

Determinación de cadaverina en muestras de suelos, con reactivo de Nessler

Determination of cadaverine in soil samples, with Nessler's reagent

COLCIENCIAS TIPO 1. ARTÍCULO ORIGINAL

RECIBIDO: FEBRERO 11, 2103; ACEPTADO: MARZO 12, 2103

Daniel Alberto Arteaga
danielarmo84@hotmail.com

Carlos Andrés Pérez
publica@usc.edu.co

Wilfredo Ocampo Guzmán
superatomo03@yahoo.es

Sandra P. Castro Narváez
sacastro@usc.edu.co

Universidad Santiago de Cali - Colombia

Resumen

Se determinó cuantitativamente 1,5 diaminopentano (Cadaverina) en suelos mediante espectrofotometría utilizando reactivo de Nessler. Se evaluó la linealidad de la amina biógena, así como de amoníaco e histamina como interferentes, encontrándose coeficientes de correlación superiores a 0.9900. El método analítico para cadaverina presentó un rango lineal entre 2 y 1000 ppm. La precisión del método dada en función de repetibilidad y reproducibilidad introdujo porcentajes de desviaciones relativas inferiores a 1.75% eliminando con ello dispersiones debidas a errores sistemáticos. La exactitud se realizó con efecto de matriz dopando suelos de diferentes características fisicoquímicas con estándar de cadaverina; se encontró que el pH del suelo y el contenido de materia orgánica son variables relevantes en los porcentajes de extracción. El análisis de cadaverina para la determinación de fosas comunes es factible siempre y cuando el cuerpo a exhumar se encuentre en la etapa de pudrición. Suelos con porcentajes de nitrógeno amoniacal entre 0.085 y 0.830 no generan falsos positivos.

Palabras Clave

Cadaverina; Nessler; histamina; amoníaco; fosa común.

Abstract

The compound 1,5-diaminopentane, cadaverine, was quantitatively determined in soils by the use of spectrophotometry and the Nessler reagent. The linearity of the biogenic amine was evaluated as well as the ammonia and histamine as interferences. The correlation coefficients found were higher than 0.9900. The linearity for cadaverine ranged between 2.0 and 1000 ppm. The precision of the method was evaluated as repeatability and reproducibility and gave a relative standard deviations lower than 1.75% confirming the absence of systematic errors. The accuracy was determined taking into account matrix effects: different soils were doped with known amounts of standard cadaverine. The recovery of cadaverine was determined. In this study the soil pH and the content of organic matter played a significant role in the recovery. The analysis of cadaverine in the determination of grave is feasible if the body is in the stage of decomposition. Soils with nitrogen percent between 0.085 and 0.0830 do not give false positives.

Keywords

Cadaverine; Nessler; histamine; ammonia; mass grave.

I. INTRODUCCIÓN

La cadaverina es una amina biógena que se obtiene por la descomposición del aminoácido lisina; se encuentra principalmente en la materia orgánica muerta y es responsable en parte del fuerte olor a descomposición (Schneider & Wendisch, 2011). Su biosíntesis está asociada con la proliferación de bacterias, este concepto ha llevado a la producción biotecnológica de poliaminas por bacterias (Schneider & Wendisch, 2011).

La cadaverina y otras aminas biógenas se han estudiado en diversas matrices de fisiología humana, como saliva (Cooke, Leeves, & White, 2003) y suero de pacientes con cáncer (Khuhawar, Memon, Jaipal, & Bhanger, 1999).

Estudios en alimentos han mostrado alta relevancia, principalmente por su alta toxicidad. Se reportan análisis realizados en vinos (Henríquez-Aedo, Vega, Prieto-Rodríguez, & Aranda, 2012), carne de cerdo (Curiel et al., 2011; Drabik-Markiewicz et al., 2011) y pescado (Marks-Rupp & Anderson, 2005; Fadhlouli-Zid et al., 2012) entre otros.

