

ANÁLISIS PROXIMAL Y DETERMINACIÓN DE HISTAMINA EN ATÚN ENLATADO EN ACEITE Y AL NATURAL.

Proximate Analysis and Histamine Determination in Oil and Natural Canned Tuna.

Pedro Izquierdo¹, Aleida García², Deisy Rivas³, Aiza García¹, María Allara¹, Peggy González¹

¹ Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de los Alimentos (U.D.I.C.T.A.), Facultad de Ciencias Veterinarias.

² Departamento de Estadística, Facultad de Agronomía. ³ Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Apartado 15252, Maracaibo 4005-A, Estado Zulia, Venezuela. E-mail: algarcia@luz.edu.ve

RESUMEN

El atún enlatado es uno de los alimentos de mayor consumo en el país por su fácil adquisición, preparación y excelentes propiedades nutricionales. El objetivo de la presente investigación fue determinar la composición proximal y presencia de histamina en tres marcas comerciales de atún enlatado al natural y en aceite, comercializado en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Para cada marca se recolectaron en total 30 envases, 15 de presentación en aceite y 15 al natural. La recolección se efectuó en 5 muestreos, a intervalos de 15 días para cada uno. La adquisición de las muestras se realizó a nivel de supermercado. En la determinación del contenido de humedad, proteína y cenizas se emplearon los métodos oficiales de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) para la determinación de la grasa se utilizó la metodología de Bligh y Dyer. La presencia de Histamina se evaluó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se encontraron diferencias en la composición proximal del atún de acuerdo a la marca comercial y el medio de presentación. Para el atún enlatado al natural los valores de humedad se encontraron entre 71,98-75,59%, proteínas entre 21,26-25,22%, grasa 1,62-2,66% y cenizas 1,48-1,57%. Los valores para el atún enlatado en aceite fueron de 66,43-67,12% para humedad, 23,44-25,84% proteínas, 6,45-8,68% grasa y 1,11-1,46% de cenizas. Todas las muestras de atún enlatado analizadas presentaron histamina, en algunos casos el nivel encontrado fue cercano al límite de tolerancia establecido por la Administración de Drogas y Alimentos de Norteamérica (FDA) de 50 ppm, por lo que se sugiere monitoreos constantes en el atún enlatado elaborado en el país.

Palabras clave: Atún, atún enlatado, histamina.

ABSTRACT

Canned Tuna is one of the most consumed products in the country because of its easy acquisition, preparation and excellent nutritional properties. The objective of this research was to determine proximate composition and histamine presence in three commercial brands of canned tuna preserved in water and oil, expended in Maracaibo City, Zulia State, Venezuela. 30 cans of each brand were collected, 15 in oil and 15 in water. Sampling was performed five times, in 15 days intervals. Sample acquisition was made at supermarkets. In moisture, protein and ashes determination were used official methods of analysis reported by Association of Official Analytical Chemist (AOAC), and for fat analysis Bligh and Dyer methodology was used. Histamine presence was measured by means of high performance liquid chromatography (HPLC). Differences in proximate composition depending on commercial brand and presentation. Moisture values for tuna canned in water were found between 71.98-75.59%, protein between 21.26-25.22%, fat 1.62-2.66% and ashes 1.48-1.57%. Values for tuna canned in oil were 66.43-67.12% for humidity, 23.44-25.84% for protein, 6.45-8.68% for fat and 1.11-1.46% for ash content. All analyzed canned tuna samples presented histamine, in some cases histamine concentrations were close to limit established by Food and Drug Administration (FDA) of 50 ppm, because of this constant monitoring in canned tuna produced in Venezuela is suggested.

Key words: Tuna, canned tuna, histamine.

INTRODUCCIÓN

El sector pesquero venezolano ha tenido un desarrollo relativamente rápido, su crecimiento ha sido vertiginoso desde mediados de los años setenta, cuadruplicando su producción en un lapso de treinta años. De acuerdo a lo reportado por el Instituto

Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA), el sector creció un 26% en 2002, comparado con el año anterior, como consecuencia del repunte de la pesca artesanal, esperando un crecimiento para el 2006 de un 20%, para alcanzar una producción nacional por el orden de las 560 mil toneladas [10, 16].

