

DETERMINACIÓN DE HISTAMINA EN QUESOS POR HPLC



RESUMEN

La presencia de histaminas en queso constituye un peligro para la salud de las personas. Dada la poca información al respecto, en este trabajo se propuso el objetivo de identificar y cuantificar las concentraciones de histamina en los quesos utilizando la cromatografía líquida de alta resolución, mediante la metodología propuesta por Izquierdo y modificada por Zee. En este estudio se analizaron 72 muestras de quesos en el periodo de 2016 a 2017. Se analizaron 30 variedades diferentes, los valores de histamina detectados estuvieron entre 1.67 mg/kg hasta 129.01 mg/kg, con una media de 52.38 ± 5.39 mg/kg en las muestras estudiadas en 2016 y 52.39 ± 5.40 mg/kg en 2107. Las concentraciones de histamina en las muestras de queso analizadas fueron inferiores a las concentraciones de riesgo para la salud, no obstante se recomienda ampliar este tipo de estudio dada la importancia de esta problemática en la actualidad.

INTRODUCCIÓN

El queso es un producto alimenticio básico en la dieta de la mayoría de los países del mundo. Por su elevado aporte nutritivo es considerado indispensable para complementar una adecuada alimentación, ya que posee un alto contenido de compuestos nitrogenados, grasas, calcio, fósforo y vitaminas, entre las cuales se encuentran las vitaminas A, B1, B6, B5 y ácido nicotínico⁽¹⁾. Durante los últimos años, la inocuidad ha sido uno de los temas de mayor relevancia en la industria alimentaria, debido a que los consumidores evitan la ingesta de alimentos que puedan ser dañinos para

Hernández Garcíarena¹; R. García Baluja¹; A. M. Jordán Quintáns¹; Y. Sánchez Azahares¹; M. Cardona Gálvez¹ y A. Vivar Pérez²

¹Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM). La Habana, Cuba.

²Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA). La Habana, Cuba.

su salud. Es de suma importancia un control riguroso durante el proceso de elaboración de alimentos y una mantención constante en la calidad higiénica para asegurar un producto de buena calidad e inocuo para el consumidor. Los quesos pueden estar contaminados con histamina, sustancia responsable de diversas reacciones químicas en el organismo, donde actúa como mensajero para estimular la memoria, producir contracción o relajación del músculo liso, estimular el sistema sensitivo o motor y controlar las secreciones gástricas, de esta manera, la intoxicación se manifiesta por una amplia variedad de síntomas⁽²⁾.

La intoxicación por histamina se caracteriza por un período de incubación que tiene un rango de entre unos minutos a horas y provoca síntomas que se perciben sólo durante algunas horas. Entre los síntomas aparecen efectos sobre los vasos sanguíneos y el músculo liso e incluyen dolor de cabeza, secreción nasal, taquicardia, extrasístoles, hipotensión, edema, urticaria, prurito y rubor⁽³⁾. Una de las investigaciones llevadas a cabo en conjunto con la Cátedra de Nutrición y Bromatología de la Universidad de Barcelona, concluida en mayo de 2010, demostró que el 95% de los pacientes con migraña tienen una reducida actividad de la enzima diamino-oxidasa y que existe una especial tendencia a sufrir dolores de cabeza y migrañas en base al consumo de determinados alimentos que pueden presentar varios niveles de histamina, como el queso⁽⁴⁾.

Antes se creía que el problema de salud asociado con la presencia de cantidades elevadas de histamina se daba sólo por consumo de pescado y se las denominaba intoxicaciones escombroides, porque se asociaban sobre todo con pescados de la familia Scombridae. Sin embargo, en los últimos años estudios relacionados con este tema destacan que después del pescado, el queso es el alimento más relacionado con este tipo de intoxicación⁽⁵⁾.

Debido a los pocos estudios relacionados con este tema en Cuba, centramos el objetivo de esta investigación en identificar y cuantificar las concentraciones de histamina en los quesos utilizando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal para conocer los niveles de histamina en las muestras de quesos que llegaron al Laboratorio de Micotoxinas del Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, provenientes del departamento de Registro Sanitario de Alimentos y la Sección de Inocuidad de los Alimentos durante los años 2016 y 2017. El universo fue de 72 muestras.

