

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

**Cuantificación de aminos biógenas en quesos “Paria”
procedentes de los mercados de Arequipa y la
correlación de su contenido con los parámetros
fisicoquímicos y la concentración de Bacterias Ácido
Lácticas**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Ciencia y
Tecnología de los Alimentos

AUTOR

Ángela Cindy Díaz García

ASESOR

Gladys Constanza Arias Arroyo

Lima - Perú

2015

DEDICATORIA

A mi mamá Catalina Sofía García Crispín, la mujer que más admiro por su amor y ejemplo de trabajo y superación. A mi hermanas Yeimy, Maribel y Lidia. A mi abuela Victoria, por estar siempre al pendiente de mi familia y por enseñarme el secreto del éxito.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida, la salud, la paz, las fuerzas y por poner en mi camino a personas increíbles, que han sido de gran ayuda para la realización de este trabajo. También agradecerle por los años que vendrán, que de seguro serán maravillosos.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, mi alma máter, a los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y de la Escuela de Ciencia de los alimentos.

A la asesora de mi tesis, Dra. Gladys Arias, a quien admiro y respeto, por la confianza ofrecida desde que llegué a esta facultad, por su atención a mis consultas, orientación y consejos oportunos que permitieron hacer realidad esta tesis.

Al Dr. Nelson Bautista, por sus sugerencias y apoyo en la metodología y experimentación, que fueron los puntos claves durante todo el desarrollo de mi tesis. A mi amigo Q. F. Américo Figueroa, por resolver todas mis consultas en análisis instrumental. A la Blga. Isela Soto, Jefe de Control de Calidad en la empresa que realicé algunos análisis fisicoquímicos.

A mi mamá y a mis hermanas: Yeimy, Maribel y Lidia por su gran apoyo moral desde el comienzo de este trabajo, por comprenderme y permitirme robarle tiempos de pasar con ellos, las amo un montón, por eso este trabajo también es suyo.

A los miembros del Jurado de mi tesis por las correcciones y aportes brindados: Dra. Nancy Lozano, Dra. Teresa Gallardo, Dra. Delia Whu y Dr. Nelson Bautista.

Este trabajo de investigación fue financiado con el apoyo del Fondo de Promoción de trabajo de Tesis de Pregrado del Vicerrectorado de Investigación-UNMSM (Código N° 140401037), ¡Muchas gracias!

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS.....	1
ÍNDICE DE GRÁFICOS	2
LISTA DE ABREVIATURAS.....	3
SIMBOLOGÍA	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
I. INTRODUCCIÓN	6
1.1 Hipótesis	8
1.2 Objetivos.....	8
1.2.1 Objetivo general	8
1.2.2 Objetivos específicos	8
II. GENERALIDADES	9
2.1 Queso	9
2.1.1 Definición.....	9
2.1.2 Tipos de quesos	9
2.2 Clasificación de quesos madurados	10
2.3 Requisitos para quesos madurados en el Perú	10
2.3.1 Requisitos generales.....	10
2.3.2 Requisitos microbiológicos	10
2.3.3 Requisitos fisicoquímicos	11
2.4 Bioquímica de la maduración de los quesos.....	11
2.5 Microorganismos en los quesos.....	12
2.5.1 Bacterias ácido lácticas (BAL).....	12
2.5.2 Bacterias ácido lácticas nativas del queso.....	14
2.5.3 Microorganismos alteradores y patógenos en quesos	14
2.6 Queso Paria.....	15
2.6.1 Etapas del proceso de elaboración del queso Paria.....	15
2.6.2 Producción y comercialización del queso Paria en el Perú.....	19
2.7 Aminas biógenas	21

2.7.1 Síntesis de aminos biógenas	21
2.7.2 Enzimas aminodescarboxilasas	22
2.7.3 Microorganismos con aminodescarboxilasas.....	22
2.7.4 Alimentos que contienen aminos biógenas	23
2.7.5 Aminos biógenas en los quesos.....	23
2.7.6 Principales aminos biógenas y sus efectos en la salud humana	23
2.7.7 Determinación de aminos biógenas.....	28
2.7.8 Legislación de aminos biógenas.....	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1 Materiales de laboratorio, reactivos y equipos de laboratorio.....	30
3.1.1 Materiales de laboratorio	30
3.1.2 Reactivos	30
3.1.3 Equipos de laboratorio	31
3.2 Métodos	32
3.2.1 Recolección de muestras, transporte y lugar de trabajo.....	32
3.2.2 Evaluación organoléptica	33
3.2.3 Evaluación fisicoquímica	33
3.2.4 Cuantificación de aminos biógenas.....	35
3.2.5 Recuento de bacterias ácido lácticas	37
3.2.6 Análisis estadístico.....	37
IV. RESULTADOS	38
4.1 Resultado de la evaluación organoléptica	38
4.2 Resultado de la evaluación fisicoquímica	38
4.3 Resultado de la evaluación de aminos biógenas.....	47
4.4 Resultado del recuento de bacterias ácido lácticas.....	49
4.5 Correlación del contenido de aminos biógenas en las muestras de queso Paria con los parámetros fisicoquímicos y el recuento de bacterias ácido lácticas.....	51
V. DISCUSIÓN	54
VI. CONCLUSIONES	59
VII. RECOMENDACIONES	60
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
IX. ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Requisitos microbiológicos para los diferentes tipos de quesos madurados según NTP 202.194. 2010	10
Tabla 2. Requisitos fisicoquímicos para los diferentes tipos de quesos según la NTP 202.194. 2010	11
Tabla 3. Principales especies de Lactobacillus y los tipos de fermentación que realizan	13
Tabla 4. Principales aminoácidos que forman las respectivas aminas biógenas y el efecto primario de éstas sobre el organismo.....	24
Tabla 5. Datos de las muestras de quesos Paria	32
Tabla 6. Codificación de las muestras de queso Paria.....	33
Tabla 7. Estándares de calibración para el equipo AquaLab LITE	34
Tabla 8. Condiciones cromatográficas definidas para el análisis en HPLC.....	36
Tabla 9. Características organolépticas del queso Paria.....	38
Tabla 10. Valores de pH y actividad de agua (a_w) en queso Paria	38
Tabla 11. Análisis de varianza de pH en queso Paria.....	39
Tabla 12. Análisis de varianza de actividad de agua en queso Paria.....	40
Tabla 13. Contenido de humedad, sólidos totales, grasas y proteínas en queso Paria	41
Tabla 14. Contenido de grasa en base seca en queso Paria	41
Tabla 15. Análisis de varianza de humedad en queso Paria.....	42
Tabla 16. Análisis de varianza de grasas en queso Paria.....	43
Tabla 17. Análisis de varianza de proteínas en queso Paria.....	44
Tabla 18. Contenido de cloruro de sodio (NaCl) en queso Paria	45
Tabla 19. Análisis de varianza de NaCl en queso Paria	46
Tabla 20. Contenido de aminas biógenas en queso Paria.....	47
Tabla 21. Contenido promedio de aminas biógenas en queso Paria	48
Tabla 22. Análisis de varianza del contenido de aminas biógenas en queso Paria	49
Tabla 23. Recuento de BAL de las muestras de queso Paria	49
Tabla 24. Análisis de varianza de recuento de BAL en queso Paria.....	50
Tabla 25. Correlación del contenido de aminas biógenas en las muestras de queso Paria con los parámetros fisicoquímicos y el recuento de BAL.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama de flujo de elaboración de queso Paria.....	19
Figura 2. Volumen de producción de queso madurado, período: 2010-2014	20
Figura 3. Distribución de la producción de queso madurado en el año 2014.....	20
Figura 4. Origen de las aminas biógenas	22
Figura 5. Estructura química de la histamina	25
Figura 6. Estructura química de la tiramina	26
Figura 7. Estructura química de la cadaverina	27
Figura 8. Estructura química de la putrescina, espermidina y espermina	27
Figura 9. Estructura química de la triptamina	28
Figura 10. Variación de pH en queso Paria	39
Figura 11. Variación de actividad de agua en queso Paria.....	40
Figura 12. Variación de la humedad en queso Paria	42
Figura 13. Variación de grasas en queso Paria.....	43
Figura 14. Variación de las proteínas en queso Paria.....	44
Figura 15. Variación de contenido de (NaCl) en queso Paria	45
Figura 16. Variación del contenido de histamina, putrescina, cadaverina, triptamina, tiramina y espermidina en queso Paria	48
Figura 17. Variación del recuento de bacterias ácido lácticas en queso Paria	50
Figura 18. Correlación de los valores de pH con el contenido de aminas biógenas	51
Figura 19. Correlación de los valores de actividad de agua con el contenido de aminas biógenas.....	52
Figura 20. Correlación de los valores de humedad con el contenido de aminas biógenas.....	52
Figura 21. Correlación de la concentración de NaCl con el contenido de aminas biógenas.....	53
Figura 22. Correlación de recuento de BAL con el contenido de aminas biógenas.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
a_w :	actividad de agua
NaCl:	cloruro de sodio
BAL:	bacterias ácido lácticas
NTP:	Norma Técnica Peruana
AB:	amina biógena
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
ppm:	partes por millón
msnm:	metros sobre el nivel del mar
MINAGRI:	Ministerio de Agricultura y Riego
FOB:	libre a bordo
IMAO:	inhibidor de monoaminoxidasa
MAO:	monoaminoxidasa
IUPAC:	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
TLC:	cromatografía en capa fina
GC:	cromatografía de gases
EC:	electroforesis capilar
DCl:	cloruro de dansilo
MRS:	Man, Rogosa y Sharpe
AOAC:	Asociación Oficial de Químicos Analíticos
ANOVA:	análisis de varianza
ufc:	unidades formadoras de colonias

SIMBOLOGÍA

gl:	grados de libertad
SC:	suma de cuadrados
CM:	promedio de cuadrados
F:	prueba de Fisher
$p \leq 0,05$:	95% de confianza
Log:	logaritmo en base 10

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la evaluación de aminas biógenas en tres marcas de queso Paria procedentes de los mercados de Arequipa. Asimismo, se determinaron sus parámetros fisicoquímicos y el recuento de bacterias ácido lácticas (BAL) para correlacionar con el contenido de las aminas biógenas. La cuantificación de las aminas biógenas se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

Los parámetros fisicoquímicos fueron: pH 5,15 a 6,11; actividad de agua 0,93 a 0,96; humedad 42,94 a 45,33 g%; grasas 27,33 a 31,0 g%; proteínas 20,58 a 23,41g% y cloruro de sodio 1,74 a 3,07 g%. El recuento de BAL fue de 8,06 a 8,56 Log ufc/g. El contenido de aminas biógenas fue (ppm): putrescina 0,27 a 3,47; histamina 3,09 a 3,52; cadaverina 2,32 a 4,97; triptamina 0,19 a 2,19; tiramina 2,79 a 3,01; espermidina 13,06 a 13,99. Los valores de aminas biógenas totales en las tres marcas fueron (ppm) de 22,55 a 30,22; los cuales se encuentran por debajo del límite máximo tolerable (1000 ppm).

Existe correlación directa entre el contenido de aminas biógenas con la concentración de cloruro de sodio (NaCl) y bacterias ácido lácticas (BAL), mientras que hay correlación inversa con pH, actividad de agua (a_w) y humedad. No hay correlación directa ni inversa con el contenido de grasas y proteínas.

Palabras clave: queso Paria, aminas biógenas, bacterias ácido lácticas, parámetros fisicoquímicos.

ABSTRACT

In this study was performed the evaluation of biogenic amines in three brands of “Paria” cheese in markets from Arequipa, Peru. Also, the physicochemical parameters and count of lactic acid bacteria (LAB) were determined to correlate with the content of biogenic amines. The quantification of biogenic amines was performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

The physicochemical parameters were: pH 5,15 to 6,11; water activity 0,93 to 0,96; moisture 42,94 to 45,33 g%; fat 27,33 to 31,0 g%; protein 20,58 to 23,41 g%; sodium chloride 1,74 to 3,07 g%. Count of LAB was 8,06 to 8,56 Log cfu/g. Content of biogenic amines was (ppm); putrescine 0,27 a 3,47; histamine 3,09 a 3,52; cadaverine 2,32 a 4,97; tryptamine 0,19 a 2,19; tyramine 2,79 a 3,01; spermidine 13,06 a 13,99. Total values of biogenic amines in the three brands were (ppm) from 22,55 a 30,22; which are below the permissible limit (1000 ppm).

There is a direct relationship between the biogenic amines content with the sodium chloride concentration and lactic acid bacteria (LAB), while there is an inverse relationship with the pH, water activity (a_w), and moisture. No direct or inverse relationship with the content of protein and fat.

Key words: “Paria” cheese, biogenic amines, lactic acid bacteria, physicochemical parameters.

I. INTRODUCCIÓN

El queso es uno de los alimentos derivados de la leche con alto valor nutritivo, es una fuente muy importante de proteínas con valores que varían de 20 a 28 g%, se caracteriza por su alto valor biológico ya que la proteína mayoritaria es la caseína. También es fuente importante de minerales, entre ellos destaca el calcio con valores que varían de 500 a 1200 mg%. Los valores varían de acuerdo al tipo de queso y de acuerdo a la leche utilizada para su elaboración ⁽¹⁾.

El consumo de queso es muy difundido a nivel mundial, siendo los Estados Unidos de América, el país que más produce y consume, el país que sigue en la producción es la India y al nivel de Sudamérica el principal productor de queso es Brasil con cerca de 40 mil toneladas/año ⁽¹⁾.

En el mercado mundial se comercializan entre muchos tipos de quesos; el queso fresco y el queso fermentado o madurado. Los quesos frescos no pasan por un proceso de maduración (fermentación), son consumidos de manera directa con adición o sin adición de sal, mientras los quesos madurados pasan por un proceso de fermentación en donde se adicionan sal y cepas de bacterias ácido lácticas u hongos y se someten a un periodo de fermentación.

En el Perú, se comercializan estos dos tipos de quesos, tanto los productos de origen nacional o extranjera. Las principales regiones productoras de quesos madurados son Cajamarca (33%), Arequipa (21%) y Puno (20%), y entre los productos que se fabrican están los quesos del tipo Edam, Gouda, Cheddar, Gruyere, Parmesano, Danbo, etc. ⁽²⁾

Algunas regiones del Perú han desarrollado quesos madurados propios, que en la actualidad ya se comercializan y tienen establecidos sus requisitos en la Norma Técnica Peruana (NTP, 2010) ⁽³⁾. Uno de estos quesos madurados es el queso Paria, que inicialmente se desarrolló en la región Puno utilizando como materia prima la leche de oveja. En la actualidad para obtener este tipo de queso se utilizan leche de oveja y de vaca o la combinación de los dos en las regiones de Puno y Arequipa principalmente, y en menor cantidad en Cusco (NTP, 2010) ⁽³⁾. El queso Paria tiene un color crema agradable, no presenta “ojos”, su textura semidura y homogénea, tiene un sabor salado no intenso y olor característico agradable. La comercialización es aún a nivel nacional, su principal mercado es Lima, seguido por Arequipa. Su consumo va en aumento por sus agradables sabor y color.

Como se mencionó, el queso es muy importante para el consumo por su contenido de nutrientes de alto valor biológico, pero también es necesario considerar el aspecto toxicológico de este producto, ya que en el queso se pueden producir sustancias que podrían afectar negativamente la salud del consumidor. Precisamente algunas de estas sustancias nocivas son las aminas biógenas (AB), se producen como consecuencia de la descarboxilación de los aminoácidos de las proteínas del queso por acción de las enzimas descarboxilasas de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) principalmente. Las aminas biógenas se sintetizan durante el proceso de fermentación de los quesos, por lo que su presencia está relacionada con los quesos madurados, en los que se utilizan como parte del proceso de producción las BAL nativas propias provenientes de la leche o cultivos iniciadores que se inoculan intencionalmente. La producción de las aminas biógenas depende de la disponibilidad de los aminoácidos libres, pH del medio, presencia de carbohidratos fermentables como la glucosa, concentración de NaCl, actividad de agua y temperatura de fermentación⁽⁴⁾.

Existen algunos estudios de determinación de aminas biógenas en quesos, en América tales como; en Maracaibo – Venezuela: el año 2005, donde identificaron 7 aminas biógenas por el método de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), en los quesos Manchego, Brie y Parmesano, encontrando los valores totales de (549 – 617 ppm), (630 – 823 ppm) y (633 – 667 ppm)⁽⁵⁾ respectivamente. El año 2011 en Valdivia - Chile, cuantificaron histamina, tiramina, putrescina y cadaverina en queso Gauda, utilizando también el método de HPLC ; encontrándose en mayor concentración la tiramina (87,4 ppm) y putrescina (87,6 ppm), mientras la histamina no se detectó⁽⁶⁾.

También en el año 2013, en México, se evaluaron tiramina e histamina en queso Chihuahua durante su vida de anaquel, por HPLC. Al inicio de la vida de anaquel no detectaron presencia de histamina, sin embargo si detectaron tiramina en el 37,5% de las muestras (34 - 122 ppm). Al final de la vida de anaquel encontraron histamina en 37% de las muestras (47 - 205 ppm), mientras que en el 75% de las muestras se encontró la tiramina (115 – 209 ppm)⁽⁷⁾.

Como se evidencia, los estudios se han realizado en otros países y en otros tipos de quesos madurados, no existiendo publicaciones de los quesos que se comercializan en Perú. Siendo el queso Paria un producto emblemático y teniendo un gran potencial para la exportación, el objetivo de este trabajo fue cuantificar las 7 aminas biógenas más importantes, analizar los parámetros fisicoquímicos y la concentración de Bacterias Ácido Lácticas, para correlacionarlo con las AB. Es necesario conocer ello para la toma

de medidas oportunas a fin de proteger al consumidor y salvaguardar su economía, ya que a la fecha a nivel nacional se produce alrededor de 13 mil toneladas al año de queso madurado, lo cual es un importante ingreso sobre todo para las pequeñas empresas queseras.

1.1 Hipótesis

Los quesos “Paria” procedentes de los mercados de Arequipa contienen aminas biógenas en niveles inferiores a los tolerables por la OMS (1000 ppm), y puede correlacionarse bien su contenido con los parámetros fisicoquímicos y concentración de Bacterias Ácido Lácticas.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Cuantificar las aminas biógenas en quesos “Paria” procedentes de los mercados de Arequipa y correlacionar su contenido con los parámetros fisicoquímicos y concentración de Bacterias Ácido Lácticas.

1.2.2 Objetivos específicos

- Adaptar el método de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) para la cuantificación de aminas biógenas en quesos Paria.
- Analizar parámetros fisicoquímicos: actividad de agua, % grasa, pH y nivel de cloruros.
- Realizar el recuento total de Bacterias Ácido Lácticas.
- Cuantificar las aminas biógenas en muestras de queso Paria mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).
- Correlacionar los parámetros fisicoquímicos y concentración de BAL con el contenido de AB.

II. GENERALIDADES

2.1 QUESO

2.1.1 Definición

Es un producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante coagulación total o parcial de la proteína de la leche, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína)⁽⁸⁾.

El queso es un alimento universal, que se produce en casi todas las regiones del globo a partir de leche de diversas especies de mamíferos. Los quesos se encuentran entre los mejores alimentos del hombre, no solamente en razón de su acusado valor nutritivo (materias nitrogenadas bajo diferentes formas, materias grasas, calcio, fósforo, etc.), sino también por las cualidades organolépticas extremadamente variadas que poseen, ya que la variedad es fuente de placer ⁽⁹⁾.

2.1.2 Tipos de quesos

Según la maduración se clasifican en:

Queso fresco:

Según la FAO el queso fresco es un producto obtenido por coagulación de la leche u otros productos lácteos por separación del suero. Y está listo para el consumo poco después de la fabricación ⁽⁸⁾.

Queso madurado:

La Norma Técnica Peruana (NTP 202.194. 2010) define como queso madurado al producto de leche pasteurizada que después de su fabricación debe mantenerse durante cierto tiempo, en condiciones ambientales apropiadas, para que se produzcan los cambios bioquímicos y físicos característicos de este tipo de quesos. La maduración de los quesos se puede realizar con la adición o no de cultivos lácticos específicos (bacterias o mohos).

La composición centesimal en promedio de un queso madurado es: 50% humedad, 25% grasas, 22,5% proteínas y 2,5% de minerales ⁽⁹⁾.

2.2 CLASIFICACIÓN DE QUESOS MADURADOS

Quesos madurados con mohos: son aquellos en cuyo proceso de maduración se utilizan mohos específicos, los mismos que tienen un desarrollo característico en todo el interior y/o sobre la superficie del queso. Entre los quesos madurados por mohos se encuentran los siguientes: Brie, Camembert, queso azul o queso de pasta azul dentro de los que se encuentra Roquefort y Gorgonzola ⁽³⁾.

Quesos madurados sin mohos: son aquellos en cuyo proceso de maduración no se utilizan mohos. Entre los quesos madurados sin mohos se encuentran los siguientes: Paria, Cuartirolo, Andino, Edam, Danbo, Tilsit, Gouda, Port salut, Provolone, Cheddar, Gruyere, Emmenthal y Parmesano ⁽³⁾.

2.3 REQUISITOS PARA QUESOS MADURADOS EN EL PERÚ

2.3.1 Requisitos generales

Los quesos madurados deberán elaborarse bajo estrictas condiciones higiénico sanitarias.

La apariencia, textura, color y el sabor de los quesos madurados deberán ser los característicos para el tipo de queso que corresponda y deberán estar libres de sustancias y características sensoriales extrañas.

Los quesos madurados deberán conservarse en condiciones de refrigeración a temperaturas entre 2 ° C y 8 ° C hasta su consumo ⁽³⁾.

2.3.2 Requisitos microbiológicos

Tabla 1. Requisitos microbiológicos para los diferentes tipos de quesos madurados según NTP 202.194. 2010.

Requisitos	n	M	M	c
Coliformes/g	5	2 x 10 ²	10 ³	2
<i>Staphylococcus coagulasa positivo/ g</i>	5	10	10 ²	1
<i>Salmonella sp./25 g</i>	5	0	-	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	-	0

n: número de unidades de muestras, m: límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable, M: Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, c: número máximo permitido de unidades de muestras rechazables.

2.3.3 Requisitos fisicoquímicos

Tabla2. Requisitos fisicoquímicos para los diferentes tipos de quesos según la NTP 202.194. 2010.