Los métodos analíticos más comunes para la determinación de las aminas biógenas son la cromatografía de gases (Clements, Holt, Gordon, Todd, & Baker, 2004), la cromatografía líquida (Sanchez & Ruíz-Casillas, 2012), la cromatografía micelar (Chin-Chen et al., 2013), la cromatografía con acople en espectrometría de masas (Awan, Fleet, & Thomas, 2008), y la electroforesis capilar (Oguri, Watanabe, & Abe, 1997), entre otros.

Los métodos indicados presentan excelentes alcances analíticos, como bajos límites de detección y altos rangos lineales; sin embargo, su uso no es apropiado para el análisis de posibles fosas comunes, debido a que este tipo de matriz requiere resultados *insitu* que permitan tomar decisiones rápidas y acertadas sobre el punto de excavación, en lugar de tener que esperar una respuesta demorada de laboratorios especializados.

Ante el conflicto armado que vive Colombia, en el cual tanto la guerrilla como los paramilitares han hecho uso de fosas comunes para cubrir sus acciones delictivas en contra la población civil (Pérez & Carrero, 2008), este artículo aporta al proponer un método analítico de fácil acceso, preparación, uso e interpretación con parámetros fiables de selectividad, linealidad, precisión y exactitud, en la determinación cuantitativa de la cadaverina en muestras de suelo, que pueda aplicarse a la ubicación y posterior exhumación de fosas comunes.

II. METODOLOGÍA

A. Preparación de soluciones estándar

Se prepararon soluciones patrón de cadaverina (Fluka 97%), histamina (Merck 99%) y de amoníaco (Merck 37%) de 1000 ppm; a partir de ellas se realizaron diluciones entre 500 y 2 ppm.

B. Preparación de reveladores

La solución reveladora de iodoplatinato se preparó disolviendo 2.0 ml de una solución al 5% de cloruro de platino (Merck) en 5.0000 g de yoduro de potasio (Merck) con aforo a 100 ml. El revelador de tetraiodomercurato potásico (reactivo de Nessler) se preparó mezclando las soluciones (A y B) con agitación constante por 10 minutos. (A) Se pesó 10,00 g de yoduro de mercurio (Merck) y 5,00 g de yoduro de potasio en 50 mL de agua desionizada. (B) Se pesó 20,00 g de hidróxido de potasio (Merck, 99%) en 50 mL de agua desionizada. El revelador se almacenó en frasco ámbar. Las soluciones de acetato de cobalto (Merck) y ninhidrina (Merck) de 1000 ppm se prepararon a partir de los reactivos comerciales.

C. Determinación cualitativa de los reveladores

Se estableció la respuesta visual de los cuatro reveladores cuando 3 gotas del mismo reaccionan con 1.0 ml de las tres soluciones patrón de 1000 ppm.

D. Estandarización del método analítico

1) Selección de la longitud de onda analítica

Se estableció el espectro de absorción (380 a 500 nm) del producto de reacción de 1.0 ml de solución estándar de cadaverina, histamina ó amoníaco de 200 ppm con 0.5 ml del revelador Nessler previo enrase a 10 ml con agua desionizada.

2) Parámetros estadísticos

Se estableció la linealidad con las soluciones estándar de cadaverina, histamina y amoníaco a la longitud de onda de máxima absorbancia de la amina con el reactivo de Nessler. La repetibilidad se verificó en la respuesta espectroscópica con cinco estándares de cadaverina de 150 ppm. Todos los resultados fueron realizados el mismo día, por un analista con iguales condiciones de equipos y reactivos. La reproducibilidad se realizó leyendo la respuesta espectrofotométrica del reactivo de Nessler con

cadaverina 150 ppm, en diferentes días a las mismas condiciones instrumentales por el mismo analista. La exactitud se verificó mediante el porcentaje de recuperación de una solución estándar de cadaverina en diferentes matrices de suelo previamente caracterizados en pH, conductividad y porcentajes de nitrógeno, materia orgánica, carbono y humedad. Para ello se pesaron aproximadamente 5,00 g de suelo que fueron dopados con 2 ml de soluciones estándar de cadaverina al 1 y 3%. La extracción se realizó con 10 ml de ácido perclórico 0.4M, por 30 minutos. Pasado este tiempo las muestras se filtraron a gravedad y se sometieron al revelado con el reactivo de Nessler.