El atún es una de las especies pesqueras de mayor consumo en el país, de éste se obtienen anualmente unas 80 mil toneladas al año, principalmente del tipo aleta amarilla (*Thunnus albacares*), que constituye cerca del 60% del total de captura [7]. El destino de la producción generada por la flota atunera es mayormente hacia la exportación, y la cuota para el mercado interno tiene en general un uso industrial, para proveer de materia prima principalmente a las plantas enlatadoras de los estados Sucre y Nueva Esparta, ubicadas en el oriente del país [22].

El atún enlatado puede ser definido como el producto obtenido de la preparación en trozos del atún fresco, en un medio consistente fundamentalmente en agua (al natural), salmuera o aceite, envasado en latas que son sometidas a un proceso de esterilización [25, 29].

La composición proximal y calidad del atún enlatado puede estar determinada por diversos factores, entre ellos la calidad de la materia prima empleada, y el medio en el que es enlatado [2, 8, 12, 15, 17, 18, 19, 26, 31]. En los últimos años, uno de los parámetros tomado en cuenta para determinar la frescura, y por tanto la calidad del pescado, es la concentración de histamina que pueda presentar en su tejido muscular [12, 13, 23, 26, 35, 37, 38, 40].

La histamina es producida por algunas bacterias a partir de la descarboxilación del aminoácido histidina, y es responsable de la intoxicación escombroidea, causada principalmente por peces de la familia *Scombridae* (atún, mahimahi, macarena), que se caracterizan por presentar elevados niveles de histidina libre en su tejido muscular [13, 21, 23, 26]. El problema de la histamina no está relacionado solo con el consumo de pescado fresco, sino también, con el pescado enlatado, por cuanto la termorresistencia de la histamina no permite que los tratamientos térmicos generalmente aplicados a estos productos, tales como pasteurización y esterilización, la destruyan o inactiven [3, 6, 14, 28, 38]. Algunos investigadores han señalado que la presencia de histamina en cantidades tóxicas en latas esterilizadas, es debido al uso de peces de baja calidad higiénica o a una manipulación inadecuada durante el procesamiento del pescado [12, 21, 24].

La inocuidad de los alimentos es un serio problema de salud pública. En Venezuela, la Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) [32], señalan que, a pesar del subregistro que impide conocer la real magnitud del problema, entre 1996 y 2000 se evidenció un aumento de 63% en el número de brotes y la cuadruplicación de los casos de enfermedades transmitidas por alimentos. En el 56,4% de las veces se logró identificar el agente contaminante, que en un 72,8% de los casos se debió a *Staphylo-*

coccus aureus y en 14,7% a histamina, que es considerada como uno de los principales compuestos implicados como causante de casos de envenenamiento y manifestaciones alérgicas originado por el consumo de pescado.

En el país se dispone de información sobre la composición proximal promedio del atún enlatado, pero en limitados casos se ha diferenciado la misma, considerando la marca y el medio de presentación, tampoco se ha considerado la posibilidad de diferencias en el nivel de histamina presente en el atún de acuerdo a estos factores.

La presente investigación fue realizada con el objetivo de determinar la composición proximal y la presencia de histamina de tres marcas comerciales de atún enlatado al natural y en aceite, que son comercializadas en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la Muestra. Las muestras consistieron en atún enlatado en envases de 384g, se incluyeron todas las marcas que disponían de la presentación en aceite y al natural, que para el momento de la investigación se expendían en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, y que declaraban en el rotulo del producto su contenido como lomo de atún. En total, 3 marcas comerciales (A, B, C) cumplían con lo descrito. El muestreo fue realizado tomando en consideración que el producto estuviera a la mitad del periodo, en un rango de un mes, entre la fecha de elaboración y de vencimiento. También se tomó en consideración el lote. Para cada marca se recolectaron en total 30 envases, 15 de presentación en aceite y 15 al natural. La recolección se efectuó en 5 muestreos, a intervalos de 15 días para cada uno. La adquisición de las muestras se realizó a nivel de supermercado. En total se analizaron 90 latas de atún.

Preparación de las Muestras. Las latas de atún, una vez en el laboratorio, fueron abiertas para proceder al escurrido del líquido de gobierno, y al vaciado en un mortero para ser homogeneizado. En esta etapa se verificaba que la apariencia del producto en cuanto a color, olor y sabor, fueran la característica, no fue necesario descartar ninguna marca en ningún muestreo por incumplimiento de esto.