Tipos de quesos	% Grasa en extracto seco (mínimo)	% Humedad (máximo)	% Extracto seco (mínimo)
Quesos madurados sin mohos			
Paria	45	48	52
Cuartirolo	45	55	45
Andino	45	57	43
Edam	40	46	54
Danbo	45	47	53
Tilsit	45	47	53
Gouda	45	43	57
Port salut	45	56	44
Provolone	45	47	53
Cheddar	48	39	61
Gruyere	45	38	62
Emmenthal	45	40	60
Parmesano	32	36	64
Quesos madurados por mohos			
Brie	45	56	44
Camembert	45	56	44
Queso azul	45	55	45

2.4 BIOQUÍMICA DE LA MADURACIÓN DE LOS QUESOS ⁽⁹⁾

La maduración de los quesos plantea uno de los problemas más complejos de la bioquímica de las sustancias alimenticias, y es el resultado global de una serie de variados fenómenos: proteólisis, desaminación y descarboxilación; lipólisis y degradación de los ácidos grasos; sacarólisis y fermentación del ácido láctico; reacciones ácido-básicas y efecto tampón.

Las modificaciones en el curso de la maduración son:

1. Pérdida de humedad o secado,
2. Destrucción total de la lactosa (glucidólisis); neutralización o desaparición parcial del ácido láctico; elevación del pH.
3. Solubilización parcial de la caseína (proteólisis) y modificación de la “textura”.
4. Hidrólisis limitada de la materia grasa.
5. Formación de la corteza

La extensión de estas modificaciones depende de un conjunto de condiciones físicas y químicas, las más importantes de las cuales son las que influyen sobre el desarrollo de los microorganismos y sobre la actividad de las enzimas: pH y Eh del queso, composición de la fase acuosa de queso (sobre todo el contenido de sales), temperatura del ambiente y composición de la atmósfera.

La proteólisis es el fenómeno más importante de la maduración, ya que afecta a la vez a la textura y al sabor. En el queso desuerado existe de un 4 a un 8 % de sustancias nitrogenadas solubles en el agua; al final de la maduración, esta proporción de eleva entre 20 y 50% según el tipo de queso. La solubilización de la caseína consiste en una digestión progresiva, comparable a la que se produce en el tubo digestivo de los animales, pero más limitada; tiene dos consecuencias:

- La masa del queso se vuelve más blanda y untuosa
- Entre los productos de degradación de la caseína se encuentran sustancias que poseen aroma y sabor, especialmente los aminoácidos y sus productos de descomposición: ácidos, aminas y amoníaco.

2.5 MICROORGANISMOS EN LOS QUESOS ⁽¹⁰⁾

Los microorganismos son los componentes más importantes en los diferentes tipos de quesos, debido a que cumplen un papel muy importante durante la fabricación y la maduración de los quesos.

Los microorganismos presentes en los quesos son de dos tipos: la flora utilizada como iniciadora y la flora secundaria. Estos microorganismos se pueden utilizar individualmente o en combinaciones que depende de la variedad del queso.

Durante la maduración la cepa inicial utilizada es la responsable de la formación de ácido, la cepa secundaria realiza una serie de reacciones químicas que dan origen diversas sustancias que le dan el sabor y textura característicos al queso. La cepa secundaria es la que da las diferentes características propias de cada tipo de queso.

2.5.1 Bacterias ácido lácticas (BAL)

El género *Lactobacillus* es el más grande y heterogéneo, engloba un grupo numeroso de bacterias que se caracterizan por producir ácido láctico como producto de su metabolismo. Se caracterizan por su tolerancia a altas concentraciones de ácido y bajo pH, no forman esporas, son anaerobios facultativos, tienen requerimientos nutricionales exigentes, catalasa-positivos y todos son gram positivos ⁽¹¹⁾.

Estas bacterias se desarrollan muy bien en condiciones anaerobias y con pequeño porcentaje de CO₂ ⁽¹²⁾. Los diferentes géneros de bacterias ácido lácticas (BAL), se han definido sobre la base de su morfología celular, ADN y tipo de fermentación. Según la formación de los productos finales a consecuencia de la fermentación de los carbohidratos, se clasifican en dos grandes grupos: homofermentativos y heterofermentativos ⁽¹³⁾.

Homofermentativos: Son bacterias que utilizan la vía de Embden-Meyerhoff y su producto final es exclusivamente el ácido láctico. Dentro de este grupo se encuentran principalmente los Streptococcus (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus thermophilus*), Enterococcus (*Enterococcus faecalis*), Lactococcus (*Lactococcus lactis subsp. lactis*), Pediococcus (*Pediococcus pentosaceus*) y Lactobacillus (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*) ⁽¹⁴⁾.

Heterofermentativos: Son bacterias que fermentan la glucosa, además del ácido láctico producen etanol y CO₂. Utilizan la vía 6-fosfogluconato/fosfocetolasa para producir su energía. Los géneros que pertenecen a este grupo son Leuconostoc y Lactobacillus ⁽¹⁴⁾.

Tabla 3. Principales especies de Lactobacillus y los tipos de fermentación que realizan.

Homofermentativos	Heterofermentativos	
	Facultativos	Obligados
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus bif fermentans</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus coryneformis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Lactis</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus kefir</i>
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>

Fuente: Curry y Crow, 2003 ⁽¹³⁾

Las colonias de Lactobacillus en medios sólidos en general son pequeñas, convexas, suaves, opacas y sin color. En los medios comunes no producen olores, pero en los alimentos producen compuestos volátiles como el diacetilo que son los responsables del olor característico de los productos ⁽¹⁵⁾.

Cultivos iniciadores:

En la elaboración de productos fermentados como el queso, requesón, yogur, mantequilla y kéfir, se utilizan cepas iniciadoras, los microorganismos más usados son las bacterias ácido lácticas (BAL). Su función de estas bacterias es fermentar la glucosa para producir el ácido láctico, que disminuye el pH inhibiendo el crecimiento de otros microorganismos y propiciando la coagulación de la caseína en el producto ⁽¹⁶⁾. Los cultivos iniciadores se desarrollan desde el momento de su inoculación en la leche alcanzando en las primeras horas de la fermentación densidades altas de células ($10^8 - 10^9$ ufc/mL). Disminuyen gradualmente durante el tiempo de maduración del queso. Las especies más usadas como iniciadores son de los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Leuconostoc* como cultivos mesófilos (crecimiento óptimo $30^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$) y *Streptococcus thermophilus* y las especies termófilas de *Lactobacillus* como *Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus helveticus* (crecimiento óptimo 42°C) ⁽¹⁰⁾.

2.5.2 Bacterias ácido lácticas nativas del queso

La leche es una fuente importante de las BAL, su presencia es variable que depende del tipo de alimentación del ganado lechero y al medio en que se desarrollan. Con la pasteurización se reducen buena parte de estas bacterias. Las bacterias nativas de la leche no forman parte del cultivo iniciador, tienen una marcada influencia en el desarrollo del sabor, aroma y textura de los quesos y por lo tanto de su calidad ⁽⁷⁾. Las BAL nativas en el queso, producen un incremento en los niveles de aminoácidos libres que sirven de nutrientes a los cultivos iniciadores, pero también pueden tener efectos negativos ya que están asociados a la formación de los cristales de lactato de calcio como consecuencia de racemiza el L-lactato a D-lactato, también pueden ser responsables de la aparición de compuestos que le dan sabores y olores desagradables ⁽¹⁷⁾.

2.5.3 Microorganismos alteradores y patógenos en quesos

El queso es un producto que ha sido relacionado con muchas bacterias patógenas, siendo los más trascendentes los del género *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, estos microorganismos constituyen un peligro para la salud de los consumidores, pueden provocar problemas digestivos y sistémicos ⁽¹⁸⁾.

La presencia de coliformes en el queso está relacionado con la *Escherichia coli*, microorganismo marcador de contaminación fecal del producto y por su relación con las bacterias enteropatógenas, por lo que se sugieren investigación de los diferentes serotipos ⁽¹⁹⁾.

Otro de los microorganismos patógenos relacionados con quesos elaborados con leche pasteurizada es la *Listeria monocytogenes*, definida como cepa virulenta causante de Listeriosis, siendo la población vulnerable las mujeres gestantes, neonatos, adultos mayores y personas inmunodeprimidas. La contaminación del queso con *Listeria monocytogenes* se da principalmente durante el almacenamiento en refrigeración, ya que estas son consideradas psicrófilas ⁽²⁰⁾.

Otra de las fuentes de contaminación es por el personal que participa en el proceso de elaboración, contribuyen en la contaminación con las bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Otro grupo de bacterias que pueden encontrarse en el queso, son las bacterias que directamente no causan daño a la salud del consumidor, pero poseen enzimas aminodescarboxilasas que le dan la capacidad de generar sustancias aminadas denominadas como aminos biógenas, estas sustancias tienen diferentes efectos nocivos en la salud del consumidor. En este grupo se encuentran tanto las bacterias gram positivas como gram negativas ⁽²¹⁾.

2.6 QUESO PARIÁ

Es un queso madurado de pasta semidura, de color amarillo, de textura firme, sin ojos, de corteza firme pero no dura, elaborado a base de leche entera de vaca, de oveja, o de una combinación de las dos. Normalmente tiene un periodo de maduración que oscila entre 7 y 21 días ⁽³⁾.

2.6.1 Etapas del proceso de elaboración del queso Paria ⁽²²⁾

A continuación se muestran cada una de las etapas en la elaboración del queso Paria, y también a modo didáctico y resumido se coloca un diagrama de flujo en la figura 1.

a) Filtrado

Consiste en la eliminación de impurezas y parte de las bacterias y esporas. La leche debe ser medida inmediatamente a su llegada a la quesería. Luego se filtra para evitar que las suciedades (paja, piedras, pelos, etc.) entren en la tina quesera o paila de elaboración. Se usa telas especiales o en todo caso un equipo de filtración.

b) Pasteurización

La pasteurización de la leche es un proceso crítico a la hora de elaborar el queso tipo Paria. Esta operación se realiza para eliminar los posibles microorganismos patógenos, reduce la proliferación de los alteradores y desnaturaliza algunas enzimas que participan en la alteración del producto. Consiste en someter la leche a 85 °C x 5 minutos con agitación constante o también a 65 °C x 30 minutos.

c) Enfriamiento

Debe realizarse inmediatamente después de la pasteurización a fin de que la abrupta disminución de la temperatura (shock térmico) ayude a la inactivación de microbios. Se reduce hasta 38 °C y se adiciona 2,5 g de cloruro de calcio por cada diez litros de leche en proceso. Esta adición se realiza debido a que durante la pasteurización, el calcio se ha pegado a las paredes del recipiente, habiendo una pérdida de este elemento. Si no se restituye el calcio perdido, la cuajada puede resultar un poco débil, afectando la calidad textural del producto final.

d) Premaduración

La premaduración es la acidificación de la leche por medio de fermento láctico para quesos, hasta que tenga una acidez óptima para el cuajado. Esta acidez óptima permite más adelante un buen desuerado de la cuajada. El tiempo de esta operación es muy variable, ya que va a depender de la acidez inicial. Para agregar el fermento a la leche, ésta debe tener por lo menos 20 °C de temperatura. Lo ideal es agregar a la temperatura de coagulación. Cuando la leche es muy fresca, con 16 a 17 ° Dornic de acidez, será necesario dejar reposar la leche por lo menos media hora antes de cuajar, de modo que la acidez llegue a 20 ° Dornic. Además, el fermento cumple la función de generar un aroma especial al producto final. La cantidad de fermento láctico se añade siguiendo la proporción dada por el fabricante.

e) Adición del cuajo

A la leche premadurada se añade el cuajo previamente disuelto en una solución salina de 2,5%. La leche debe estar a 30 °C de temperatura y con agitación permanente.

f) Coagulación

La coagulación se produce por la desestabilización de la solución coloidal de caseína, ocurre después de 30 min (en promedio) de haberse añadido el cuajo, a partir de este tiempo se verifica si se ha producido el cuajado, para ello se presiona con el dedo a la cuajada cerca de la pared del recipiente, y se observa si éste se desprende del mismo.

g) Cortado

Consiste en separar el coágulo por medio de liras o cuchillos. Para el primer corte la cuajada se divide entre 8 a 10 partes y se deja reposar por 5 minutos. Luego se pasa el segundo corte, en esta etapa los cortes se realizan hasta un tamaño de 2 cm.

El tamaño de los granos de cuajada depende del contenido de agua que se desea en el queso. El queso Paria es un queso semiduro (de bajo contenido de humedad) por lo que los granos deben ser pequeños. El corte ayuda a desuerar.

h) Primer batido

Se realiza un primer batido para facilitar el desuerado por un tiempo de 15 minutos, luego se deja reposar por otros 15 minutos.

i) Desuerado

Es la etapa en donde se debe eliminar el suero por escurrido. Se procura sacar todo el suero.

j) Lavado

Una vez realizado el desuerado, se agrega agua a la masa cuajada de leche, esto con la finalidad de sacar todo el suero. El agua de lavado debe tener 40 °C de temperatura, en esta etapa también se agrega sal (580 g por cada 10 L de leche).

k) Segundo batido

Se realiza por 10 minutos para lavar la cuajada y ayudar a sacar el suero residual de la masa.

l) Segundo Desuerado

Se elimina el suero con la ayuda de un tamiz.

m) Moldeado y prensado

Para el moldeado se puede proceder de distintas formas. La forma más común es preparando primero los moldes, colocando telas queseras, después se coge una porción de masa con ayuda de una jarra dosificadora y se echa a cada molde, procurando rebasar el molde para obtener un buen queso durante el prensado. Otra técnica, que generalmente se hace a gran escala, consiste en dividir la masa previa al moldeo, facilitando la dosificación por molde, luego se saca cada porción y se coloca en cada molde. Cada molde puede contener una masa como para un queso de 1 kg.

Una vez moldeado, es necesario el prensado. El prensado debe ser muy suave al principio y después puede aumentarse la presión.

n) Volteado – salado

Operación realizada para tener una forma uniforme del producto. El primer volteado se realiza inmediatamente después del primer prensado, el segundo después de una hora y el tercero después de dos horas. Los quesos se sumergen en salmuera.

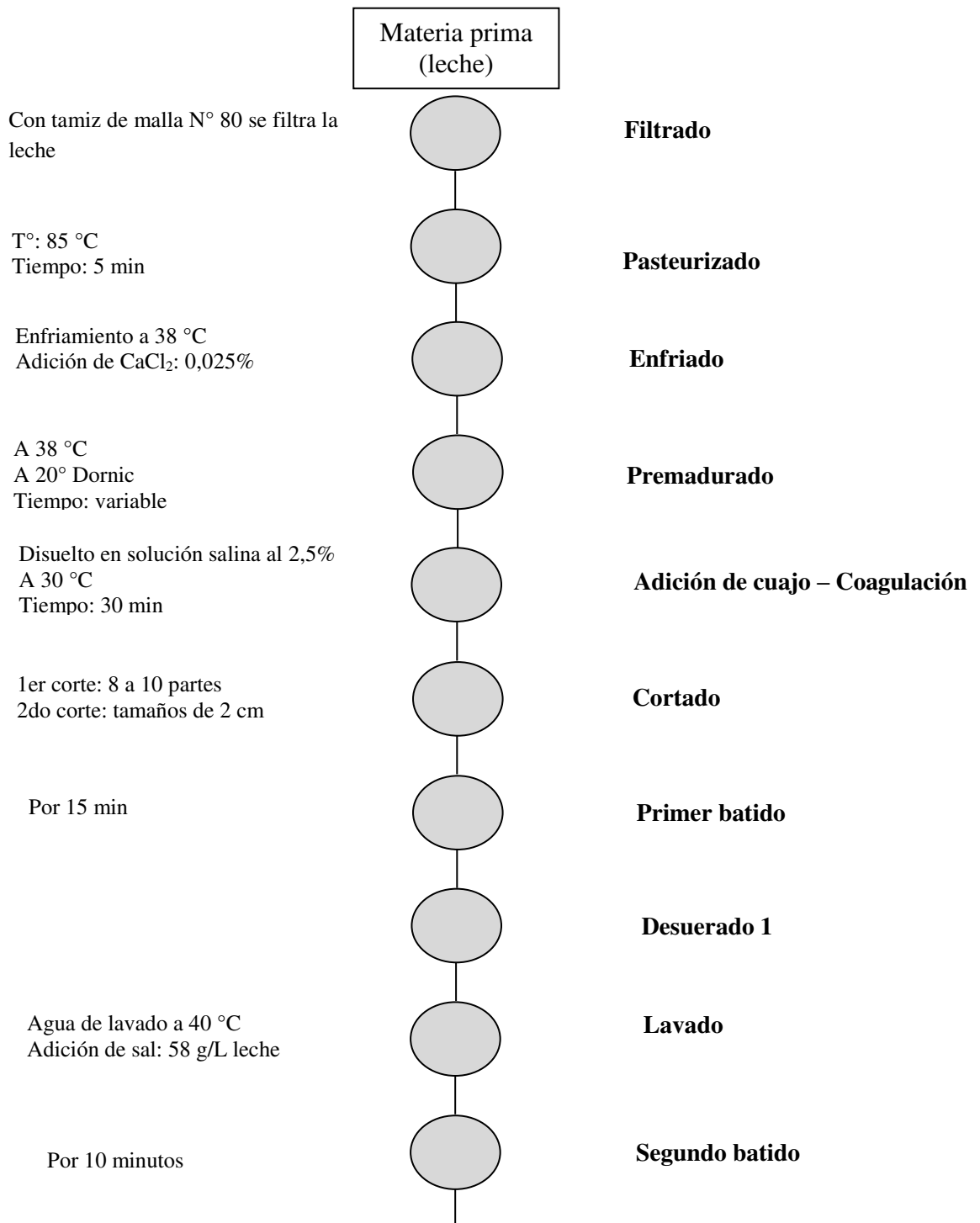
o) Madurado

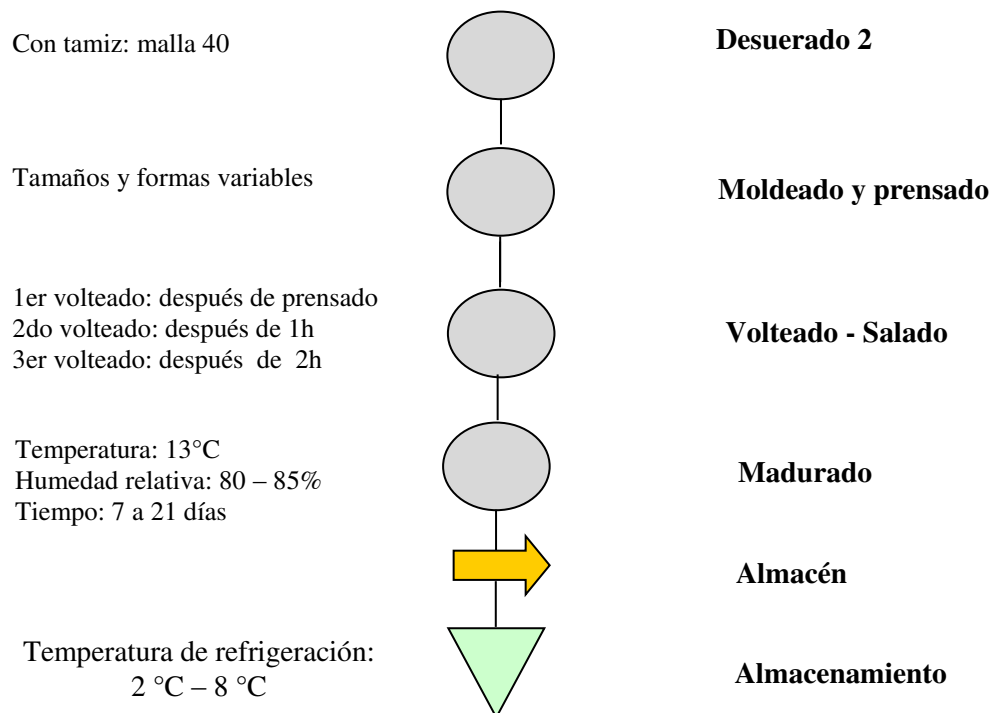
El madurado tiene el objetivo de darle al queso ciertas características propias, principalmente organolépticas. Es la transformación de los quesos de una cuajada ácida y sin olor en una masa de sabor agradable y aroma característico por acción de microorganismos. Para ello los quesos ya desmoldados se llevan a una cámara a una

temperatura de 13 ° C y una humedad relativa de 80 a 85%. El tiempo el variable que puede ser de 7 días a 21 días. Las características varían de acuerdo al tiempo de maduración.

p) Almacenado

Una vez completado el tiempo de maduración, el queso se almacena en temperatura de refrigeración durante su tiempo de vida útil hasta el momento de su uso.





LEYENDA:

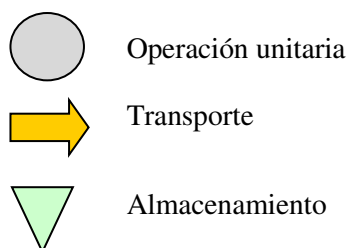


Figura 1. Diagrama de flujo de elaboración de queso Paria

Fuente: Elaboración propia

2.6.2 Producción y comercialización de queso Paria en el Perú

El queso Paria es originario de Puno, entre los 3 000 y 4 000 msnm. A través de los años la producción se extendió a las regiones vecinas; Arequipa y Cusco ⁽²³⁾. Aún no se acostumbra a registrar los volúmenes de producción de este tipo de queso específicamente.

El volumen anual de producción de queso madurado ha ido creciendo como se observa en la figura 2 y actualmente oscila alrededor de los 13 000 toneladas, el año 2014 sumó un total de 13 063,37 toneladas, siendo el principal productor Cajamarca 4 309,82 ton, después Arequipa 2 783,09 ton y Puno 2 583,90 ton. ⁽²⁾, abarcando el 33%, 21% y 20% respectivamente como se observa en la figura 3.

