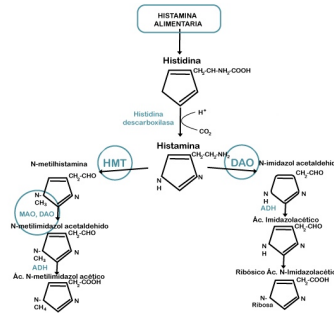


Introducción

La histamina es una amina biógena producida por la descarboxilación de la histidina, y es la principal causa de escombroidosis o intoxicación por consumo de pescado en mal estado. A través de la normativa 2073/2005, la Unión Europea regula su concentración en productos de la pesca, obligando a las industrias a garantizar alimentos aptos para su consumo. Por ello, los laboratorios de análisis precisan de métodos adecuados para la cuantificación de histamina, que permitan cumplir con la legislación vigente y eviten problemas de salud pública. El método más usado para la cuantificación de la histamina es la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), debido a su buena especificidad y sensibilidad.

Metabolismo de la histamina

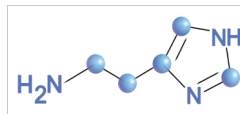
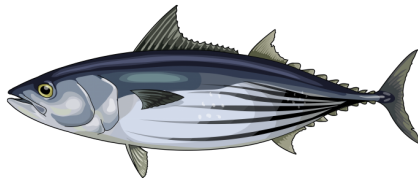


Patologías derivadas por el consumo de histamina

- Sistema nervioso central:** migraña, cefaleas
- Sistema digestivo:** dolor estomacal, diarrea
- Sistema muscular:** fibromialgia, dolores musculares
- Sistema óseo:** dolores osteopáticos
- Sistema cardiovascular:** hipertensión, arritmias
- Sistema respiratorio:** asma, congestión nasal

Objetivos

Este estudio llevado a cabo en Laboratorios Vital, ha consistido en bajar el límite de cuantificación de la recta de histamina de 25 a 10 ppm, y así poder cuantificar de forma más selectiva y más exacta la presencia de histamina en pescado después del proceso de extracción, derivatización y separación cromatográfica. De esta forma, se podría evaluar el grado de descomposición del pescado en un rango más amplio.



Criterios de aceptación

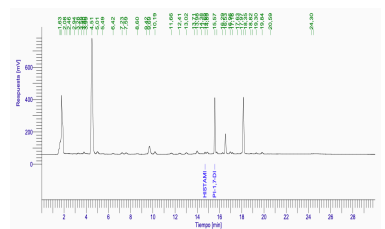
% Linealidad	% Error residual	% Recuperación
• $\geq 97\%$	<ul style="list-style-type: none"> Primer punto de la recta $\leq 15\%$ Puntos de la recta restantes $\leq 10\%$ 	<ul style="list-style-type: none"> $>60\%$ $<140\%$

Resultados

Se realizaron 3 rectas de calibrado con siete niveles de concentración (5, 10, 25, 50, 100, 250 y 500 ppm). Con los datos obtenidos se observó:

- Un porcentaje de linealidad inferior al establecido.
- Los tres primeros puntos de la recta no cumplían con el porcentaje de error residual.
- En los dos primeros niveles de concentración propuestos, no se apreciaban los picos cromatográficos correspondientes al tiempo de retención de histamina.

% Linealidad	96,55045184	IV: 97
Concentración (ppm)	% Error residual	
5	143	≥ 15
10	53	≥ 10
25	18,92	≤ 10
50	0,16	≤ 10
100	2,55	≤ 10
250	1,17	≤ 10
500	2,95	≤ 10



Metodología



Homogeneizar la muestra y pesar $5 \pm 0,1$ g

Extracción con 10 mL de ácido perclórico, agitar y centrifugar

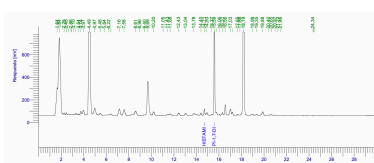
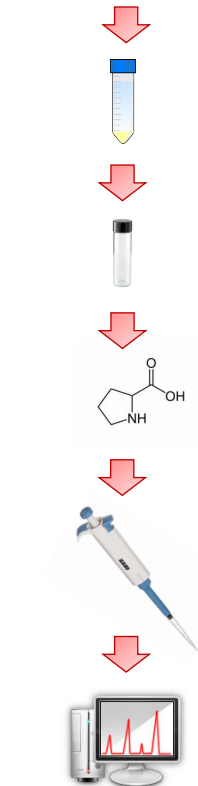
Coger 100 μ L del sobrenadante y adicionar 300 μ L de carbonato sódico, y derivatización con 400 μ L de cloruro de dansilo

Adicionar 100 μ L de L-prolina

Purificación con 500 μ L de tolueno y congelar

Evaporar la fase acuosa con el evaporador de nitrógeno. Adicionar 200 μ L de acetonitrilo

Lectura cromatográfica (HPLC)



Se procedió entonces a modificar los puntos de la recta de calibrado, y además aumentar la inyección de muestra en el HPLC, de 10 μ L a 20 μ L. En este caso se realizaron 3 rectas de calibrado con cinco niveles de concentración (10, 25, 50, 100 y 300 ppm). Una vez obtenidos los datos, se observó:

- El porcentaje de recuperación de las muestras cumplía con los criterios establecidos.
- El porcentaje de linealidad de la recta también cumplía.
- Los errores residuales de los dos primeros puntos de la recta no cumplían.

Conclusiones

- El método desarrollado, usando HPLC, no cumple con los criterios de calidad de la recta establecidos, ni con las especificaciones establecidas por la Unión Europea a través del reglamento 2073/2005 para el control de productos alimenticios. Por lo tanto, se descartó bajar el límite de cuantificación de la recta de histamina.
- En un futuro, es necesario continuar investigando otras metodologías para poder cuantificar la histamina en pescado a bajas concentraciones.

Bibliografía

Colombo, F. M., Cattaneo, P., Confalonieri, E., & Bernardi, C. (2018). Histamine food poisonings: A systematic review and meta-analysis. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(7), 1131-1151.

EU. European Union (2014). Equivalence testing of the reference method for determination of histamine mandated by Commission Regulation (EC) 2073/2005 to the Codex Alimentarius standard AOAC 977.13. Publications Office of the European Union. Administrative Arrangement N° SANCO/2011/G4/JRC32515/SI2.611754 between DG Health and Consumers (DG SANCO) and Joint Research Centre (JRC). Doi: 10.2787/93196.

Köse, S., Kakıkkaya, N., Koral, S., Tufan, B., Buruk, K. C., & Aydın, F. (2011). Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products-evaluation against an EU accepted HPLC method. *Food Chemistry*, 125(4), 1490-1497.

Munir, M. A., & Badri, K. H. (2020). The importance of derivatizing reagent in chromatography applications for biogenic amine detection in food and beverages. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2020.