ppm) and tiramine (43.10 ppm). Putrescine in Brie cheese had the highest concentration (145.25 ppm) and cadaverine in the same cheese the lowest concentration (38.41 ppm), meanwhile in Parmesano cheese spermine (142.88 ppm) and spermidine (49.82 ppm) were the biogenic amines detected in higher and lower concentrations, respectively. Biogenic amines average content by commercial brand expressed in ppm were: Manchego (TM1): 617.6, Manchego (TM2): 549.51; Brie (TM1): 630.8, Brie (TM2): 823.67; Parmesano (TM1): 667.72 and Parmesano (TM2): 633.47. None of the analyzed samples exceeded the limits reported by FAO/WHO as acceptable. Effect of commercial brand on biogenic amine content was not rele-

vant, but type of cheese was significant. *Streptococcus*, *Brevibacterium* and Lactic Acid Bacteria were found in lower amount than other researches. Consume of ripened cheeses by people susceptible to biogenic amines, could represent a potential public health problem.

**Key words:** Ripened cheeses, biogenic amines, chromatography.

## INTRODUCCIÓN

Durante la maduración de los quesos, ocurren transformaciones en las características físicas, químicas y sensoriales, generando el sabor, olor, color y textura que le son particulares a cada tipo de queso madurado [2, 18, 29]. Los cultivos iniciadores hidrolizan las cadenas polipeptídicas liberando aminoácidos; sustrato de las enzimas descarboxilasas microbianas para la producción de aminas biógenas [19].

Durante este proceso existen condiciones ambientales y de almacenamiento como son: temperatura, humedad, grado de acidez y concentración de sales, que afectan la textura del queso y pueden favorecer el crecimiento de las enterobacterias. Estos microorganismos podrían estar presentes por inadecuada manipulación higiénica, y tienen la capacidad de producir aminas biógenas [14, 18].

Por otra parte, diversos autores, han reportado que los cultivos iniciadores utilizados en la elaboración de los quesos madurados, se asocian con la producción de aminas biógenas tales como: histamina, tiramina, triptamina, putrescina, cadaverina, espermina y espermidina. Los cultivos iniciadores *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*, que se utilizan como inóculos en los quesos madurados, han sido identificados como bacterias que poseen enzimas descarboxilasas de los aminoácidos con lo cual son potencialmente productoras de aminas biógenas [3, 5, 12, 13, 26, 28].

En Venezuela, estudios realizados por Izquierdo y col. [8] sobre el contenido de aminas biógenas en quesos madurados, detectaron que varias especies del género *Lactobacillus* tienen la capacidad de producir histamina. El objetivo de éste trabajo fue determinar la presencia de aminas biógenas en quesos madurados tipo: Manchego, Brie y Parmesano producidos en el país, así como identificar *Streptococcus*, *Brevibacterium* y bacterias ácido lácticas en estos tipos de quesos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de la muestra

Se analizaron 8 muestras de queso Manchego, Brie y Parmesano de dos marcas de producción nacional (denominadas M1 y M2), para un total de 48 muestras. Las muestras de queso eran pertenecientes a un mismo lote de elaboración por tipo y marca, y tenían un vencimiento de dos meses a partir de

la fecha del muestreo. Se adquirieron 250 g de cada queso en panaderías del municipio Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio en una cava con temperatura promedio de 15°C para realizar los siguientes análisis por duplicado:

### Determinación y cuantificación de aminas biógenas

Se determinaron las aminas: tiramina, triptamina, putrescina, cadaverina, histamina, espermina, y espermidina utilizando el método recomendado por Eerola y col. [4].

Para la preparación de las muestras, se homogeneizaron 5 g de queso con 10 mL de ácido perclórico 0,4 M en un homogenizador Ultra-turrax® y se centrifugaron por 10 minutos a 3000 rpm. Luego fueron filtrados al vacío, usando papel Whatman N° 2, y trasvasados a balones aforados de 25 mL. La operación se repitió tres veces y los sobrenadantes fueron combinados y ajustados a 25 mL con ácido perclórico 0,4 M.