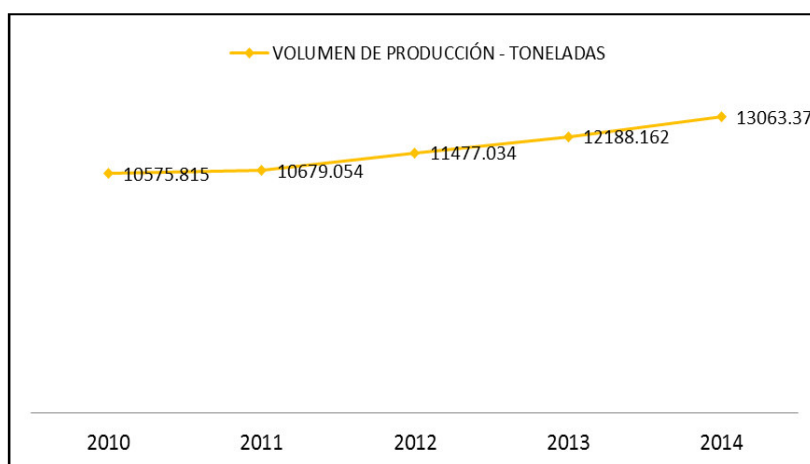


Figura 2. Volumen de producción de queso madurado, período: 2010-2014

Fuente: Adaptado de MINAGRI

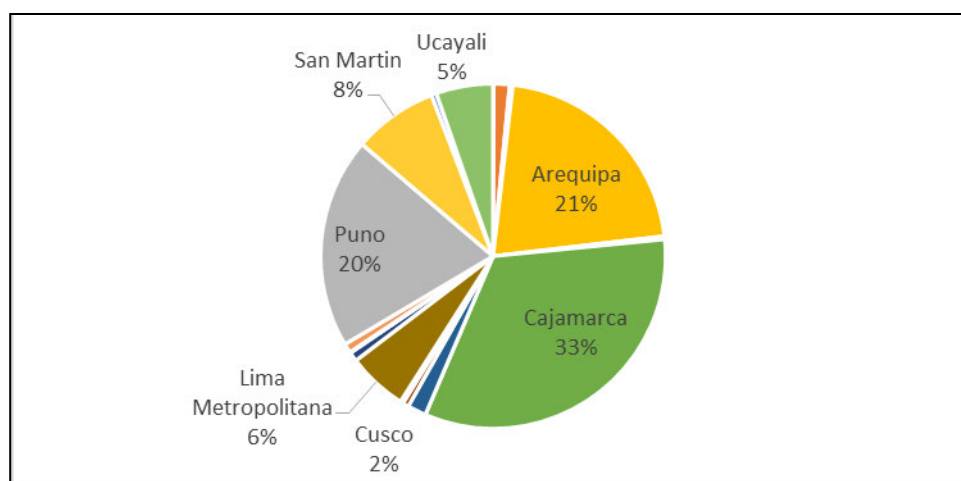


Figura 3. Distribución de la producción de queso madurado en el año 2014

Fuente: Adaptado de MINAGRI

Los quesos madurados Paria en sus inicios se comercializaban solo localmente, sin embargo, hoy en día, con los distintos factores; económicos, de transporte, desarrollo tecnológico se puede llegar a todo el país, siendo los destinos principales: distribuidores regionales, supermercados, bioferias nacionales ⁽²³⁾. La exportación de quesos tiene un desarrollo aún muy bajo, solo se cuenta con registros referidos a quesos frescos (incluido el del lactosuero, y el requesón). Estos quesos se exportan principalmente a Chile y Colombia, siendo el peso neto enviado el año 2014 de 9,85 (toneladas) con un valor FOB de 56,89 (Miles de US\$) ⁽²⁴⁾. Los quesos madurados en general, no solo los quesos tipo Paria, presentan aún barreras de exportación que se esperaba que se superen. Una de las acciones que harían mejorar esto es la del Ministerio de Agricultura

y Riego, a través del programa de quesos madurados de Sierra Exportadora, que viene trabajando desde algunos años atrás con las plantas queseras de las regiones más productoras de quesos de Perú para impulsar su desarrollo, queriendo convertir la producción de estos quesos en la actividad “premium” de la sierra del Perú, y atender hasta los mercados más exigentes del mundo ⁽²³⁾.

La importación en contraste con la exportación, es una actividad muy desarrollada desde antes, lo cual incrementa la oferta de este tipo de productos, que afectaría negativamente la venta de los quesos Paria a nivel nacional, haciéndose más oportuna desarrollar la exportación. Hasta la actualidad se han venido importando principalmente: queso fundido, queso rallado o en polvo y queso fresco, procedentes en su mayoría de Estados Unidos, Holanda e Italia. En el año 2014 se importó 2 840 105 Kg, con un valor 14 120 070 US\$ ⁽²⁵⁾.

2.7 AMINAS BIÓGENAS

Las aminos biógenas son compuestos orgánicos derivados de aminoácidos de las proteínas, son sintetizados en el metabolismo endógeno y exógeno de los microorganismos presentes en los alimentos vegetales y animales. Se dan a consecuencia de la contaminación durante la fabricación y/o almacenamiento con bacterias que poseen aminodescarboxilasas, en alimentos que contiene aminoácidos libres, se dan principalmente a temperaturas mayores a de 19°C, aunque también ocurren a temperaturas de refrigeración que depende del tiempo de almacenamiento ⁽²⁶⁾.

2.7.1 Síntesis de aminos biógenas

Los aminoácidos como la histidina, tirosina, triptófano y fenilalanina por acción de las enzimas descarboxilasas, forman las monoaminas como histamina, tiramina, triptamina, 2-feniletilamina respectivamente y las diaminas putrescina y cadaverina son formadas a partir de la ornitina y lisina respectivamente. La putrescina también se produce por una vía alternativa a partir de la arginina por acción de la arginina descarboxilasa ⁽²⁷⁾.

Para la producción de la espermina y espermidina, primero se forma la putrescina por descarboxilación de la L-ornitina, se descondensa un grupo amino propilo a la putrescina, por acción de la ornitina descarboxilasa dando la espermina, al unirse otro grupo amino propilo se forma la espermidina ⁽²⁸⁾, como se puede observar en la **figura 4**.

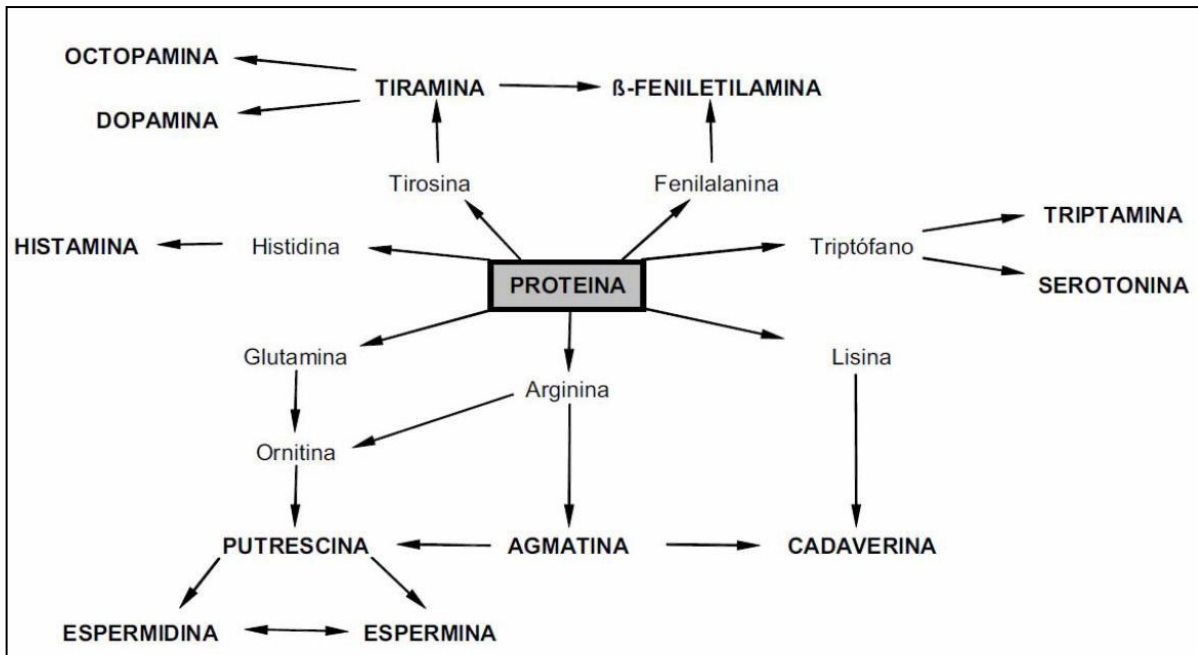


Figura 4. Origen de las aminas biógenas

2.7.2 Enzimas aminodescarboxilasas

Las aminodescarboxilasas son enzimas que realizan la descarboxilación de los aminoácidos. La expresión de estas enzimas depende del potencial genético, pH del alimento (ligeramente ácido), disponibilidad de aminoácidos libres, presencia de los carbohidratos fermentables como la glucosa, presencia de fosfato de piridoxal (cofactor de reacción de descarboxilación), temperatura de fermentación, actividad de agua, baja concentración de sal⁽⁷⁾.

Aunque las temperaturas superiores a 15 °C favorecen el desarrollo de los microorganismos y en consecuencia la síntesis de aminas biógenas, se han reportado la actividad de la aminodescarboxilasa a temperaturas de 4 °C⁽²⁹⁾.

2.7.3 Microorganismos con aminodescarboxilasas

Una gran variedad de bacterias del género *Lactobacillus* poseen enzimas aminodescarboxilasas. Las especies que han sido reportados como productores de aminas biógenas son: *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*⁽²⁶⁾.

Se han identificado también microorganismos de otros géneros que producen aminas biógenas en los alimentos, como algunas especies de *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Morganella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Samonella* y *Staphylococcus*⁽⁷⁾.

2.7.4 Alimentos que contienen aminas biógenas

Las aminas biógenas se pueden encontrar en alimentos vegetales como plátanos, tomates, espinacas y frutas secas. También se pueden sintetizar en los alimentos que se alteran fácilmente por acción de los microorganismos como carnes y el pescado principalmente. Asimismo, se han encontrado en los alimentos fermentados como productos cárnicos y lácteos fermentados, bebidas alcohólicas no destiladas como cerveza y vinos, y productos vegetales como col fermentada, salsa de soya, entre otros ⁽³⁰⁾

Se considera que la presencia de la histamina, putrescina y cadaverina se debe a la presencia de los microorganismos a consecuencia de una contaminación, mientras que la tiramina está relacionada por acción de los microorganismos utilizados como fermentadores en los alimentos fermentados. En los alimentos fermentados como productos cárnicos, lácteos, vino y cerveza, el origen de la aminas biógenas puede ser doble, ya que puede ser por la falta de acciones higiénicas adecuadas en la materia prima y también por la actividad de los microorganismos implicados en los procesos de maduración ⁽³¹⁾

2.7.5 Aminas biógenas en los quesos

Las aminas que se han reportado en mayor concentración en quesos son: histamina, tiramina, cadaverina y putrescina. ⁽³²⁾

Las concentraciones de las aminas en los quesos difieren dependiendo entre los tipos y variedades de quesos. Los factores que más influyen en su formación son el tipo de leche y el tratamiento del mismo, cultivos iniciadores, temperatura y tiempo de maduración y almacenamiento ⁽³³⁾. Otro factor importante que participa en la formación de la aminas biógenas es el pH, el cual puede tener un efecto significativo. Un pH de 5,0 es óptimo para la actividad de las enzimas tirosina e histidina descarboxilasas ⁽³⁴⁾.

2.7.6 Principales aminas biógenas y sus efectos en la salud humana

Uno de los primeros problemas de salud causados por las aminas biógenas fueron reportados por los médicos franceses Legroux y Bouet en 1946, quienes identificaron la intoxicación por histamina en dos pacientes que habían consumido atún transportado en forma inadecuada, por esta razón éstas intoxicaciones se relacionaron por mucho tiempo solo con pescados en mal estado, especialmente en peces de la familia de los escómbridos ⁽³⁵⁾.

Otra amina biógena como la tiramina se ha relacionado con crisis hipertensivas en determinados pacientes, Horwhitz y *col.*, 1964 publicaron los efectos tóxicos intensos

como la hipertensión de un paciente en que se le administró un antihipertensivo como el tranilcipromina el cual es un inhibidor de monoaminooxidasa (IMAO). Posteriormente se identificó que esta amina se encontraba en algunos quesos por lo que se llamó *reacción a quesos*. Más tarde otros investigadores han reportado diferentes aminas presentes en los alimentos que pueden causar efectos tóxicos e interactuar con los medicamentos ⁽³⁶⁾. Los efectos primarios de las aminas biógenas más importantes se pueden observar en la tabla 4.

Tabla 4. Principales aminoácidos que forman las respectivas aminas biógenas y el efecto primario de éstas sobre el organismo.

Aminoácido	Amina biógena	Efecto primario
Histidina	Histamina	Vasodilatación
Arginina	Putrescina	Vasodilatación
Lisina	Cadaverina	Vasodilatación
Ornitina	Putrescina	Vasodilatación
Fenilalanina	Feniletilamina	Vasoconstricción
Tirosina	Tiramina	Vasoconstricción
Triptófano	Triptamina	Vasoconstricción

Fuente: Mc Cabe- Sellers *et al*, 2006

Existe poca información de la frecuencia de contaminación con histamina u otra amina biógena en alimentos, por no existir una regulación específica sobre la presencia de estas sustancias, las investigaciones realizadas en los alimentos muestran que una amina no se encuentra nunca sola, sino que se ha detectado la presencia de otras aminas como tiramina, cadaverina, putrescina entre otras, lo cual puede potenciar su efecto tóxico ⁽³⁷⁾.

Histamina

La histamina o β -aminoetilimidazol es una monoamina heterocíclica, hidrófila y termoestable compuesto de un anillo imidazol y un grupo amino unidos por dos grupos metileno, se forma por la descarboxilación de la histidina, reacción catalizada por la histidina descarboxilasa ⁽³⁸⁾.

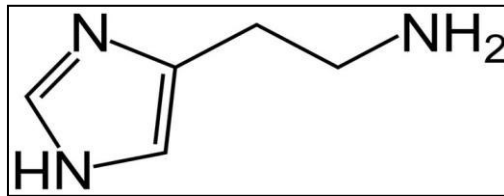


Figura 5. Estructura química de la histamina

Ésta es la amina más estudiada y la intoxicación por la histamina es la más conocida, existiendo referencias desde el siglo XIX sobre la incidencias de las reacciones alérgicas provocadas por esta amina biógena, conocida como la enfermedad Scombroidae, entre los que se encuentran el atún y la caballa. La histamina también se ha detectado en vinos, quesos, cerveza, salchichas ⁽³⁹⁾. En quesos fermentados se han encontrado una gran variedad de bacterias productoras de histamina como *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, y *Propionibacterium* ⁽⁷⁾. Más tarde en queso suizo se identificó una cepa de *Lactobacillus buchneri* productora de histamina. Luego se aislaron varias especies productoras de histamina identificadas como *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus arabinosa* ⁽³³⁾.

Los valores de histamina en el plasma humano oscilan entre 0,1 a 0,3 ng/mL. Esta sustancia en el organismo actúa sobre el aparato cardiovascular, músculo liso y las glándulas. Las ingesta de altas concentraciones de histamina dan lugar a una intoxicación produciendo síntomas como dolor de cabeza, náuseas, vómitos, diarreas, dolores abdominales, vasodilatación y taquicardia ⁽⁴⁰⁾.

La sintomatología por intoxicación con histamina son erupciones en la piel, eritema en la cara, cuello y tronco. A nivel digestivo se presentan náuseas, vómitos, diarrea, dolor hipogástrico; además de hipotensión, edema, taquicardia y cefalea. Los síntomas aparecen de minutos hasta 3 horas de ingestión del producto contaminado ⁽³⁹⁾.

En queso fermentado, son varios los factores que favorecen la producción de histamina como son la presencia del aminoácido precursor, la presencia de bacterias con la enzima descarboxilasa, el pH, la concentración de NaCl, el tiempo de maduración, la temperatura de almacenaje y la actividad de agua ⁽⁷⁾.

Tiramina

La tiramina es una monoamina aromática, tiene un grupo benceno que posee un radical nitrogenado y un grupo hidroxilo en posición 3. Es una de las aminas biógenas más frecuentes encontradas en diferentes alimentos fermentados relacionada con bacterias ácido lácticas (BAL) que se utilizan en la producción de los mismos ⁽⁷⁾.

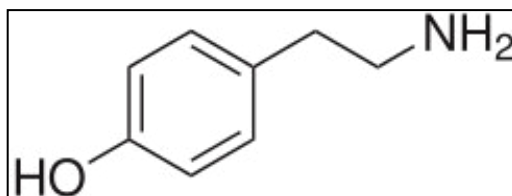


Figura 6. Estructura química de la tiramina

La producción de la tiramina no se atribuye solamente a las bacterias lácticas contaminantes, la flora nativa fermentadora también está implicada en su síntesis. En los productos fermentados se encuentran en mayor cantidad a comparación de los no fermentados, sin embargo en estos últimos se han encontrado en concentraciones considerables a consecuencia de malas prácticas higiénicas durante el proceso productivo. Entre las bacterias que tienen tirosina descarboxilasa se encuentran diferentes géneros como *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus* ⁽⁷⁾.

Los síntomas de toxicidad de la tiramina son, hipertensión arterial aguda, lo que provoca una cefalea palpitante, fiebre, vómitos, en personas sensibles o que presentan inhibición de la monoaminoxidasa (MAO) se considera que 6 mg de tiramina oral en el hombre son tóxicos ⁽⁴¹⁾. Se han reportado que las cepas utilizadas como iniciadoras en los quesos madurados poseen las enzimas amino descarboxilasas. Además de los factores antes mencionados, existen otros factores como las condiciones higiénicas, la proteólisis que se produce durante la maduración favoreciendo la liberación de aminoácidos ⁽⁴⁾.

Cadaverina y putrescina

La cadaverina es una diamina, 1,5 - diaminopentano o pentano-1,5-diamina, se obtiene por la descarboxilación del aminoácido lisina, reacción catalizada por la enzima lisina descarboxilasa de los microorganismos. Se encuentra principalmente en la materia orgánica muerta, y es responsable en parte del fuerte olor a putrefacción. La putrescina también es una diamina, 1, 4 - diaminobutano, se sintetiza durante el metabolismo de ciertos géneros de bacterias en los alimentos, dándole además su olor característico. Las

bacterias productoras poseen la enzima ornitina-decarboxilasa. Normalmente se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos. La putrescina por acción de espermidina sintasa puede dar origen a la espermidina y ésta por acción de espermina sintasa da origen a la Espermina ⁽⁴²⁾.

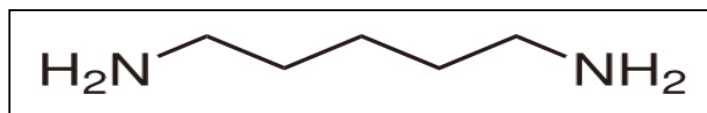


Figura 7. Estructura química de la cadaverina

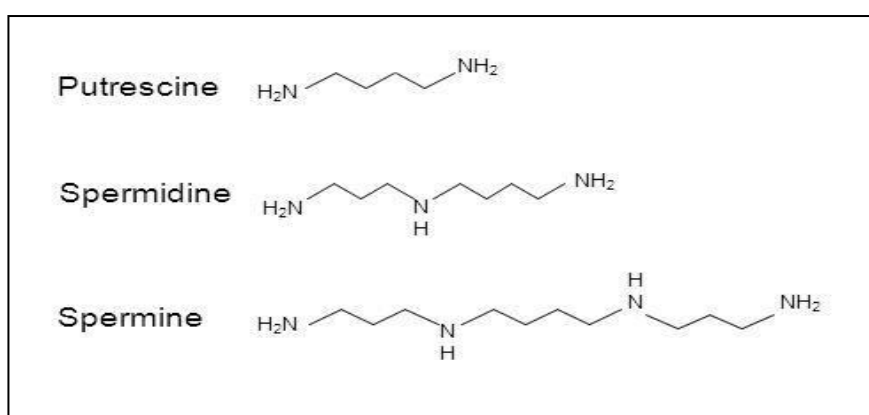


Figura 8. Estructura química de la putrescina, espermidina y espermina
Fuente: Minois *et al.* ⁽⁴³⁾

Tanto la putrescina como la cadaverina pueden provocar la bradicardia, hipotensión y trastornos de neurotransmisión en menor medida, sin embargo también pueden actuar potenciando la acción tóxica de la histamina. Estas aminas pueden inhibir las enzimas diamino oxidasa e histamina N-metiltransferasa, enzimas responsables del metabolismo de la histamina ⁽⁴⁴⁾.

La putrescina y cadaverina pueden presentar elevada toxicidad cuando se administran en altas dosis. Además, estas dos diaminas favorecen la absorción intestinal y disminuyen la desintoxicación de histamina y tiramina potenciando así su toxicidad. Por otro lado, la putrescina y cadaverina participan en la formación de nitrosaminas, compuestos potencialmente cancerígenos, se da principalmente en carnes curadas ⁽³⁷⁾.

Triptamina

Es una monoamina heterocíclica, cuyo nombre IUPAC es 2-(1H-indol-3-yl) ethanamine ⁽⁴⁵⁾. Producto de descarboxilación de la L- triptófano que se produce en las plantas y

ciertos alimentos (por ejemplo, queso). Eleva la presión arterial a través de la acción vasoconstrictora, por la liberación de noradrenalina en las terminaciones nerviosas simpáticas post ganglionares, y se cree que es uno de los agentes responsables de episodios de hipertensión después de la terapia con inhibidores de la monoaminooxidasa (46).

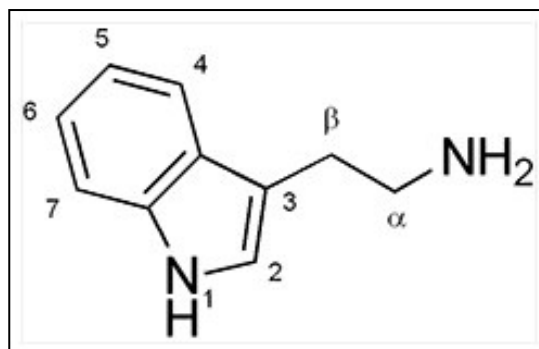


Figura 9. Estructura química de triptamina

2.7.7 Determinación de aminas biógenas.- La determinación se realiza para conocer sus niveles y evaluar su potencial de toxicidad, también para su utilización como posibles indicadores de calidad higiénica en los alimentos (47).

Existen varias técnicas analíticas que incluyen electroforesis capilar (EC), la cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía de gases (GC), cromatografía de intercambio iónico y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Siendo ésta última la más adecuada según Moret (48) y viene siendo la más utilizada (49, 50, 51, 52, 53).

La determinación de aminas biógenas por HPLC se basa en métodos de detección UV y/o fluorescencia, para lo cual se realiza un proceso de derivatización mediante el uso de reactivos como cloruro de dansilo (DCI), ortoftaldehído (OPA), 9-fluorenilmetil cloroformato (FMOC-CL), 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil carbamato (AQC), entre otros (49).

Además de determinar las aminas biógenas en los alimentos, las investigaciones en materia de estos compuestos, están siendo orientados también a identificar las bacterias productoras de aminas biógenas por medio de métodos moleculares que detecten los genes que codifican para las enzimas aminodescarboxilasas, pero por ser tal vez un poco complejo existen poca publicación que reportan su aplicabilidad para quesos (4, 38, 54).

