

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE HISTAMINA EN ATÚN (*THUNNUS SP*)
“IN NATURA” Y EN SASHIMI PROCESADO A PARTIR DE ESTA MATERIA PRIMA**

**EVALUATION OF THE CONTENT OF HISTAMINE IN TUNA (*THUNNUS SP*)
“IN NATURA” AND IN PROCESSED SASHIMI**

ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO¹, GIULLIANO AZEVEDO ZERBONE², SÉRGIO CARMONA DE SÃO CLEMENTE³,
LEILA GATTI SOBREIRO³ y NELSON NEBEL SANTOS³

SUMMARY

With the purpose of assessing the histamine contents in tuna fish (Thunnus sp) “in nature”, received in a restaurant located at Niterói city, Rio de Janeiro state, Brazil, and the formation of this compound in sashimi elaborated from this raw material, 123 samples were analyzed by thin layer chromatography, 30 samples were collected in January, 37 in February and 56 from August until November. The results obtained for the samples analyzed during January showed contents between 0,0 and 5,0 mg/100 g, both upon receipt of the specimen and in the product already elaborated and exposed in the cooled counter. For the samples analyzed during the months of February, the results ranged from 0,0 to 5,0 mg of histamine by 100 g of sample, and the content showed for the elaborated product in the same previous conditions obtained lower values for some samples, showing that the histamine formation is not even in muscular tissue. All samples analyzed during the months comprised from August through November did not indicate presence of histamine. It can be concluded that the product manufacturing and storage were good and did not increased the levels of the toxin.

KEY WORDS: Tuna fish, histamine, GMP, sashimi.

PALABRAS CLAVES: Atún, histamina, GMP, sashimi.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Willians (1986), una de las especies de pescado más utilizada para la preparación del sashimi es el atún (*Thunnus sp*). Goodrich (1987) señala que la preferencia por el atún se debe

a su aspecto fisiológico que lo distingue de los demás pescados para este uso, en relación a la textura y sabor.

Algunas especies de peces están entre los pocos animales que presentan histidina libre en los fluidos musculares. La descarboxilación de la histidina por enzima bacteriana resulta en histamina, una amina con propiedades tóxicas que constituye uno de los mayores riesgos de la manipulación incorrecta de los peces marinos semejantes al atún (Contreras, 1994; Baldini, 1982).

Russel y Maretic (1986) consideran que la intoxicación histamínica se ha vuelto un problema mundial y, probablemente, la causa más común de intoxicación, tras la ingestión de pescado que a menudo y equivocadamente es diagnosticada como infección por *Salmonella*.

Niven y col. (1981) señalan que las bacterias productoras de histamina son casi todas pertenecientes a la especie *Enterobacteriaceae* y que esos microor-

¹ Aluna do programa de pós-graduação (Doutorado) em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal - Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense - Niterói - RJ - Rua Vital Brazil Filho, 64 - Vital Brazil - Niterói - RJ. CEP: 24.230-340. Professora de Tecnologia e Inspeção da Escola de Medicina Veterinária da Universidade do Grande Rio - Duque de Caxias - RJ.

² Médico Veterinário - Escola de Medicina Veterinária - Universidade do Grande Rio - Duque de Caxias - RJ.

³ Professores do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense - Niterói - RJ.

ganismos no parecen pertenecer a la microbiota natural del pez, el cual podrá ser contaminado por contacto con superficies no higiénicas y exposición a temperaturas inadecuadas por largos períodos.

Russel y Maretic (1986) cuentan que el almacenamiento inadecuado de los pescados parece ser el factor de mayor importancia en lo que se refiere a la predisposición de los mismos a la acumulación de histamina. Fernández-Salgueiro y Mackie (1987) apuntan que el contenido de histamina aumenta con el deterioro del pescado y tiene validez en la evaluación de la calidad del mismo.

Niven y col. (1981) afirman que las bacterias productoras de histamina son, casi en su totalidad, provenientes de contacto con superficies de poca higiene en ambientes con temperaturas favorables en el desarrollo de estos microorganismos.