Para la formación de derivados fluorescentes se tomó 1 mL del filtrado, que fue mezclado con 200 µL de hidróxido de sodio 2 N y luego tamponada añadiendo 300 µL de bicarbonato de sodio saturado. Posteriormente se adicionaron 2 mL de solución de cloruro de Dansilo (10 mg de cloruro de Dansilo en 1 mL de acetona) y fue transferido a una incubadora a 40°C por 45 min. El cloruro de Dansilo residual fue removido añadiendo 100 µL de amoníaco puro, se dejó en reposo por 30 min y se ajustó a un volumen de 5 mL con acetonitrilo. Posteriormente se centrifugó por 5 minutos a 2500 rpm y el sobrenadante fue filtrado a través de un filtro millipore de 0,22 µm de poro para su inyección en el cromatógrafo.

Se preparó un estándar de 100 ppm a partir de patrones de tiramina, triptamina, putrescina, cadaverina, histamina, espermina, y espermidina de alta pureza (Sigma Chem. Co. EUA). La formación de derivados fluorescentes de los estándares se realizó de la misma manera que las muestras.

El cromatógrafo marca Shimadzu®, estuvo integrado por una válvula de inyección Rheodyne®, una bomba Shimadzu® modelo LC-6 A (Japón), una columna de fase reversa Merck® RP-18 Lichosper (12,5 cm, 4,5 mm Ø, 5 µm) (Alemania), un detector de UV-Visible marca Shimadzu® modelo SPD-6 A (Japón), a una longitud de onda de 254 nm. Para el registro de los resultados se utilizó el software cromatográfico Class-Vp Shimadzu®.

Se utilizó un gradiente de elusión con una mezcla de acetato de amonio 0,1 M (solvente A) y acetonitrilo (solvente B) comenzando 80%: 20% respectivamente, incrementando B a 80% en 25 minutos. La corrida se mantuvo isocráticamente por 5 minutos. El flujo fue de 0,7 mL/min y el volumen de la inyección fue de 20 µL.

Para determinar la concentración de las aminas, se comparó el tiempo de retención de cada muestra con los estándares de referencia y la concentración del analito se calculó por comparación de las áreas de los picos.

**Análisis microbiológico**

**Recuento de *Streptococcus*:** Se le realizó al queso Manchego según la metodología de la ICMSF [7]. Se pesaron 11 g de muestra y se homogeneizaron con 99 mL de citrato de sodio al 2%. A partir de esta dilución (10<sup>1</sup>) se prepararon diluciones seriadas desde 10<sup>2</sup> hasta 10<sup>4</sup>, las cuales se sembraron por superficie en placas de agar M17 HIMEDIA®, y se incubaron en una estufa Thelco® a 35°C por 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se procedió al recuento de colonias típicas (lisas, brillantes y de un color blanco amarillento).

**Recuento de Bacterias Ácido Lácticas y *Brevibacterium*:** El recuento de bacterias ácido lácticas se le realizó al queso Parmesano y el recuento de *Brevibacterium* al queso Brie empleando la metodología de la ICMSF [7]. Se pesaron 11 g de muestra y se homogeneizaron con 99 mL de citrato de sodio al 2%. A partir de esta dilución (10<sup>1</sup>) se prepararon diluciones seriadas desde 10<sup>2</sup> hasta 10<sup>5</sup>, y se sembró en placas de agar MRS (De Man Rogosa y Sharpe) Merck®, que fueron incubadas por 48 h a 37°C en condiciones de microaerofilia (5-10% de CO<sub>2</sub>), mediante el empleo de una campana de Gas-Pack. Una vez transcurrido el tiempo se procedió al recuento de colonias típicas para bacterias ácido lácticas (colonias pequeñas, lenticulares y lisas o colonias grandes, rugosas y arborescentes) y *Brevibacterium* (colonias blancas y grandes).