E. Estudios en fosas

Se realizó estudios de cadaverina, histamina y amoníaco en suelos de una fosa humana y de pescado. El protocolo de extracción para cadaverina fue similar al utilizado en la prueba de exactitud.

1) Fosa Humana

La fosa de aproximadamente dos años de antigüedad se encontró en las inmediaciones del corregimiento de Pance y se sometió a un muestreo de suelo en forma de grilla. Una primera muestra se tomó en la parte superficial donde se encontraba la fosa, una segunda muestra a los 20 cm de profundidad, donde se encontraba el cuerpo, tres muestras al lado derecho, lado izquierdo y una última muestra en la parte inferior del cuerpo a una distancia aproximada de 10 cm.

2) Fosa de pescado

Se enterró un pescado con un peso de 1,5125 kg a una profundidad de 50 cm. Posterior a 10 días y 6 semanas de descomposición se tomaron muestras de suelo a diferentes distancias: 10 y 5 cm superior del cuerpo, en la parte central, 5 y 10 cm al lado derecho e izquierdo, 5 y 10 cm por debajo del cuerpo.

III. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A. Determinación del revelador para el análisis cualitativo de aminas biógenas

Los suelos de fosas comunes pueden contener, además de cadaverina, otras especies aminadas como amoníaco e histamina; luego la escogencia del revelador está sujeta a las posibles interferencias que se presenten. Un estudio

cualitativo, con cuatro reveladores en presencia de amoníaco, de histamina y cadaverina (Tabla 1) estima que los reveladores *yodoplatinato* y *Nessler* muestran diferencias espectrofotométricas apreciables entre estos compuestos aminados. Por otro lado, tanto el acetato de cobalto como la ninhidrina no son apropiados, pues no reaccionan selectivamente con la cadaverina, de una manera que permita obtener un resultado visual definitivo.

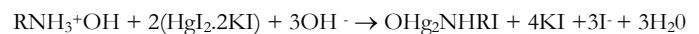
Tabla 1. Respuesta cualitativa de los reveladores

Revelador	Blanco (agua)	Amoniaco	Histamina	Cadaverina
K ₂ PtI ₄	NR	Amarillo	NR	Café
Nessler (*)	NR	Café	Amarillo	Blanco
Ninhidrina	NR	Amarillo claro	Naranja	Amarillo Intenso
Acetato de cobalto	NR	Azul	NR	Azul

NR: no Reacciona; *este reactivo forma precipitado

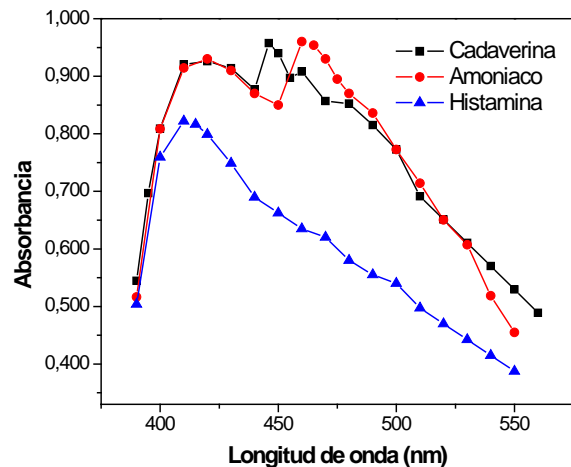
B. Parámetros espectrofotométricos para el método analítico de cadaverina

El reactivo de Nessler, yoduro mercúrico de potasio, reacciona con aminas en medio básico para formar un complejo coloreado con presencia de un precipitado que difiere en su color, dada la siguiente reacción:



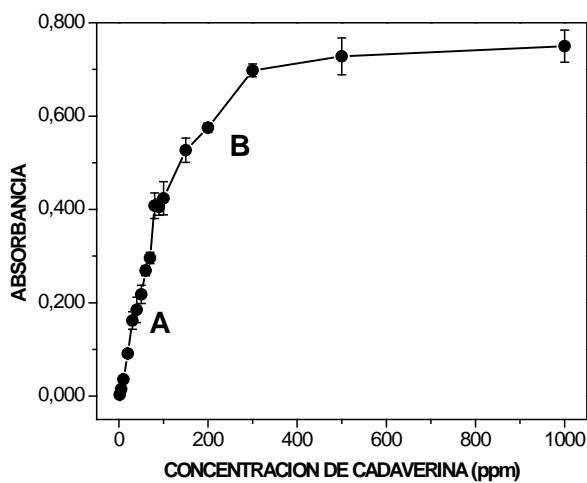
Estos resultados están acorde con los obtenidos entre el reactivo de Nessler con etilendiamina que conlleva a la formación de un complejo insoluble que en presencia de amoníaco produce coloraciones café oscuro (Demuthkaya & Kalinichenko, 2006).

Figura 1. Espectro de absorción de aminas con reactivo de Nessler



La Figura 1 muestra el espectro de absorción de la cadaverina, el amoniaco y la histamina con el reactivo de Nessler. La cadaverina experimenta una longitud de máxima absorbancia a 445 nm, mientras que el amoniaco lo hace a 460 nm. Todas las especies aminadas exhiben una banda ancha de absorción a 425 nm, banda que ha sido utilizada por métodos cromatográficos con derivatización post-columna con reactivo de Nessler para la determinación de especies con nitrógeno inorgánico (Niedzielski, Kurzyca, & Siepak, 2006).

Figura 2. Respuesta espectrofotométrica a diferentes concentraciones de cadaverina



A. Parámetros estadísticos para el análisis cuantitativo de cadaverina con reactivo de Nessler

1) Linealidad

En la respuesta espectrofotometría del complejo cadaverina-Nessler se observan dos rangos de linealidad (A y B) en concentraciones altas de 1000 a 90 ppm y concentraciones bajas de 80 a 2 ppm (Figura 2). Las linealidades se corroboran con el valor de R² de 0.9917 y 0.9970 respectivamente.

La Tabla 2 muestra los resultados de las pruebas de linealidad para la cadaverina, amoniaco e histamina con el reactivo de Nessler.

El valor de R² se sometió a un análisis estadístico de t student con respecto a R² igual a 1, para un nivel de confianza del 95% (p=0.05). Dado que los valores obtenidos (tR²) son mayores al t teórico (2,31) se establece que existe correlación entre los valores de la absorbancia y la concentración de cadaverina, amoniaco e histamina y se

acepta la pendiente de la línea de calibración para las tres especies.

El amoniaco presenta respuestas lineales entre 10 y 200 ppm, mientras que la histamina sólo lo hace a concentraciones bajas entre 4 y 30 ppm.

Tabla 2. Resultados estadísticos de la prueba de linealidad

	Cadaverina		Amoniaco	Histamina
	Rango bajo (A)	Rango alto (B)		
Rango (ppm)	2-80	90-1000	10-200	4-30
R ²	0.9970	0.9917	0.9973	0.9924
B	4.44 x10 ⁻³	9.55x10 ⁻⁴	0.0105	0.069
A	0.0037	0.2986	0.039	0.087
SS _b	1.109x10 ⁻⁴	2.354 x 10 ⁻⁴	3.432x10 ⁻⁴	3.487x10 ⁻⁴
SS _a	1.077x10 ⁻³	2.082x10 ⁻²	6.616x10 ⁻³	8.962x10 ⁻³
t _R ²	40.0898	25.7176	30.5450	19.7847
LC _b	4.44x10 ⁻³ ± 9.06x10 ⁻⁵	9.55 x10 ⁻⁴ ± 2.10 x 10 ⁻⁴	0.039 ± 0.0059	8.70x10 ⁻³ ± 1.03x10 ⁻³
LC _a	0.0037 ± 8.8x10 ⁻⁴	0.2986 ± 0.0186	0.0105 ± 3.0x10 ⁻⁴	6.90x10 ⁻³ ± 4.0x10 ⁻⁴

SS_b desviación estándar a la pendiente; LC_b limite confianza a la pendiente
 SS_a desviación estándar al intercepto; LC_a limite confianza al intercepto
 t_R² constante de student experimental para el coeficiente de correlación (R²) al 95% (t teórico = 2.31)

2) Precisión

El valor obtenido en el análisis repetitivo (ver Tabla 3) de los tres analitos presentó un porcentaje de desviación estándar relativa (%DSR) de 1,75% para la cadaverina, 0,46% para el amoniaco, y 0,05% para la histamina.