Análisis Proximal de las Muestras. Para evaluar la composición proximal de las muestras del atún enlatado se determinó humedad por el método de evaporación en estufa (110°C/16h), cenizas por el método gravimétrico de incineración en mufla, y proteínas por el método Macrokjeldahl, aplicando los procedimientos oficiales de la Asociación Americana de Químicos Analíticos (AOAC) [1]. Para la determinación de grasa se aplicó la metodología recomendada por Bligh y Dyer [5].

Concentración de Histamina. Para determinar la concentración de histamina se aplicó el método de Goygou y col. [20], por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución Shimadzu

LC-6A, Japón, integrado por un detector de fluorescencia Shimadzu FLD-6A, Japón, con un flujo de 1,2 ml/min, una columna Beckman ODS 5 μ de 4,6 mm por 15 cm, Alemania, y una mezcla de agua con 50 mmoles de fosfato de sodio monobásico y 40% de acetonitrilo como fase móvil. El detector de fluorescencia utilizado fue marca Shimadzu modelo FLD-6A, Japón. Las gráficas de corrida fueron registradas utilizando el software class-VP de Shimadzu.

Análisis Estadístico. A los datos obtenidos para la composición proximal y concentración de histamina se les calculó la media como medida de centrado, según la marca comercial y tipo de presentación. Para establecer la existencia de diferencias significativas en la composición proximal y concentración de histamina del atún enlatado se aplicó un análisis de la varianza de acuerdo a un diseño experimental en bloques, respondiendo al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Valor ij-ésimo de la variable respuesta.

μ = Media poblacional.

τ_i = Efecto del i-ésimo Tratamiento. $i=3$ (Marca Comercial A, B y C)

β_j = Efecto de j-ésimo Bloque. $j=2$ (Presentación del Atún)

ε_{ij} = Componente de error.

En los casos necesarios se realizó la comparación múltiple de medias utilizando la prueba de Tukey [41]. Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS, versión 8,1 [39].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición Proximal. La TABLA I muestra los valores medios obtenidos para los parámetros físico-químicos evaluados en las muestras de atún enlatado en las dos formas de presentación (natural y aceite) y para las tres marcas comerciales (A, B, C).

El porcentaje de humedad se encontró entre un 66,43 y 75,59%, detectándose diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), según el medio de presentación y la marca comercial. Los valores más elevados correspondieron al atún enlatado al natural, al alcanzar para las marcas A, B y C, los porcentajes de 72,35; 75,59 y 71,98%, respectivamente. Siendo la humedad de la marca B, para este medio de presentación (TABLA I), diferente significativamente ($P < 0,05$) de las otras dos marcas. Para el atún enlatado en aceite los porcentajes de humedad fueron de 67,12; 66,43 y 67,12% para las marcas A, B y C, respectivamente; no encontrándose diferencias significativas entre las marcas.

Los resultados obtenidos para la humedad del atún enlatado, de acuerdo al medio de presentación, se corresponden

con los valores establecidos por las Normas Venezolanas COVENIN para atún en conserva [29], donde se señala un valor promedio de humedad para el atún enlatado al natural de 75% y para el enlatado en aceite de 65%. Diversos estudios han señalado que es de esperar encontrar una mayor concentración de humedad en el atún al natural por cuanto esta presentación consiste en la inclusión del atún en agua [15, 17, 19].

El contenido medio en proteína se encontró entre 21,26 y 25,84%, obteniéndose diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), según el medio de presentación y la marca comercial.

El principal constituyente de la materia seca del atún enlatado es la proteína, y se ha reportado que un 22% de la fracción comestible del atún está representado por estas [9, 17, 19]. Al calcular los porcentajes de proteína en base seca, se encontró una mayor concentración proteica en el atún enlatado al natural, al obtenerse valores de 86,03; 86,27 y 90,00% para las marcas A, B y C respectivamente. Mientras que en el atún enlatado en aceite los porcentajes fueron para la marca A 71,28 %, para la marca B 76,97 % y para la marca C 74,45%.