**Análisis Estadístico:** Para determinar diferencias significativas entre los quesos se aplicó un análisis de la varianza, a través de un modelo aditivo lineal con un diseño multifactorial jerarquizado totalmente al azar, respondiendo al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + M_j(i) + E_{ijk}$$

donde:

Y<sub>ijk</sub> : Variable respuesta (aminas biógenas)

μ : Media global

T<sub>i</sub> : Efecto del tratamiento (tipo de queso madurado)

M<sub>j</sub>(i): Efecto del tratamiento (marca dependiente del tipo)

E<sub>ijk</sub> : Error experimental

Para la comparación de las medias se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de P<0,05. Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el paquete estadístico SAS versión 8,1 [11, 20].

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la TABLA I se presenta la concentración promedio de las aminas biógenas triptamina, putrescina, cadaverina, tiramina, histamina, espermina y espermidina encontradas en los quesos estudiados. El contenido promedio más alto de las aminas detectadas corresponde a la putrescina en el queso Brie,

con 145,25 ppm, concentración que no mostró diferencias significativas (P<0,05) para esa amina con los otros quesos analizados. La cadaverina fue la amina detectada en menor concentración con 38,41 ppm en el queso Brie. Este valor es diferente significativamente (P<0,05) para el queso Parmesano.

Con relación a las otras aminas detectadas en los quesos estudiados se observó que el contenido de triptamina en el queso Manchego es significativamente menor (P<0,05) con respecto al Parmesano y el Brie.

El queso Manchego presentó la menor concentración de tiramina (43,10 ppm) diferente significativamente (P<0,05) a los contenidos de la misma amina en los quesos Parmesano (94,05 ppm) y Brie (109,94 ppm), los cuales no presentaron entre ellos diferencias significativas. Detectándose el contenido más alto en el Brie.

No se observaron diferencias significativas en cuanto a la concentración de histamina entre los tres tipos de quesos estudiados. Presentando la mayor concentración el queso Brie (127 ppm) y la menor para el Parmesano (82,07 ppm).

La espermina se encontró en mayor concentración en el queso Parmesano (142,88 ppm) y difiere significativamente (P<0,05) del contenido en el queso Brie (80,77 ppm) el cual presentó el menor contenido de esta amina.

El queso Manchego mostró la mayor concentración de espermidina (120,22 ppm) observándose diferencias significativas (P<0,05) en comparación con el queso Parmesano (49,82 ppm) que presentó el menor contenido de la amina.

Diversas investigaciones [6, 12, 26, 27] han identificado y cuantificado las aminas biógenas: tiramina, triptamina, putrescina, cadaverina, histamina, espermina y espermidina en quesos madurados, reportando resultados similares a este estudio. El alto contenido y variabilidad de aminas biógenas en quesos madurados podría ser atribuido a las condiciones de procesamiento, donde el tiempo de maduración en conjunto

**TABLA I**  
**CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE AMINAS BIÓGENAS EN QUESOS MADURADOS/**  
**AVERAGE CONCENTRATION OF BIOGENIC AMINES IN RIPENED CHEESES**

Amina Biógena	Manchego	Parmesano	Brie
Triptamina	53,78 <sup>a</sup>	106,75 <sup>b</sup>	132,21 <sup>b</sup>
Putrescina	104,66	115,06	145,25
Cadaverina	52,48 <sup>ab</sup>	62,45 <sup>b</sup>	38,41 <sup>a</sup>
Tiramina	43,10 <sup>a</sup>	94,05 <sup>b</sup>	109,94 <sup>b</sup>
Histamina	98,93	82,07	127,00
Espermina	110,36 <sup>ab</sup>	142,88 <sup>b</sup>	80,77 <sup>a</sup>
Espermidina	120,22 <sup>b</sup>	49,82 <sup>a</sup>	98,30 <sup>ab</sup>

ab medias con letras diferentes en una misma fila presentan diferencia (P<0,05).

con los microorganismos presentes en la elaboración del queso, promueven la proteólisis, resultando en un incremento progresivo de los aminoácidos precursores de las aminas biógenas [13, 19].

En la TABLA II se presentan las concentraciones de aminas biógenas, expresadas en ppm, para los distintos tipos y marcas de quesos analizados. La amina encontrada en menor concentración fue la espermidina, que correspondió al queso Brie (M1) con 27,07 ppm, mientras que la mayor concentración correspondió al mismo queso pero en la otra marca (M2) con 169,5 ppm.