La cuantificación de histamina se realizó con un equipo de HPLC Shimadzu con detector de fluorescencia, un autosampler modelo SIL-20A, una bomba LC-20AB, columna de fase reversa (25 cm de longitud, x 4.5 mm de diámetro interno y un diámetro de partícula 5 µm), un detector de fluorescencia (RF-10AxI). Para el análisis de los datos fue utilizado un software cromatográfico Class VP, marca Shimadzu.



Entre los síntomas de intoxicación están dolor de cabeza, urticaria, prurito y rubor

Para la extracción de la histamina a partir de las muestras de queso se utilizó la metodología descrita por Izquierdo y col.⁽⁶⁾ modificada de la que describieron Zee y col.⁽⁷⁾. De cada queso se pesaron 10 g de muestra, luego se diluyeron en 100 ml de ácido tricloro acético al 5%. Se homogenizó con un equipo ultraturrax y se centrifugó a 4°C y 350 rpm durante 25 min. Una vez concluido este proceso se filtró el sobrenadante con papel de filtro y luego se volvió a filtrar al vacío por membranas Millipore de 0.45 micras de poro. El líquido filtrado se

CALIDAD Y TECNOLOGÍA ARGENTINA PARA LA INDUSTRIA DE PROCESO

LÍNEAS Y EQUIPOS DE PROCESO

- **Atomizador centrifugo para cámara spray**
- **Equipo para elaboración continua de dulce de leche, pulpas y mermeladas de frutas**
- **Homogeneizador de pistones**
- **Planta elaboradora de mezclas para helados**

- **CENTRIMIX**
- **MSL**
- **TURMIX**

BOMBAS Inox. Sanitarias

- **Bomba de Lóbulos**
- **Bomba Paletas Flexibles**
- **Bomba Centrífuga**
- **Bomba Tornillo-Estator**

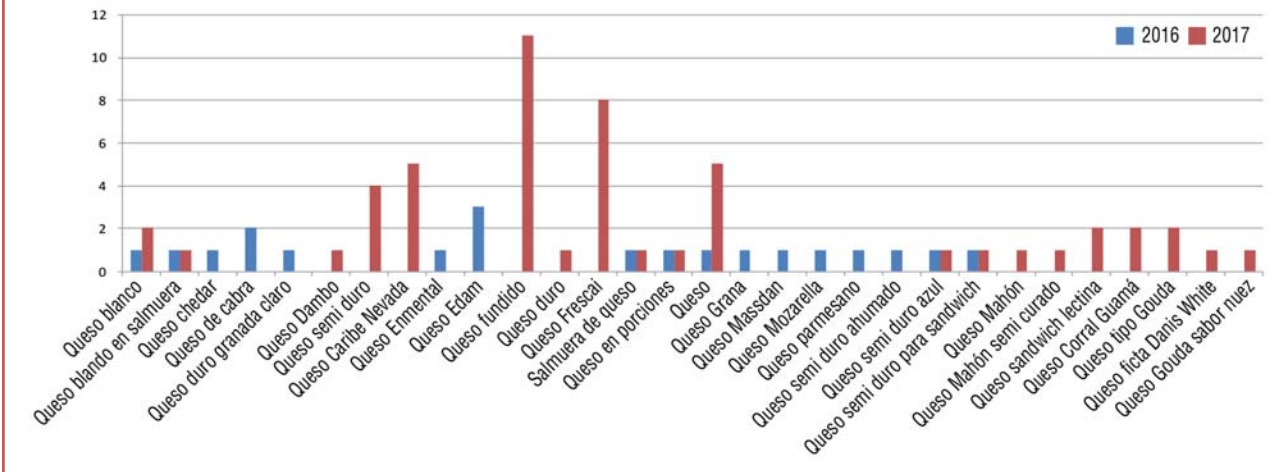
- **Homogeneizador de pistones alta presión**
- **Atomizador Centrifugo para cámara de secado spray**
- **Equipo elaborador continuo de dulce de leche, pulpas y mermeladas de frutas**
- **Planta elaboradora de mezclas para helados**
- **Lavadora de recipientes, bandejas y moldes**
- **Mezclador Sólido-Líquido inoxidable sanitario**
- **Bombas inoxidables, sanitarias**
- **Filtros y Módulos de Filtrado inox. sanitarios**
- **Accesorios inox. sanitarios**