Algunos autores [8, 17, 18, 19, 34] han señalado que durante el procesamiento del atún, para la obtención de atún enlatado, pueden ocurrir algunas modificaciones en los nutrientes del mismo, provocado por el paso de algunos componentes, tales como los aminoácidos, hacia el medio de gobierno, en especial, si el enlatado se realiza en aceite. Lo que podría deberse a una menor estabilidad de las proteínas y mayor desnaturalización de las mismas por efecto del proceso térmico al que son sometidas las latas.

El contenido medio en grasa para el atún enlatado se encontró entre 1,62 y 8,68 % (TABLA I), detectándose diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) según el medio de presentación y la marca comercial. Algunos autores [2, 17, 19, 34] señalan que la proporción de grasa en el atún enlatado oscila dentro de amplios límites, por cuanto el contenido en grasa del atún puede ser muy variable en función de las diferencias determinadas por las características propias del pez, la época de captura, el tamaño y estado fisiológico del animal; así como, el tipo de alimentación que el mismo ha tenido. Por otra parte, es indudable que el medio de presentación utilizado afecta el contenido en grasa, esperándose encontrar una mayor proporción de ésta cuando el medio de gobierno es el aceite.

Como puede observarse en la TABLA I, el contenido medio en grasa del atún enlatado en aceite osciló entre 6,45 y 8,68%, mientras que los valores para el enlatado al natural se encontraron entre 1,62 y 2,68%. Las marcas B y C no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la presentación al natural, todos los demás pares de medias fueron diferente significativamente ($P < 0,05$). Diversas investigaciones [17, 19, 21, 27, 34] reportan valores similares a los encontrados en este estudio, al señalar contenidos medios de grasa para el atún al natural de 1,9 %, y para el atún enlatado en aceite valores entre 7,1 y 9,9%.

TABLA I
COMPOSICIÓN PROXIMAL MEDIA DE TRES MARCAS COMERCIALES DE ATÚN ENLATADO AL NATURAL Y EN ACEITE /
MEAN PROXIMATE COMPOSITION IN THREE COMMERCIAL BRANCK OF CANNED TUNA IN WATER AND OIL

Parámetro	Marcas					
	A		B		C	
	Natural	Aceite	Natural	Aceite	Natural	Aceite
Humedad (%)	72,35 ^a	67,12 ^c	75,59 ^b	66,43 ^c	71,98 ^a	67,12 ^c
Proteína (%)	23,79 ^a	23,44 ^a	21,26 ^b	25,84 ^d	25,22 ^d	24,47 ^e
Grasa (%)	2,68 ^a	8,33 ^d	1,64 ^b	6,45 ^c	1,62 ^b	8,68 ^d
Ceniza (%)	1,57 ^a	1,11 ^b	1,51 ^c	1,25 ^c	1,48 ^{ce}	1,46 ^e

a,b,c,d,e Medias con superíndices diferente en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

El contenido medio en cenizas se encontró entre 1,11% y 1,57% (TABLA I), obteniéndose diferencias altamente significativas (P<0,01), según el medio de presentación y la marca comercial. Los mayores contenidos fueron obtenidos en el atún enlatado al natural, siendo el contenido de la marca A diferente (P<0,05) al de las marcas B y C. En el atún enlatado las cenizas están representadas principalmente por calcio, fósforo, hierro y cobre, y algunos autores han señalado que el contenido en cenizas suele ser menor en el atún enlatado en aceite, por el paso al líquido de gobierno de algunos de estos minerales [19, 33]. Para el atún enlatado en aceite se encontraron diferencias significativas (P<0,05) entre las tres marcas.

La TABLA II presenta los valores medios de concentración de histamina en ppm para las muestras de atún enlatado al natural y en aceite. Según la marca comercial y el medio de presentación, estos valores medios mostraron diferencias altamente significativas (P<0,01). Los valores más bajos de histamina fueron encontrados en la marca C para ambas presentaciones. Mientras que el contenido más elevado se encontró en la presentación en aceite de la marca A (45,19 ppm), valor muy cercano al límite de tolerancia de 50 ppm establecido por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) [15, 24], lo que podría ser indicativo del uso de materia prima en malas condiciones.