La triptamina presentó valores entre 44,22 y 149 ppm, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en su concentración entre los tipos de queso, siendo inferior la cantidad encontrada en el queso Manchego con respecto al resto de los quesos estudiados. Al analizar los datos de cada tipo de queso no se encontraron diferencias significativas entre las marcas. Los valores observados son inferiores a los encontrados por otros autores los cuales reportan valores entre 241,92 y 540 ppm [13].

La putrescina se encontró en concentraciones de 101,05 hasta 151,2 ppm y no presentó diferencias significativas entre los tipos y marcas estudiadas. Valsamaki y col. [27] reportaron concentraciones similares a las encontrados en este trabajo (77,7-193 ppm) y sugieren que los contenidos elevados de putrescina pueden ser debidos a la presencia de enterobacterias durante la fabricación de los quesos, ya que estas presentan alta actividad en la descarboxilación de aminoácidos.

Las concentraciones de cadaverina variaron entre 32,82 y 66,72 ppm. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tipos de queso Parmesano (M2) y Brie (M1), y entre las marcas M1 y M2 del queso Manchego. Las concentraciones reportadas por otros autores [13, 14, 27] varían entre 82,8 y 215,28 ppm, superiores a las encontradas en este trabajo. El queso tipo Parmesano presentó la mayor concentración de esta amina, coincidiendo con lo reportado por Aygun y col. [1], quienes afirman que la cadaverina puede estar pre-

sente en los quesos duros en concentraciones mayores a las encontradas en quesos semiduros y blandos.

La concentración de tiramina varió de 38,57 hasta 120,63 ppm. No se observaron diferencias entre las marcas para los distintos tipos de queso. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las Marcas M1 y M2 de los quesos tipo Parmesano y Manchego. Stratton y col. [17] y Rice y col. [22], reportaron la presencia de tiramina en queso Parmesano en concentraciones de hasta 290 ppm. Rice y col. [17] en quesos Brie detectó cantidades máximas 260 ppm, coincidiendo con lo encontrado en los quesos analizados.

La histamina se encontró en un rango de 67,2 a 153,05 ppm. Se observaron diferencias entre los tipos de queso, siendo significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) la concentración en el queso Brie (M2) a las encontradas en Parmesano (M1) y Manchego (M2). Los valores encontrados son superiores a los reportados por Valsamaki y col. [27] (47 a 84 ppm), mientras que son inferiores a los de Aygun y col. [1] (122 a 1720 ppm). Sumner y col. [23] señalan que el hallazgo de histamina en los quesos madurados podría deberse a la disponibilidad de histidina libre presente debido a la proteólisis que ocurre durante la maduración.

La histamina es la amina principalmente asociada a intoxicaciones por consumo de alimentos, la FAO/WHO [25] recomienda que su contenido no sea mayor a 100 ppm. Los valores encontrados en el queso tipo Brie superan esta cifra. Stratton y Taylor [21, 24] reportaron casos de intoxicación en personas que estaban tomando medicamentos (isoniazida) y consumieron quesos que contenían un rango de histamina entre 30 y 100 ppm.

Los valores de espermina variaron entre 69,5 y 149,13 ppm y no se encontraron diferencias significativas para los tipos y marcas de quesos estudiados. Vale y col. [26] reportaron la presencia de esta amina en 46 muestras de queso analizadas con un promedio de 5,85 ppm, la diferencia de estos valores con lo obtenido podría ser atribuida a contaminación con enterobacterias [27].

**TABLA II**  
**CONCENTRACIÓN DE AMINAS BIOGENAS (ppm) POR TIPO Y MARCA DE QUESO MADURADO/**  
**BIOGENIC AMINES CONTENT (ppm) BY TYPE AND BRAND OF RIPENED CHEESE**

