



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a  
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

## ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

Zenbateraino eragiten diote bakterio-komunitateek esne gordineko gazten kalitateari eta kaltegabetasunari?: Idiazabal gaztaren kasua

*Gorka Santamarina García,  
Gustavo Amores Olazaguirre eta  
Mailo Virto Lekuona*

161-168 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.05.20>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



## Zenbateraino eragiten diote bakterio-komunitateek esne gordineko gazten kalitateari eta kaltegabetasunari?: Idiazabal gaztaren kasua

Gorka Santamarina-García, Gustavo Amores Olazaguirre, Mailo Virto Lekuona  
*Lactiker Ikerketa Taldea - Animalia Jatorriko Elikagaien Kalitatea eta Segurtasuna, Biokimika eta Biologia Molekularra saila, Farmazia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Unibertsitate ibilbidea 7, 01006 Vitoria-Gasteiz*  
[gorka.santamarina@ehu.eus](mailto:gorka.santamarina@ehu.eus)

### Laburpena

Esne gordineko gazten mikrobiota funtsezkotzat jotzen da, gaztaren kalitateari eta kaltegabetasunari eragiten diolako. Hala ere, informazio gutxi dago honen inguruan. Ikerketa honetan Idiazabal gaztaren bakterioen konposizioa heltzean zehar zelan aldatzen zen aztertu genuen eta horren erlazioa konposizio gordinarekin eta gantz-azido askeekin (GAA), kalitatearen eta aromaren aldetik; eta amina biogenikoekin (AB), toxikotasunaren ikuspuntutik. Heltzeak eta konposizio gordinaren bilakaerak bakterio azido-laktikoen nagusitzea faboratu zuen. Hauek GAAen askatzearekin erlazionatu ziren, eta gutxi batzuk, ABen sintesiarekin. Ingurumen-bakterioak eta bakterio ez-desiragarriak, aldiz, heltzean zehar inhibititu egin ziren. Hauek ABen degradazioarekin erlazionatu ziren eta GAAek hauen hazkuntza eragozten zutelako behatu zen.

Hitz gakoak: gazta, mikrobiota, kalitatea, kaltegabetasuna, gantz-azido askeak, amina biogenikoak

### Abstract

*The microbiota of raw milk cheeses is considered essential, since it affects the quality and safety of the cheese. However, there is little information in this regard. In this study, we analysed how the bacterial composition of Idiazabal cheese changed during ripening and its relationship with gross composition and free fatty acids (FFAs), in terms of quality and aroma; and with biogenic amines (BAs), in terms of toxicity. The ripening time and the evolution of gross composition favoured the predominance of lactic acid bacteria. These were associated with the release of FFAs, and some, with the synthesis of BAs. Environmental and non-desirable bacteria, on the other hand, were inhibited during ripening. These were related to the degradation of BAs and it was observed that FFAs inhibited their growth.*

*Keywords: cheese, microbiota, quality, safety, free fatty acids, biogenic amines*

### 1. Sarrera eta motibazioa

Gaztaren mikrobiotak, hau da, bakterio konposizioak, garrantzi handia du, gaztaren kalitatearekin eta kaltegabetasunarekin lotutako konposatuaren eraketan parte hartzen duten erreakzio biokimiko ugariaren laguntza baita (Afshari et al., 2020). Lipolisia gaztaren heltzean zaporea garatzeko prozesu garrantzitsuenetako bat da. Esnearen triglizeridoen hidrolisi entzimatikoa gisa definitzen da, ondoren gantz-azido askeak (GAA) askatu eta metatzea eragiten duena. GAAek zuzenean laguntzen dute gaztaren zaporean, baina konposatu aromatiko lurrunkorrek ekoizten dituzten ondorengo erreakzioetarako molekula aitzindari gisa ere jokatu dute. Gaztaren agente lipolitiko garrantzitsuenak esne gordinaren lipoproteina lipasa, gatzagiak duen lipasa pregastrikoa eta lipasa eta esterasa mikrobianoak dira (Thierry et al., 2017). Hala ere, oso gutxi dakigu gaztaren mikrobiota eta GAAen arteko erlazioari buruz.

Elikagaien kaltegabetasunari dagokionez, bakterio-komunitateek konposatu toxikoak ere sintetiza ditzakete gaztan, non amina biogenoak (AB) nabarmentzen diren. ABak jardura biologikoa duten pisu molekular txikiko base organiko nitrogenatu ez-lurrunkorrek dira, zeintzuk aminoazido askeen deskarboxilazio mikrobianoaren bidez sortzen diren (Spano et al., 2010). ABak ez dira kaltegarriak maila baxuetan, baina batzuek eragin toxikologikoak izan ditzakete kontzentrazio altuetan irentsi ondoren. Esnekiei eta, zehazki, gaztari dagokienez, histamina eta tiramina dira intoxikazioen eragile nagusiak. Histaminaren bidezko intoxikazioak, hipotentsio arteriala, larrazalaren narritadura edo erreakzio alergikoetan ohikoak diren larrazaleko erupzioak eragiten ditu; tiraminak, berriz, *gaztaren erreakzioa* deritzona eragiten du, hau da, migrainak, buruko minak, edo presio arteriala areagotzea. Putreszina eta kadaberina ere AB

garrantzitsuak dira, beste AB batzuen efektu toxikoa bultza dezaketelako, amina oxidasa detoxifikatzaileen inhibizioaren ondorioz; eta nitrosamina konposatu kantzerigenoen sintesiarekin lotuta daudelako (Ruiz-Capillas eta Herrero, 2019). Hartzitutako elikagaien artean, gazta ABen iturri potentzial gisa sailkatzen da, horri lotutako mikrobiotaren aktibitate handiagatik (Spano et al., 2010). Hala ere, orain arte ez da legezko mugarik ezarri ABen edukian, eta bakterioen eta ABen arteko erlazioa ez dago guztiz argi.

## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Azken urteotan hainbat lan argitaratu dira bakterio-komunitateen eta hartzitutako elikagaien kalitatearekin eta kaltegabetasunarekin lotutako konposatuen arteko harremana argitzen saiatzeko (Che et al., 2021). Hala ere, ikerketa gutxi egin dira gaztan, eta ardi-esne gordinetik eratorritako gaztei buruzko informazioa eskasa da (Cardinali et al., 2021). Izan ere, guk dakigula, azterlan bakar batek ere ez du aztertu bakterio-konposizioak heldzean izandako bilakaeraren eta konposizio gordinaren, GAAen, eta ABen bilakaeraren arteko erlazioa. Orain arte, bakterio eta konposatu jakin batzuen arteko erlazioen berri baino ez da eman, hala nola *Lactobacillus* bakterioaren eta pH-aren edo histaminaren artekoen berri (Cleide et al., 2021; Pérez Elortondo et al., 1999).

Arestian aipatutakoa kontuan hartuta, ikerketa honetan Idiazabal gaztan jarri dugu arreta. Idiazabal gazta Euskal Herriko gazta tradizional erdi gogorra edo gogorra da, latxa eta/edo karrantzar ardi arraza autoktonoen esne gordinarekin egina. Jatorrizko Deitura Babestuak arautzen du ekoizpena 1996tik (Europako Erkidegoen Aldizkari Ofiziala, 1996). Idiazabal gazta egiteko prozesua zorrotz araututa dago, eta 60 eguneko gutxieneko heldze-denbora ezartzen du (Estatuko Aldizkari Ofiziala, 1993). Hala, azterketa honen helburuak ondokoak izan dira: (1) konposizio gordina, GAAen eta ABen edukiak Idiazabal gaztaren heldze-denboran zehar nola aldatzen diren aztertzea, eta (2) aldaketa horiek bertako bakterio-komunitateekin nola erlazionatzen diren ikertzea.

## 3. Ikerketaren muina

Aurretik aipatutako helburuak betetzeko, Arabako, Bizkaiko eta Gipuzkoako Idiazabal Jatorri Deiturari atxikitako 4 gaztandegiren (A, B, C eta D) laguntza izan zen. Gaztandegi bakoitzeko bina gazta-lagin lortu ziren heldze-denboran zeharreko 6 puntutan, hain zuzen, 1, 7, 14, 30, 60 eta 120 egunetan. Guztira, 48 gazta lagin hartu ziren, eta hotzean (3-4 °C) eraman ziren laborategira analisiak egiteko, hau da, mikrobiota eta horrek konposizio gordinarekin, GAAekin eta ABekin duen erlazioa aztertzeko. Datuen analisia, R (R Core Team, 2021), SPSS (26.0 bertsioa, IBM SPSS Inc., Chicago, IL, AEB) eta SIMCA (15.0.0.4783 bertsioa, Umetrics AB, Umeå, Suedia) softwareetan egin zen.

### 3.1 Mikrobiota

Lehendabizi, Idiazabal gaztaren bakterio konposizioa aztertu zen. Horretarako, aurretik deskribatutako metodologia jarraituz (Santamarina-García et al., 2022a), gaztetatik DNA bakterianoa erauzi zen DNeasy Blood & Tissue Kit-a (Qiagen, Valentzia, CA, AEB) erabiliz. Ondoren, 16S rRNA genearen V3-V4 zonaldeak sekuentziatu ziren MiSeq ekipa batean (Illumina Inc., San Diego, CA, AEB).

Oro har, emaitzek erakutsi zuten *Lactococcus* bakterio azido-laktikoa (BAL), gazta egiterakoan kultibo abiarazle gisa gehitutakoa, nagusia zela Idiazabal gazten heldzean zehar (% 74,9ko batez besteko ugaritasunetik egun bateko gaztetan, % 74,5ekora 120 egunetako gaztetan). Hala ere, 30 edo 60 egunetatik aurrera, haren ugaritasuna murriztu egin zen, esne gordinean aurkitzen diren beste BAL autoktono batzuk nabarmentzen hasi zirelako. Zehazki, ekoizle guztien gaztetan *Lactobacillus* generoaren ugaltzea antzeman zen (% 0,0949tik egun bateko gaztetan, % 8,96ra 120 egunetako gaztetan, batez beste). Gainerako BALen hazkuntza ekoizlearen arabera izan zen. A ekoizlearen gaztetan *Leuconostoc* ugaritu zen (% 4,48tik, % 31,0ra), eta A eta D ekoizleen kasuan, *Streptococcus* eta *Enterococcus* (% 0,75etik, % 4,52ra; eta % 0,675etik, % 2,12ra, genero bakoitza hurrenez hurren). Bestalde, ingurumen-bakterio edo bakterio ez-desiragarri gehien, hau da, osasun arazoekin erlazionatutakoen ugaritasunek behera egin zuten heldzean, nahiz eta genero batzuk ugariak izan (>% 1), hots, *Obesumbacterium*, *Hafnia*, *Staphylococcus*,