TABLA II
CONTENIDO MEDIO DE HISTAMINA DEL ATÚN
ENLATADO AL NATURAL Y EN ACEITE DE TRES
MARCAS COMERCIALES / MEAM HISTAMINE CONTENT IN
CANNED TUNA IN WATER AND OIL OF THREE COMERCIAL BRANDS

Marca	Presentación	Histamina (ppm)
A	Natural	42,91 ^a
	Aceite	45,19 ^a
B	Natural	43,21 ^a
	Aceite	35,53 ^b
C	Natural	27,10 ^c
	Aceite	27,75 ^c

a,b,c, Medias con superíndices diferente presentan diferencia significativa (P<0,05).

Al comparar los resultados obtenidos con el límite máximo permisible (200 ppm), establecido por la norma venezolana COVENIN [30], se observó que las concentraciones encontradas en esta investigación fueron inferiores. También lo son al compararlos con el nivel tóxico (500 ppm), establecidos por la FDA.

Veciana y col. en España [40], realizaron un estudio para determinar aminos biógenos en atún fresco y enlatado y el efecto del enlatado en el contenido de estas, reportando resultados similares a esta investigación, encontrando para la histamina contenidos menores a lo establecido por la FDA (50 ppm), además de no haber detectado diferencias significativas entre el atún fresco y el enlatado; concluyendo que el contenido de histamina y otras aminos puede ser usado como indicador de calidad en el atún fresco que va a utilizarse para el enlatado.

Igualmente, Fernández y Mackie en España [14], realizaron un estudio para determinar el contenido de histamina y otras aminos en muestras de pescado enlatado, reportando para el atún enlatado concentraciones de histamina entre 0-5 ppm, concluyendo que la histamina es estable en condiciones de esterilización, por lo que es razonable asumir que las concentraciones de aminos encontradas en las muestras enlatadas se debe a que están presentes en el material crudo antes del proceso de esterilización.

Según Bennour [4], resulta poco práctico establecer límites reguladores de histamina en productos pesqueros, dado que, una vez producida la histamina en el pescado, el riesgo de que se desencadene la escombroidosis o intoxicación histaminica asociada a su consumo es muy elevado, resultando tóxico el pescado aún cuando sea desde el punto de vista organoléptico aceptable al consumidor.

Con respecto a las metodologías empleadas para la determinación de histamina, es necesario mencionar que, si bien hasta hace poco, para su análisis se requería realizar una aplicación de técnicas de cromatografía [6, 11], con equipos caros y técnicos calificados, lo que traía como consecuencia un elevado costo, actualmente se dispone de otras técnicas [24, 36], entre ellas unas de tipo inmunológico y enzimático que permiten realizar análisis con confiabilidad, bajos costos y una calificación no tan elevada.

CONCLUSIONES

Para las tres marcas comerciales estudiadas de atún enlatado al natural se encontraron valores para la composición proximal entre 71,98-75,59% para humedad, 21,26-25,22% proteína; 1,62-2,66% grasa y 1,48-1,57% cenizas, mientras que los valores para el atún enlatado en aceite fueron de 66,43-67,12% para humedad, 23,44-25,84% proteína, 6,45-8,68% grasa y 1,11-1,46% de cenizas. La composición proximal del atún enlatado está afectada por el medio de gobierno y la empresa elaboradora.

Todas las muestras de atún enlatado analizadas presentaron histamina, siendo en algunos casos el nivel encontrado cercano al límite de tolerancia establecido por la FDA de 50 ppm.

RECOMENDACIONES

Se recomienda estudiar un mayor número de marcas comerciales de atún enlatado con el fin de establecer el riesgo que pudiera representar el consumo del mismo a causa de la presencia de niveles elevados de histamina. De igual forma se sugiere identificar la flora microbiana presente en el atún enlatado, para determinar su capacidad de producción de histamina en el mismo.