Amina Biógena	Manchego		Parmesano		Brie	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2
Triptamina	63,35 <sup>ab</sup>	44,22 <sup>a</sup>	112,30 <sup>bc</sup>	101,22 <sup>bc</sup>	149,00 <sup>c</sup>	115,42 <sup>bc</sup>
Putrescina	108,28	101,05	100,38	139,75	139,03	151,20
Cadaverina	66,72 <sup>c</sup>	38,25 <sup>ab</sup>	58,28 <sup>abc</sup>	66,62 <sup>bc</sup>	32,82 <sup>a</sup>	44,00 <sup>abc</sup>
Tiramina	47,62 <sup>ab</sup>	38,57 <sup>a</sup>	120,63 <sup>b</sup>	67,45 <sup>ab</sup>	112,38 <sup>ab</sup>	107,50 <sup>ab</sup>
Histamina	121,18 <sup>ab</sup>	76,70 <sup>a</sup>	67,20 <sup>a</sup>	96,95 <sup>ab</sup>	101,00 <sup>ab</sup>	153,05 <sup>b</sup>
Espermina	93,05	127,67	136,63	149,13	69,50	92,05
Espermidina	117,40 <sup>bc</sup>	123,05 <sup>bc</sup>	72,30 <sup>ab</sup>	27,35 <sup>a</sup>	27,07 <sup>a</sup>	169,50 <sup>c</sup>

abc medias con letras diferentes en una misma fila presentan diferencia ( $P < 0,05$ ).

La espermidina alcanzó concentraciones de 27,07 hasta 169,5 ppm, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tipos Manchego (M1 y M2), y el tipo Brie (M1). Entre marcas se encontraron diferencias en el tipo Brie (M1 y M2). Los valores encontrados en este estudio son superiores a los reportados por Novella y col. [13], quienes detectaron concentraciones entre 0 a 43,04 ppm.

Analizando en conjunto los datos discutidos previamente se puede decir que, el efecto de la marca de queso sobre la concentración de aminas biógenas no es determinante, no así el efecto del tipo de queso, factor que influye en la concentración de estas aminas significativamente, tal vez debido a las diferencias en el uso de cultivos iniciadores y en el proceso de manufactura de los mismos [16, 19].

La TABLA III muestra el contenido total de aminas biógenas para los tipos y marcas de los quesos madurados estudiados (expresados en ppm). Los valores detectados por tipo de queso variaron desde 583,56 ppm para tipo Manchego, hasta 731,34 ppm para tipo Brie. Aygun y col. [1] reportaron que, los contenidos de aminas biógenas para los quesos blandos pueden ser de 1700 ppm, semi duros 705 ppm y los duros 2250 ppm, valores que son superiores a los obtenidos en este estudio. Según FAO/WHO, el contenido total de aminas biógenas no debe exceder 1000 ppm [25]. Al estudiar los contenidos totales de aminas biógenas por marca, se encontró un valor mínimo de 549,5 ppm para el queso Manchego M2 y 823,67 ppm para el Brie M2; la concentración total de aminas biógenas no excedió el valor máximo permitido por la FAO en ninguno de los quesos estudiados.

En la TABLA IV se muestra el contenido de *Streptococcus* en los quesos madurados estudiados expresados en Log UFC/g. En el queso Manchego se obtuvieron valores de 2,44 y 3,82 Log UFC/g; los cuales son inferiores a los reportados por Sumner y col. [23], para este microorganismo, de 5,65 Log UFC/g. Los *Streptococcus* tienen la capacidad de decarboxilar la tirosina para producir tiramina, la cual pudiera explicar la concentración de tiramina encontrada en el queso tipo manchego (43,10 ppm), de forma similar a lo obtenido por Aygun y col. [1], quienes detectaron concentraciones de tiramina de 220 ppm.

**TABLA III**  
**CONTENIDO TOTAL DE AMINAS BIÓGENAS POR TIPO Y MARCA DE QUESO MADURADO/**  
**TOTAL CONTENT OF BIOGENIC AMINES BY TYPE AND BRAND OF RIPENED CHEESE**

Tipo de Queso	Marca		Promedio*	Límite tolerable FAO/OMS
	M1*	M2*		
Manchego	617,60	549,51	583,56	
Parmesano	667,72	633,47	650,60	1000 ppm
BRIE	630,80	823,67	731,74	

\*Los valores promedios expresados en mg/Kg (ppm).