2.7.8 Legislación de aminas biógenas en alimentos

Dado que la toxicidad de las aminas biógenas depende de factores relacionados tanto los consumidores (la susceptibilidad individual, estado de salud, consumo de

medicamentos, etc.) como con los alimentos que se consumen, resulta muy difícil establecer los niveles de toxicidad para los productos alimenticios. La histamina, sin embargo, es una preocupación común y varios países han establecido sus propios estándares para estos compuestos en los alimentos, especialmente en pescados y productos pesqueros ⁽⁵⁵⁾.

La FAO/OMS (2012) ⁽⁵⁶⁾ evaluó y emitió un nuevo NOAEL (no-observed-adverse-effect level) de 50 mg de histamina (basándose en una ración de 250 g de pescado), fijándose también una concentración máxima de histamina de 200 mg/kg por ración para que no cause efectos adversos. Los reglamentos de la Unión Europea están publicados en la Directiva 91/493/CEE (CEE 1991b) donde establece el límite máximo de 200 mg/Kg. Estados Unidos ha establecido un doble límite: 500 mg/Kg como nivel de intervención por razón de riesgos y de 100 - 200 mg/Kg como indicador de manipulación deficiente del pescado ⁽³³⁾. Adicionalmente se sabe que en Alemania los niveles permisibles de aminas biógenas para pescado y sus derivados es de 200 mg/Kg, mientras en Canadá, Finlandia y Suiza son de 100 mg/Kg en pescado crudo y menos de 200 mg/Kg en pescado de maduración enzimática para especies perteneciente a la familia Scombroideae y Clupeidae ⁽³⁹⁾.

Aún no existen límites máximos oficiales de regulación de histamina y de las otras aminas biógenas para productos lácteos y otros alimentos como vino y carnes, que pueden presentar una cantidad de histamina parecida o incluso muy superior a las encontradas en el pescado, sin embargo dada la importancia que vienen cobrando tanto su actividad particular como la de su actuación en conjunto, ya se están realizando estudios para establecer las recomendaciones oficiales.

Para el caso de vino por ejemplo; Suiza ha establecido una concentración máxima de 10 mg/L de histamina en vino como valores tolerables para la salud humana ⁽⁵⁷⁾, mientras que otros países recomiendan valores máximos inferiores como Alemania (2 mg/L), Bélgica (5-6 mg/L) y Francia (8 mg/L) ⁽⁵⁸⁾.

Se postula que niveles superiores a 1000 mg/Kg de aminas biógenas en los alimentos, pueden ocasionar consecuencias no deseadas a la salud ⁽⁵⁹⁾, 200 mg/Kg pueden ocasionar riesgo a la salud con el consumo simultáneo con fármacos inhibidores de monoaminooxidasas (MAO) y 500 mg/Kg en queso pueden causar la denominada *reacción a quesos* ⁽⁶⁰⁾.

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales de laboratorio, reactivos y equipos de laboratorio

3.1.1 Materiales de laboratorio

- Balón de Kjeldahl de 0,5 L
- Bolsas de polipropileno estériles
- Buretas de 25 mL y 50 mL
- Butirómetro de Gerber-Van Gulik para quesos, con sus tapones y tapas perforadas para la muestra.
- Embudo con llave de paso para liberar 1.0 cm³ y 10.0 cm³
- Filtros de membrana polietersulfona (PES) 0,45 μm
- Jeringas de tuberculina de 1mL
- Papel filtro WHATMAN® N° 2
- Pipetas graduadas de 1mL, 5 mL y 10 mL
- Placas Petri de 9 cm de diámetro
- Tubos de centrífuga de 50 mL

3.1.2 Reactivos

- Acetonitrilo grado HPLC Marca BAKER
- Agar-agar Marca OXOID
- Agua grado HPLC
- Alcohol isoamílico (densidad de 0,88 g/mL)
- Caldo lactosado al 1% MERCK
- Caldo MRS, Marca DIFCO™
- Cloruro de dansilo, Marca SIGMA, pureza: ≥ 99%
- Estándar de dihidrocloruro de cadaverina, Marca ALDRICH, pureza: 98,8%
- Estándar de espermidina, Marca FLUKA, pureza: 99,9%
- Estándar de espermina, Marca FLUKA, pureza: 99,8%
- Estándar de hidrocloreuro de histamina, Marca SIGMA, pureza: 99,5%
- Estándar de hidrocloreuro de triptamina, Marca ALDRICH, pureza: > 99%
- Estándar de putrescina, Marca FLUKA, pureza: 100%
- Estándar de tiramina, Marca FLUKA, pureza: 99,9%
- Éter dietílico P.A.
- H₂SO₄ Q.P.
- L-prolina, Marca SIAL, pureza: ≥ 99%

- Metanol grado HPLC
- Solución de NaOH al 40%
- Solución saturada de $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$

3.1.3 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica, Marca Sartorius, Modelo CPA2245, capacidad 220 g.
- Centrífuga para butirómetros, Marca GERBERT INSTRUMENTS, Modelo M80A, 1200rpm.
- Contador de colonias, Marca Dr. N. GERBER, Modelo KZA.
- Desecador
- Digestor Kjeldahl, Marca Buchi, Modelo K-425.
- Equipo de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta resolución). Software EZChrom Elite. Detector de Arreglo de Diodo (UV- Visible) Marca HITACHI, Modelo L-2455. Bomba Marca HITACHI, Modelo L-2130. Horno de Columna Marca HITACHI, Modelo L-2350. Caja Organizadora Marca HITACHI, Modelo L-2000. Columna RP-18e (5 μm) Fase reversa (LiChroCART® 250-4,6)
- Estufa de incubación para bacterias, Marca INCUCCELL, Modelo LSIS-B2V/IC55, sensibilidad 0.1 °C.
- Homogenizador, Marca Kleinfeld, Labortechnik, Modelo STOMACHER 400.
- Medidor de Actividad de Agua (AquaLab), Marca Decagon Devices, Inc., Modelo LITE, Rango de medición: 0 a 1,000 a_w , Exactitud: $\pm 0,015 a_w$, Resolución $\pm 0,001 a_w$.
- Micropipetas de 10 μL , 50 μL , 100 μL , 500 μL , 1000 μL y 5000 μL .

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Recolección de muestras, transporte y lugar de trabajo

Las muestras fueron obtenidas según (AOAC, 2012) ⁽⁶¹⁾, del mercado mayorista “Nueva Esperanza”, uno de los principales abastecedores de productos de la ciudad de Arequipa y del Mercado “Andrés Avelino Cáceres”, de tres marcas diferentes con tres muestras de cada una, siendo en total nueve. Se registraron los datos de las muestras como se muestra en la tabla 5. Se transportaron manteniendo la cadena de frío hasta los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, donde se almacenaron refrigeradas entre 2°C a 5°C durante el tiempo de duración del estudio.

Los ensayos fisicoquímicos, microbiológicos y cromatográficos se realizaron en los laboratorios de Bromatología, Microbiología y Química Orgánica respectivamente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Cabe mencionar que dos análisis fisicoquímicos se completaron en el laboratorio de una empresa privada de lácteos.

Las muestras fueron codificadas como marcas: A, B y C, y las tres muestras de cada marca como subíndices: 1,2 y 3, como se detalla en la tabla 6.

Las muestras fueron recolectadas el 13 de Junio de 2015 y analizadas del 15 al 21 de Junio de 2015.

Tabla 5. Datos de las muestras de quesos Paria

Datos	Marca A	Marca B	Marca C
Fecha de producción	No declarado	No declarado	01/06/2015
Fecha de vencimiento	10/07/15	30/07/2015	01/09/2015
Lugar de fabricación	Chuquibamba, Arequipa	Chuquibamba, Arequipa	Caylloma, Arequipa
Temperatura de expendio	7°C	7°C	6,5°C
Observaciones		Envasado al vacío	

Tabla 6. Codificación de las muestras de queso Paria

CODIFICACIÓN	MARCA	MUESTRAS
	A	A ₁
		A ₂
		A ₃
	B	B ₁
		B ₂
		B ₃
	C	C ₁
		C ₂
C ₃		

3.2.2 Evaluación organoléptica

Los atributos analizados fueron: color, olor, sabor, aspecto y textura, comparando con las características descritas en la NTP 2010 ⁽³⁾.

3.2.3 Evaluación fisicoquímica

Para la evaluación fisicoquímica se utilizaron los métodos que se mencionan a continuación:

3.2.3.1 Determinación de humedad

Método: Gravimétrico (A.O.A.C., 2012) ⁽⁶¹⁾

Fundamento: Pérdida de peso de la muestra por calentamiento en estufa a 100 °C hasta peso constante.

3.2.3.2 Determinación de pH

Método: Potenciométrico (EGAN H., 1991) ⁽⁶²⁾

Fundamento: Evaluación de las diferencias de potencial entre un electrodo estándar de Calomel previamente calibrado usando sus sales amortiguadoras.

3.2.3.3 Determinación de proteínas totales

Método: Kjeldahl (A.O.A.C., 2012) ⁽⁶¹⁾

Fundamento: Digestión de la muestra en H₂SO₄ Q.P., usando CuSO₃.5H₂O y K₂SO₄ como catalizadores, para liberar el nitrógeno de la proteína y retener éste como sal de amonio. El nitrógeno es liberado en forma de NH₃ en un medio altamente básico, lo cual es destilado, siendo colectado en H₂SO₄ 0,1N, y titulado con NaOH 0,1N.

3.2.3.4 Determinación de grasas

Método: Butirométrico (Gerber-Van Gulik, 1960; FIL-IDF, 1997) ^(63,64)

Fundamento: Se basa en la digestión parcial de los componentes del queso, excepto la grasa, en ácido sulfúrico. Emplea alcohol isoamílico para ayudar a disminuir la tensión

en la interfase entre la grasa y la mezcla en reacción (ácido sulfúrico-leche), lo que facilita el ascenso de los glóbulos pequeños de grasa por centrifugación. El alcohol isoamílico reacciona con el ácido sulfúrico formando un éster que es completamente soluble en dicho ácido.

3.2.3.5 Determinación de actividad de agua

La actividad del agua se determinó con el equipo automático AquaLab LITE (Decagon Devices Inc., EEUU) ^(65,66,67)

Fundamento: La medición se basa en la respuesta de un sensor de humedad dieléctrico ubicado en el espacio superior de una cámara sellada del equipo. El sensor consiste de un polímero higroscópico especial ubicado entre dos electrodos porosos. Los electrodos dan una señal basada en la humedad relativa en la cámara cerrada. Esta señal es trasladada por una memoria con instrucciones (firmware) y visualizada como actividad de agua en el panel del equipo. En equilibrio, la humedad relativa de aire en la cámara es igual a la actividad de agua de la muestra.

Calibración: Debido a la naturaleza del sensor de humedad dieléctrico, el equipo se verifica y calibra con los siguientes estándares; NaCl (2,33 moles y 6 moles), LiCl (8,57 moles y 13,41 moles), como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Estándares de calibración para el equipo AquaLab LITE.

Estándares de calibración	Actividad de agua a 25°C
2,33 moles NaCl	0,920 ± 0,015
6,0 moles de NaCl	0,760 ± 0,015
8,57 moles LiCl	0,500 ± 0,015
13,41 moles LiCl	0,250 ± 0,015

3.2.3.6 Cuantificación de cloruros totales (NaCl)

Método: Volumétrico de Volhard (AOAC, 2012) ⁽⁶¹⁾

Fundamento: Se basa en la reacción de óxido reducción, los cloruros presentes en la muestra reaccionan con el AgNO₃ 0,1M que se adiciona en exceso, la reacción ocurre en un medio altamente ácido con presencia de catalizadores oxidantes como el KMnO₄. El exceso de AgNO₃ se valora con una solución 0,1M KSCN utilizando como indicador la solución saturada de FeNH₄(SO₄)₂.

3.2.4 Cuantificación de aminas biógenas

Método: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) y derivatización directa del extracto ácido (Innocente *et al.*, 2007) ⁽⁵⁰⁾

Fundamento: Extracción de las aminas biógenas con una solución de ácido clorhídrico 0,1 N, derivatización con cloruro de dansilo en medio básico obteniendo derivados solubles en éter dietílico. Cuantificación por HPLC, utilizando columna C18 fase reversa y el detector UV-VIS a una longitud de onda 254 nm. (En el Anexo 4e se puede observar la imagen del equipo HPLC usado).

Procedimiento:

Preparación de las muestras: Se pesó directamente en un tubo de centrifuga 10 gramos de muestra triturado en un mortero, se añadió 20 mL de HCl 0,1 N y luego se homogenizó durante 2 minutos. La suspensión de queso obtenida se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos, la fase acuosa se recogió y al residuo se realizó la re-extracción utilizando el mismo procedimiento anterior. Los dos extractos acuosos fueron unidos y luego se llevó a un volumen de 50mL con HCl 0,1 N. Para la preparación del derivado, a un 1mL del extracto diluido se añadió 0,5 ml de solución saturada de NaHCO₃ y se agregó 1 ml de reactivo de cloruro de dansilo (10 mg/mL, disuelto en acetona). La mezcla de reacción, que incluye muchas burbujas de CO₂ se agitó por 1 minuto, se incubó durante 60 minutos en baño maría a 40 ° C con agitación cada 15 minutos. Con la finalidad de eliminar el exceso de cloruro de dansilo, la mezcla se trató con 200uL de una solución de L-prolina (100 mg/mL), se agitó durante 1min en vórtex y se dejó reaccionar en la oscuridad durante 15 minutos a temperatura ambiente. Luego se realizó la extracción consecutiva dos veces con porciones de 1 mL de éter dietílico. Los extractos combinados se secaron a 40 °C y el residuo se disolvió con 3 mL de acetonitrilo para inyección en el equipo HPLC.

Preparación de los estándares: Se pesó 5 mg de cada estándar de amina biógenas en una fiola aforada de 5mL, se disolvió y se enrasó a 5mL con agua purificada para obtener una solución stock de estándares de aminas biógenas de 1mg/1mL.

Para la derivatización, a 1 mL de la solución patrón diluida (1:2) se añadió 0,5mL de solución saturada de NaHCO₃ y 1mL de cloruro de dansilo (5mg/mL), se agitó para mezclar. La mezcla se dejó reaccionar en baño maría a 40 °C durante 60 minutos, con agitación constante cada 15 minutos. Se continuó como en la preparación de muestra, con la única excepción que el residuo se disolvió con 5 mL de acetonitrilo para inyección (la solución estándar es de 0,1 mg/mL de concentración).

Adaptación del método descrito por Innocente *et al* ⁽⁵⁰⁾

El método HPLC de Innocente *et al* es un método validado, siguió estudios de recuperación. Es considerada ventajosa, porque reduce el tiempo de análisis y obtiene buenas recuperaciones y repetibilidad. Es muy buena incluso con altas concentraciones de aminas biógenas.

En este trabajo se evaluó la linealidad para verificar la capacidad del método para leer a distintas concentraciones, elaborando una curva de calibración con cada una de las aminas biógenas.

Curva de calibración: Para realizar la curva de calibración de cada estándar se consideró cuatro concentraciones, lo cual se prepararon a partir de una solución stock de concentración 0,2 mg/mL, utilizándose como diluyente el acetonitrilo grado HPLC. Las 4 concentraciones evaluadas fueron: 0,2 mg/mL (200 ppm), 0,15 mg/mL (150 ppm), 0,1 mg/mL (100 ppm) y 0,05 mg/mL (50 ppm). Se realizó la inyección por duplicado. En la tabla 8 se muestra las condiciones cromatográficas definidas para las corridas. En el **Anexo 2** se muestra los resultados de las curvas de calibración con sus respectivos coeficientes de correlación.

Las condiciones cromatográficas se definieron, no solo con las eluciones de cada una de las aminas biógenas, si no para facilitar su aplicabilidad práctica, se corrió la solución patrón de mezclas de las 7 aminas, descrito previamente. En el **Anexo 3** se muestra el cromatograma obtenido de los estándares que se usó para la cuantificación.

Tabla 8. Condiciones cromatográficas definidas para el análisis en HPLC

	Tiempo (min)	Acetonitrilo (%)	Agua (%)
Fase móvil: Gradiente	0	70	30
	20	75	25
	20,1	100	0
	22	100	0
	22,1	70	30
	30	70	30
Temperatura:	30 °C		
Volumen de inyección:	20 uL		
Modo:	UV-254 nm		
Flujo:	1,0 mL/min		

Cálculos: Los picos fueron identificados por la comparación de los tiempos de retención con los patrones de referencia que se usaron para la curva de calibración, y la cuantificación se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (mg/Kg)} = (\text{Área Mp} / \text{Área St}) * F_{St} * F_{Mp} * 1000$$

Dónde:

- Mp: Muestra
- St: Estándar
- F: Factor

3.2.5 Recuento de bacterias ácido lácticas

Método: Recuento en placa en agar MRS (de Man, Rogosa y Sharpe) ⁽⁶⁸⁾

Fundamento: El agar MRS fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y por su formulación permite el adecuado desarrollo de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas. La proteasa peptona, el extracto de carne, el extracto de levadura y la glucosa constituyen la fuente nutritiva ya que aportan nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales. El monooleato de sorbitán, las sales de sodio, magnesio y manganeso proveen cofactores para el crecimiento bacteriano y pueden inhibir el desarrollo de algunos microorganismos. El citrato de amonio actúa como agente inhibitorio del crecimiento de las bacterias Gram negativa.

3.2.6 Análisis estadístico

Para el análisis de los parámetros fisicoquímicos y la cuantificación de las aminos biógenas se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y para evaluar la correlación de los valores de parámetros fisicoquímicos y el recuento de BAL con el contenido de aminos biógenas se realizó a través de coeficiente de correlación.

IV. RESULTADOS

Las muestras del queso Paria de tres marcas A, B y C presentaron los siguientes resultados:

4.1 Resultado de la evaluación organoléptica

Tabla 9. Características organolépticas del queso Paria

Muestra	Color	Olor	Sabor*	Aspecto	Textura
A ₁	Crema	Característico	++	Homogéneo**	Semidura
A ₂	Crema amarillento	Característico	++	Homogéneo**	Semidura
A ₃	Crema	Característico	+++	Homogéneo**	Semidura
B ₁	Crema	Característico	++	Homogéneo	Dura
B ₂	Crema	Característico	+++	Homogéneo	Dura
B ₃	Crema	Característico	++	Homogéneo	Dura
C ₁	Crema	Característico	++	Homogéneo	Dura
C ₂	Crema	Característico	++	Homogéneo	Dura
C ₃	Crema	Característico	++	Homogéneo	Dura

*Intensidad de salado: +++ (salado intenso), ++ (salado)

** Con presencia de pequeños "ojos"

4.2 Resultados de la evaluación fisicoquímica

4.2.1 pH y actividad de agua

Tabla 10. Valores de pH y actividad de agua (a_w) en queso Paria

Muestra	pH	$\bar{X} \pm S$	a_w	$\bar{X} \pm S$
A ₁	5,15		0,932	
A ₂	5,11	5,15 ± 0,04	0,930	0,93 ± 0,01
A ₃	5,19		0,923	
B ₁	5,64		0,952	
B ₂	5,68	5,63 ± 0,04	0,957	0,95 ± 0,02
B ₃	5,58		0,928	
C ₁	6,12		0,958	
C ₂	6,11	6,11 ± 0,00	0,959	0,96 ± 0,00
C ₃	6,10		0,958	

\bar{X} : promedio, S: desviación estándar

Las tres marcas evaluadas presentaron diferentes valores de pH, siendo los lotes de la marca C los que tuvieron valores más altos ($6,11 \pm 0,00$) y los lotes de la marca A los menores valores ($5,15 \pm 0,04$). (Ver figura 10)

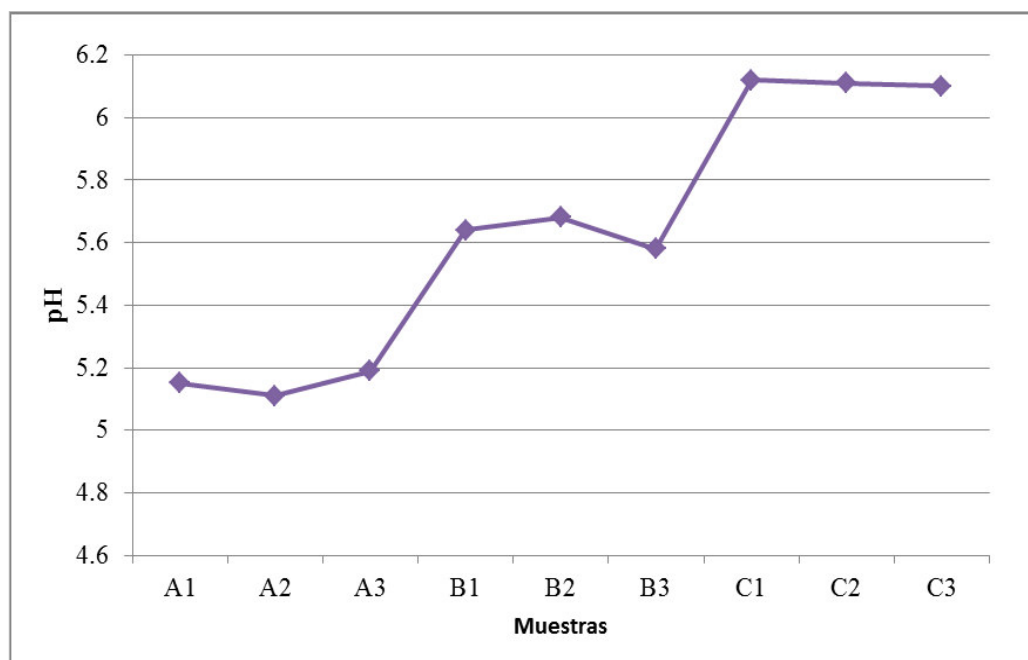


Figura 10. Variación de pH en queso Paria

Tabla 11. Análisis de varianza de pH en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular ($p \leq 0,05$)
Total (T)	8	1,391			
Entre marcas	2	1,3824	0,691	338,092	4,459
Intra marcas	2	0,000	0,000	0,071	4,459

En esta tabla se evidencia que hay diferencia significativa en los valores de pH entre las marcas A, B y C, pero no dentro las muestras de las mismas marcas.