Tabla 3. Resultados obtenidos - pruebas de repetibilidad para revelador de Nessler

	Cadaverina	Histamina	Amoniaco
Promedio (ppm)	505.0	49.8	80.4
Desviación	8.86	0.279	0.370
% DSR	1.75	0.05	0.46
LC al 95%	505.0 ± 11.0	49.8 ± 0.3	80.4 ± 0.5

t para 4 grados de libertad y 95% confianza = 2.78
 Valores teóricos: cadaverina 500,0 ppm; Histamina 50,0 ppm; Amoniaco 80,0 ppm

Tabla 4. Resultados obtenidos - pruebas de reproducibilidad para revelador de Nessler

Día	Cadaverina	Histamina	Amoniaco
1	499.67	50.15	81.54
2	503.25	50.35	81.96
3	497.80	49.25	81.85
4	501.99	49.08	81.45
5	497.17	48.62	80.88
Promedio (ppm)	499.98	49.49	81.54
Desviación	2.62	0.74	0.42
% DSR	0.52	1.48	0.52

t para 4 grados de libertad y 95% confianza = 2.78
 Valores teóricos: cadaverina 500,0 ppm; histamina 50,0 ppm; amoniaco 80,0 ppm.

Los resultados de reproducibilidad (Tabla 4) muestran confiabilidad del método con respecto a los valores de un estándar sin efecto de matriz. Los residuos para cadaverina, amoníaco e histamina exhiben una distribución aleatoria con respecto al valor real; lo anterior indica que los efectos sistemáticos no prevalecen con respecto a la distribución normal de las medidas. Es de anotar que la cadaverina muestra una mejor distribución.

De lo anterior se puede decir que la precisión del sistema utilizando reactivo de Nessler como revelador fotométrico es mejor para la histamina, seguido por el amoníaco y finalmente para la cadaverina. Es de anotar que todos los % DSR son inferiores al 2%, dato máximo permitido por los criterios de evaluación analítica.

3) Exactitud

La Tabla 5 muestra la exactitud del método para cadaverina con reactivo de Nessler en función del porcentaje de recuperación en siete tipos de suelos con características fisicoquímicas diversas. Todos los suelos presentan un porcentaje normal de nitrógeno, lo que permite considerarlos fértiles; el suelo 7 presenta el mayor porcentaje, y el 4 el menor porcentaje. El suelo 5 tiene un mayor porcentaje de humedad, mientras que el suelo 2 puede clasificarse como extremadamente seco. El porcentaje de materia orgánica es alta en el suelo 7. Todos los suelos son ácidos excepto el 2 que se puede considerar neutro. El suelo con mayor número de electrolitos es el 6, evidente en su mayor conductividad.

Tabla 5. Resultados de pruebas de extracción de cadaverina en diferentes tipos de suelos

Suelo	% N	% Humedad	% Carbono	% M.O	pH	Conductividad mS/cm	% Extracción	
							Ensayo 1	Ensayo 2
1	0.186	2.380	1.326	2.286	5.37	0.316	83.429	77.539
2	0.207	0.922	0.092	0.158	6.99	0.297	91.011	85.072
3	0.332	1.505	2.828	4.875	6.72	0.370	54.840	72.013
4	0.085	2.321	2.080	3.586	4.80	0.155	139.584	145.994
5	0.145	13.21	2.800	4.827	5.06	0.095	141.885	193.011
6	0.249	24.94	2.680	4.621	5.82	1.986	51.921	41.421
7	0.830	39.35	6.600	11.380	4.42	0.120	107.123	132.832