La metodología de análisis cuantitativo no es bien aceptada para la rutina del control de calidad de la industria, ni de los servicios del mismo, a causa del gran coste y del tiempo utilizado. De esta forma, Schutz y col. (1976) desarrollaron un método semicuantitativo de cromatografía en capa fina (CCF) que demostró ventajas con mucha celeridad y practicidad y de bajo coste.

Para los países miembros del Mercosur fue adoptado el límite de 10 mg/100 g para las especies pertenecientes a la familia Scombridae, Scomberesocidae, Clupeidae y Pomotocidae (ABIA, 1997); el mismo límite fue oficializado para el mercado interno en Brasil, por la norma N° 185 del "Ministério da Agricultura e do Abastecimento" (Brasil, 1997).

El estudio tuvo como objetivo analizar muestras de atún (*Thunnus sp*) "in natura" en el momento del recibimiento de los pescados, en lo que se refiere a la presencia de histamina y de sashimi preparado con esta materia prima, obtenidas en el mostrador de exposición del restaurante, con la finalidad de evaluar la calidad de la materia prima y también observar la calidad de las prácticas de manipulación en el pescado en los establecimientos que mantengan un adecuado control de calidad.

MATERIAL Y MÉTODO

MATERIAL

Las muestras de atún (*Thunnus sp*) fueron adquiridas en un restaurante ubicado en la ciudad de Niterói-Estado do Rio de Janeiro, Brasil, en los meses de enero y febrero de 1999 y entre agosto a octu-

bre del mismo año. Las muestras recogidas fueron acondicionadas en bolsas plásticas y llevadas en recipiente isotérmico con hielo al Laboratorio de Control Físico-Químico de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal Fluminense. Durante el mes de enero fueron analizadas 30 muestras inmediatamente después del recibimiento del pescado; en seguida fueron analizadas muestras de sashimi obtenidas en el mostrador de exposición, 3 a 4 horas tras la elaboración. El mismo método fue utilizado con 37 muestras estudiadas en el mes de febrero y 56 muestras entre los meses de agosto y octubre.

Es menester señalar que todos los empleados que lidian con la producción de pescado en el establecimiento donde fueron obtenidas las muestras recibieron entrenamiento para actuar con discernimiento en la elaboración y manejo de pescados.

MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE HISTAMINA

La técnica utilizada fue la cromatografía en capa fina señalada por Schutz y col. (1976), con pequeñas modificaciones.

Para la preparación de las muestras se trituró y se homogeneizó una porción del músculo, pasando 1 g para el tubo de ensayo donde fueron agregados 2 mL de metanol.

Se calentó en baño de agua caliente bajo la agitación hasta el hervor, centrifugándose por corto período para obtener una porción limpia de sobrenadante.

La solución patrón de histamina fue elaborada disolviendo 2,8 mg de histamina 2HCL en 50 mL de metanol. Este patrón equivale al contenido de 10 mg/100 g de pescado, cuando es aplicado en el mismo volumen de extracto de pescado (10 mL).

En el vaso de cromatografía fueron puestos acetona e hidróxido de amonio (20:1), dejándolo descansar cerrado por algunos minutos para equilibrio de la atmósfera interna.

Fueron utilizadas placas de sílica-gel en políéster (Sigma-6770) cortadas en tamaños que variaron de acuerdo con el número de muestras analizadas (5 x 10 ó 10 x 10 cm) para aplicación de la solución patrón (2,5 y 10,0 µL, correspondientes a 2,5 y 10 mg/100 g respectivamente) y de las muestras (10 µL). Tras el desarrollo de la cromatografía y la evaporación del solvente, la placa fue vaporizada de manera uniforme con una solución de ninhidrina 0,3% en metanol y calentada para visualizar las manchas correspondientes