Con respecto a la actividad de agua; los mayores valores pertenecen a la marca C ($0,96 \pm 0,00$) y los menores valores a la marca A ($0,93 \pm 0,01$). (Ver figura 11)

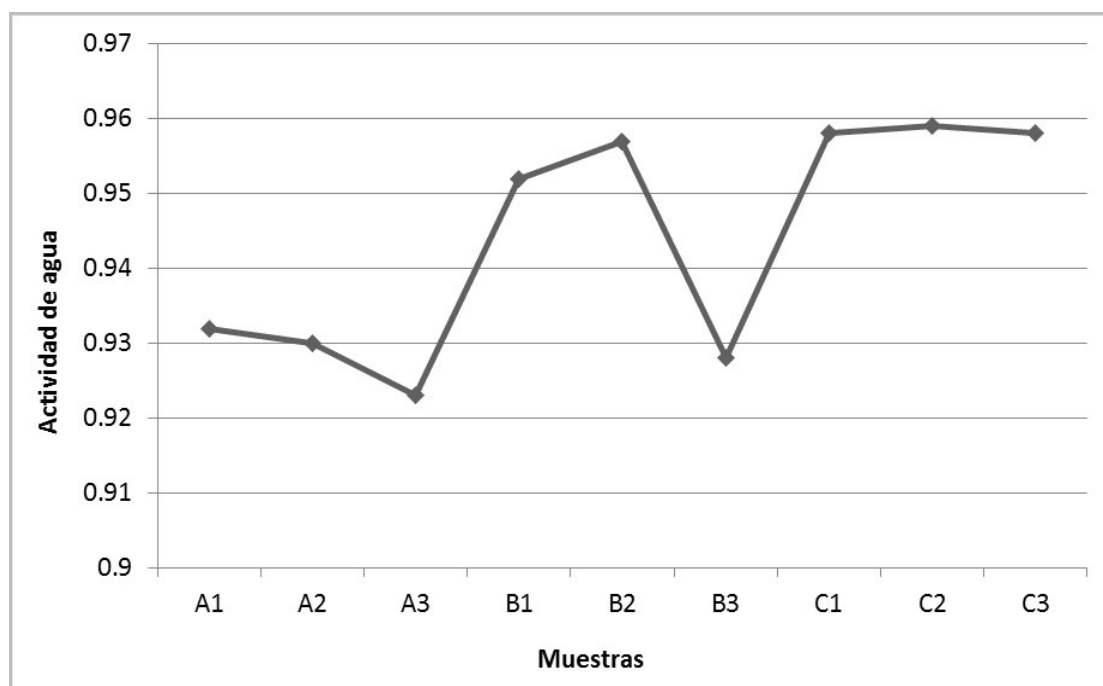


Figura 11. Variación de actividad de agua en queso Paria

Tabla 12. Análisis de varianza de actividad de agua en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular ($p \leq 0,05$)
Total (T)	8	0,002			
Entre marcas	2	0,0014	0,001	10,839	4,459
Intra marcas	2	0,000	0,000	2,189	4,459

En esta tabla se evidencia que hay diferencia significativa en los valores de actividad de agua entre las marcas A, B y C, pero no dentro las muestras de las mismas marcas.

4.2.2 Contenido de humedad, grasas y proteínas en queso Paria

Tabla 13. Contenido de humedad, sólidos totales, grasas y proteínas en queso Paria

Muestras	Humedad (g/100)	$\bar{X} \pm S$	Sólidos totales (g/100)	$\bar{X} \pm S$	Grasas (g/100)	$\bar{X} \pm S$	Proteínas (g/100)	$\bar{X} \pm S$
A ₁	45,16		54,84		28,00		20,41	
A ₂	40,77	42,94 ± 2,20	59,23	57,06 ± 2,20	30,50	28,83 ± 1,44	24,53	21,9 ± 2,28
A ₃	42,88		57,12		28,00		20,76	
B ₁	45,13		54,87		27,00		22,83	
B ₂	44,11	44,78 ± 0,58	55,89	55,22 ± 2,20	27,50	27,33 ± 0,28	23,03	23,41 ± 0,84
B ₃	45,10		54,90		27,50		24,38	
C ₁	45,22		54,78		31,00		20,62	
C ₂	45,97	45,33 ± 0,58	54,03	54,67 ± 0,58	30,50	31,00 ± 0,50	20,56	20,58 ± 0,03
C ₃	44,81		55,19		31,50		20,57	

\bar{X} : promedio, S: desviación estándar

Tabla 14. Contenido de grasa en base seca en queso Paria

Muestras	Sólidos totales (g/100)	Grasa en base seca (g/100)	$\bar{X} \pm S$
A ₁	54,84	51,06	
A ₂	59,23	51,49	50,52 ± 1,32
A ₃	57,12	49,02	
B ₁	54,87	49,21	
B ₂	55,89	49,20	49,5 ± 0,51
B ₃	54,90	50,09	
C ₁	54,78	56,59	
C ₂	54,03	56,45	56,71 ± 0,33
C ₃	55,19	57,08	

\bar{X} : promedio, S: desviación estándar

El contenido de humedad se mostró similar en todas las muestras, presentando el mayor valor la muestra C₂ (45,97). (Ver figura 12)

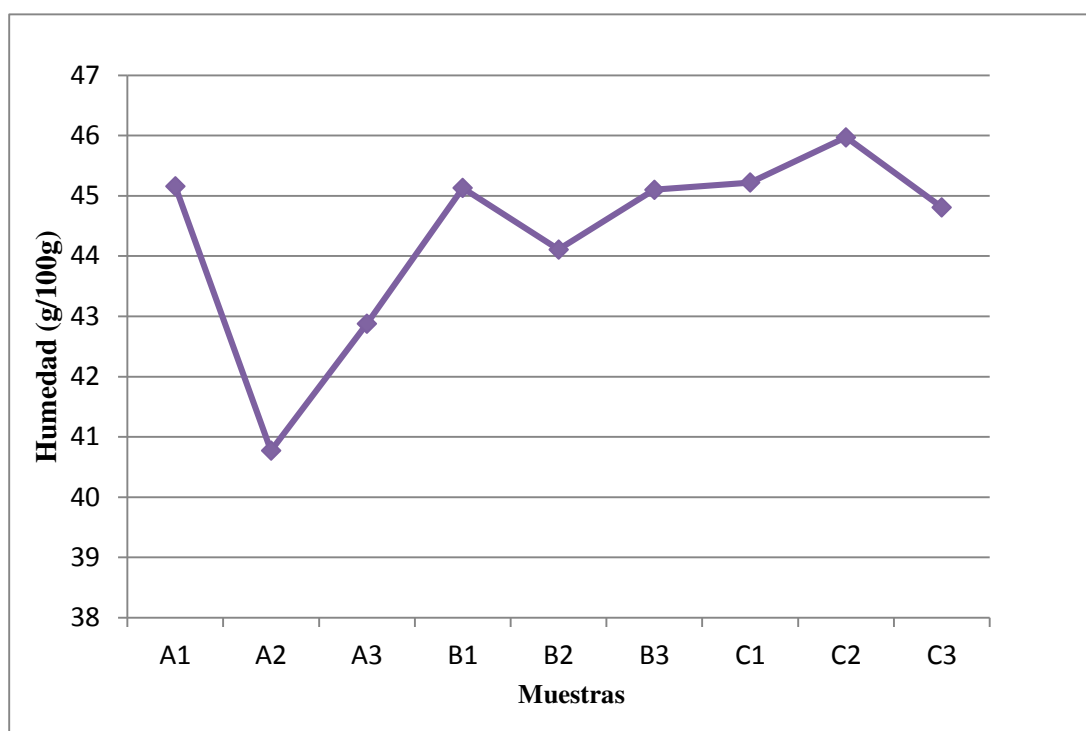


Figura 12. Variación de la humedad en queso Paria

Tabla 15. Análisis de varianza de humedad en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular (p≤0,05)
Total (T)	8	20,455			
Entre marcas	2	9,4481	4,724	2,570	4,459
Intra marcas	2	3,653	1,827	0,994	4,459

En esta tabla se evidencia que no hay diferencia significativa en los valores de humedad entre las tres marcas ni dentro de las muestras de la misma marca.

Sobre el contenido de grasas en las muestras; la marca C es la que presentó mayores valores ($31,00 \pm 0,50$) y la marca B los menores valores ($27,33 \pm 0,28$). (Ver figura 13)

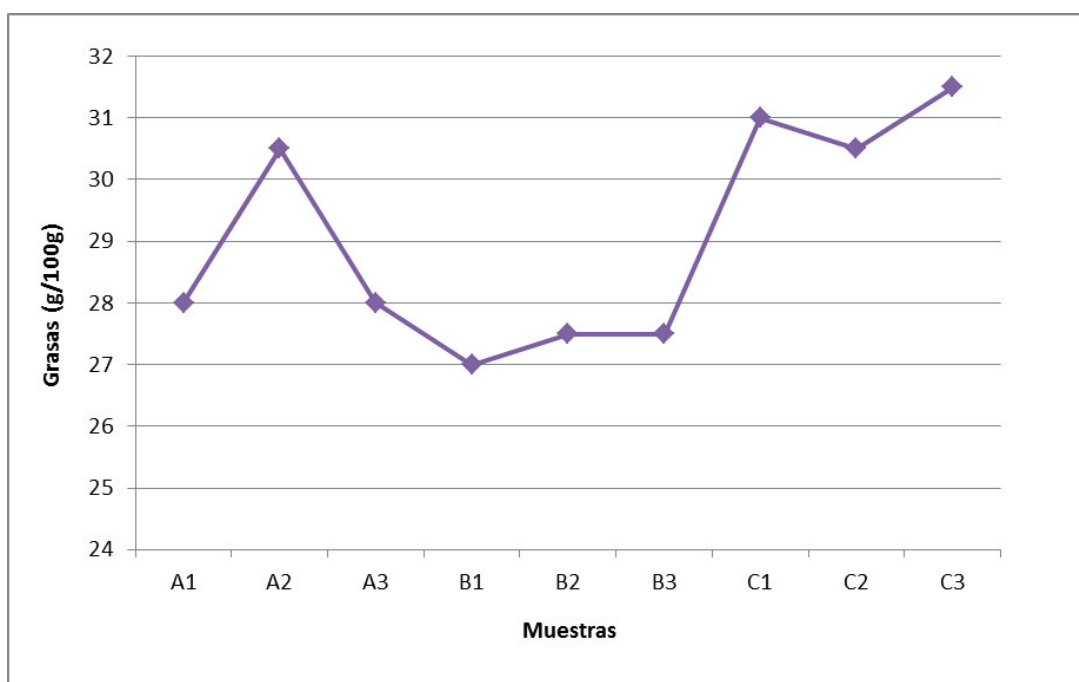


Figura13. Variación de grasas en queso Paria

Tabla 16. Análisis de varianza de grasas en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular ($p \leq 0,05$)
Total (T)	8	24,889			
Entre marcas	2	20,3198	10,160	11,166	4,459
Intra marcas	2	0,930	0,465	0,511	4,459

En esta tabla se evidencia que hay diferencia significativa en los valores de % de grasa entre las marcas A, B y C, pero no dentro las muestras de las mismas marcas.

El contenido de proteínas entre las muestras no varió considerablemente, inclusive los lotes de la marca C tuvieron valores muy similares ($20,58 \pm 0,03$). (Ver figura 14)

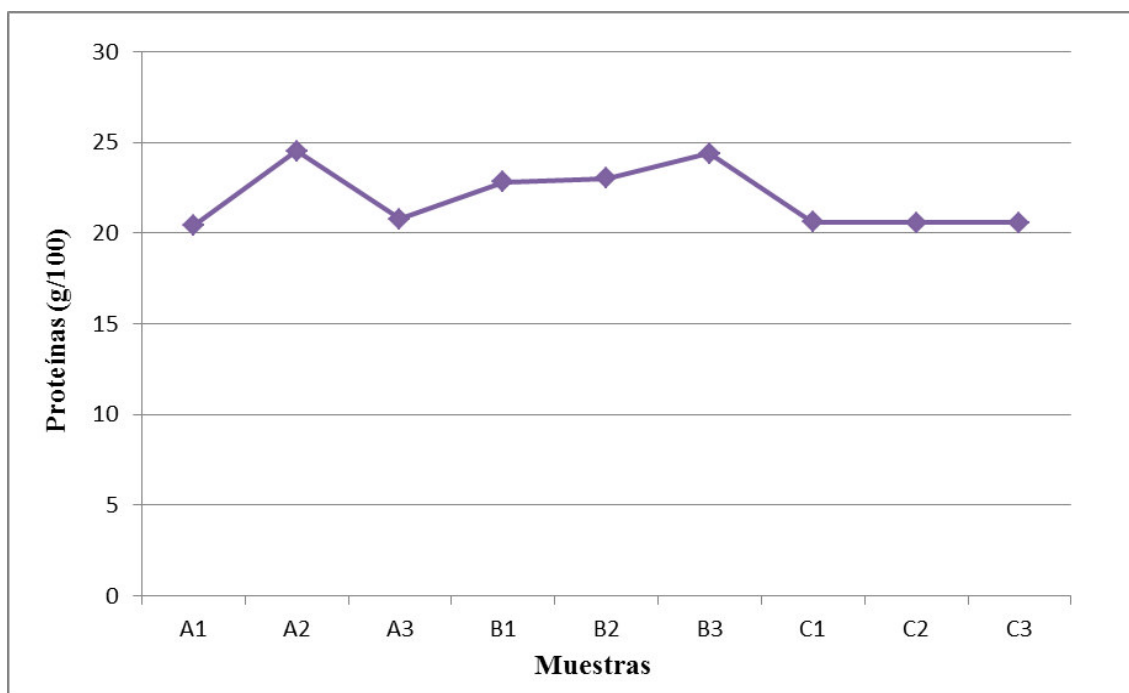


Figura 14. Variación de las proteínas en queso Paria

Tabla 17. Análisis de varianza de proteínas en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular ($p \leq 0,05$)
Total (T)	8	23,893			
Entre marcas	2	12,0327	6,016	2,729	4,459
Intra marcas	2	3,042	1,521	0,690	4,459

En esta tabla se evidencia que no hay diferencia significativa en los valores de % de proteínas entre las tres marcas ni dentro de las muestras de la misma marca.

4.2.3 Contenido de cloruro de sodio

Tabla 18. Contenido de cloruro de sodio (NaCl) en queso Paria

Muestras	NaCl (g%)	$\bar{X} \pm S$
A ₁	3,04	
A ₂	2,91	$3,07 \pm 0,17$
A ₃	3,25	
B ₁	2,17	
B ₂	3,13	$2,52 \pm 0,53$
B ₃	2,25	
C ₁	1,75	
C ₂	1,77	$1,74 \pm 0,04$
C ₃	1,69	

\bar{X} : promedio, S: desviación estándar

Existió variación considerable en el contenido de NaCl entre las tres marcas, la muestra A₃ presentó el mayor valor (3,25) y la C₃ el menor valor (1,69). (Ver figura 15)

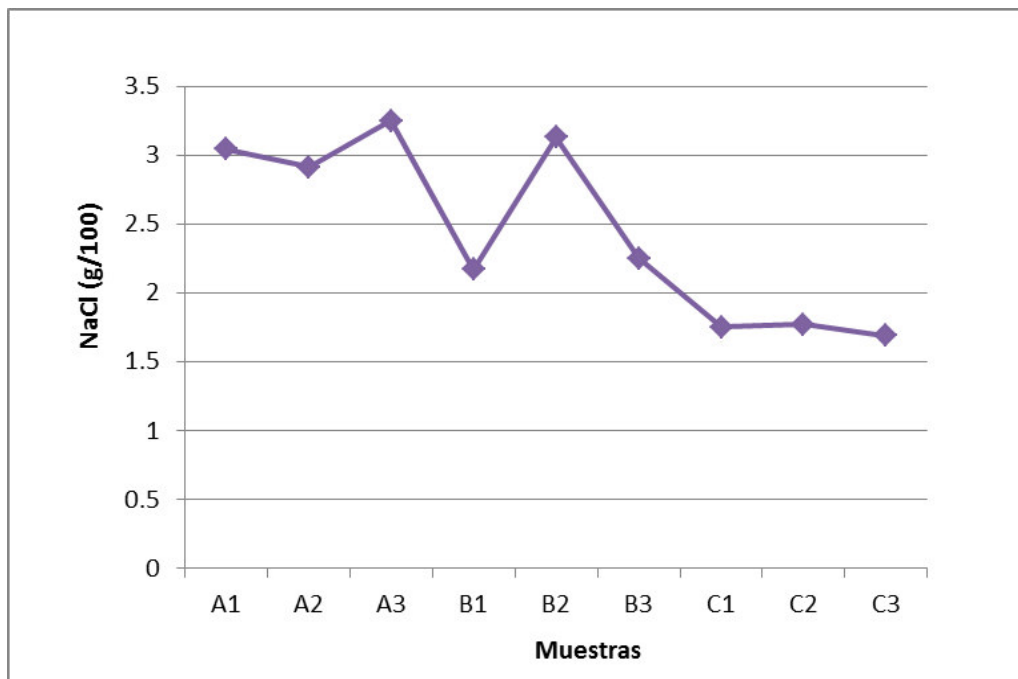


Figura 15. Variación de contenido de cloruro de sodio (NaCl) en queso Paria

Tabla 19. Análisis de varianza de NaCl en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular ($p \leq 0,05$)
Total (T)	8	3,310			
Entre marcas	2	2,6798	1,340	10,699	4,459
Intra marcas	2	0,129	0,064	0,515	4,459

En esta tabla se evidencia que hay diferencia significativa en los valores de % de NaCl entre las marcas A, B y C, pero no dentro las muestras de las mismas marcas.

4.3 Resultado de la evaluación de aminas biógenas:

Tabla 20. Contenido de aminas biógenas en queso Paria

Muestras	Aminas biógenas (ppm)												Totales	
	PUT	$\bar{X} \pm S$	HIS	$\bar{X} \pm S$	CAD	$\bar{X} \pm S$	TRYP	$\bar{X} \pm S$	TYR	$\bar{X} \pm S$	SPD	$\bar{X} \pm S$		SPM
A ₁	3,66		3,73		2,42		3,72		3,10		14,43			
A ₂	4,80	3,47±1,41	3,60	3,1±0,99	9,52	4,97±3,95	0,73	2,19±1,5	2,55	2,89±0,30	12,36	13,60±1,10	ND	30,22±4,30
A ₃	1,96		1,96		2,97		2,13		3,03		14,03			
B ₁	1,88		3,94		1,77		1,95		3,62		15,95			
B ₂	0,38	0,89±0,86	3,37	3,52±0,37	2,85	2,32±0,54	0,67	0,9±0,95	2,80	3,01±0,44	13,30	13,99±1,73	ND	24,63±4,96
B ₃	0,40		3,24		2,35		0,09		2,62		12,71			
C ₁	0,38		3,42		2,13		0,36		3,00		14,05			
C ₂	0,13	0,27±0,13	2,74	3,09±0,34	4,50	3,12±1,23	0,20	0,19±0,18	2,63	2,79±0,19	12,06	13,06±1,00	ND	22,55±4,76
C ₃	0,30		3,11		2,73		0		2,74		13,06			

PUT putrescina; HIS histamina; CAD cadaverina; TRYP triptamina; TYR tiramina; SPD espermidina; SPM espermina; ND no detectado (Límite de detección: 0,087 ppm)

Tabla 21. Contenido promedio de aminas biógenas en queso Paria

Aminas biógenas (ppm)	Marcas		
	A	B	C
Putrescina	3,47± 1,41	0,89±0,86	0,27±0,13
Histamina	3,10±0,99	3,52±0,37	3,09±0,34
Cadaverina	4,97±3,95	2,32±0,54	3,12±1,23
Triptamina	2,19±1,50	0,90±0,95	0,19±0,18
Tiramina	2,89±0,30	3,01±0,44	2,79±0,19
Espermidina	13,60±1,10	13,99±1,73	13,06±1,00
Totales	30,22±4,30	24,63±4,96	22,55±4,76

La marca A presenta el mayor valor de contenido total de aminas biógenas (30,22 ppm), seguido de la marca B (24,63 ppm) y la marca C (22,55 ppm). La espermidina es la amina biógena más abundante en las tres marcas, la triptamina la más baja en la marca A y C y putrescina es la más baja en la marca B. (Ver figura 16)

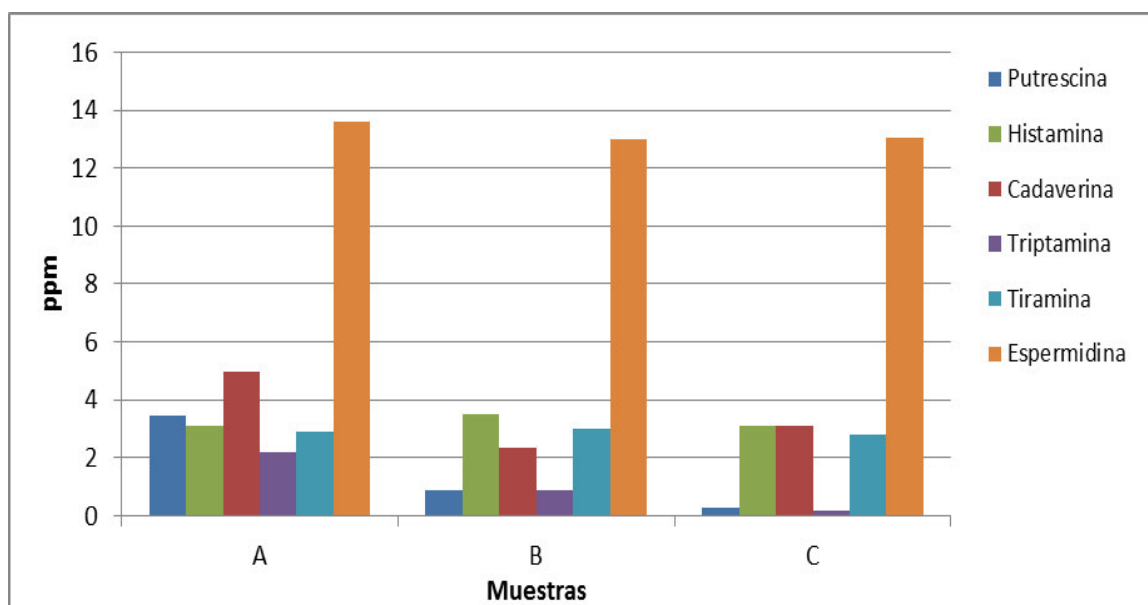


Figura 16. Variación del contenido de histamina, putrescina, cadaverina, triptamina, tiramina y espermidina en queso Paria

Tabla 22. Análisis de varianza del contenido de aminas biógenas en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular (p≤0,05)
Total (T)	17	315,528			
Entre marcas	2	303,6539	151,827	99,468	4,459
Intra marcas	5	5,769	2,884	1,890	4,459

En esta tabla se evidencia que hay diferencia significativa en los valores del contenido entre las marcas A, B y C, pero no dentro las muestras de las mismas marcas.