En el queso Brie se analizó la presencia de *Brevibacterium* cuyos valores están entre 5,74 y 6,93 Log UFC/g, quedando por debajo a lo reportado por Leuschner y Hammes [10], quienes obtuvieron 7 Log UFC/g para éste microorganismo. Estos autores evidenciaron que el contenido de histamina y tiramina encontrado en el cultivo, disminuyó en un 70% y 55% respectivamente, agotando los nutrientes disponibles en un tiempo de maduración de 4 semanas.

En el queso parmesano se estudió la presencia de bacterias ácido lácticas, cuyos valores se ubican entre 5,74 y 6,93 Log UFC/g. Joosten y Northolt [9] reportaron recuentos similares de *Lactobacillus* (5,47 hasta 6,77 Log UFC/g). Se ha demostrado que los *Lactobacillus* tienen la capacidad de decarboxilar la histidina para producir histamina. Izquierdo y col. [8] analizaron la relación entre los *Lactobacillus* y la histamina en quesos madurados, encontrando histamina en queso parmesano en concentraciones de 95,23 ppm, que resultaron positivos a la presencia de *Lactobacillus*. Una disminución en el recuento de los cultivos iniciadores podría estar asociada a la elaboración de los quesos con leche pasteurizada, debido a que se produce una disminución en el conteo general de microorganismos por efecto del tratamiento térmico de la leche [15].

En la TABLA V se muestra el recuento, expresado en Log UFC/g de *Streptococcus* en el queso manchego, *Brevibacterium* en el Brie y bacterias ácido lácticas al queso parmesano, por tipo y marca de queso madurado estudiado. Para el queso Manchego en las dos marcas estudiadas no se encontraron diferencias significativas, con promedios en M1 de 2,53 y para M2 de 3,13; para el queso Brie tampoco se detectaron diferencias significativas y sus promedios fueron para M1 de 6,03 y en M2 de 5,81. En el queso parmesano la cantidad de bacterias lácticas presentó diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre las marcas, obteniéndose promedios de 5 para M1 y 3,52 UFC/g para M2. En el queso parmesano, los microorganismos utilizados como cultivos iniciadores con mayor frecuencia son las bacterias ácido lácticas pertenecientes al género *Lactoba-*

**TABLA IV**  
**RECuento DE *Streptococcus*, *Brevibacterium* Y BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (LOG UFC/g) EN 48 MUESTRAS DE QUESOS MADURADOS / COUNT OF *Streptococcus*, *Brevibacterium* AND LACTIC ACID BACTERIA (LOG UFC/g) IN 48 SAMPLES OF RIPENED CHEESES**

Queso	Microorganismo	Promedio Log UFC/g	Límite Reportado+
Manchego	<i>Streptococcus</i>	2,44	*5,65
		3,82	
Brie	<i>Brevibacterium</i>	2,44	**7
		3,82	
Parmesano	Bacterias Ácido Lácticas	5,74	***5,47
		6,93	

+ (Log UFC/g). \*Sumner y col. [23]. \*\*Leuschner y Hammes [10]. \*\*\*Joosten y Northolt [9].

**TABLA V**  
**RECUESTO *Streptococcus*, *Brevibacterium* Y BACTERIAS**  
**ÁCIDO LÁCTICAS POR TIPO Y MARCA DE QUESO**  
**MADURADO / COUNT OF *Streptococcus*, *Brevibacterium***  
**AND LACTIC ACID BACTERIA BY TYPE AND BRAND**  
**OF RIPENED CHEESE**

Queso Madurado	Marcas	Bacterias	Promedio (Log UFC/g)
Manchego	M1	<i>Streptococcus</i>	2,53 <sup>a</sup>
	M2		3,13 <sup>a</sup>
Brie	M1	<i>Brevibacterium</i>	6,03 <sup>a</sup>
	M2		5,81 <sup>a</sup>
Parmesano	M1	Bacterias ácido lácticas	5,0 <sup>a</sup>
	M2		3,52 <sup>b</sup>

Expresados en Log UFC/g  
Medias con letras diferentes en una misma fila presentan diferencia (P<0,05).