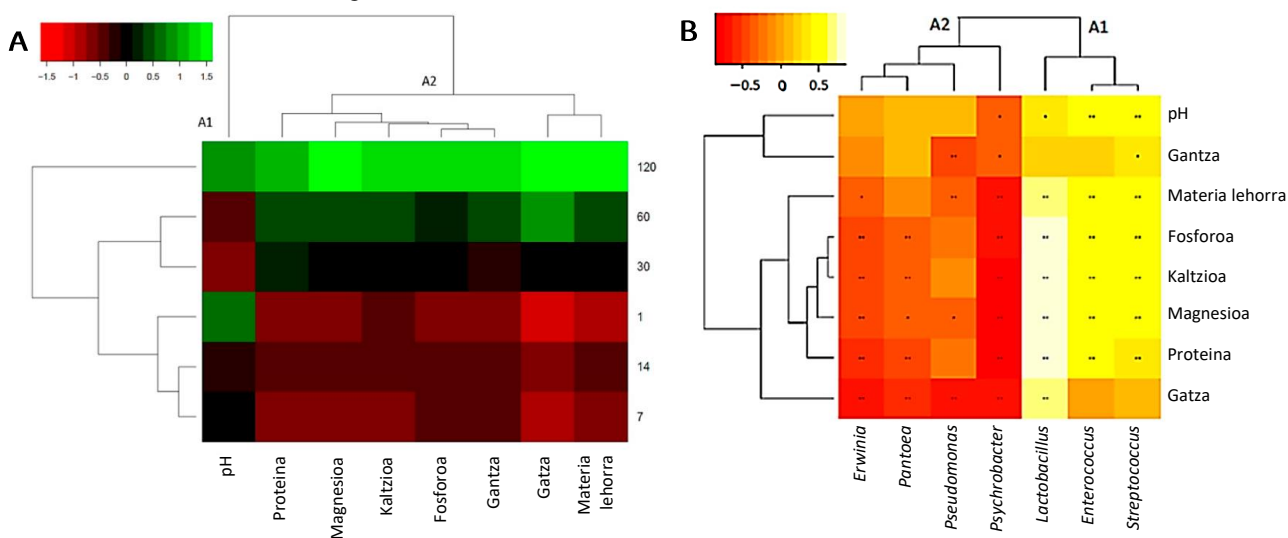
*Buttiauxella*, *Psychrobacter*, *Raoultella*, *Serratia*, *Brevibacterium* eta *Erwinia*. Zehazki, *Buttiauxellaren* ugaritasunak behera egin zuen heltze-prozesuan, *Staphylococcus*enak gora egin zuen, eta gainerakoek gora egin zuten heltze prozesuaren erdiko puntuetan (7, 14 edo 30 egunetako gaztetan), ondoren ugaritasunak behera eginez.

### 3.2 Konposizio gordina

Ondoren, gazten konposizio gordina (pH-a, materia lehorra, gantza, proteina, magnesioa, kaltzioa, fosforoa eta gatzak (NaCl)) eta bakterioekin duen erlazioa aztertu zen, aurretik deskribatu den bezala (Santamarina-García et al., 2022b). pH-a pH-metro batekin neurtu zen (mikropH 2000 modeloa, Crison Instruments SA, Bartzelona, Espainia). Materia lehorraren, gantzaren, proteinen, kaltzioaren, magnesioaren eta fosforoaren edukia, infragorri hurbileko espektrometro batekin neurtu ziren (SpectraAlyzer 2.0 FOOD, ZEUTEC GmbH, Rendsburg, Alemania). Gatz (NaCl) edukia ISO 5943 IDF 88 metodo estandarrean oinarrituta zehaztu zen, baina determinazio kolorimetrikoa erabiliz.

Orokorrean, parametro gehien balioek goranzko joera erakutsi zuten heltze-denboran zehar (**1A. irudia**, kolore gorri argietatik geroz eta kolore berde argiagotara). Hain zuzen, materia lehorrean (% 59,5eko batez besteko ugaritasunetik egun bateko gaztetan, % 65,6kora 120 egunetako gaztetan), gantzaren (%31,7tik, % 35,8ra), proteinetan (% 21,6tik, % 24,3ra), kaltzioan (5250 mg/L-tik, 6632 mg/L-ra), magnesioan (330 mg/L-tik, 440 mg/L-ra), fosforoan (436 mg/L-tik 544 mg/L-ra) eta gatzaren edukian (% 0,625tik, % 2,18ra) ( $P \leq 0,01$ ). Aldiz, pH-ak joera ezberdina aurkeztu zuen, balio baxuenak 30 egunetan lortuz ( $4,91 \pm 0,14$ ), eta, ondoren, 120 egunetara arte, gora eginez eta hasierako balioak berreskuratuz ( $5,11 \pm 0,14$ ) ( $P \leq 0,05$ ). Emaitza hauek bat datoz Idiazabal gaztaren inguruan aurretik argitaratutako lanekin (Aldalur et al., 2019; Etayo et al., 2006; Pérez Elortondo et al., 1999). Hala ere, ezberdintasun nabariak existitzen dira beste ardi-esne gordineko gaztekin alderatuta (De Pasquale et al., 2019).

#### 1. irudia. Konposizio gordinaren eboluzioaren bero-mapa (A) eta bakterioekiko erlazioa (B). Korrelazio esanguratsua \*\* $P \leq 0,01$ eta \* $P \leq 0,05$ bidez adierazten dira



Gaztaren bakterioen eta konposizio gordinaren arteko erlazioa bi noranzkoko karratu partzial minimo ortogonalen (O2PLS) eta Spearmanen korrelazioen arteko analisi baten bidez aztertu zen. Horrela, zazpi bakterio-genero identifikatu ziren konposizio gordinaren bilakaerarekin lotuta zeudenak, hots, *Lactobacillus*, *Psychrobacter*, *Erwinia*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Pantoea* eta *Streptococcus* (**1B. irudia**). Bakterio horiek bi taldetan banatzen ziren: konposizio gordinaren parametroekin korrelazio positiboa izan zuten BALak (A1) eta negatiboki erlazionatu ziren ingurumen-bakterioak edo desiragarriak ez direnak (A2). BALen barruan, *Lactobacillus*ek korrelazio positibo handienak erakutsi zituen, batez ere proteinen ( $\rho = 0,842$ ), kaltzioaren ( $\rho = 0,809$ ), fosforoaren ( $\rho = 0,805$ ) eta magnesioaren edukiekin ( $\rho = 0,781$ ) ( $P \leq 0,01$ ). Bestalde, ingurune-bakterioek eta ez-desiragarriek korrelazio negatibo ugari izan zituzten. Orokorrean,