Ensayo 1: Dopaje con 2 mL de cadaverina al 3% v/v. Ensayo 2: dopaje con 2 mL de cadaverina al 1% Extracción con 10 mL Acido Perclórico 0.4M: 0.5 mL reactivo Nessler, lectura a $\lambda=450$ nm

Los suelos muy ácidos (pH inferior a 5.1) como los número 4, 5 y 7, presentan extracciones superiores al 100%, lo cual indica que el pH del suelo es predominante en el proceso extracción. Estudios previos muestran que las diaminas protonadas pueden formar complejos con aniones como sulfato, fosfato o cloruros con constantes muy altas (De Robertis, De Stefano, Gianguzza, & Sammartano, 1998) que permiten extracciones mayores de la cadaverina. El suelo 7, a pesar de tener un pH ácido (4.42), no tiene valores de extracción extremadamente altos, comparado con el suelo 3; esto puede ser debido a su alto porcentaje de materia orgánica que le permite adsorber la cadaverina formando polianiones, complejos fuertemente estables, dado que la amina esta protonada (De-Stefano, Gianguzza, Maniaci, Piazzese, & Sammartano, 1998). Los suelos 3 y 6 exhiben extracciones menores al 55%, que están de la mano con la hipótesis del efecto del pH y de la materia orgánica, dado que ambos presentan pH superior a 5.8 y materia orgánica superior a 4.0%. Cuando los suelos son dopados con menor cantidad de cadaverina muestran, en general, menores porcentajes de extracción, exceptuando aquellos con pH inferior a 5.1.

B. Análisis de pruebas de campo

1) Fosa con restos humanos

La Figura 3 muestra que la fosa está caracterizada principalmente por osamenta, no se aprecian vestigios de lixiviados o material en pudrición.

Figura 3. Fosa con restos humanos objeto de análisis



Al realizar la exhumación no se perciben olores que den indicio de putrefacción, lo que indica que el tiempo de descomposición ya había transcurrido.

Después de hacer estudios de extracción se obtuvo un resultado negativo con el reactivo de Nessler, ya que las absorbancias fueron semejantes al blanco para cada una de las muestras tomadas en la fosa.

2) Fosa con restos de pescado

La exhumación del pescado presentó material en descomposición (Figura 4), consistente en materiales blandos que expedían olores nauseabundos característicos del proceso de putrefacción; el suelo presentó un color más oscuro en los alrededores del pescado.

Figura 4. Exhumación de fosa del pescado



Las respuestas analíticas para cadaverina y amoniaco después de diez y cincuenta días de descomposición se reportan en la Tabla 6. La extracción con ácido perclórico, al cabo de los diez días de descomposición, mostró resultados positivos con el reactivo de Nessler para la presencia de compuestos aminados. Después de 50 días de descomposición se evidencian una menor cantidad de contenidos aminados y una disminución en su coloración con turbidez y color característico de la presencia de cadaverina.

Tabla 6. Resultados de la extracción de cadaverina y amoniaco en fosa de pescado

Distancia al pescado (cm)	10 días		50 días	
	Amoniaco	Cadaverina	Amoniaco	Cadaverina
10 superior	----	----	----	----
5 superior	----	----	----	----
0 media	203.43	10,12	4,00	335.71
5 izquierda	----	----	----	329,42
10 izquierda	----	----	----	----
5 derecha	144.86	7,46	4,48	318,95
10 derecha	111.52	----	3,23	310,12
5 inferior	----	----	----	326,28
10 inferior	----	----	----	294,17

Resultados de cadaverina y amoniaco dados en ppm. Suelo con 30,4% humedad, 0,65% N, 3,5% M.O. pH 6,3. Conductividad 0,436 mS/cm

Durante el proceso de descomposición se espera que gases como el dióxido de carbono, el metano, el sulfuro de hidrógeno, el amoniaco, la cadaverina y la putrescina, entre otros, difundan hacia arriba de los restos (Dent, Forbes, & Stuart, 2004), un aspecto no evidenciado al no obtener resultados positivos en la parte superior de la fosa; la alta humedad del suelo favorece la formación de lixiviados en lugar de la generación de gases volátiles.