4.4 Resultado del recuento de bacterias ácido lácticas

Tabla 23. Recuento de BAL de las muestras de queso Paria

Muestras	Recuento de BAL (Log ufc/g)	$\bar{X} \pm S$
A ₁	8,62	
A ₂	8,51	8,56 ± 0,06
A ₃	8,56	
B ₁	8,57	
B ₂	8,40	8,47 ± 0,09
B ₃	8,43	
C ₁	7,70	
C ₂	8,30	8,06 ± 0,32
C ₃	8,18	

\bar{X} : promedio, S: desviación estándar, ufc: unidades formadoras de colonias

Hay variación en los valores del recuento de las BAL entre las muestras, la muestra A1 tiene el mayor recuento (8,62), mientras la muestra C1 tiene el menor recuento (7,70). De las 3 muestras, la marca C es la que tiene el menor recuento promedio ($8,06 \pm 0,32$). (Ver figura 17)

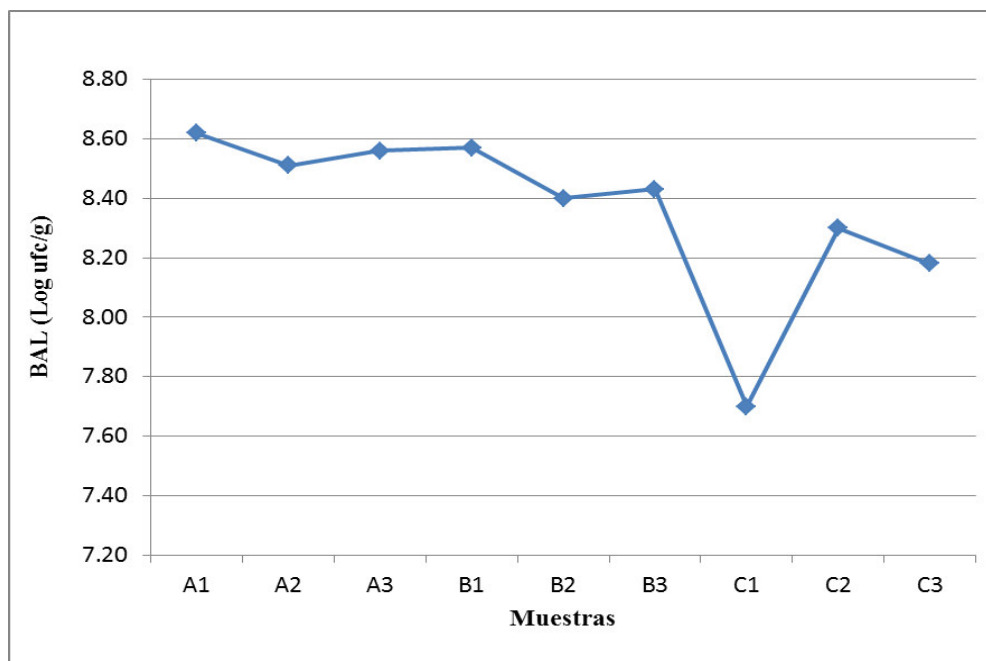


Figura 17. Variación del recuento de bacterias ácido lácticas en queso Paria

Tabla 24. Análisis de varianza de recuento de BAL en queso Paria

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular ($p \leq 0,05$)
Total (T)	8	0,931			
Entre marcas	2	0,5547	0,277	5,062	4,459
Intra marcas	2	0,157	0,078	1,432	4,459

En esta tabla se evidencia que hay diferencia significativa en los valores de recuento de BAL entre las marcas A, B y C, pero no dentro las muestras de las mismas marcas.

4.5 Correlación del contenido de aminos biógenas en las muestras de queso Paria con los parámetros fisicoquímicos y el recuento de BAL

De acuerdo a los coeficientes de correlación se evidencia que existe relación directa entre el contenido de aminos biógenas con la concentración de cloruro de sodio (NaCl) y bacterias ácido lácticas (BAL), mientras que hay relación inversa con pH, actividad de agua (a_w) y humedad. No hay relación directa ni inversa con el contenido de grasas y proteínas. (Ver tabla 25)

Tabla 25. Correlación del contenido de aminos biógenas en las muestras de queso Paria con los parámetros fisicoquímicos y el recuento de BAL

Parámetros	Muestras			Coeficiente de correlación (r)
	A	B	C	
pH	5,15	5,63	6,11	-0,97
a_w	0,93	0,95	0,96	-0,99
Humedad (g %)	42,94	44,78	45,33	-0,99
Grasas (g %)	28,83	27,33	31,00	-0,36
Proteínas (g %)	21,90	23,41	20,58	0,22
NaCl (g %)	3,07	2,52	1,74	0,94
BAL (Log ufc/g)	8,56	8,47	8,06	0,82
Aminas biógenas totales (ppm)	30,22	24,63	22,55	

Los valores de pH y de contenido de aminos biógenas tienen una relación inversa (coeficiente de correlación de -0,97). A mayor pH menor contenido de aminos biógenas. (Ver figura 18)

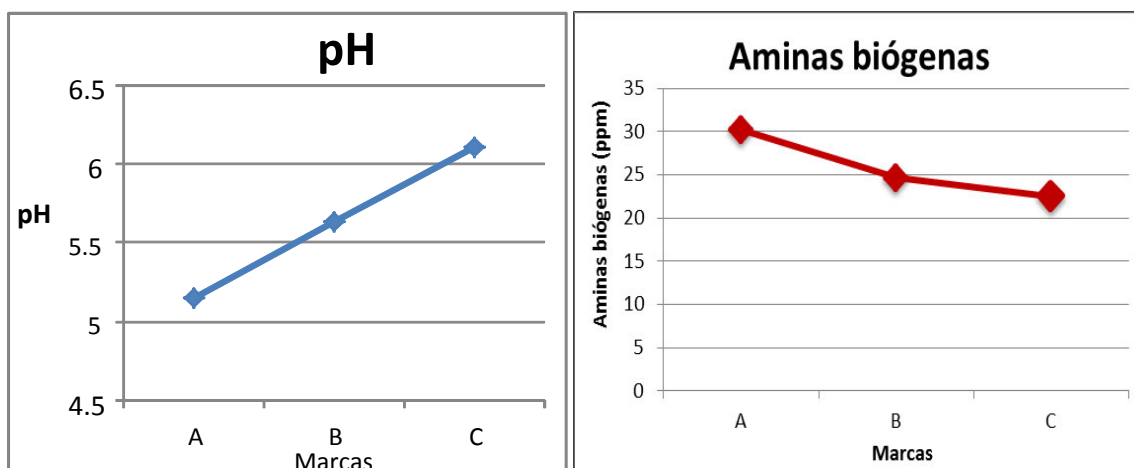


Figura 18. Correlación de los valores de pH con el contenido de aminos biógenas

Los valores de actividad de agua y de contenido de aminos biógenos también tienen una relación inversa (coeficiente de correlación de -0,99). A mayor actividad de agua menor contenido de aminos biógenos. (Ver figura 19)

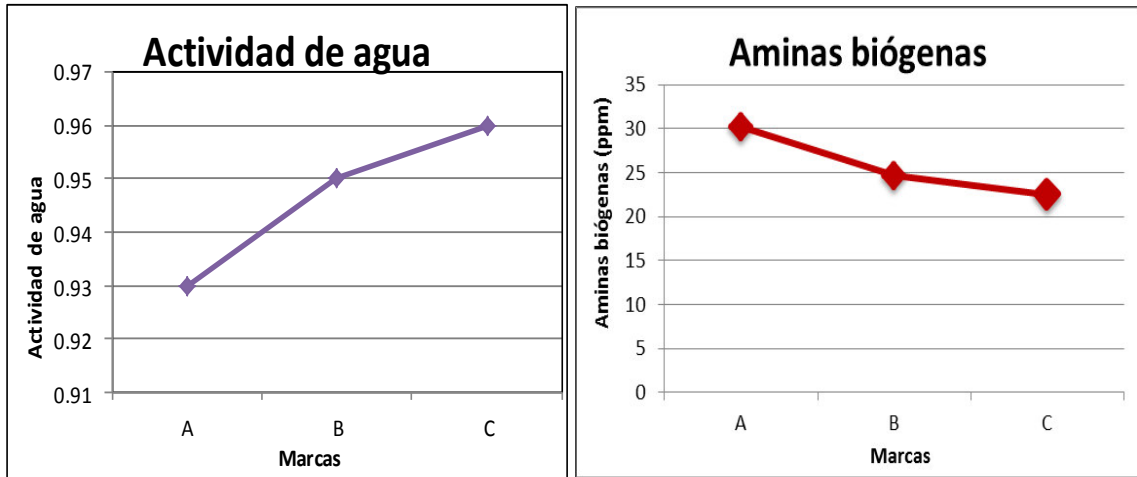


Figura 19. Correlación de los valores de a_w con el contenido de aminos biógenos

Los valores de contenido de humedad y de aminos biógenos, igual que en el pH y la actividad de agua, presentan una relación inversa (coeficiente de correlación de -0,99). A mayor contenido humedad menor contenido de aminos biógenos. (Ver figura 20)

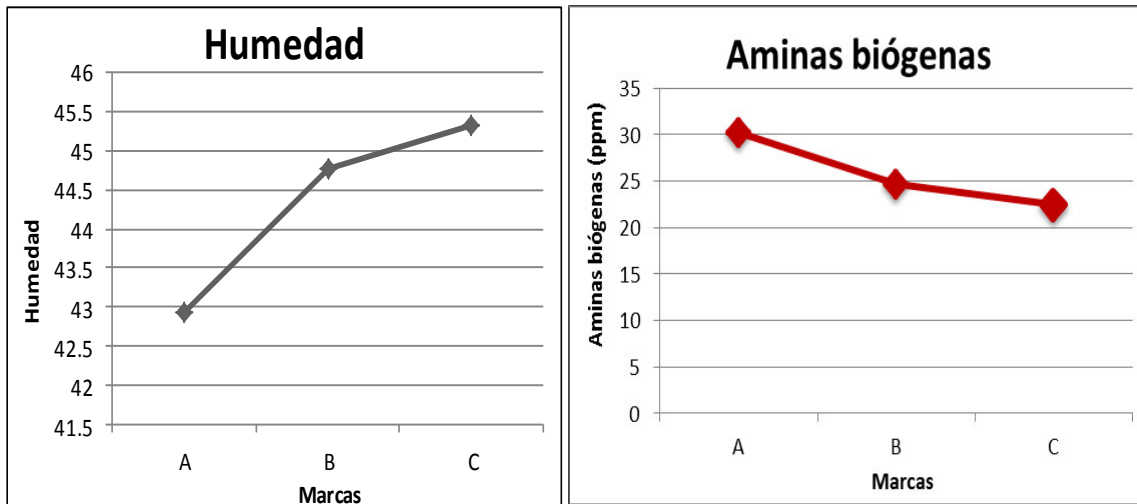


Figura 20. Correlación de los valores de humedad de agua con el contenido de aminos biógenos

Existe una relación directa entre los valores de contenido de NaCl y de aminas biógenas (coeficiente de correlación de 0,94). A mayor contenido de NaCl mayor contenido de aminas biógenas. (Ver figura 21)

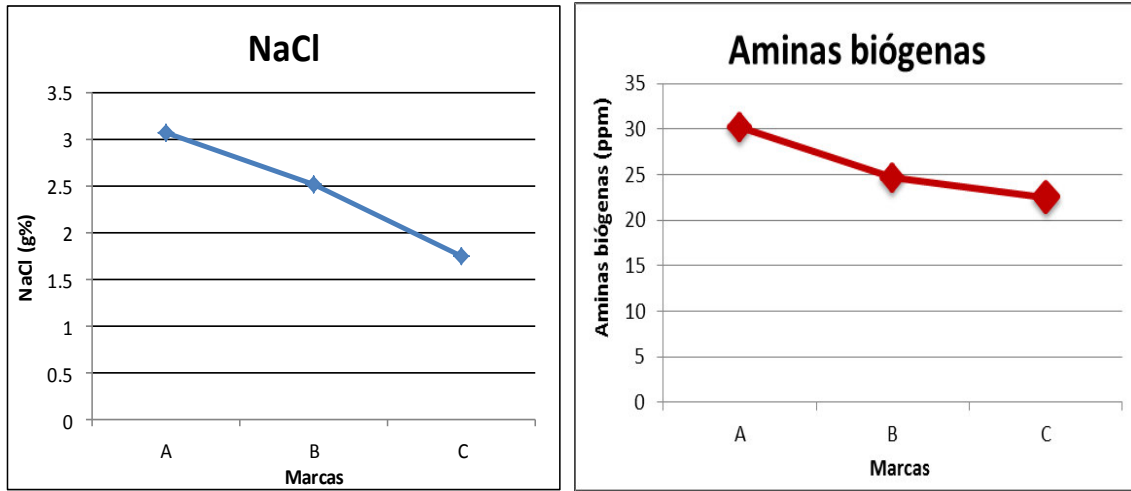


Figura 21. Correlación de la concentración NaCl con el contenido de aminas biógenas

Asimismo ocurre con los valores de recuento de BAL y de contenido de aminas biógenas (coeficiente de correlación de 0,82). A mayor recuento de BAL mayor contenido de aminas biógenas. (Ver figura 22)

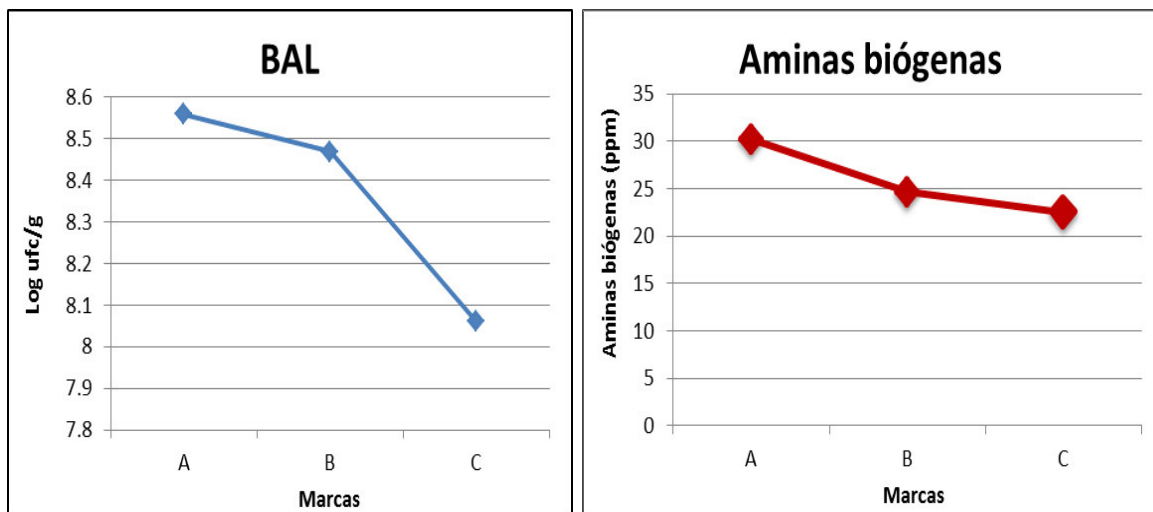


Figura 22. Correlación de recuento de BAL con el contenido de aminas biógenas

V. DISCUSIÓN

Las muestras de queso Paria evaluadas presentaron características organolépticas coincidentes a las descritas por la NTP⁽³⁾. Cabe señalar que las muestras de la marca A presentaban pequeños “ojos”, lo cual según la norma no es una característica propia, pero por haber sido muy imperceptibles y de poca cantidad se considera como defectos naturales producto de alguna deficiencia en el prensado⁽⁶⁹⁾.

El queso Paria es un queso madurado con un proceso de maduración de 7 a 21 días, finalizado ese tiempo presenta cambios, principalmente en sus características fisicoquímicas. Estos cambios son: más baja humedad, mayor contenido de sal, mayor acidez y mayor dureza que los quesos sin madurar, lo que se evidenció en las muestras⁽⁷⁰⁾.

Con respecto al pH, se encontró en promedio 5,15 para la marca A, 5,68 para la marca B es y 6,11 para la marca C, estadísticamente existe una diferencia significativa entre las marcas, pero no entre los valores de las lotes de cada marca. No existe referencia en la NTP sobre los valores de pH, pero en general los valores para los quesos madurados, duros y normales es de 5 a 5,5⁽⁷¹⁾; como se evidencia el valor promedio de la marca A se encuentra dentro del rango promedio, mientras de la marca B y C tienen valores mayores a 5,5, esto podría ser a que los lotes de la marca B y C tuvieron menor tiempo de almacenamiento, aunque también estos resultados están relacionado con el tipo y la cantidad de cepa utilizado, con la concentración de NaCl y puede ser que hayan tenido también menor tiempo de maduración durante el proceso de producción.⁽⁷⁾ Se sabe que la mayoría de microorganismos crecen muy bien a valores de pH cercanos a 7, sin embargo hay enzimas bacterianas que a un pH de 5,0 tienen una actividad óptima, como es el caso de las enzimas tirosina e histidina descarboxilasas, lo cual favorece la producción de aminas biógenas.⁽³⁴⁾

Los valores promedios de actividad de agua (a_w) fueron 0,93 para la marca A, 0,95 para la marca B y 0,96 para la marca C. Haciendo la comparación con los valores de pH, existe una relación directa, esto puede ser influenciado por el tiempo de maduración y almacenamiento, así como de otros parámetros descritos previamente. La mayoría de las bacterias no crecen a valores de a_w menores a 0,91, sin embargo factores como la temperatura y disponibilidad de nutrientes pueden incrementar el rango a la que pueden sobrevivir⁽⁷²⁾, de todos modos los valores encontrados en el estudio son mayores a 0,91, conociéndose que el queso Paria tiene el lógico riesgo del desarrollo de microorganismos. Haciendo la comparación con estudios en quesos madurados con

tiempo de maduración parecida al del queso Paria, presentaron valores similares a los obtenidos, del queso Gauda se reportó valores de a_w de 0,94 a 0,95⁽⁶⁾ y en el queso Chanco de 0,95 a 0,96⁽⁷³⁾.

El contenido de humedad promedio en las muestras fueron de: 42,94 g% para la marca A, 44,78 g% para la marca B y 45,33 g% para la marca C, donde claramente se observa que la marca A es la que tuvo menor valor y la C mayor valor. Realizando la comparación con los valores de pH y actividad de agua existe una relación directa. Los valores de humedad de las 3 marcas se encuentran dentro de los rangos establecidos por la NTP para quesos madurados (máximo 48 g%)⁽³⁾. Según estudios, se evidencia en los quesos, que la humedad va disminuyendo a mayor tiempo de maduración⁽⁷⁰⁾, por lo que la marca A puede haber pasado mayor tiempo de maduración y además se conoce que es la que estaba más próxima a su fecha de vencimiento.

Los valores promedios de proteínas fueron 21,9 g% para la marca A, 23,41 g% para la marca B y 20,58 g% para la marca C. Los valores promedios de grasas fueron 28,83 g% para la marca A, 27,33 g% para la marca B y 31,0 g% para la marca C. Como se evidencia, estos valores no guardan relación con los valores de pH, actividad de agua y la humedad. Las causas pueden ser diversas, uno de ellas es la marca, cada planta maneja de manera diferente su materia prima y su proceso de producción; no existe un proceso de producción estandarizado donde indique que la materia prima debe cumplir ciertos requisitos para elaborar el queso Paria. Los valores altos de grasas pueden ser como consecuencia de que se utilizan leche con alto contenido de grasa, como se observa las muestras que contienen mayor grasa tienen menos proteína y viceversa. La NTP⁽³⁾ al respecto solo publicó requisitos de contenido porcentual de grasa en extracto seco, siendo el mínimo para el queso Paria de 45 g%, lo cual las tres marcas cumplen, pues sus valores oscilan de 49,5 a 56,71 g%. Referente a proteínas, se menciona que en promedio un queso madurado oscila en 22,5 g%⁽⁹⁾, lo cual las tres marcas también lo cumplen.

La cantidad de contenido de cloruro de sodio interviene en los valores de actividad de agua, controla la actividad enzimática, afecta la sobrevivencia microbiana⁽⁷⁴⁾. Sobre el NaCl en las muestras; en promedio para la marca A fue 3,07 g%, para la marca B fue 2,52 g% y para la marca C fue 1,74 g%. La marca C tuvo el menor contenido de NaCl. No existe referencia de contenido de este compuesto en la NTP para realizar una comparación, sin embargo los valores están muy por encima de la mayoría de quesos,

así por ejemplo: el estudio en el queso Gauda mostró valores oscilantes de 1,13 a 1,40 g% ⁽⁶⁾ y del queso Chanco 1,28 g% en promedio ⁽⁷⁵⁾.

Siendo la esencia del estudio conocer el contenido promedio de aminas biógenas, el resultado de estas fueron; para la marca A 30,22 ppm, para la marca B 24,63 ppm y para la marca C 22,55 ppm, los cuales no sobrepasan el límite máximo tolerable (1000 ppm) ⁽⁵⁹⁾. La amina biógena más abundante en las tres marcas fue la espermidina (13,06 a 13,99 ppm). La triptamina se encuentra en menor concentración en las marcas A y C, mientras la putrescina en la marca B. Estudios en el queso Gauda ⁽⁶⁾, muy similar al queso Paria en el proceso de producción, encontró valores totales que oscilan de 47,9 a 150,5 ppm, los cuales son ligeramente mayores a los obtenidos en las muestras de queso Paria. En estudios de otros tipos de queso madurados como en queso Brie (630 a 823 ppm), queso Manchego (549 a 617 ppm) y en el queso Parmesano (667,72 a 633,47 ppm) ⁽⁵⁾; los valores son altos, lo cual es influenciado principalmente por el tiempo de maduración que son más largos que el queso Paria. La amina más abundante en los mencionados quesos es variable, así por ejemplo tenemos que en el queso Manchego los que se encuentran en mayor y en menor cantidad son la espermidina y la tiramina respectivamente, en el queso Brie los que se encuentran en mayor y en menor cantidad son la putrescina y la cadaverina respectivamente y en el queso parmesano espermina y espermidina, siguiendo la lógica. Comparando con la muestra en estudio, ésta coincide con el queso Manchego, ya que ambos presentan en mayor cantidad la espermidina. Conteniendo el queso Paria valores dentro del rango encontrado en otros quesos madurados (0 - 43,04 ppm) ⁽⁷⁶⁾.