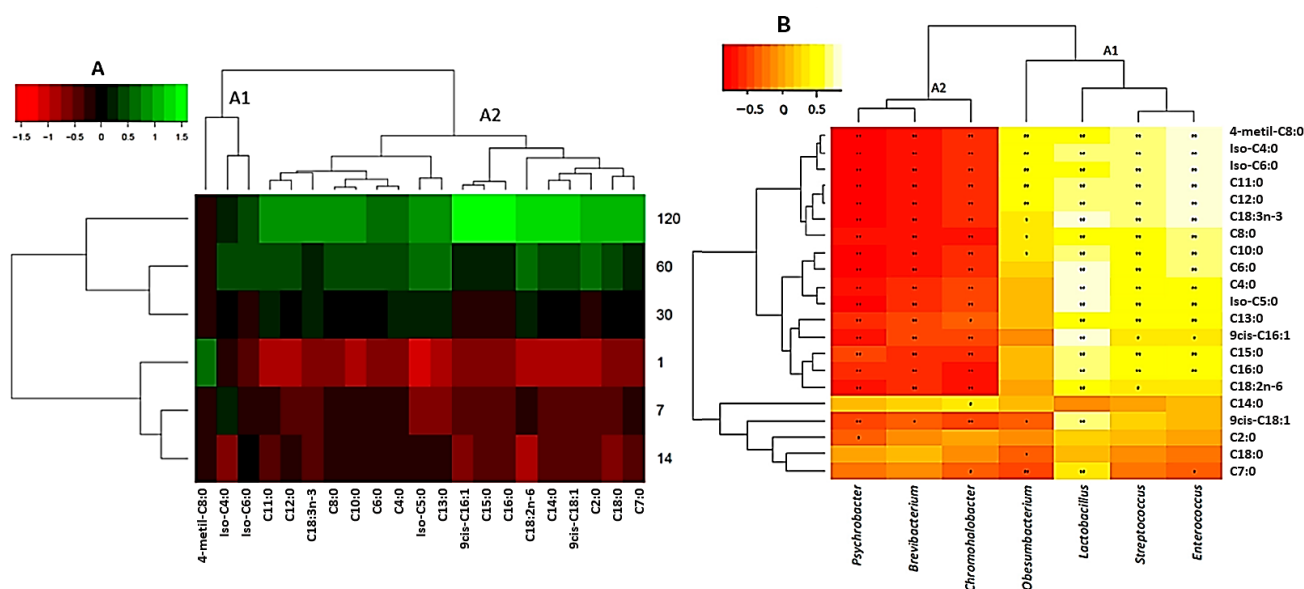
*Psychrobacter* izan zen korrelazio negatiboan erakutsi zitueneko bakterioa, batez ere, proteinen ( $\rho = -0,762$ ), kaltzioaren ( $\rho = -0,750$ ), magnesioaren ( $\rho = -0,747$ ), fosforoaren ( $\rho = -0,718$ ) eta materia lehorraren edukiekin ( $\rho = -0,705$ ) ( $P \leq 0,01$ ). Hortaz, emaitzek iradokitzen dutenez, konposizio gordinaren bilakaerak heltzean zehar BALen ugaltzea faboratzen du, eta ingurumen-bakterioen edo bakterio ez-desiragarrien hazkundera, aldiz, murriztu edo inhibitu egiten da. Emaitzak bat datoz aurretik argitaratutako beste emaitza batzuekin. Adibidez, *Suan zuo rou* haragi hartziaren kasuan, Wang et al.-ek (2021) *Lactobacillus* en eta pH-aren eta gatz edukiaren arteko korrelazio positiboa jakinarazi dute, eta pH-aren eta *Psychrobacter* bakterioaren arteko erlazio negatiboa.

### 3.3 GAAak

Mikrobiotak Idiazabal gaztaren kalitatean eta, bereziki, aroman duen eragina aztertzeo, GAAak aztertu ziren, aurretik deskribatu den moduan (Santamarina-García et al., 2022b). Hain zuzen, GAAk gas-likido kromatografia bidez identifikatu eta kuantifikatu ziren (7890 Serie II gas-kromatografoa erabiliz, sugarraren bidezko ionizazio-detekttagailua eta FFAP zutabe kapilar bat duena (25 m-ko luzera, 0,32 mm-ko barne-diametroa, 0,50  $\mu\text{m}$ -ko lodiera) (Agilent Technologies, Madril, Espainia)).

Oro har, GAAen kontzentrazioak ere handitu egin ziren heltze-denboran zehar ( $P \leq 0,01$ ) (**2A. irudia**, kolore gorri argietatik geroz eta kolore berde argiagotara). GAA totalen kontzentrazioa  $12,0 \pm 5,95 \mu\text{mol/g}$ -tik (batez beste egun bateko gaztetan)  $49,9 \pm 24,5 \mu\text{mol/g}$ -ra (120 egunetako gaztetan) aldatu zen, GAA aseak eta kate laburrekoak nagusituz. Guztira, 21 GAA identifikatu ziren, ugarienak C2:0 (20,8  $\mu\text{mol/g}$  batez beste 120 egunetako gaztetan), C4:0 (13,0  $\mu\text{mol/g}$ ), C6:0 (3,54  $\mu\text{mol/g}$ ) eta C10:0 (2,81  $\mu\text{mol/g}$ ) izanik. GAA guztien kontzentrazioak nabarmen igo ziren heltzean zehar, iso-C4:0, iso-C6:0 eta 4-metil-C8:0-renak izan ezik ( $P > 0,05$ ). Emaitzak bat datoz Idiazabal gaztaren aurreko azterketekin (Hernández et al., 2009). Hala ere, aipatu beharra dago 4-metil-C8:0, iso-C4:0 eta iso-C6:0 aurreneko aldiz identifikatu direla Idiazabal gaztan. Heltzean zehar ematen den lipolisi-prozesuan edo nagusitzen diren GAAetan ezberdintasunak daude ardi-esne gordinetik eratorritako beste gazta batzuekin alderatuz gero. Adibidez, Kope gaztan kate luzeko GAAk nagusitzen dira (Esmailzadeh et al., 2021).