Realizar monitoreos constantes de la concentración de histamina en el atún enlatado elaborado en el país.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de la presente investigación. Proyecto de Investigación CONDES N° 1780-00.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 20th Ed.. (Kenneth, H. De), Washington, D.C. 375pp. 1997.
- [2] AUBOURG, S.. Loss of quality during the manufacture of canned fish products. **Food Sci. Tech. Inst.** 7 (3):199-215. 2001.
- [3] BEN-GIGIREY, B.; CRAVES, H. Histamine formation in Albacore muscle analyzed by AOAC and enzymatic methods. **J. Food Sci.** 83 (2): 210-214. 1998.
- [4] BENNOUR, M.; MARRAKCHI, A.; BOUCHRITI, N; HAMAM, A.; OUADAA, M. Chemical and microbiological assessments of Mackerel (*Scomber scombrus*) store in Ice. **J. Food Prot.** 54:789-792.1991.
- [5] BLIGH, E.; DYER, W. Rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. of Bioch. And. Phys.** 37 (8): 911-917. 1959.
- [6] BRILLANTES, S.; SAMOSORN, W.. Determination of histamine in fish sauce from Thailand using a solid phase extraction and high-performance liquid chromatography. **Fisheries Sci.** 67(6):1163-1168. 2001.
- [7] CABELLO, A.; FIGUERA, B.; MARCANO, J.; VALLENILLA, O.. Aprovechamiento e industrialización del atún y otros grandes pelágicos. **Memoria del Taller "Aprovechamiento e industrialización de atún y otros grandes pelágicos"**. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Junio. 2pp. 2002.
- [8] CABELLO, A.; MARCANO, J.; NARVÁEZ, M.; SILVA, O.; GOMEZ, A.; FIGUERA, B.; VALLENILLA, O.; SALAZAR, H. Management of tuna resources in Venezuela. **Zoot Trop.** 21(3):261-274. 2003.
- [9] CASTRILLON, A.; NAVARRO, M.; GARCÍA, M. Tuna Protein Nutritional Quality Changes After Canning. **J. Food Sci.** 61 (6): 1250-1253. 1996.
- [10] CENTRO DESARROLLO Y PESCA SUSTENTABLE (CeDePesca). **Las Principales pesquerías de Venezuela**. Mar de Plata, Buenos Aires. Mimeografiado. 14 pp. 2005.
- [11] CHIN, Y; LUAN, H. Simultaneous Analysis of Biogenic Amines in Canned Fish by HPLC. **J. Food Sci.** 56 (1): 158-160. 1991.
- [12] DU, W.; LIN, C.; PHU, A.; CORNELL, J.; MARSHALL, M.; WEI, C.. Development of biogenic amines in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): Effect of storage and correlation with decarboxylase-positive bacterial flora. **J. Food Sci.** 67(1):292-301. 2002.
- [13] EMBORG, J.; DALGAARD, P.. Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: An investigation of psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. **J. Food Prot.** 69(4):897-906. 2006.
- [14] FERNANDEZ, S.; MACKIE, M.; Preliminary survey of the content of histamine and other higher amines in some samples of Spanish Canned Fish. **J. Food Sci. and Tech.** 22:409-412.1987.
- [15] FOOD AND AGRICULTURA ORGANIZATION. FDA and EPA Guidance levels. In: **Fish and Fishery Products Hazard and Controls Guide**. 2nd Ed Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administratio, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of seafood, Washington, DC. 245-248pp.1998.
- [16] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura**. Estrategias y programas de acción para el sector pesquero. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. 10 pp. 2000.