La principal amina biógena asociada a intoxicaciones por consumo de alimentos es la histamina y ésta presentó valores de 3,09 a 3,52 ppm, no habiendo diferencia significativa entre las marcas. La presencia y contenido de esta amina varía según el tipo de queso; en estudios de queso Gauda no se encontró la histamina ⁽⁶⁾, mientras que en el queso Chihuahua se encontró valores muy altos (46 a 192 ppm) ⁽⁷⁾. Esta amina biógena en los quesos tiene fuerte relación con el tiempo de maduración y el tipo de cultivos iniciadores, por ejemplo se conoce que los *Lactobacillus* son los principales productores de histamina ^(26,59) y el queso Gauda al no usar esas bacterias justifica la ausencia de esta amina.

Pero sin duda, la tiramina es la amina biógena que se encontró en varios quesos madurados, es por ello que la intoxicación con esta amina es conocida como *reacción a quesos*. El contenido de tiramina en el queso Paria fue de 2,79 a 3,01 ppm, otros

estudios en quesos suelen reportar valores más altos; así en el queso Gauda fue de 27,9 a 87,4 ppm ⁽⁶⁾, mientras en el queso Chihuahua se encontró valores mucho más altos de 122 a 209 ppm ⁽⁷⁾. La presencia de esta amina biógena está relacionado con el tiempo de maduración y el tipo de cultivos iniciadores también.

La espermina no fue detectada, esta amina biógena se encuentran en cantidades trazas en quesos con corto tiempo de maduración ya que es una amina biógena derivada de la última reacción de la putrescina. En los diversos trabajos de cuantificación de aminas biógenas en quesos no consideran a la espermina, debido a su baja importancia toxicológica.

La marca A de queso Paria presentó el mayor contenido de casi todas las aminas biógenas y en la suma total, puede deberse a que también era el más próximo a finalizar su vida de anaquel, cual es un influyente según la investigación en queso Chihuahua ⁽⁷⁾, donde reportó que al inicio de la vida de anaquel hay poco o nada de aminas biógenas, pero conforme avanza el tiempo tiende a incrementarse y/o aparecer debido a que en el almacenamiento todavía hay condiciones idóneas para la acción de las enzimas descarboxilasas.

Las bacterias ácido lácticas que son los cultivos iniciadores frecuentes en los quesos Paria, han sido identificadas como bacterias que poseen enzimas aminodescarboxilasas con los cuales son potencialmente productoras de aminas biógenas ^(77, 78, 79). El recuento de las BAL en las muestras fueron de 8,06 a 8,56 Log ufc/g. La marca A es la que tuvo los valores más altos, y la marca C los más bajos. Las diferencias encontradas en la cantidad de BAL por marca 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 ⁽⁸⁰⁾. Estos valores encontrados están dentro los valores de muchos estudios que usan las BAL como cultivos iniciadores, así en queso Chihuahua se reportaron valores de 6,08 a 9,0 Log ufc/g ^(5, 34, 81). Acerca de otros quesos que no solo usan BAL, sino otros cultivos, reportaron valores menores; en el queso parmesano de 3,52 a 5,0 Log ufc/g ⁽⁵⁾.

Al evaluar los coeficientes de correlación, el contenido de aminas biógenas tiene una relación directa con las BAL y el NaCl. Como se mencionó anteriormente, las BAL y principalmente los Lactobacillus son los principales productores de aminas biógenas en los quesos. En el queso Terrincho se encontró significativa correlación con los microorganismos viables y las aminas biógenas ⁽⁸²⁾, y a partir de esto se puede discutir los demás factores que influyen negativamente o positivamente en el desarrollo de las

BAL en el queso; así por ejemplo se sabe que el NaCl tiene un efecto de inhibición para otras bacterias como las enterobacterias, pero las BAL toleran muy bien como se observa que en la marca A con mayor concentración de NaCl (3,07 g%) presentó mayor recuento de BAL (8,56 Log ufc/g); mientras en la muestra con menor concentración de NaCl (1,74 g%) presentó menor recuento de BAL (8,06 Log ufc/g).

El contenido de aminas biógenas tiene relación inversa con el pH, actividad de agua y humedad. Analizando el pH; a menor valor evidencia que hay mayor contenido, esto se debe a la acidificación natural producida por las bacterias en el queso conforme pasa el tiempo, favoreciendo la producción de aminas biógenas, ya que el pH es bien tolerado por estas bacterias y además le da selectividad frente a las bacterias acompañante ⁽⁸³⁾, siendo incluso el pH de 5 óptimo para la actividad de algunas aminas descarboxilasas. La actividad de agua y la humedad están relacionadas inversamente con la cantidad de aminas biógenas, que refleja por ejemplo que cuanto más baja sea el valor de a_w hay mayor cantidad de aminas biógenas, esto está estrechamente relacionado con el contenido de NaCl presente en el medio, pues se sabe que cuando hay más sales disueltas hay menor actividad de agua.

Sobre la nula relación que tiene la grasa sobre el contenido de aminas biógenas es avalado por otra investigación ⁽⁸⁴⁾, que menciona que no es un parámetro influyente en la producción de dichas aminas. Si bien es cierto el contenido de aminoácidos libres tiene una correlación directa con la producción de aminas biógenas ⁽⁸⁵⁾, en este trabajo se evidencia que las proteínas en termino cuantitativo total no ejerce un efecto directo, ni inverso.

Por lo expuesto, existen factores muy influyentes para conocer el contenido de aminas biógenas en los quesos Paria, lo cuales se deben controlar a fin de garantizar un queso inocuo durante su tiempo de vida de anaquel.

VI. CONCLUSIONES

- 1) Las muestras de queso Paria tuvieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH 5,15 a 6,11; actividad de agua 0,93 a 0,96; humedad 42,94 a 45,33 g%; grasas 27,33 a 31,0 g%; proteínas 20,58 a 23,41 g% y cloruro de sodio 1,74 a 3,07 g%.
- 2) El recuento de las bacterias ácido lácticas en las muestras de quesos Paria variaron de 8,06 a 8,56 Log ufc/g.
- 3) El contenido de aminos biógenos en las muestras de queso Paria fueron (ppm): putrescina de 0,27 a 3,47; histamina de 3,09 a 3,52; cadaverina de 2,32 a 4,97; triptamina de 0,19 a 2,19; tiramina de 2,79 a 3,01; espermidina de 13,06 a 13,99. Los valores de aminos biógenos totales en las marcas fueron (ppm): marca A 30,22; marca B 24,63 y marca C 22,55; los cuales se encuentran por debajo del límite máximo tolerable (1000 ppm).
- 4) Existe correlación directa entre el contenido de aminos biógenos con la concentración de cloruro de sodio (NaCl) y bacterias ácido lácticas (BAL), mientras que hay correlación inversa con pH, actividad de agua (a_w) y humedad. No hay correlación directa ni inversa con el contenido de grasas y proteínas.

VII. RECOMENDACIONES

- 1) Implementar el sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) en todas las plantas queseras de Perú.
- 2) Evaluar el contenido de aminos biógenos en los quesos importados y compararlo con los nacionales.
- 3) Adecuar el uso de HPLC para la evaluación de aminos biógenos, pues ha demostrado ser muy útil.
- 4) Evaluar la dosis y los tipos de los cultivos iniciadores en la fabricación de quesos, ya que del adecuado uso de ellos depende mucho la calidad final del producto.
- 5) Realizar análisis nutricional de los quesos peruanos, falta información necesaria por conocer.
- 6) Investigar la presencia de microorganismos patógenos en el queso paria como *Listeria monocytogenes*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. USDA. United States Department of Agriculture. Dairy: World Markets and Trade; 2012.
2. MINAGRI. Ministerio de Agricultura y Riego. Encuesta Mensual a Establecimientos Agroindustriales. <http://siea.minag.gob.pe/siea/?q=estadistica-agroindustrial> (último acceso 20 de septiembre de 2014).
3. Norma Técnica Peruana. NTP. Leche y productos lácteos: quesos madurados. Requisitos. NTP 202.194. 2ª edición. Lima; 2010.
4. Fernandez M, Flores AB, Linares DM, Mayo B and Alvarez M. HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms. *Journal of Dairy Research* 2007; 74: 276-282.
5. Contreras M, Izquierdo P, Allara M, García A, Torres G, Céspedes E. Determinación de aminas biógenas en quesos madurados. *Rev. Cient. Maracaibo*. 2007; 17(1): 89-95.
6. Cid Burgos ND. Determinación y Cuantificación de Aminas Biógenas en Queso Gauda de mercado. Tesis para título de Ingeniero de Alimentos. Universidad Austral de Chile; 2011.
7. González Martínez MT. Evaluación de desarrollo de aminas biógenas en queso Chihuahua durante su vida de anaquel. Tesis doctoral en Ciencia de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona; 2013.
8. Códex Alimentarius. Norma General de Codex para el Queso CODEX STAN 283-1978; 2013.
9. Charles A, Lacasa A. Ciencia de la Leche: Principios de Técnica Lechera. Reverte; 2003.
10. Beresford T, Fitzsimons N, Brennan N, Cogan T. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal* 2001; 11: 259 – 274.
11. Madigan MT, Martinko JM. La diversidad procariota: bacterias. En: Madigan MT, Martinko JM, Parker J (eds.) *Brock Biología de los Microorganismos*. 10aed. España: Pearson Prentice Hall, 2006. 340 – 390.
12. De Vuyst L. Technology aspects related to the application of functional starter culture. *Food Technology and Biotechnology* 2000; 38 (2): 105 – 112.

13. Curry B, Crow V. *Lactobacillus* spp. General characteristics. En: ROGINSKI H., FUQUAY JW, FOX PW (eds.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*; 2003. 1479-1484.
14. Ray B, Bhunia A. *Fundamentos de la Microbiología de los Alimentos*. 4a ed. México D.F.: Mc Graw Hill; 2008.
15. Law BA, Kosltad J. Proteolytic system in lactic acid bacteria. *Antoine Van Leeuwenhoek* 1983. 49: 225 -245.
16. Parra Huertas RA. Revisión. Bacterias ácido lácticas, papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias Rev.Bio.Agro* 2010; 8(1): 93-105.
17. Milesi MM. Desarrollo de fermentos adjuntos para queserías a partir de bacterias lácticas no pertenecientes. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Litoral; 2008.
18. Van Cauteren D, Silva NJ, Weill FX, King L, Brisabois A, Delmas G, et al. Outbreak of *Salmonella* enteric serotype muenster infections associated whit goat's cheese, France, March 2008. *Eurosurveillance* 2009; 14(31): 1-3.
19. Najand ML, Ghanbarpour R. A study on enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from a domestic Iranian soft cheese. *Vet. Arhiv.* 2006; 76: 531 – 536.
20. Yde M, Botteldoorn N, Bertrand S, Collard J, Dierick K. Microbiological and Molecular Investigation of an increase human listeriosis in Belgium. 2006 – 2007. *Eurosurveillance* 2010; 15(6):19486.
21. Marcobal A, De la Rivas B. Methods for the Detection of Bacteria Producing Biogenic Amines on Foods. *A Survey Journal of Consumer Protection and Food Safe* 2006; 187 – 196.
22. Suca RG, Suca CA. *Elaboración de Queso Paria*. Manual técnico N° 2. 1ª ed. Puno; 2011.
23. Sierra Exportadora. Programa Nacional de Quesos Madurados. <http://www.sierraexportadora.gob.pe/programas/quesos-madurados/> (último acceso 10 de Octubre del 2015).
24. MINAGRI y SUNAT. Ministerio de Agricultura y Riego. Comercio Exterior para el Agro. <http://sistemas.minag.gob.pe/siscex/exportaciones/partidaIN> (último acceso 1 de octubre de 2015).

25. Agrodata Perú. Queso Perú Importación. Wilfredo Koo Gallo. <http://www.agrodataperu.com/2015/06/quesos-peru-importacion-mayo-2015.html> (último acceso 01 de Octubre del 2015).
26. Izquierdo P, Allara M, Torres G, García A. Queso madurado Manchego, Parmesano y de Año. *Revista científica FCV* 2003; 13(6): 431 – 436.
27. Viña RJ, Viña J. *Bioquímica Herrera* I. 2a ed. España: Interamericana Mc Graw – Hill; 1994.
28. Mc Cabe- Sellers BJ, Staggs CG, Bogle ML. Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge. *Journal of Food Composition and Analysis* 2006; 19: 58–65.
29. Standarová E, Vorlová L, Kordiovská P, Janštová B, Dračková M, Borkovcová I. Biogenic Amine Production in Olomouc Curd Cheese (Olomoucké tvarůžky) at Various Storage Conditions. *Acta Vet. Brno* 2010; 79:147-156.
30. Suzzi G, Gardini F. Biogenic Amines in Dry Fermented Sausages: a Review. *Int. J Food Microbiol.* 2003; 88:41-54.
31. La Gioia F, Rizzoti L, Gardini F, Tabanelli G, Torriani S. Identification of a Tyrosine Descarboxylase Gene (tdc A) in *Streptococcus thermophiles* 1TT45 and Analysis of its Expression and Tyramine Production in Milk. *Appl. Environ. Microbiology* 2011; 77:140-1144.
32. Silla-Santos MH, Biogenic Amines: Their Importance in Foods. *Int. J. Food Microbiol.* 1996; 29 (2/3):213-231.
33. Stratton JE y Taylor SL. Scombroid Poisoning. En Ward DR y Hackney CR (eds.) *Microbiology of Marine Products*, Avi: Van Nostrand Reinhold, New York; 1991. p351.
34. Díaz ME, Fraijo O, Grajeda P, Lozano-Taylor X, González de Mejía E. Microbial and Chemical Analysis of Chihuahua Cheese and Relationship to Histamine and Tyramine. *J. Food Sci.* 1992; 57: pág. 355.
35. Marine i FA. Institut D'estudis Catalans secció de ciències biològiques: Les Amines Biògenes en els Aliments: Història i Recerca En El Marc de les Ciències de L'alimentació. Barcelona; 2005. <http://www.iec.cat/butlleti/48/cronica/ANIMES.pdf> (último acceso 01 Junio 2015).

36. López MF, Álamo GC. Historia de la Psicofarmacología. Madrid: Editorial Médica Panamerica; 2007:360.
37. Ladero V, Calles-Enríquez M, Fernández M, Álvarez MA. Toxicological effects of dietary biogenic amines. *Current Nutrition and Food Science*, 2010; 6(2): 145-156.
38. Ladero V, Fernández M, Álvarez MA. Effects of post- ripening processing on the histamine and histamine-producing bacteria contents of different cheeses. *International Dairy Journal* 2009; 19:759 -762.
39. Fernández MA, Bravo JM; Fernández RS, Gómez G, García L. Escombrouintoxicación por consumo de bonito. *Emergencias*. 2012; 13:132-135.
40. Maintz L, Novak N. Histamine and Histamine Intolerance. *The American Journal and Clinical Nutrition*. 2007; 85.5:1185-1196.
41. Linden E. Toxicología de los alimentos. 2ª ed. Zaragoza: Acribia; 1995.
42. Galleguillos M. Aminas Biógenas, Nuevos Indicadores Químicos Utilizados como Criterios de Calidad en Harina de Pescado. Santiago; 2013. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S22.htm>. (Último acceso 25 de Octubre 2015).
43. Minois M, Guitierres DC, Madeo F. Polyamines in aging and disease. *AGING* 2011;3 (8).<http://www.impactaging.com/papers/v3/n8/pdf/100361.pdf> (último acceso 26 de Octubre de 2015).
44. Guasco E et al. Poliamidas: pequeños gigantes de la regulación metabólica. *Revista de Educación Bioquímica. REB* 2014; 33(2). [http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2014/02/REB33\(2\)Junio2014.pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2014/02/REB33(2)Junio2014.pdf) (último acceso 30de Octubre 2015).
45. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=1150. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1150> (último acceso 28 Octubre de 2015).
46. Farlex, Inc. Medical Dictionary (Tryptamine). The free dictionary By Farlex. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/tryptamine> (último acceso 28 Octubre de 2015).
47. Dadáková E, Kríek M, Pelikánová T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry* 2009; 116 (1): 365-370.

48. Moret, S., Conte, L. High-performance liquid chromatographic evaluation of biogenic amines in foods. An analysis of different methods of sample preparation in relation to food characteristics. *Journal of Chromatography* 1996; A729:363–369.
49. Mazzuco E, Gosetti F, Bobba M, Marengo E, Robotti E and Gennaro M. High-Performance Liquid Chromatography- Ultraviolet detection method for the simultaneous determination of typical biogenic amines and precursor amino acids. *Applications in Food Chemistry. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 58 (1): 127-134.
50. Innocente N, Biasutti M, Padovese M, and Moret S. Determination of biogenic amines in a cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. *Food Chemistry* 2007; 101 (3): 1285-1289.
51. Onal A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry* 2007; 103 (4): 1475-1486.
52. Alberto MR, Arena ME, Manca de Nadra MC. Differences between biogenic amines detection by HPLC methods using OPA and dansyl derivates. *Methods in molecular biology, Public Health Microbiology Methods and Protocols* 2004; 268: 481-487.
53. Eerola S, Hinkkanen R, Lindfors E, Hirvi T. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *Journal of AOAC International* 1993; 76(3): 575-577.
54. Fernández M, Del Río B, Linares DM, Martín MC, Alvarez MA. Real time polymerase chain reaction for quantitative detection of histamine producing bacteria: use in cheese production. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 3763-3769.
55. Ruiz C, Jiménez F. Aminas biógenas: Importancia Toxicológica. *Rev Electron Biomed*, 30 Julio de 2015.<http://www.biomed.uninet.edu/2010/n3/ruiz-capillas.html>
56. Joint FAO/OMS Expert Meeting on the Public Health Risks of Histamine and Other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products. FAO/OMS. Rome, Italy. 23-27 July 2012. http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/news_events/1_FAO-WHO_Expert_Meeting_Histamine.pdf

57. Les autorités fédérales de la Confédération suisse. Ordonnance sur les substrates étrangers et les composants dans les denrées alimentaires (OSEC). Le Département fédéral de l'intérieur. 2002; 1068.
58. Miller JC y Miller JN. Statistics for Analytical Chemistry, Second Edition. Miller JC y Miller JN /Ellis Horwood Limited. Millies KD, Zimlich D. Histamingehalle von Weinen und Schaumweinen. Weinwirtschaft-Technik. 1988; 1:21-24.
59. Burdychová R, Komprda T. Biogenic amine- forming microbial communities in cheese. Federation of European Microbiological Societies, Microbiology Letters 2007; 276 (2):149-155.
60. Arlorio M, Coisson JD, Travaglia F, Capasso M, Rinaldi M y Martelli A. Proteolysis and Production of biogenic amines in Toma piemontese cheese during ripening. Italian Journal of Food Science. 2003; 15(3): 395-404.
61. AOAC International. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis II. 19th ed. Maryland; 2012.
62. Egan, H.; Kirt, R. y Sawyer, R. Análisis Químico de los Alimentos de Pearson. Editorial Continental S.A. México D.F.; 1991.
63. Gerber N, Schneider K. Tratado Práctico de los Análisis de la Leche y del Control de los Productos Lácteos. Madrid: Dossat, S.A.; 1960.
64. FIL-IDF. Milk and Milk Products. Determination of Fat Content: General Guidance of the Use of Butyrometric Methods, ESTÁNDAR 152 A; 1997, 1-5.
65. Romero PA, Leyva G, Cruz JG, Santos A. Evaluación de la Calidad Sanitaria de Quesos Crema Tropical Mexicano de la Región de Tonalá, Chiapas. Revista Mexicana de Ingeniería Química 2009; 8(1): 111-119.
66. Garda MR, Alvarez MS, Lattanzio MB, Ferraro C, Colombo ME. Rol de los hidrocoloides de semillas de chía y lino en la optimización de panificados libres de gluten. Ponencia presentada en el XV Congreso Latinoamericano y del Caribe de Nutricionistas Dietistas. XI Congreso Argentino de Graduados en Nutrición. 20 agosto 2012, Buenos Aires.
67. Araya Rebolledo DR. Determinación de la vida útil de arroz preparado espárrago líder elaborado por empresas TUCAPEL S.A mediante pruebas aceleradas. Tesis de título. Universidad de Chile; 2012.

68. Roberts D, Hooper W y Greenwood M. Microbiología Práctica de los Alimentos. Método Para el Examen de Microorganismos de los Alimentos de Interés para la Salud Pública. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2000.
69. Gil A. Pre elaboración y Conservación de Alimentos, Madrid: Ediciones AKAL; 2010.
<https://books.google.com.pe/books?id=APYNh0GPrY4C&pg=PA89&dq=ojos+de+quesos&hl=es&sa=X&ved=0CEEQ6AEwCGoVChMI95n42pCYyQIVBTMmCh3GIg3s#v=onepage&q=ojos%20de%20quesos&f=false> (último acceso 28 Junio 2015).
70. Freitas CA, Malcata FX. Microbiology and Biochemistry of Cheeses with Appellation d'Origine Protegée and Manufactured in the Iberian Peninsula from Ovine and Caprine milks. *Journal of Dairy Science*. 2000; 83:584-602.
71. Sociedad Española de Bromatología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. *Anales de bromatología*. Original de la Universidad de California. 1969; 21.
72. Jay J. *Modern Food Microbiology*. 6ª ed. Maryland: Aspen Publishers, Inc.; 2000.
73. Arteaga MR. Evolución de la maduración del queso chanco elaborado con adición de suero en polvo. Tesis de maestría. Universidad Austral de Chile; 2004.
74. Scott R. *Fabricación de queso*. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A; 1991.
75. Brito C, Morales O, Molina L, Pessot R y Pinto M. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo campo almacenado a altas temperaturas. Parte 1. Parámetros fisicoquímicos y pérdida de peso. *Agro Sur*. 1995; 23(2): 95 – 105.
76. Novella S, Veciana MT, Vidal M. Biogenic amines and polyamines in milks and cheeses by ion pair high performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem*. 2000; 48(11): 5117-5123.
77. Durlu F. Biogenic amine content of some Turkish cheeses. *J. Food Process. Preserv*. 2002; 26:1-3.
78. Fernández E, Tomilo 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*. 1999; 52(3):189-196.
79. Moret S, Bartolomeazzi M, Feruglio M, Lercker G. Biogenic amines in Italian cheese. *J Milk Dairy Prod*. 1992; 43(3):187-198.