En condiciones acidas, como se caracteriza el suelo objeto de estudio, el amoniaco se convierte en iones amonio que son fácilmente incorporados por los microorganismos para la biosíntesis de compuestos orgánicos aminados (Dent et al., 2004); experimentalmente se encontró concordancia con ello, dada la disminución drástica del amoniaco (203,43 a 4,00 ppm) y el incremento de la cadaverina (10,12 a 335,71 ppm) entre los días 10 y 50.

El contenido de cadaverina en la fosa a 10 días (10,12 ppm) es congruente a estudios previos donde a 12 días de almacenamiento a condiciones ambientales aeróbicas se obtuvo en la matriz del pescado 49,91 ppm (Sanchez, 2012); es de anotar que la cadaverina en suelo sufrió lixiviación a exteriores de la fosa (5 cm) cercana a 7 ppm. La inclinación del suelo puede generar lixiviaciones en suelo que puede generar desplazamientos en la ubicación de la fosa común.

IV. CONCLUSIONES

Se puede determinar cualitativamente cadaverina utilizando reactivo de Nessler como revelador. Mediante estudios espectrofotométricos es posible determinar cuantitativamente cadaverina en concentraciones entre 2 y 1000 ppm con el reactivo de Nessler con un bajo porcentaje de desviación estándar relativa, inferior al 1,75%.

El método de extracción de cadaverina en suelos con ácido perclórico es aceptable pero se ve influenciado por las propiedades fisicoquímicas del suelo, principalmente el pH y el contenido de materia orgánica. Se obtienen valores superiores para suelos ácidos y menores para suelos ricos en materia orgánica.

La determinación de aminas biógenas en suelos con el reactivo de Nessler para determinar fosas comunes sólo es aplicable cualitativamente cuando se tienen fosas con material en estado de descomposición, fosas comunes con tiempos altos de antigüedad podrían generar falsos

negativos. La inclinación del terreno puede generar corrimientos a la ubicación de la fosa común y son criterios a tener en cuenta en el momento de la exhumación. Porcentajes de nitrógeno en suelo entre 0.085 y 0.830 no generan falsos positivos en el análisis cualitativo de aminas biógenas con el reactivo de Nessler.