TABLA 1
 N° DE MUESTRAS DE PESCADO Y SASHIMI Y SUS RESPECTIVOS CONTENIDOS DE HISTAMINA EN LOS PERÍODOS CORRESPONDIENTES

<i>Período de análisis</i>	<i>N° de muestras</i>	<i>Contenido de histamina en el pescado (mg/100 g)</i>	<i>N° de muestras</i>	<i>Contenido de histamina en el sashimi (mg/100 g)</i>
Enero	10	≅ 5	10	≅ 5
Enero	10	2,5 < X < 5	10	2,5 < X < 5
Enero	10	0,0	10	0,0
Febrero	15	≅ 2,5	17	≅ 2,5
Febrero	07	≅ 2,5	20	0,0
Febrero	15	0,0		
Agosto/Octubre	56	0,0	56	0,0

a los padrones de histamina, que fueron comparadas por observación visual con las manchas relativas a las muestras del mismo desplazamiento en la plancha. Los probables valores del contenido de histamina en mg/100 g de pescado fueron calculados por la intensidad del color de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos pueden ser visualizados en la Tabla 1, donde se observa que las muestras analizadas en los meses de enero y febrero, período en que las temperaturas medianas son más altas, presentan mayores resultados, tanto en el momento del recibimiento del pescado en el establecimiento como también en los análisis realizados en el sashimi. Este aumento en la formación de histamina se debe, probablemente, a las fallas en la cadena de refrigeración tras la recolección, hasta el momento en que los pescados lleguen al destino comercial, señalando que tras el almacenamiento, manipulación, elaboración y exposición del producto final no hubo alteraciones en el contenido de histamina que pudiese ser visualizado por CCF.

También es posible evidenciar que algunas muestras de sashimi contenían valores menores que aquellos obtenidos en el pescado, hecho que puede ser justificado por el factor de que los contenidos de histamina no están distribuidos en toda la musculatura, pues el frío puede no estar uniforme en toda porción muscular.

Todas las muestras analizadas en el momento del recibimiento del pescado, durante los meses más

fríos en los sashimis provenientes de los mismos tipos, no evidenciaron valores de histamina que pudiesen ser detectados por la técnica utilizada. La ausencia de histamina indica una materia prima de buena calidad y de buenas prácticas de almacenamiento, manipulación y exposición del producto final. Cabe destacar que Foo (1977) apunta el hecho de que los niveles de histamina en alimentos es deseable para que puedan reconocerse las prácticas de manipulación y producción a que fueron sometidos algunos productos de pesca.

Como el contenido máximo de histamina encontrado en este estudio fue de ≥ 5 mg/100 g de pescado, se supone que, en algún momento tras la recolección, estos pescados quedaron expuestos a temperaturas que facilitaron la descarboxilación de la histidina, y consecuente formación de histamina.

Los resultados de los análisis realizados durante el mes de febrero evidenciaron contenidos distintos entre las muestras de pescado en el momento del recibimiento, y las muestras de sashimi obtenidas en el mostrador con refrigeración, que presentaron contenidos menores en algunas muestras, probablemente debido a las altas temperaturas.

Los contenidos de histamina encontrados, seguramente, no serían capaces de ocasionar intoxicación histamínica, pero, de acuerdo con lo que cuentan Soares y col., (1998), que también no evidenciaron altos contenidos de histamina en las especies estudiadas, informaciones adicionales deberían hacerse con el objetivo de calificar la presencia de otras aminas biogénicas (putrecina, cadaverina, espermina, espermidina, agmatina, tiramina, triptamina y 2-feniletilamina) capaces de

hacer que el efecto tóxico de la histamina se vuelva potente.

Los resultados evidenciados en este estudio están de acuerdo con los descritos por Taylor y Lieber (1977) que consideran importante la implantación del análisis de rutina de histamina en el control de calidad en establecimientos que utilizan esta materia prima, como medio de prevención de intoxicaciones histamínicas.

El método de cromatografía en capa fina, sugerido por Schutz y cols. (1976) para el análisis de histamina, se mostró simple, útil y de bajo coste, siendo también adoptado por los servicios de inspección como rutina de control del grado de refrigeración de pescados utilizados para la ingestión humana.