80. Novella S, Veciana MT, X Roig A, Trujillo AJ, Vidal M. Evaluation of Biogenic Amines and Microbial Counts Throughout the Ripening of Goat from Pasteurized and Raw Milk. *Journal of Dairy Research*. 2004; 71(2):245-252.
81. Tunick MH, Van Hekken D J, Molina-Corral FJ, Tomasula PT, Call J, Luchansky J, et al. Cheese Chihuahua: Manufacturing Procedures Composition, Protein Profiles, and Microbiology. *International Journal of Dairy Technology*. 2008; 61:5-12.
82. Pinho O, Pintado A, Gomes A, Pintado M, Malcata F y Ferreira I. Interrelationship Among Microbiological, Physicochemical, and Biochemical Properties of Terrincho Cheese, with Emphasis on Biogenic Amines. *Journal of Food Protection*. 2004; 67(12): 2779-2785.
83. Sánchez L, Tromps J. Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Rev. Salud Anim*. 2014; 36(2): 124-129.
84. Komprda T, Burdychová R, Dohnal V, Cwíková O, Sladková P y Dvoracková H. Tyramine Production in Dutch-Type Semi-Hard Cheese from two Different Producers. *Food Microbiology*. 2008; 25(2):759-762.
85. Galgano F, Suzzi G, Favati F, Caruso M, Martuscelli M, Gardini F, et al. Biogenic Amines During Ripening in “Semicotto Caprino” Cheese: Role of Enterococci. *International Journal of Food Science and Technology*. 2001; 36(2):153-160.

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Composición del Caldo MRS DIFCO™ y preparación del agar MRS

CALDO MRS (DE MAN, ROGOSA Y SHARPE)

Composición	Concentración (g/L)
Citrato amónico	2 g
Extracto de carne de vacuno	10 g
Fosfato disódico	2 g
Glucosa	20 g
Sulfato de magnesio	0,1 g
Sulfato de manganeso	0,05
Proteosa peptona #3	10
Complejo de monooleato de sorbitán	1
Acetato de sodio	5
Extracto de levadura	5

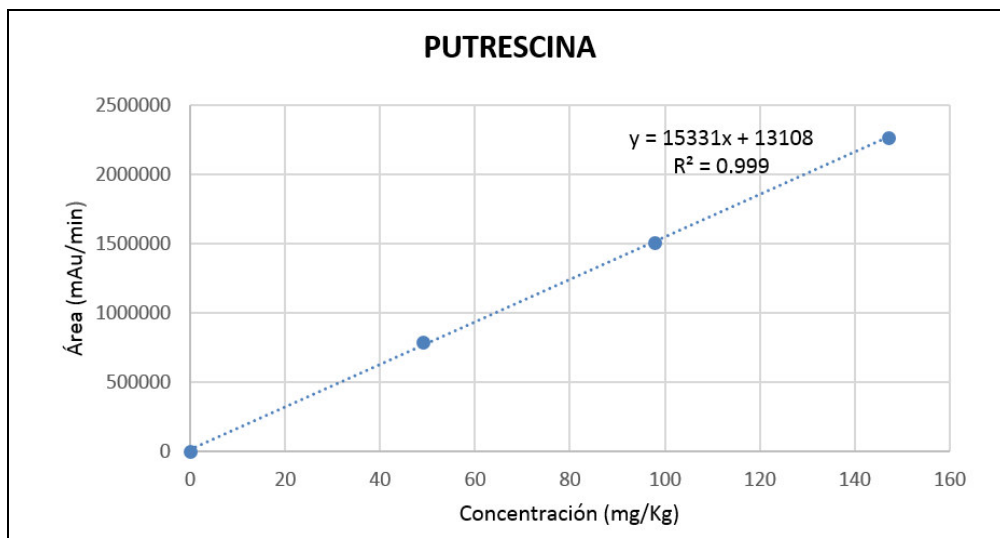
pH final: 6,5 a 25 °C

Preparación: Suspender 55 g del caldo MRS en 1 litro de agua destilada o desionizada, calentar hasta ebullición y esterilizar en autoclave.

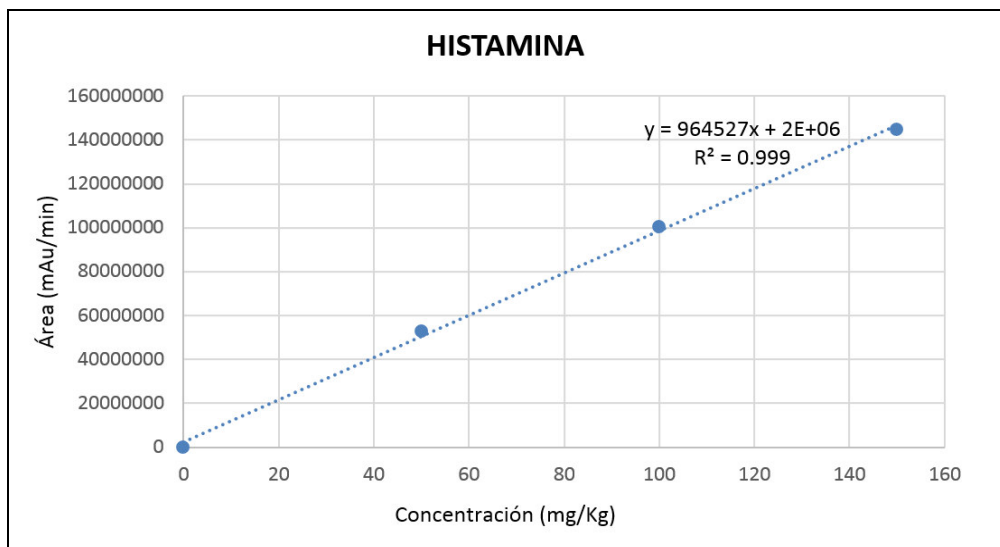
AGAR MRS

Se preparó a partir del caldo MRS con la adición de agar agar (15g/L).

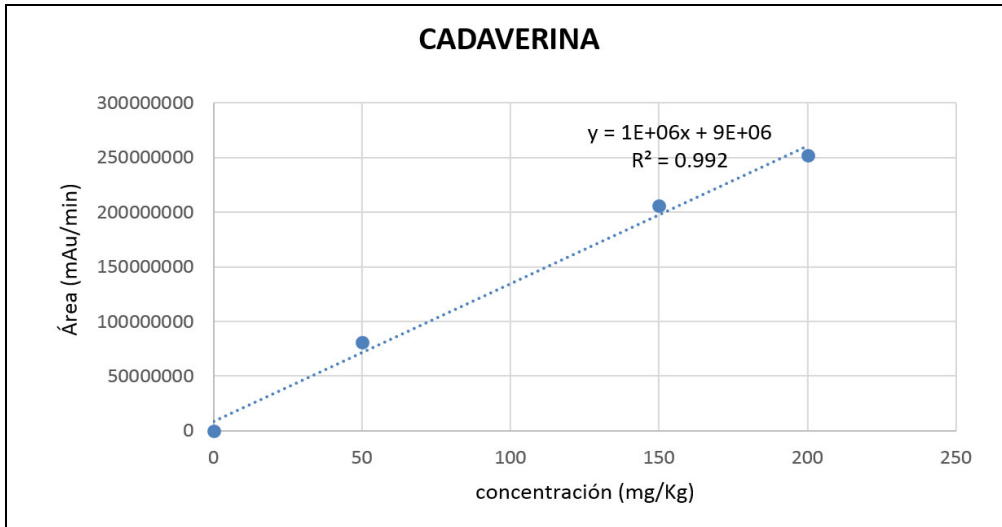
ANEXO 2. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS ESTÁNDARES DE AMINAS BIÓGENAS



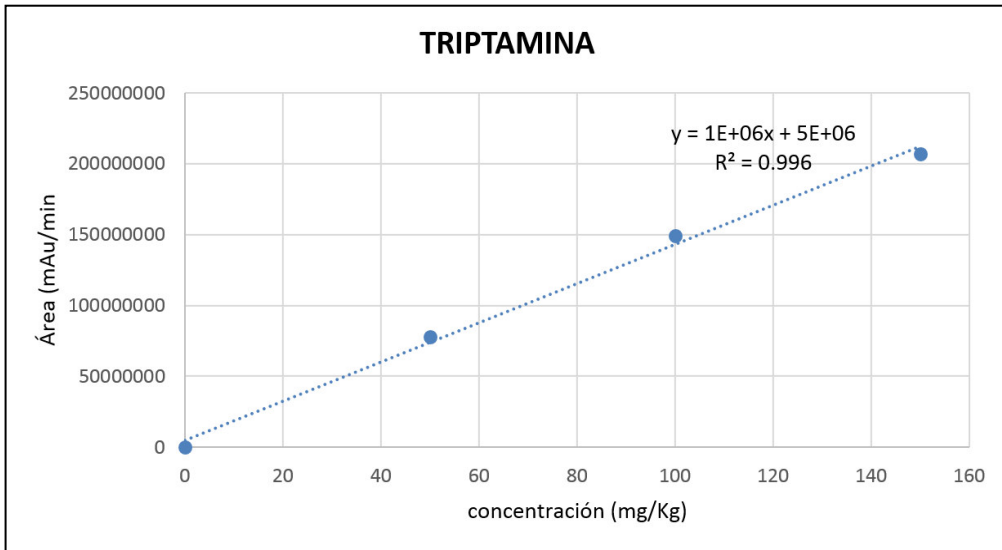
R^2 : Coeficiente de correlación



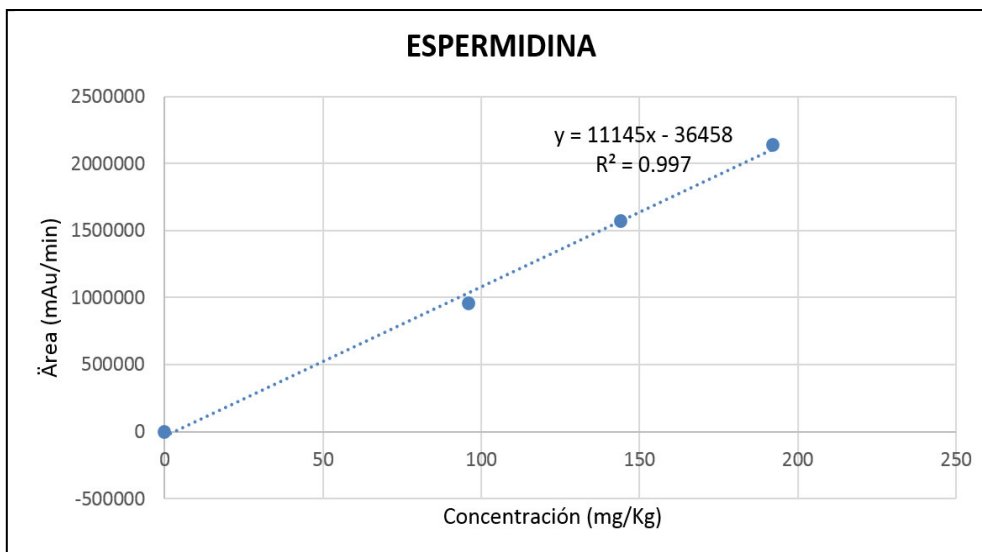
R^2 : Coeficiente de correlación



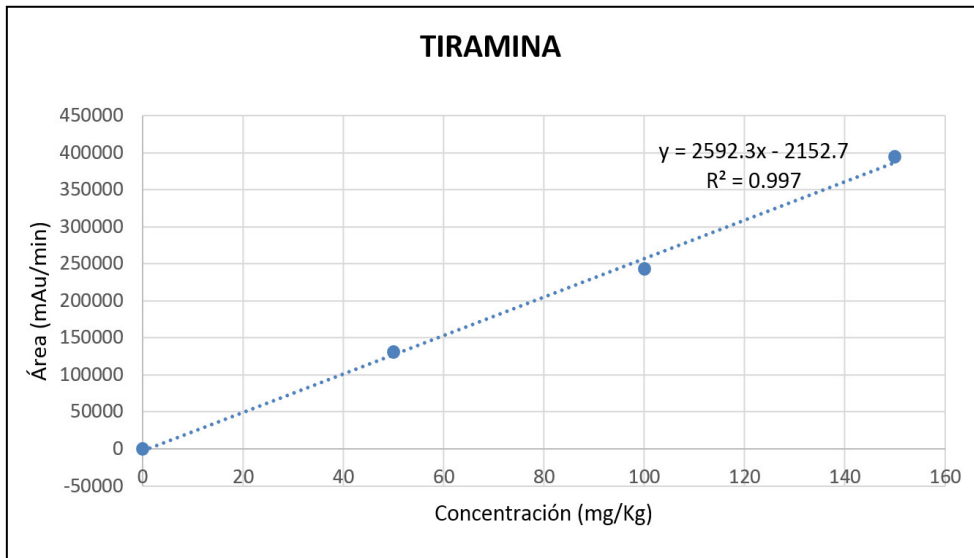
R^2 : Coeficiente de correlación



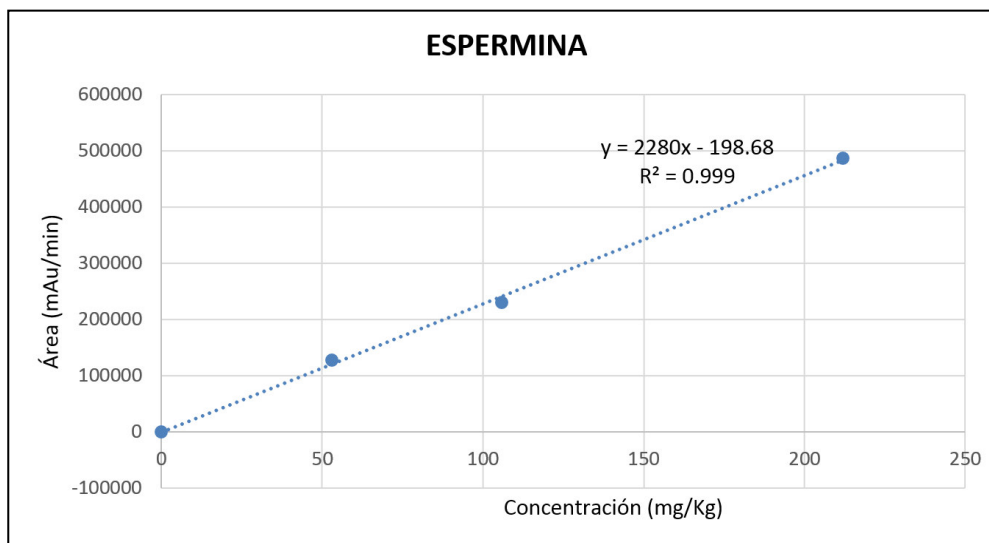
R^2 : Coeficiente de correlación



R^2 : Coeficiente de correlación



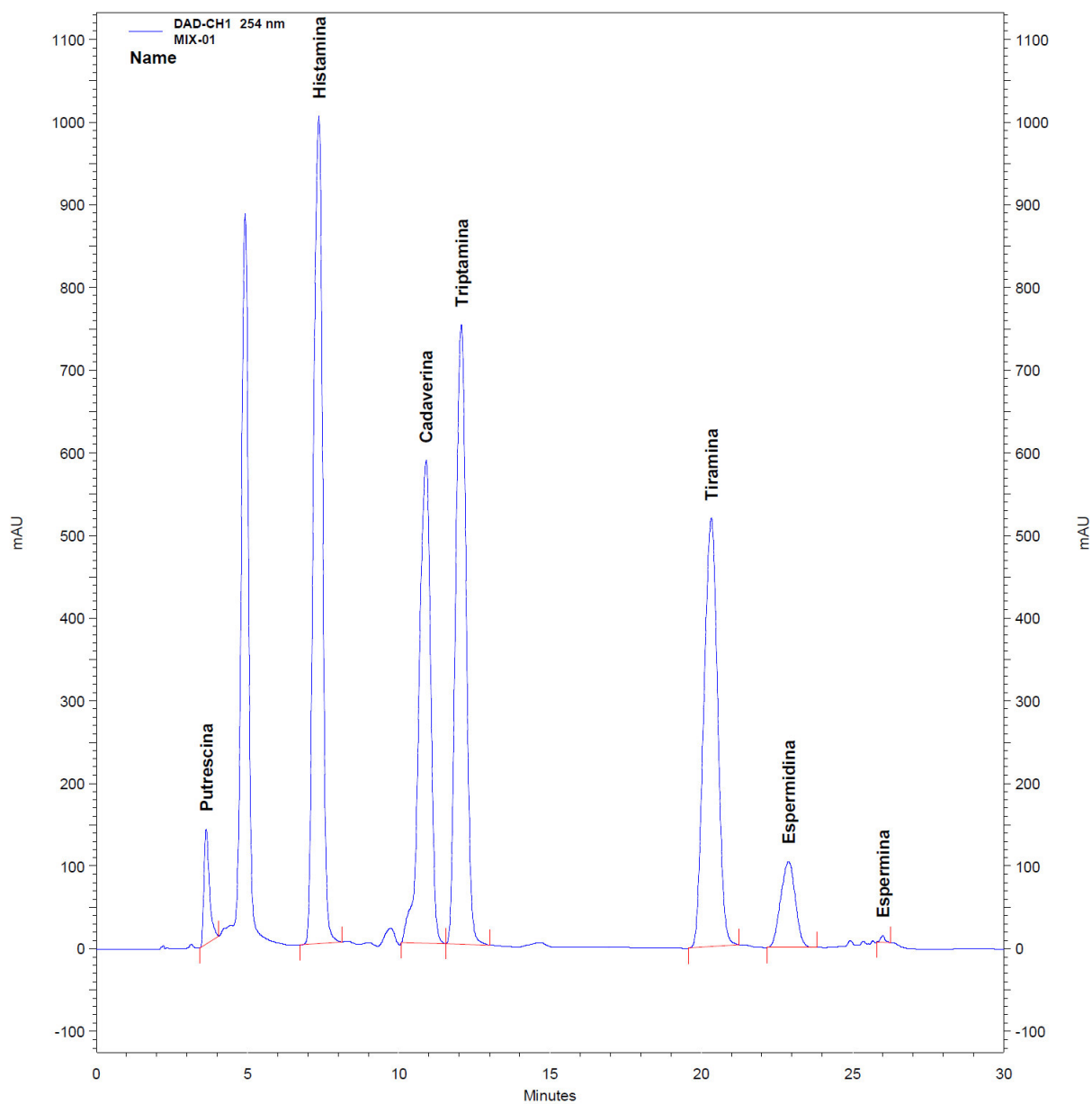
R^2 : Coeficiente de correlación



R^2 : Coeficiente de correlación

ANEXO 3. CROMATOGRAMA DE LA SOLUCIÓN STOCK DE ESTÁNDARES DE AMINAS BIÓGENAS

Metodo: C:\UNMSM\biocidas\Method\Aminas Biogenas A..met
Secuencia: C:\UNMSM\biocidas\Sequence\Aminas Biogenas -Angela.seq
Data: C:\UNMSM\biocidas\Data\Aminas Biogenas\Cal_st-Mixtura-1-Rep1-Rep1.dat



ANEXO 4. IMÁGENES DEL ESTUDIO EN QUESOS PARIA

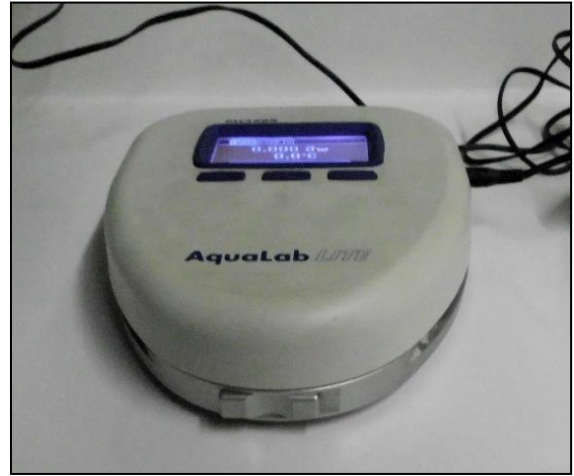
a) Imagen de un exhibidor de quesos Paria en un mercado de Arequipa:



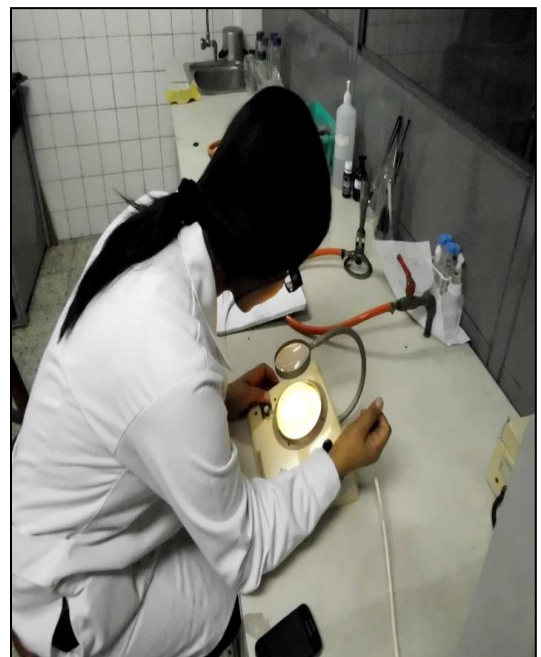
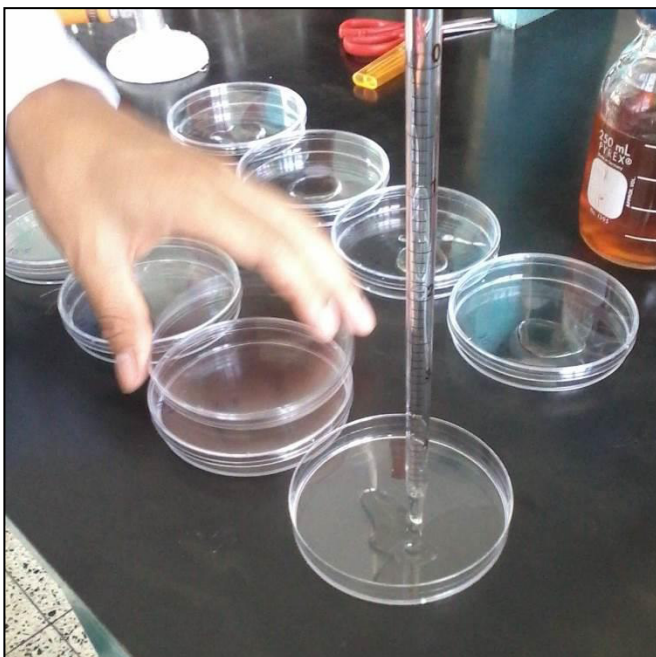
b) Imagen de la homogenización de las muestras de queso Paria para los análisis fisicoquímicos:



c) Imagen de quipos utilizados para la determinación de grasa y actividad de agua (izquierda y derecha respectivamente):



d) Imagen de recuento de bacterias ácido lácticas:



e) Imagen de equipo de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia(HPLC) con detector UV- Visible, utilizado para la determinación de aminas biógenas:

