

# EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA Y CONTENIDO DE HISTAMINA EN PESCADO DESMENUZADO PRECOCIDO EN VENEZUELA

## Bacteriological Evaluation and Histamine Content in Minced Pre-cooked Fish in Venezuela

Pedro Izquierdo<sup>1</sup>, Lisette Sandra<sup>2</sup>, María Allara<sup>1</sup>, Peggy González<sup>1</sup>, Aiza García<sup>1</sup> y Yalitz Valcillos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias.

<sup>2</sup> Práctica Profesional de Bacteriología, Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

E-mail: izquier@cantv.net. lsandra@cantv.net; allara2004@hotmail.com ; gtorres@luz.ve

### RESUMEN

Se determinó la calidad bacteriológica y el contenido de histamina en tres marcas comerciales (A, B, C) de pescado desmenuzado precocido (mojito) disponible en la ciudad de Maracaibo. Se analizaron 42 muestras (14 de cada marca, tres muestras), a las cuales se determinó Coliformes Totales (CT), *Escherichia coli* (EC), Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM) y Microorganismos Psicrófilos (MP), según COVENIN; bacterias productoras de histamina (BPH), según Niven modificado por Yoshinaga. Concentración de histamina e histidina, por Cromatografía Líquida de Alta Resolución. El RAM varió entre 4,7 y 7,6 y MP entre 5,6 y 7,9 log UFC/g. Las marcas A y B estuvieron por encima de los límites permitidos por COVENIN y el Servicio Nacional de Pesca de Chile (SERNAPESCA). Los valores de CT variaron entre 2,3 y 2,8 log NMP/g, las tres marcas sobrepasaron los límites establecidos por SERNAPESCA. En las marcas A y B se aislaron EC, en límites inferiores a la norma COVENIN, no así para SERNAPESCA, la cual establece que ésta no debe encontrarse. Las BPH en las marcas A y B pertenecían principalmente a la familia *Enterobacteriaceae*, con porcentajes de 65,38 y 55,55, respectivamente, mientras que en C se observó igual proporción de enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores de la glucosa (BGNNFG), 42,85%. No se detectaron concentraciones de histamina e histidina. En conclusión las marcas A y B, presentaron una deficiente calidad bacteriológica, posiblemente debido al proceso de desmenuzado manual. La presencia de BPH sugiere contaminación post-cocción durante el desmenuzado.

**Palabras clave:** Pescado desmenuzado precocido, calidad bacteriológica, histamina, histidina.

### ABSTRACT

The objective of this study was to determine bacteriological quality and histamine content in three commercial brands (A, B, C) of minced pre-cooked fish available in Maracaibo. 42 samples were analyzed (14 of each brand). Total coliforms (TC), *Escherichia coli* (EC), aerobic mesophilic plate count (AMPC), and psychrophilic microorganism (PM), were determined according to COVENIN standards. Histamine producing bacteria (HPB) using Niven's method modified by Yoshinaga, and Histamine and Histidine concentration by High Performance Liquid Chromatography were utilized. AMPC value varied between 4.7 and 7.6 log CFU/g. PM varied between 5.6 y 7.9 log CFU/g. When comparing results obtained with established values by COVENIN and SERNAPESCA norms, it was observed that brands A and B were higher than permissible limits. TC count varied between 2.3 y 2.8 log MPN/g, all brands had higher values than those established by SERNAPESCA. Regarding EC, in brands A and B *Escherichia coli* strains were isolated, while in brand C this microorganism was not detected. When compared with COVENIN norms, obtained values were lower, while SERNAPESCA established that *Escherichia coli* should not exist. Concentrations of histamine and histidine were not detected. HPB in brands A and B were mostly *Enterobacteriaceae* with percentages between 65.38 and 55.55%, respectively, while in brand C similar percentages of enterobacteria and Gram-negative non-glucose fermentating bacilli (42.85%) were detected. It was concluded that brands A and B had low bacteriological quality. The presence of HPB suggests post-cooking contamination.

**Key words:** Minced pre-cooked fish, bacteriological quality, histamine, histidine.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años el pescado y los productos derivados de la pesca, han registrado un incremento en su consumo, debido principalmente al elevado valor nutritivo que estos poseen, ya que son ricos en proteínas (entre 15 y 17%), vitaminas liposolubles A, D y E, y su contenido en grasas es bajo, principalmente representado por ácidos grasos poliinsaturados, en particular, de la serie omega 3, que han sido relacionados con la prevención de enfermedades cardiovasculares [9, 24, 35].

El aumento en el consumo de alimentos derivados de la industria pesquera, ha generado un incremento en la fabricación y la disponibilidad en el mercado de nuevos productos. Entre estos, el pescado desmenuzado precocido (mojito), que se expende en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, y en otras ciudades del país, es elaborado principalmente mediante técnicas artesanales, a partir de una o varias especies de pescado, que una vez lavados y eviscerados, son cocinados a 100°C durante 10 min, desmenuzados en forma manual o en algunos casos en forma automatizada, empacados en bolsas de vinilo o plástico y congelados a -18°C para su distribución al consumidor.

Una inadecuada manipulación y conservación del pescado y de los productos obtenidos a partir de éste, favorece la contaminación y proliferación de microorganismos, que no sólo podría afectar de manera directa la salud del individuo, produciendo infecciones gastrointestinales, sino también de manera indirecta a través de sus productos o metabolitos, entre los que se encuentran las aminas vasoactivas o aminas biógenas (histamina, putrescina, cadaverina), todas éstas causantes de desordenes gastrointestinales, neurológicos y hemodinámicos [1, 7, 27].

Las bacterias productoras de aminas biógenas como la histamina, no forman parte de la microflora normal del intestino, piel o agallas de los peces marinos recién capturados, en la mayoría de los casos se produce la contaminación del pescado por prácticas higiénicas deficientes durante la captura, o están frecuentemente asociadas con el ambiente marino [20, 28], por lo que se ha señalado que la presencia de histamina en un alimento es un indicador de una deficiente calidad microbiológica [23].

Adicionalmente, la manera como se manipula el pescado determina el crecimiento de bacterias productoras de histamina a partir de la descarboxilación de la histidina [5, 21, 32]. Entre los factores que influyen en la formación de este compuesto, se encuentra la temperatura: se ha recomendado el uso de temperaturas de refrigeración inferiores a 5°C, para inhibir la formación de histamina [9, 18].

A pesar de que en Venezuela se ha promulgado una norma que regula la elaboración de pulpa de pescado fresco [13], hasta el presente no existen normas para la elaboración del pescado desmenuzado precocido (mojito), que puedan garantizar la calidad del producto, por lo que este estudio tuvo por objetivo determinar la calidad bacteriológica y la presencia

de histidina e histamina en el pescado desmenuzado precocido que se expende en la ciudad de Maracaibo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de las muestras

Se recolectaron 42 muestras de pescado desmenuzado precocido (mojito), de 3 marcas comerciales (denominadas A, B y C), en un expendio ubicado en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia. Las especies de pescado utilizadas para la elaboración del mojito fueron chucho (*Aetobatus freminvillei*), curvinata (*Cynoscion leiarchus*) y tahalí (*Trichurus lepturus*).

En cada muestreo se adquirieron 14 muestras de cada marca, con fechas de expedición similares, correspondientes a empaques de diferentes lotes de elaboración. Se realizaron 3 muestreos con un intervalo de 2 semanas. Una vez obtenidos los empaques fueron colocados en una cava portátil, para ser trasladados al laboratorio, donde se dejaron a temperatura ambiente hasta su descongelación, y fueron procesados en un lapso inferior a 2 horas. Los análisis se realizaron por duplicado.

### Determinaciones Bacteriológicas

Las muestras fueron previamente preparadas siguiendo la metodología propuesta por Covenin 1126 [12]; se pesaron 10g de cada muestra y se homogeneizaron en 90 mL de agua peptonada 0,9%. A partir de esta dilución ( $10^1$ ) se prepararon diluciones seriadas desde  $10^2$  hasta  $10^5$ , determinándose Coliformes Totales (CT) y *Escherichia coli* (EC) por la técnica del Número más Probable en serie de 3 tubos de caldo lauril sulfato triptosa y caldo lactosa, bilis verde brillante respectivamente, según la Norma Covenin 1104 [14]. Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM) y Psicrófilos (MP) en agar recuento en placa, según la norma Covenin 902 [15].

Para la determinación de bacterias productoras de histamina (BPH) se sembraron las diluciones en agar Mc Conkey (MC) y agar eosina azul de metileno (EMB). Las colonias fermentadoras y no fermentadoras de la lactosa (aisladas de MC) y violeta azuladas (aisladas de EMB) fueron inoculadas en Caldo de Niven [36] modificado por Yoshinaga y col. [43], incubado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas, con la finalidad de determinar la capacidad de las cepas, de descarboxilar la histidina en histamina. La positividad de la reacción se observó por la formación de un anillo de color rojo en la parte superior del tubo y/o por la presencia de gas en el tubo Durham.