## 2. irudia. GAAen eboluzioaren bero-mapa (A) eta bakterioekiko erlazioa (B). Korrelazio esanguratsuak \*\* $P \leq 0,01$ eta \* $P \leq 0,05$ bidez adierazten dira.



Mikrobiotak GAAen bilakaerarekin duen erlazioari dagokionez (**2B. irudia**), zazpi bakterio-genero identifikatu ziren erlazioan zehar zeudenak, hain zuzen, *Psychrobacter*, *Brevibacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Chromohalobacter*, *Streptococcus* eta *Obesumbacterium*. Bakterio

horiek bi taldetan banatu ziren: alde batetik, BALak eta *Obesumbacterium* ingurumen-bakterioa, zeintzuek korrelazio positiboak izan baitzituzten GAAekin; eta bestetik, GAAekin negatiboki erlazionatu ziren ingurumen-bakterio eta bakterio ez-desiragarriak. BALen barruan, korrelazio handienak *Lactobacillus* eta *Enterococcus* generoek izan zituzten. *Lactobacillusek* korrelazio indartsuenak C7:0rekin ( $\rho = 0,718$ ) eta kate ertain eta luzeko GAAekin izan zituen, esaterako, C14:0rekin ( $\rho = 0,745$ ) ( $P \leq 0,01$ ). *Enterococusek*, aldiz, korrelazio handiak izan zituen kate laburreko GAAekin, hala nola C4:0rekin ( $\rho = 0,819$ ) eta C6:0rekin ( $\rho = 0,800$ ) ( $P \leq 0,01$ ). Lipasa eta esterasa mikrobianoak, zeintzuek GAAen askapena eragiten duten, agente lipolitiko garrantzitsutzat jotzen dira gaztan (Thierry et al., 2017). Lortutako emaitzek adierazten dute *Lactobacillus*, *Enterococcus* eta neurri txikiagoan *Streptococcus* BALak, bakterio lipolitiko garrantzitsuak direla Idiazabal gaztan. Hori oso garrantzitsua da, askatutako GAA gehienek Idiazabal gaztaren aroman eragiten dutelako (Hernández et al., 2009). Ingurumen-bakterio eta bakterio ez-desiragarrien barruan, *Obesumbacteriumek* korrelazio positiboak izan zituen kate laburreko GAAekin, hala nola C4:0rekin ( $\rho = 0,534$ ) eta C6:0rekin ( $\rho = 0,502$ ) ( $P \leq 0,01$ ). Hortaz, emaitzek *Obesumbacterium* bakterioaren jardura lipolitiko interesgarria adierazten dute, orain arte deskribatu ez dena. Horrek zentzua izango luke, beste ingurumen- edo desiragarriak ez diren zenbait bakterioentzat deskribatu delako, hala nola *Pseudomonasentzat* (Ozturkoglu-Budak et al., 2016). Gainerako ingurumen-bakterioek eta bakterio ez-desiragarriek, berriz, korrelazio negatiboak izan zituzten, eta lotura negatiboenak *Psychrobacterrek* erakutsi zituen, esaterako, C4:0rekin ( $\rho = -0,759$ ) edo C6:0rekin ( $\rho = -0,765$ ) ( $P \leq 0,01$ ). GAAek espektro zabaleko agente antimikrobiano gisa jardun dezaketela iradoki da, peptido antimikrobianoekin aldera daitezkeenak (Yoon et al., 2018). Beraz, lortutako emaitzek adieraz lezakete Idiazabal gaztan GAAen askatzea bakterioen arteko lehia-inhibizio mekanismoen parte izan daitekeela. BALak izan litezke GAAak askatzeaz arduratzen diren bakterio-genero nagusiak, eta ingurumen-bakterioen eta desiragarriak ez direnen aurkako inhibizio-efektua izan dezakete.

### 3.4 ABak

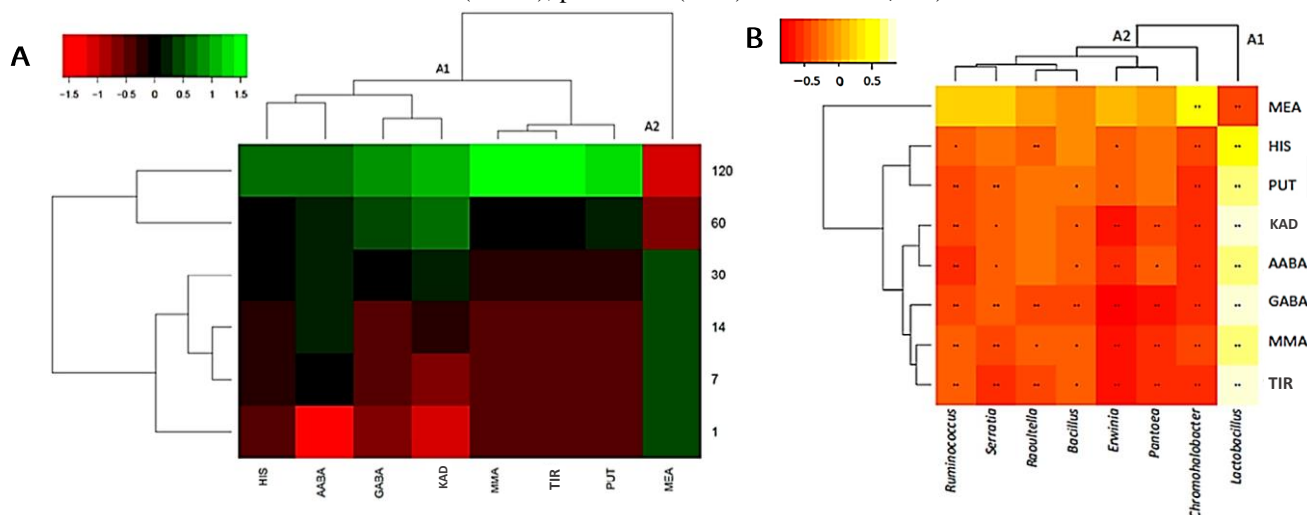
Idiazabal gaztaren ABak, aurretik deskribatutako eran analizatu ziren (Santamarina-García et al., 2022b). Alderantzizko faseko bereizmen handiko kromatografia likidoaren bidez identifikatu eta kuantifikatu ziren ABak (fluoreszentzia-detekttagailua (Waters, Bartzelona, Espainia) duen Alliance 2690 ekipo batean, XTerraTM MS C18 zutabearekin (25 Å-eko poro-tamaina, 5 µm-ko partikula-tamaina, 4,6 mm-ko barne-diametroa eta 250 mm-ko luzera)).

Guztira, 8 AB baino ez ziren detektatu heltzean zehar, zehazki, azido α-aminobutirikoa, azido γ-aminobutirikoa, kadaberina, histamina, etanolamina, metilamina, putreszina eta tiramina (**3A. irudia**). ABen kontzentrazioa, batez beste,  $4,29 \pm 0,375$  µmol/g-tik (egun bateko gaztetan),  $14,9 \pm 3,73$  µmol/g-ra (120 egunetako gaztetan) aldatu zen ( $P \leq 0,001$ ). Banakako AB gehienek kontzentrazioek gora egin zuten heltzean (A1 taldea). Ugariena metilamina izan zen ( $3,16 \pm 0,323$  µmol/g batez beste 120 egunetako gaztetan) eta ondoren, putreszina ( $2,72 \pm 1,39$  µmol/g), kadaberina ( $2,58 \pm 0,380$  µmol/g) eta azido γ-aminobutirikoa ( $2,35 \pm 1,12$  µmol/g). Emaitza hauek bat datoz, partzialki, Idiazabal gaztari (Ordóñez et al., 1997) eta ardi-esne gordinetik eratorritako beste gazta batzuei buruz argitaratutakoarekin (Tofalo et al., 2019), aldeak baitaude identifikatutako ABetan eta heltzean duten bilakaeran. Adibidez, Ordóñez et al.-ek (1997) isopentilamina eta espermidina topatu dituzte Idiazabal gaztan, ikerketa honetan detektatu ez direnak, eta Tofalo et al.-ek (2019) ez dute histamina identifikatu Pecorino di Farindola gaztan. Detektatutako AB nagusien artean, metilamina abereentzat kaltegarri gisa deskribatu da kontzentrazio handietan (Mao et al., 2017). Putreszina eta kadaberina oso ezagunak diren AB toxikoak dira. Hala ere, oro har, gaztan toxikotzat jotzen diren mugen azpitik daude (Özogul & Özogul, 2020). Azkenik, azido γ-aminobutirikoaren nagusitasuna bereziki interesgarria da osasunerako eragin onuragarri ugari dituelako, hala nola depresioan (Boonstra et al., 2015) edo minbizian (Wang et al., 2016). Nabarmentzekoa da espermidina eta espermina ez zirela detektatu, animalia, landare edo mikroorganismoek berez sortutako AB endogenoak direnak (Ruiz-Capillas & Herrero, 2019). Hortaz, gaztan topatzen zireneko ABak mikrobiotaren deskarboxilazio erreakzioen ondorio ziren.

Zortzi bakterio-genero identifikatu ziren ABen bilakaerarekin lotutako funtsezko bakterio gisa: *Lactobacillus*, *Erwinia*, *Chromohalobacter*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Ruminococcus*, *Serratia* eta *Raoultella* (**3B. irudia**). *Lactobacillus* izan zen korrelazio positibo gehien zitueneko bakterioa (A1), negatiboki erlazionatu ziren gainerakoetatik bereizita (A2). *Lactobacillusek* oso korrelazio handiak izan zituen tiraminaren ( $\rho = 0,865$ ), azido  $\gamma$ -aminobutirikoaren ( $\rho = 0,840$ ) eta kadaberinaren kontzentrazioekin ( $\rho = 0,752$ ) ( $P \leq 0,01$ ). Ingurumen-bakterio eta bakterio ez-desiragarrien artean, *Chromohalobacterrek* korrelazio positibo handia izan zuen etanolaminarekin ( $\rho = 0,625$ ) ( $P \leq 0,01$ ) eta gainerakoek korrelazio negatiboak baino ez zituzten erakutsi. *Erwinia* izan zen erlazio negatiboak erakutsi zituen, batez ere azido  $\gamma$ -aminobutirikoarekin ( $\rho = -0,768$ ), metilaminarekin ( $\rho = -0,651$ ), kadaberinarekin ( $\rho = -0,643$ ) eta tiraminarekin ( $\rho = -0,635$ ) ( $P \leq 0,01$ ). BAL abiarazleak, BAL autoktonoak eta beste mikroorganismo batzuk deskarboxilasak sintetizatzen dituzten bakterioak direla adierazi da (Tittarelli et al., 2019), eta hori, *Lactobacillus acidophilus* andui batzuetarako frogatu da (Rodríguez-Sánchez et al., 2021). Izan ere, hartzitutako beste elikagai batzuetan, *Lactobacillus* eta AB ezberdinen arteko korrelazio positiboak ere jakinarazi dira, hala nola tiramina, putreszina edo histaminarekin hautemandakoak (Zhang et al., 2021). Horrek *Lactobacillus* bakterio-generoa Idiazabal gaztaren AB-ekoizle nagusia dela baieztatuko luke. Era berean, *Chromohalobacter* bakterioaren kasuan, Jung et al.-ek (2015) jakinarazi dute korrelazio positiboa topatu dutela putreszinarekin, genero horren deskarboxilasa jardueraren alde egingo lukeena. Hala ere, ez da aurkitu etanolaminaren sintesiarekin lotutako informaziorik. Erlazio negatiboak dagokienez, gaztarentzat ez bada ere, beste produktu hartzitu batzuentzako korrelazio negatiboak ere jakinarazi dira, adibidez, *Erwiniaren* eta histaminaren artean eskabetzeko ziape tuberkuluen hartzidura espontaneoan (Zhang et al., 2021). Horrek bakterioek ABak degradatzeko duten gaitasuna adieraziko luke, nahiz eta oraingoz *Lactobacillus* eta *Bacillus* bakterioentzat soilik frogatu den (Butor et al., 2017).

### 3. irudia. ABen eboluzioaren bero-mapa (A) eta bakterioekiko erlazioa (B).

Korrelazio esanguratsuak \*\*  $P \leq 0,01$  eta \*  $P \leq 0,05$  bidez adierazten dira. Laburdurak:  $\alpha$ -aminobutirikoa (AABA), azido  $\gamma$ -aminobutirikoa (GABA), kadaberina (KAD), histamina (HIS), etanolamina (MEA), metilamina (MMA), putreszina (PUT) eta tiramina (TIR).



## 4. Ondorioak

Oro har, ondoriozta daiteke ikerketa honen bidez oso emaitza berritzaileak lortu direla. Orain arte, informazio gutxi zegoen esne gordineko gazten mikrobiotak kalitate eta segurtasun parametro ezberdinetan zein neurritan eragiten duen jakiteko. Konposizio gordinaren bilakaerak heltzean zehar bakterio-konposizioa modulatzeko duela frogatu dugu. Gainera, egiaztatu dugu mikrobiota GAAen ekoizpenarekin erlazionatuta dagoela, zeintzuek gaztaren aromari eragiten dioten, baita ABen sintesiarekin ere, gehienak toxikoak izan daitezkeenak. Era berean, hainbat erlazio negatibo ikusi dira, GAAen efektu antibakterianoa eta bakterioek ABak degradatzeko duten ahalmena adieraz ditzaketanak.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizuneko ikerketetarako, interesgarria izango litzateke gaztaren mikrobiotan eragina duten baldintzak (elaborazio-tenperaturak edo pH-ak, adibidez) edo praktikak (artaldearen elikadura) aztertzea, elikagaien kalitateari eta kaltegabetasunari dagokionez, mikrobiotarik onena hautatzeko. Gainera, interesgarria izango da mikrobiotak elikagaien kalitate- eta segurtasun-parametro gehiagorekin duen harremana aztertzea, konposatu lurrunkorrekin esaterako.

## 6. Erreferentziak

- Afshari, R., Pillidge, C. J., Read, E., Rochfort, S., Dias, D. A., Osborn, A. M., & Gill, H. (2020). New insights into cheddar cheese microbiota-metabolome relationships revealed by integrative analysis of multi-omics data. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59617-9>
- Aldalur, A., Bustamante, M. Á., & Barron, L. J. R. (2019). Effects of technological settings on yield, curd, whey, and cheese composition during the cheese-making process from raw sheep milk in small rural dairies: Emphasis on cutting and cooking conditions. *Journal of Dairy Science*, *102*(9), 7813–7825. <https://doi.org/10.3168/JDS.2019-16401>
- Boonstra, E., de Kleijn, R., Colzato, L. S., Alkemade, A., Forstmann, B. U., & Nieuwenhuis, S. (2015). Neurotransmitters as food supplements: The effects of GABA on brain and behavior. *Frontiers in Psychology*, *6*, 1520. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.01520>
- Butor, I., Pištěková, H., Purevdorj, K., Jančová, P., Buňka, F., & Buňková, L. (2017). Biogenic amines degradation by microorganisms isolated from cheese. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, *11*(1), 302–308. <https://doi.org/10.5219/736>
- Cardinali, F., Ferrocino, I., Milanović, V., Belleggia, L., Corvaglia, M. R., Garofalo, C., Foligni, R., Mannozi, C., Mozzon, M., Cocolin, L., Osimani, A., & Aquilanti, L. (2021). Microbial communities and volatile profile of Queijo de Azeitão PDO cheese, a traditional Mediterranean thistle-curdled cheese from Portugal. *Food Research International*, *147*, 110537. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110537>
- Che, H., Yu, J., Sun, J., Lu, K., & Xie, W. (2021). Bacterial composition changes and volatile compounds during the fermentation of shrimp paste: Dynamic changes of microbial communities and flavor composition. *Food Bioscience*, *43*, 101169. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101169>
- Cleide, C. O., Castro-Mejía, J. L., Krych, L., & Rattray, F. P. (2021). Histamine-forming ability of *Lentilactobacillus parabuchneri* in reduced salt Cheddar cheese. *Food Microbiology*, *98*, 103789. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2021.103789>
- De Pasquale, I., Di Cagno, R., Buchin, S., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2019). Use of autochthonous mesophilic lactic acid bacteria as starter cultures for making Pecorino Crotonese cheese: Effect on compositional, microbiological and biochemical attributes. *Food Research International*, *116*, 1344–1356. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.10.024>
- Esmailzadeh, P., Ehsani, M. R., Mizani, M., & Givianrad, M. H. (2021). Characterization of a traditional ripened cheese, Kurdish Kope: Lipolysis, lactate metabolism, the release profile of volatile compounds, and correlations with sensory characteristics. *Journal of Food Science*, *86*(8), 3303–3321. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15830>
- Etayo, I., Pérez Elortondo, F. J., Gil, P. F., Albisu, M., Virto, M., Conde, S., Rodriguez Barron, L. J., Nájera, A. I., Gómez-Hidalgo, M. E., Delgado, C., Guerra, A., & De Renobales, M. (2006). Hygienic quality, lipolysis and sensory properties of Spanish Protected Designation of Origin ewe's milk cheeses manufactured with lamb rennet paste. *Lait*, *86*(6), 415–434. <https://doi.org/10.1051/lait:2006021>
- Hernández, I., Barrón, L. J. R., Virto, M., Pérez-Elortondo, F. J., Flanagan, C., Rozas, U., Nájera, A. I., Albisu, M., Vicente, M. S., & de Renobales, M. (2009). Lipolysis, proteolysis and sensory properties of ewe's raw milk cheese (Idiazabal) made with lipase addition. *Food Chemistry*, *116*(1), 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.026>
- Jung, J. Y., Chun, B. H., & Jeon, C. O. (2015). Chromohalobacter is a causing agent for the production of organic acids and putrescine during fermentation of ganjang, a korean traditional soy sauce. *Journal of Food Science*, *80*(12), M2853–M2859. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13114>
- Mao, S., Huo, W., Liu, J., Zhang, R., & Zhu, W. (2017). In vitro effects of sodium bicarbonate buffer on rumen fermentation, levels of lipopolysaccharide and biogenic amine, and composition of rumen microbiota. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *97*(4), 1276–1285. <https://doi.org/10.1002/JSFA.7861>
- Ordóñez, A. I., Ibáñez, F. C., Torre, P., & Barcina, Y. (1997). Formation of biogenic amines in Idiazabal ewe's-milk cheese: Effect of ripening, pasteurization, and starter. *Journal of Food Protection*, *60*(11), 1371–1375. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-60.11.1371>