SIMES S.A.
Santa Fe - Argentina

www.simes-sa.com.ar
Tel.: 54 - 342 - 4891080 / 4892586 / 4884662

e-mail: ventas@simes-sa.com.ar
info@simes-sa.com.ar

FIGURA 1 - Representación gráfica de las variedades de quesos por año



colocó en viales para proceder a su derivatización con ortoformaldehído (OPA)⁽⁸⁾, para luego colocarlo en el HPLC. La identificación se realizó con un estándar de histamina de 100 ppm en ácido tricloroacético (TCA) al 5%.

La corrida cromatografica se realizó bajo las siguientes condiciones: volumen de inyección 20 µl; 0,8 ml/min de flujo; tiempo de corrida 15 minutos; temperatura del horno de columna 330C; λ_{exc}= 358 nm; λ_{emisión}=447 nm, la fase móvil está compuesta por fosfato monosódico 50 mmol/L + acetonitrilo. Para el análisis de los resultados del equipo HPLC, se utilizaron pruebas estadísticas compatibles con SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se puede observar que en el año 2017 se recibieron en el laboratorio 52 muestras, casi tres veces más que en el año 2016, en que sólo se analizaron 20 muestras. Entre los dos años se analizaron 30 variedades diferentes de quesos. En 2017 predominaron cinco variedades, entre las cuales se señalan queso fundido, queso Frescal, queso semiduro y queso Granada Caribe, fundamentalmente, y en el año 2016 queso Edam y queso de cabra.

En la tabla 1 se presentan las variedades de queso analizadas durante este periodo, se distribuyeron indistintamente en unidades o lotes entre los dos años que duró este estudio, además se registraron las variedades que fueron analizadas en ambos años. También en esta tabla se presentaron los valores medios detectados de histamina en los diferentes tipos de quesos recibidos.

En la actualidad no se reportan límites oficiales para las concentraciones de aminas biógenas en productos lácteos, ya que únicamente se han establecido valores límite para histamina en pescados y productos pesqueros. La Administración de Drogas y Alimentos

(FDA, siglas en inglés) de los Estados Unidos ha establecido una concentración tolerable de histamina en pescado de 50 ppm y una concentración entre 50-200 ppm es considerada como de riesgo^(6,9). En otras publicaciones, se informa un rango de aceptabilidad que fluctúan entre los 100 y 200 mg/kg de producto^(10, 11), se consideró este rango para evaluar de alta o baja las concentraciones determinadas en quesos, teniendo en cuenta el riesgo que representa para la salud las concentraciones referidas por estas instituciones.

Las concentraciones de histamina detectadas en este estudio estuvieron por debajo de los valores estimados como de riesgo. En el total de 20 muestras analizadas en el año 2016 se obtuvo un valor medio de histamina de 52.38 ± 5.39 mg/kg, con una desviación estándar de 24.14, un valor máximo de 103.42 mg/kg y un valor mínimo de 7.21 mg/kg. En el año 2017 los resultados arrojaron valores muy similares: el valor medio que fue de 52.39± 5.40 mg/kg, con una desviación estándar de 39.00, un valor máximo de 129.01 mg/kg y un valor mínimo de 1.67 mg/kg. Se aprecia que las medias para ambos años fueron similares, con diferencia de sólo unas centésimas de punto, aunque el valor máximo en el año 2017 fue mayor que en el año 2016 y el valor mínimo fue mucho más bajo que en el 2016. Los quesos con niveles más altos de histamina fueron queso Gouda sabor nuez, queso Ficta Danis White, mozzarella y queso blanco en salmuera.

En un estudio desarrollado por Díaz García en diversas variedades de quesos (Emmental, Cabrales y Gamoneu) se obtuvieron valores de histamina que oscilaron entre 128,5 mg/kg y 4.538,2 mg/kg⁽¹²⁾, reportes de concentraciones de histamina superiores a los determinados en este estudio. El riesgo de la intoxicación por altas concentraciones de aminas biógenas, y específicamente histamina, fue informado por Taylor en 1985 con

TABLA 1 - Muestras por año y valores reportados para las variedades de quesos analizadas. INHEM, 2016-2017

Tipo de muestra	2016		2017	
	Valores de histaminas	Total de Muestras	Total de Muestras	Valores de histaminas
Queso Blanco	31.35	1	2	2.47
Queso Blando en Salmuera	7.21	1	1	92.19
Queso Cheddar	11.83	1		
Queso de Cabra	30.17	2		
Queso Duro Granada Claro	60.81	1		
Queso Dambo			1	4.81
Queso Semi Duro			4	45.85
Queso Caribe Nevada			5	58.07
Queso Enmental	13.48	1		
Queso Edam	20.17	3		
Queso Fundido			11	58.19
Queso Duro			1	67.74
Queso Frescal			8	74.48
Salmuera de queso	7.42	1	1	20.16
Queso en Porciones	20.66	1	1	6.00
Queso	41.16	1	5	31.68
Queso Grana	25.45	1		
Queso Massdan	10.91	1		
Queso Mozzarella	103.42	1		
Queso Parmesano	16.33	1		
Queso Semi Duro Ahumado	57.74	1		
Queso Semi Duro Azul	52.38	1	1	37.88
Queso Semi Duro Para Sanwish	17.88	1	1	84.52
Queso Mahón			1	6.66
Queso Mahon Semicurado			1	31.62
Queso Sandwich Lectina			2	34.32
Queso Corral Guamá			2	55.43
Queso Tipo Gouda			2	83.28
Queso Ficta Danis White			1	100.14
Queso Gouda Sabor Nuez			1	110.05

el primer reporte de esta enfermedad⁽¹³⁾, luego la ocurrencia de otros casos de intoxicaciones se dieron a conocer en Holanda e involucraron al queso Gouda. Brotes posteriores ocurrieron en Estados Unidos, donde la mayor parte de las intoxicaciones se relacionan con el consumo de queso suizo⁽¹⁴⁾.

Diversos autores han mencionado que los principales microorganismos asociados a la formación de aminas biógenas en quesos son algunas bacterias ácido lácticas starter (LAB), bacterias ácido lácticas no starter (NSLAB), *Enterobacteriaceae* y *Enterococcus*^(10,15,16). No obstante, se da a conocer que los mayores productores de aminas biógenas son bacterias estrechamente asociadas al deterioro de alimentos⁽¹⁷⁾. Con respecto a los tipos de queso en los que se determina con mayor frecuencia histamina, autores como Izquierdo y col. informan al queso parmesano, con valores por encima de los 150

ppm⁽²⁾, mientras que en este estudio no sobrepasó los 20 ppm.

Diferentes estudios realizados en queso Toma, Pecorino, Cheddar y Gouda, entre otros, muestran que las aminas biógenas de mayor presencia en quesos son tiramina, putrescina, cadaverina e histamina^(18,19,20,21).

CONCLUSIONES

Se pudo conocer que todas las variedades de queso estudiadas tenían en menor o mayor grado histamina. Las concentraciones de histamina encontradas estuvieron por debajo de los valores reportados como de riesgo para la salud y fueron inferiores a las informadas en otros países. Se recomienda continuar este tipo de estudio con más variedades de queso.

3 al 6 de junio de 2019 - 14.00 a 21.00

Centro Costa Salguero - Buenos Aires - Argentina



**NOSOTROS OFRECEMOS LA MEJOR
TECNOLOGÍA Y MATERIA PRIMA.
VOS PONÉS EL TALENTO
Y LA IMAGINACIÓN**

**FITHEP LATAM EXPOALIMENTARIA
es el punto de encuentro**

Ingreso gratuito con acreditación previa obligatoria:

www.fithep-expoalimentaria.com



Organiza



Más información: Tejedor 557 (C1424CLK) Bs. As. - Argentina
Tel./Fax: (54 11) 4922-6881/5137/3849/4885
info@publitech.com.ar - www.fithep-expoalimentaria.com