- [17] GARCÍA, M.; SÁNCHEZ, M.; CASTRILLON, A.; NAVARRO, M. White Tuna Canning, Total Fat, and Fatty Acid Changes During Processing and Storage. **J. Food Comp. and Anal.** 7 (1/2):119-130. 1994.
- [18] GONZALEZ, C.; ROMO, F.; JÁUREGUI, M.; SILVA, M. Vitaminas y Minerales del Atún Aleta Amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Mexicano Enlatado en Aceite. **Arch. Lat. Nut.** 48 (3): 265-268. 1998.
- [19] GONZÁLEZ, S. **Composición Química y Bioquímica del Atún. Cambios en su Procesamiento.** Seminario I. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Postgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Caracas, Junio. 104pp. 1998.
- [20] GOUYGOU, J.; SINQUIN, C.; DURAND, P.. High Pressure Liquid Chromatography Determination of Histamine in Fish. **J. Food Sci.** 52 (4):925-927.1987
- [21] IZQUIERDO, P.; TORRES, G.; ALLARA, M.; BARROS, J.; DELGADO, P.; AÑEZ, J. Efectos de Tres Métodos de Cocción en la Composición Proximal y el Perfil de Ácidos Grasos del Atún (*Thunnus thynnus*). **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XI (4): 367-372. 2001.
- [22] JIMÉNEZ, L. **Comercialización e Industrialización del Atún en Venezuela y el Mundo.** Seminario. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Caracas, Mayo. Mimeografiado. 89 pp. 1996.
- [23] KIM, S.; EUN, J.; CHEN, T.; WEI, C.; CLEMENS, R.; AN, H..Evaluation of histamine and other biogenic amines and bacterial isolation in canned anchovies recalled by the USFDA. **J. Food Sci.** 69(6): 57-62. 2004.
- [24] LEHANE, L.; OLLEY, J. Histamine poisoning revisited. **Int. J. Food Microb.** 58:1-37. 2000.
- [25] LILLELUNDK, F. Pescado elaborado. **El Pescado como Alimento.** Editorial Everest. S.A. España.459-471 pp. 1984.
- [26] LÓPEZ-SABATER, E.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J; ROIS-SAGUÉS A.; MORA, V. Bacteriological Quality of Tuna Fish (*Thunnus thynnus*) Destine for Canning, Effect of Tuna Handling on Presence of Histidine Decarboxylase Bacteria and Histamine Level. **J. Food Prot.** 57 (4): 318-323. 1994.
- [27] MARQUEZ, Y.; CABELLO, A.; VILLALOBOS, L.; GUEVARA, G.; FIGUERA, B.; VALLENILLA, O.. Cambios físico-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún. **Zoot Trop.** 21(1): 17-29. 2006.
- [28] MILLÁN, R.; IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; GARCÍA, A.; BARBOZA, Y. Efecto de la Temperatura y Tiempo de Almacenamiento sobre la Calidad Microbiológica y la Producción de Histamina en la Lisa (*Mugil curema*). **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XIII (5): 339-346. 2003.
- [29] MINISTERIO DE FOMENTO. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN 1766). **Atún en Conserva.** Caracas Venezuela.3 pp. 1995.
- [30] MINISTERIO DE FOMENTO. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN 3186). **Productos del Mar. Determinación de Histamina.** Caracas Venezuela.4pp.1995.
- [31] NAVARRO, M. Valor Nutritivo del Pescado. Pescado Salado. **Rev. Agroquím. Tecnol Aliment.** 31 (4): 471-559. 1991.
- [32] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD/ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OPS/OMS). Análisis preliminar de la situación de salud de Venezuela 2002. En Línea: <http://www.ops-oms.org.ve/site/venezuela/ven-sit-salud-evo.htm>. 2003.
- [33] PÉREZ, L. Bioquímica de los productos de la pesca. **Higiene y Control de los Productos de la Pesca.** Editorial Continental S.A. de C.V., México.41-49 pp. 1985.
- [34] ROMERO, P.; ROBERTO, C.; MASSONS, S. Composición de Ácidos Grasos y Aporte de Colesterol de la Carne de Jurel, Sardina, Salmón y Atún al Natural. **Arch. Latin. Nutri.** 46 (1): 75-77. 1996.
- [35] RUIZ, C.; MORAL, A.. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L.) store in ice. **J. Food Sci.** 66(7): 1030-1032. 2001.
- [36] SATO, M.; TAO, Z.; SHIOZAKI, K.; NAKANO, T.; YAMAGUCHI, T.; YOKOYAMA, T.; KAN-NO, N.; NAGAHISA, E.. A simple and rapid method for the analysis of fish histamine by paper electrophoresis. **Fisheries Sci.** 72(4): 889-892. 2006.
- [37] SETIYONO, I. Factors Affecting Histamine Level in Indonesian Canned Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*). Department of Marine Biotechnology. Norwegian Collage of Fishery Science. University of Tromso, Norway. Degree Thesis. 72pp. 2006.
- [38] SHAKILA, R.; JEYASEKARAN, G.; VYLA, S.; KUMAR, R.. Efect of delayed processing on changes in histamine and other quality characteristics of 3 commercially canned fishes. **J. Food Sci.** 70 (1): 24-29.2005.
- [39] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. SAS. User's Guide. Versión 8,1. Cary, Nort Caroline. 1999.
- [40] VECIANA, M.; MARINE, A.; VIDAL, M. Biogenic Amines in Fresh and Canned Tuna. Effects of Canning on Biogenic Amine Contents. **J. Agric. and Food Chem.** 45 (11): 4324-4328. 1997.
- [41] WAYNE, D. Análisis de la variancia. **Bioestadística.** 4ta Ed. Editorial LIMUSA S.A. México D.F. 755 pp. 2002.