- Özogul, Y.; Özogul, F. (2020). Chapter 1: Biogenic Amines Formation, Toxicity, Regulations in Food. In Saad, B., Tofalo, R. (Eds.), *Food Chemistry, Function and Analysis* (pp. 1–17). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788015813-00001>
- Ozturkoglu-Budak, S., Wiebenga, A., Bron, P. A., & de Vries, R. P. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, *237*, 17–27. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.08.007>
- Pérez Elortondo, F. J., Albisu, M., & Barcina, Y. (1999). Brining time effect on physicochemical and microbiological parameters in Idiazabal cheese. *International Journal of Food Microbiology*, *49*(3), 139–149. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00068-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00068-9)
- R Core Team. (2021). *R: The R Project for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Rodríguez-Sánchez, S., Ramos, I. M., Seseña, S., Poveda, J. M., & Palop, M. L. (2021). Potential of Lactobacillus strains for health-promotion and flavouring of fermented dairy foods. *LWT*, *143*, 111102. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111102>
- Ruiz-Capillas, C., & Herrero, A. M. (2019). Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods*, *8*(2), 62. <https://doi.org/10.3390/FOODS8020062>
- Santamarina-García, G., Hernández, I., Amores, G., & Virto, M. (2022a). Characterization of Microbial Shifts during the Production and Ripening of Raw Ewe Milk-Derived Idiazabal Cheese by High-Throughput Sequencing. *Biology*, *11*(5), 769. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY11050769>
- Santamarina-García, G., Amores, G., López de Armentia, E., Hernández, I., & Virto, M. (2022b). Relationship between the Dynamics of Gross Composition, Free Fatty Acids and Biogenic Amines, and Microbial Shifts during the Ripening of Raw Ewe Milk-Derived Idiazabal Cheese. *Animals*, *12*(22), 3224. <https://doi.org/10.3390/ani12223224>
- Spano, G., Russo, P., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H., Grandvalet, C., Coton, E., Coton, M., Barnavon, L., Bach, B., Rattray, F., Bunte, A., Magni, C., Ladero, V., Alvarez, M., Fernández, M., Lopez, P., de Palencia, P. F., Corbi, A., ... Lolkema, J. S. (2010). Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, *64*(3), S95–S100. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.218>
- Thierry, A., Collins, Y. F., Mukdsi, M. C. A. McSweeney, P. L. H., & Wilkinson, M. G. Spinnler, H. E. (2017). Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese: chemistry, physics, and microbiology* (4th ed., pp. 423–444). Academic Press.
- Tittarelli, F., Perpetuini, G., Di Gianvito, P., & Tofalo, R. (2019). Biogenic amines producing and degrading bacteria: A snapshot from raw ewes' cheese. *LWT*, *101*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.11.030>
- Tofalo, R., Perpetuini, G., Battistelli, N., Pepe, A., Ianni, A., Martino, G., & Suzzi, G. (2019). Accumulation  $\gamma$ -aminobutyric acid and biogenic amines in a traditional raw milk ewe's cheese. *Foods*, *8*(9), 401. <https://doi.org/10.3390/foods8090401>
- Wang, C., Zhu, C. L., Huang, Z. J., Wang, G., Huang, Q., Liu, C. H., Xie, F., & Wang, W. (2016).  $\gamma$ -aminobutyric acid inhibits the growth of cholangiocarcinoma via cAMP/PKA signal pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, *9*(6), 9992–9998.
- Wang, H., Su, W., Mu, Y., & Zhao, C. (2021). Correlation Between Microbial Diversity and Volatile Flavor Compounds of Suan zuo rou, a Fermented Meat Product From Guizhou, China. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 3216. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.736525>
- Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N.-J. (2018). Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(4). <https://doi.org/10.3390/IJMS19041114>
- Zhang, C., Zhang, J., & Liu, D. (2021). Biochemical changes and microbial community dynamics during spontaneous fermentation of Zhacai, a traditional pickled mustard tuber from China. *International Journal of Food Microbiology*, *347*, 109199. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2021.109199>

## 7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau G. Santamarina-García garatzen ari den doktorego-tesiaren parte da eta nazioartean garrantzia duten aldizkari ezberdinetan argitaratu da, hala nola, *Biology*-n eta *Animals*-en. Egileek eskerrak eman nahi dizkiete Idiazabal JIBari atxikitako gaztagileei ikerketa honetan parte hartzeagatik, baita SGIker zerbitzuari (UPV/EHU) emandako laguntza teknikoagatik ere. Ikerketa hau burutzeko dirulaguntza Eusko Jaurlaritzak eman zuen (Gasteiz, IT944-16). Gorka Santamarina-Garcíaek eskerrak eman nahi dizkio Euskal Herriko Unibertsitateari doktorego aurreko kontratuagatik.