V. REFERENCIAS

- Awan, A., Fleet, I., Thomas, P. (2008). Determination of biogenic diamines with a vaporisation derivatisation approach using solid-phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 111(2), 462–468
- Chin-Chen, M., Carda-Broch, S., Peris-Vicente, J., Rambla-Alegre, M., Esteve-Romero, J., & Marco-Peiró, S. (2013). Evaluation of biogenic amines in fish sauce by derivatization with 3,5-dinitrobenzoyl chloride and micellar liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(1) 32–36
- Clements, R., Holt, A., Gordon, E.S., Todd, K.G., & Baker, J.B. Determination of rat hepatic polyamines by electron-capture gas chromatography. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 50(1), 35-39
- Cooke, M., Leeves, N., & White, C. (2003). Time profile of putrescine, cadaverine, indole and skatole in human saliva. *Archives of Oral Biology*, 48(4), 323-327
- Curiel, J.A., Ruiz-Capillas, C., de Las Rivas, B., Carrascosa, A.V., Jiménez-Colmenero, F., & Muñoz, R. (2011). Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and enterobacteria isolated from fresh pork sausages packaged in different atmospheres and kept under refrigeration. *Meat Science*, 88(3), 368-373
- De Robertis, A., De Stefano, C., Gianguzza, A., Sammartano, S. (1998). Binding of polyanions by biogenic amines. I. Formation and stability of protonated putrescine and cadaverine complexes with inorganic anions. *Talanta*, 46(1), 1085-1093
- De Stefano, C., Gianguzza, A., Maniaci, R., Piazzese, D., & Sammartano, S. (1998). Binding of polyanions by biogenic amines. II. Formation and stability of protonated putrescine and cadaverine complexes with carboxylic ligands. *Talanta*, 46(5), 1079-1084
- Demuthkaya, L. & Kalinichenko, I. (2006). Interaction of Aliphatic Polyamines with Nessler Reagent. *Journal of Analytical Chemistry*, 61(11), 1063-1066
- Dent, B., Forbes, S., & Stuart, B. (2004). Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology*, 45, 576–585
- Drabik-Markiewicz, G., Dejaegher, B., De Mey, E., Kowalska, T., Paelinck, H., Vander Heydene, Y. (2011). Influence of putrescine, cadaverine, spermidine or spermine on the formation of N-nitrosamine in heated cured pork meat. *Food Chemistry*, 126(4), 1539–1545
- Fadhlaoui-Zid, K., Curiel, J., Landeta, G., Fattouch, S., Reverón, I., de las Rivas, B., Sadok, S., & Muñoz, R. (2012). Biogenic amine production by bacteria isolated from ice-preserved sardine and mackerel. *Food Control*, 25(1), 89-95
- Henríquez-Aedo, K., Vega, M., Prieto-Rodríguez, S., & Aranda, M. (2012). Evaluation of biogenic amines content in Chilean reserve varietal wines. *Food and Chemical Toxicology*, 50(8), 2742-2750
- Kuhawar, M.Y., Memon, A.A., Jaipal, P.D., & Bhangar, M.I. (1999). Capillary gas chromatographic determination of putrescine and cadaverine in serum of cancer patients using trifluoroacetylacetone as derivatizing reagent. *Journal of Chromatography B*, 723(1-2), 17-24
- Marks-Rupp, H.S. & Anderson, C.R. (2005). Determination of putrescine and cadaverine in seafood (finfish and shellfish) by liquid chromatography using pyrene excimer fluorescence. *Journal of Chromatography A*, 1094(1-2), 60-69
- Niedzielski, P., Kurzyca, I., & Siepak, J. (2006). A new tool for inorganic nitrogen speciation study: Simultaneous determination of ammonium ion, nitrite and nitrate by ion chromatography with post-column ammonium derivatization by Nessler reagent and diode-array detection in rain water samples. *Analytica Chimica Acta*, 577(2), 220-224
- Oguri, S., Watanabe, S., & Abe, S. (1997). Determination of histamine and some other amines by highperformance capillary electrophoresis with on-line mode in-capillary derivatization. *Journal of Chromatography A*, 790(1-2), 177–183

- Pérez, M. & Carrero, S. (2008). Hallazgo de fosas comunes en Colombia. El tiempo de las víctimas: tributo a la memoria del dolor y posibilidad de reconciliación nacional. *Revista Criminalidad*, 50(1), 351-369
- Sanchez, J. & Ruíz-Casillas, C. (2012). Application of the simplex method for optimization of chromatographic analysis of biogenic amines in fish. *European Food and Research Technology*, 234(2), 285–294
- Schneider, J. & Wendisch, V.F.. (2011). Biotechnological production of polyamines by Bacteria: recent achievements and future perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 91(1), 17–30.

CURRÍCULOS

Wilfredo Ocampo. Químico (2009) de la Universidad Santiago de Cali; actualmente hace parte del equipo de profesionales que laboran en los laboratorios de la Fiscalía General de la Nación - Seccional Cali.

Daniel Arteaga. Químico (2009) de la Universidad Santiago de Cali; Actualmente labora con Ecopetrol en análisis de suelos.

Carlos Andrés Pérez Galindo. Biólogo Énfasis en Genética de la Universidad del Valle. Magister en Bioinformática de la Universidad Internacional de Andalucía, European Molecular Biomedical Network, Integromics (España). Doctorado en Biotecnología (en curso) en la Universidad Pablo de Olavide – Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (España). Director del Grupo de Investigación en Biotecnología, Medio Ambiente y Catálisis. Actualmente se desempeña como rector de la Universidad Santiago de Cali.

Sandra Patricia Castro Narváez. Química (1999) y Magister en Ciencias: Química de la Universidad del Valle (2004). Docente de Tiempo Completo de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali (2005). Su especialidad es el electroanálisis de moléculas con interés tecnológico, biológico y medio ambiental. Adelanta estudios de Doctorado en Láseres y Espectroscopia avanzada en Química de la Universidad Pablo de Olavi.