Los resultados obtenidos permiten concluir que las condiciones de almacenamiento, manipulación y exposición de pescado en el establecimiento comercial no demuestran fallas que pudieran ser detectadas a través del desarrollo de bacterias creadoras de histamina. En una misma especie los contenidos de histamina pueden variar, permitiéndonos concluir que el frío no es igualmente repartido al pescado en las urnas de los barcos, cámaras frías y transporte, ofreciendo condiciones que favorecen el desarrollo bacteriano y, como resultado, formación de histamina. La producción de histamina, como era de esperar, fue más evidente en los meses con temperaturas medias más elevadas.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el contenido de histamina en atún (*Thunnus sp*) "in natura", recibido en un restaurante que trabaja con inspección de control de calidad, ubicado en la ciudad de Niterói-RJ, Brasil, y la formación de esta amina biógena en el sashimi elaborado a partir de la sustancia bruta, fueron analizadas por la técnica semicuantitativa de cromatografía en capa delgada 123 muestras en total. Fueron examinadas 30 muestras en el mes de enero de 1999, 37 en el mes de febrero y 56 entre los meses de agosto y noviembre del mismo año. Las muestras examinadas durante el mes de enero evidenciaron contenidos de histamina entre 0,0 y 5,0 mg/100 g, tanto en el momento del recibimiento del pescado, en el establecimiento, como también en el producto elaborado y expuesto en el mostrador con refrigeración. Para las muestras analizadas en el momento del recibimiento de los pescados

durante el mes de febrero, los resultados fueron variados, quedaron entre 0,0 y 5,0 mg/100 g y los contenidos evidenciados para el producto elaborado en las mismas condiciones anteriores obtuvieron valores inferiores para algunas muestras, verificando que la formación de la histamina no es uniforme en el tejido muscular. En las muestras analizadas durante y entre los meses de agosto y noviembre, no fue detectada la amina. Se concluyó que la manipulación del producto durante la producción, como también la exposición del sashimi, fueron adecuadas, sin siquiera colaborar para el aumento del nivel de la toxina aminogénica.

BIBLIOGRAFÍA

- ABIA (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação). 1997. *Identidad y Calidad de Pescado Fresco*. Mercosur/GMC, Resolução 40/94. In: Compêndio das Resoluções do Mercosul. São Paulo: 76-78.
- BALDINI, V. L. S. 1982. *Aminas biogênicas e a deterioração do pescado*. Bol. ITAL, Campinas, v. 19: 389-402.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria Nº 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro Eviscerado). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF.
- CONTRERAS, E. 1994. *Bioquímica de Pescado e derivados*. FUNEP: Jaboticabal, SP: 409 p.
- FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. y MACKIE, I. M. 1987. *Preliminary survey of the content of histamine and other higher amines in some samples of Spanish canned fish*. Int. J. Food Sci. Technol., London, v. 22: 409-412.
- FOO, L. Y. 1977. *Simple and Rapid Paper Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Histidine and Histamine in Fish Sample*. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 66(1): 183-185.
- GOODRICH, B. 1987. *Postharvest Quality of Tuna Meat, a Question of Technique*. Food Technology in Australia, 39 (7): 343-345.
- NIVEN, C. F. y cols. 1981. *Differential plating medium for quantitative detection of histamine producing bacteria*. Applied and Environmental Microbiology, 13(7): 321-322.
- RUSSEL, F. E. y MARETIC, W. 1986. *Scombroid Poisoning: Mini-review with case histories*. Toxicon, 24(10): 967-973.
- SOARES, V. F. M.; VALE, S. R.; JUNQUEIRA, R. G.; GLORIA, M. B. A. 1998. *Teores de Histamina e Qualidade Físico-Química e Sensorial de Filé de Peixe Congelado*. Ciênc. Tecnol. Aliment, 18 (4).
- SCHUTZ, D. E. y cols. 1976. *Rapid thin-layer chromatographic method for the detection of histamine in fish products*. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 59 (6): 1225-1244.
- TAYLOR, S. L. & LIEBER, E. R. 1977. *Specificity and sensitivity of seven histamine detection methods*. Journal of Food Science, 42 (6): 1584-1586.
- WILLIAMS, S. C. 1986. *Sashimi tuna-20 questions and answers*. Australian Fisheries, Mai, pp. 20-25.