REFERENCIAS

1. Revilla A. Serie de libros y materiales educativos N° 53. Tecnología de la leche. Editorial II CA, 1982: 192-193.
2. Stratton J, Hutkins R, Taylor S. Biogenic Amines in cheese and other Fermented Foods: A Review. *J. Food Prot*, 1991; 54 (6). 460- 470
3. Burkhart A. La intolerancia a la histamina: ¿podría ser la causante de sus síntomas?. [Internet] 2017 [consultado: 11 de junio 2018]. Disponible en: <http://WWW./theceliacmd.com/2014/03/la-intolerancia-a-la-histamina-podria-ser-la-causante-de-sus-sintomas/>
4. Healthcare I. Histamina y migraña. España. [Internet] 2011. [consultado: 11 de junio 2018]. Disponible en: <http://WWW./migratest.net/histamina-y-migrana>
5. Agencia catalana de Seguridad Alimentaria. Histamina en quesos y reacciones adversas. [Internet] 2010. [consultado: 11 de junio 2018]. <http://www.gen-cat.cat/salut/acsa/html/es/dir1623/doc14827.html>
6. Izquierdo P, Allara M, Torres G, García A, Barboza y Piñero M. I. Histamina en quesos madurados: Manchego, Parmesano y de año. *Revista Científica, FCV-LUZ / Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*. 2003; 6: 431-435
7. Zee, J, Simard R, Heureux, L, Lebens, W. *Technol. Food Sci. Technol.* 1985; 18: 245 - 248
8. Gouygou J, Sinquin, C, Durand, P. High Pressure Liquid Chromatography. Determination of Histamine in Fish. *J. Food Sci.* 1987; 52 (4): 925- 927
9. Sumner S, Roche F, Taylor S. Factors Controlling Histamine Production in Swiss cheese Inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *J. Dairy Sci*, 1990; 73 (11): 3050- 3058
10. Majjala, R. and Eerola, S. Biogenic amines. In: Roginski, H.; Fuquay, J. and Fox, P. (Edits). *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Elsevier Science. London, 2003; 1pp 156 – 162
11. Mazzucco E, Gosetti F, Bobba M, Marengo E, Robtti E, 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.
12. Díaz García, M. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias productoras de histamina en queso. Universidad de Oviedo, 2012
13. Taylor S. Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. *World Health Organization. VPH/FOS/*, 1985.85 (1): 1 - 47.
14. Cogan TM. Public Health Aspects. In: Roginski, H.; Fuquay, J. y Fox, P. (Edits). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Volume 1. Elsevier Science Ltd. London. 2003:314 - 320.
15. Novella-Rodríguez S, Veciana-Nogués MT, Izquierdo-Pulido M. and Vidal-Carou, M.C. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *Journal of Food Science*, 2003; 68 (3): 750 – 755.
16. Pinho, O; Pintado, A; Gomes, A; Pintado, M; Malcata, F. and Ferreira, I. Interrelationships among microbiological, physicochemical, and biochemical properties of Terrincho cheese, with emphasis on biogenic amines. *Journal of Food Protection*, 2004, 67 (12): 2779 - 2785
17. Arlorio M, Coisson JD, Travaglia F, Capasso M, Rinaldi M, Mertelli A. Proteolysis and production of biogenic amines in Toma piemontese cheese during ripening. *Italian Journal of Food Science*, 2003; 15 (3): 395- 404.
18. Gennaro M, Gianotti V, Marengo E, Pattono D, Turi R. A chemometric investigation of the effect of the cheese-making process on content of biogenic amines in a semi-hard Italian cheese (Toma). *Food Chemistry*, 2003; 82 (4): 545 – 551.
19. Mercogliano R, De Felice A, Chirollo C, Cortesi ML. Production of vasoactive amines during the ripening of Pecorino Carmasciano cheese. *Veterinary Research Communications* 34 (suppl 1): S175 – S178, 2010
20. Schirone M, Tofalo R, Mazzone G, Corsetti A, Suzzi G. Biogenic amine content and microbiological profile of Pecorino di Farindola cheese. *Food Microbiology*, 2011; 28 (1): 128 – 136
21. Adel E, Abdel-Moamen A. Comparison of biogenic amines levels in different processed cheese varieties with regulatory specifications. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2010; 5 (2): 127 – 133.