*cillus*, las cuales han sido indicados como microorganismos capaces de producir aminas biógenas. Las diferencias encontradas en la cantidad de bacterias ácido lácticas en las marcas analizadas, pudieran atribuirse al uso de cantidades distintas de este cultivo iniciador durante la fabricación del queso, así como posibles diferencias en las condiciones de procesamiento y almacenamiento del producto [15].

## CONCLUSIONES

Se detectó la presencia de las aminas biógenas triptamina, putrescina, cadaverina, tiramina, histamina, espermina y espermidina en los quesos madurados Manchego, Parmesano y Brie producidos en Venezuela.

Ninguno de los tipos y marcas de quesos estudiados excede los límites establecidos por la FAO/WHO para el contenido total de aminas biógenas.

En el queso Brie la concentración de histamina supera el límite de 100 ppm establecido como máximo por la FAO/WHO para esta amina.

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de las aminas triptamina, putrescina, tiramina, histamina y espermina para los quesos y marcas analizadas.

Se encontró que los grupos bacterianos propios de cada tipo de queso pudieran estar implicados en la producción de aminas biógenas.

## RECOMENDACIONES

Identificar, a través de pruebas químicas, las especies bacterianas de los cultivos iniciadores implicados en la producción de aminas biógenas.

Identificar y cuantificar la producción de aminas biógenas por *Streptococcus* y *Enterobacteriaceae*.

Identificar y cuantificar las aminas biógenas presentes en quesos madurados de acuerdo al período de almacenamiento.

Hacer determinaciones de HACCP en las diferentes plantas procesadoras de quesos madurados

Establecer comparaciones en cuanto al contenido de aminas biógenas entre los quesos madurados nacionales e importados.

Establecer una normativa para los límites mínimos y máximos de aminas biógenas permitidas en quesos madurados nacionales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AYGUN, O.; SCHNEIDER, E.; SCHEUER, R.; USLEBER, E.; GAREIS, M.; MARTLBAUER, E. Comparison of ELISA and HPLC for the determination of histamine in cheese. **J. Agric. Food Chem.** 47 (5): 1961–1964. 1999.
- [2] CHANG, S.; AYRES, J.; SANDINE, W. Analysis of cheese for histamine, tyramine, tryptamine, histidine, tyrosine and tryptophane **J. Dairy Sci.** 68 (11): 2840–2846. 1985.
- [3] DURLU-OZKAYA, F. Biogenic amine content of some Turkish cheeses. **J. Food Process. Preserv.** 26: 1-3. 2002.
- [4] EEROLA, S.; HINKKANEN, R.; LINDFORS, E.; HIRVI, T. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages **J. AOAC Int.** 76 (3): 575–577. 1992.
- [5] FERNANDEZ, E.; TOMILLO, J.; NUÑEZ, M. Effect of added proteinases and level of starter culture on the formation of biogenic amines in raw milk Manchego cheese. **Int. J. Food Microbiol.** 52 (3): 189–196. 1999.
- [6] GONZALEZ, E.; VIDAUD, M.; GARCIA, M. Variación del contenido de tiramina durante la maduración de quesos Gouda y Svecia. **Agroquím. Tecnol. Aliment.** 27(1): 75-78. 1987.
- [7] INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (I.C.M.S.F). **Ecología Microbiana de los Alimentos**. Vol. 2: Productos Alimenticios. Editorial Acribia. Zaragoza España. 500-525 pp. 1984.
- [8] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; GARCÍA, A.; BARBOZA, Y.; PIÑERO, M. Histamina en quesos madurados: Manchego, Parmesano y Añón. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIII (6): 431-435. 2003.
- [9] JOOSTEN, H.; NORTHOLT, M. Detection, growth, and amine-producing capacity of Lactobacilli in cheese. **Appl. Envir. Microbiol.** 55 (9): 2356 – 2359. 1989.
- [10] LEUSCHNER, R.; HAMMES, W. Degradation of histamine and tyramine by *Brevibacterium linens* during sur-

- face ripening of Munster cheese. **J. Food Prot.** 61 (7): 874-878. 1998.
- [11] MONTGOMERY, D. **Diseño y Análisis de Experimentos**. Cap. 13 y 14. Grupo Editorial Ibero América. México. 393– 408, 413– 426 pp 1991.
- [12] MORET, S.; BARTOLOMEAZZI, M.; FERUGLIO, M.; LERCKER, G. Biogenic amines in Italian cheese. **J. Milk Dairy Prod.** 43 (3): 187 – 198. 1992.
- [13] NOVELLA, S.; VECIANA, M.; VIDAL, M. Biogenic amines and polyamines in milks and cheeses by ion pair high performance liquid chromatography. **J. Agric. Food Chem.** 48 (11): 5117 – 5123. 2000.
- [14] NOVELLA, S.; VECIANA, M.; ROIG, A.; TRUJILLO, A.; VIDAL, M. Influence of starter and nonstarter on the formation of biogenic amine in goat cheese during ripening. **J. Dairy Sci.** 85 (10): 2471-2478. 2002.
- [15] NOVELLA, S.; VECIANA, M.; ROIG, A.; TRUJILLO, A.; VIDAL, M. Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. **J. Dairy Res.** 71 (2): 245-252. 2004.
- [16] NOVELLA, S.; VECIANA, M.; ROIG, A.; TRUJILLO, A.; VIDAL, M. Comparison of biogenic amine profile in cheese manufactured from fresh and stored (4 degrees C, 48 hours) raw goat's milk. **J. Food Prot.** 67 (1): 110-116. 2004.
- [17] RICE, S; EITENMILLER, R.; KOEHLER, E. Biologically active amines in food: A Review. **J. Milk Food Technol.** 39 (5): 353-358. 1976.
- [18] SCOTT, R. **Fabricación de Quesos**. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza España. 520 pp. 1991.
- [19] SILLA, M. Biogenic amines: their importance in foods. **Int. J. Food Microbiol.** 29 (2/3): 213 – 231. 1996.
- [20] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Users Guide Statistics. SAS**. University North of California, U.S.A. Ver. 8,1. 1999.
- [21] STRATTON, J.; HUTKINS, R.; SUMNER, S.; TAYLOR, S. Histamine and histamine-producing bacteria in retail Swiss and low-salt cheeses. **J. Food Prot.** 55 (6): 435 – 439. 1992.
- [22] STRATTON, J.; HUTKINS, R.; TAYLOR, S. Biogenic amines in cheese and other fermented food: A Review. **J. Food Prot.** 54 (6): 460-470. 1991.
- [23] SUMNER, S.; SPECKHARD, M.; SOMERS, E.; TAYLOR, S. Isolation of histamine – producing *Lactobacillus buchneri* from Swiss cheese implicated in a food poisoning outbreak. **Appl. Environ. Microbiol.** 50 (4): 1094 – 1096. 1985.
- [24] TAYLOR, S.; KEEFE, T.; WINDHAM, E.; HOWELL, J. Outbreak of histamine poisoning associated with consumption of Swiss cheese. **J. Food Prot.** 45 (5): 455 – 457. 1982.
- [25] TAYLOR, S. Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. World Health Organization. VPH/FOS/ 85(1): 1-47. 1985.
- [26] VALE, S.; GLÓRIA, M. Biogenic amines in Brazilian cheeses. **Food Chem.** 63 (3): 343 – 348. 1998.
- [27] VALSAMAKI, K.; MICHAELIDOU, A.; POLYCHRONIOU, A. Biogenic amine production in Feta cheese. **Food Chem.** 71 (2): 259 – 266. 2000.
- [28] VASUNDHARA, T.; KUMUDAVALLY, K.; JAYATHILAKAN, K.; JEYASHAKILA, R. HPLC Analysis of the biogenic amines in some processed foods of Indian origin. **J. Food Sci. Technol.** 35 (6): 551-556. 1999.
- [29] VEISSEYRE, R. **Lactología Técnica**. Recogida, tratamiento y transformación de la leche en países templados y calientes. Primera Parte. Capítulo I. Caracteres, Composición y Estructura de la Leche. Capítulo IX. Técnicas Queseras. Editorial Acribia. Zaragoza España. 643 pp. 1972.