Las cepas que resultaron positivas en el medio de Niven modificado, fueron transferidas a tubos de Agar Conservación y se les realizaron pruebas bioquímicas para identificar las especies [34].

### Determinación de histidina e histamina

La preparación de la muestra se realizó siguiendo la metodología propuesta, para su análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), por Gouygou y col. [22]. Para

esto se homogeneizaron 50g de mojito en 100 mL de ácido tricloracético al 10%, que fue filtrado en papel Whatman Nº 1, y luego un filtro Millipore de 0,45 µm de poro. El filtrado se colocó en viales de plástico tapados y almacenados a 4°C.

Con la finalidad de formar un compuesto fluorescente, se mezclaron 135 µL del filtrado con 1,86 mL de agua destilada y 0,4 mL de NaOH 0,1N, incubados por 1 minuto protegido de la luz. Transcurrido dicho tiempo, se agregó 0,1 mL de orto-ftalaldehído (OPA) y a los 4 min se adicionó 0,2 mL de HCl 3N; de esta mezcla se tomaron 20µL que fueron inyectados en el equipo de CLAR.

Se preparó un estándar de 20 ppm a partir de patrones de histidina e histamina de alta pureza (Sigma Chem, Co. USA). La formación de derivados fluorescentes a partir de los estándares se realizó de la misma manera que las muestras.

Se utilizó un equipo de CLAR constituido por una válvula de inyección Rheodyne®, equipada con un loop de 20 µL de capacidad, una bomba Shimadzu® modelo LC-6A, una columna de fase reversa Merck® RP-18 Lichrosper de 12,5 cm de longitud por 4,5 mm de diámetro interno, el tamaño de las partículas de sílica fue de 5 µm, un detector de fluorescencia marca Shimadzu® modelo FLD-6A. Para el registro de los resultados se utilizó el software cromatográfico Class-VP de la marca Shimadzu®.

#### Análisis estadístico

Se aplicó el Análisis de Varianza (ANOVA) mediante el procedimiento del Modelo Lineal General del paquete estadístico SAS [39]. Las variables (RAM, MP), fueron transformadas a log UFC/g, CT y EC a log NMP/g. Se aceptaron diferencias a un nivel de 5% de probabilidad. Se utilizó el procedimiento de separación de medias por mínimos cuadrados (LS means) del mismo paquete estadístico para la determinación de los valores promedios en cada una de las variables estudiadas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Recuento de aerobios mesófilos (RAM)

En la TABLA I, se presentan los valores promedios de los recuentos obtenidos para la variable RAM del pescado

desmenuzado precocido (mojito), observándose valores entre 4,7 y 7,6 log UFC/g. Las marcas A y B resultaron diferentes ( $P<0,05$ ) de C, por presentar las dos primeras, recuentos más elevados. Al comparar los resultados con lo exigido por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN 3086) [13] para la pulpa de pescado cruda y congelada, que establece valores máximos de 7 log UFC/g, se observa que las marcas A y B estuvieron por encima de los límites máximos, al igual que para el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA) [33] de Chile para pescado cocido y congelado, que establece valores máximos de 6 log UFC/g.

La diferencia existente entre las marcas A y B con respecto a C, podría ser atribuida a que el proceso de desmenuzado de las dos primeras fue realizado en forma manual, en comparación con la marca C cuyo proceso es automatizado.

El proceso de precocción con el cual se trató la pulpa de pescado antes de ser desmenuzado, pudo haber eliminado la carga microbiana existente, pero a pesar de ello, el RAM fue elevado, ésto podría ser indicativo de contaminación posterior del pescado, es decir, durante el procesamiento, principalmente el desmenuzado manual, como lo han sugerido algunos autores [6, 17, 29].

#### Recuento de Microorganismos Psicrófilos (MP)

La carga microbiana para la variable MP varió entre 5,6 y 8,1 log UFC/g (TABLA I). Las marcas A y B resultaron diferentes ( $P<0,05$ ) a la marca C, por presentar las dos primeras recuentos mayores. Los elevados recuentos observados en las marcas A y B indican una calidad microbiológica inaceptable del pescado desmenuzado precocido, al ser comparados con las Normas Covenin 3086 [13] y Sernapesca [33], que establecen valores máximos de 7 y 6 log UFC/g respectivamente.

La presencia microorganismos psicrófilos durante el almacenamiento en refrigeración y congelación es considerada como la causa principal del deterioro de los alimentos durante su almacenamiento [31]. Estudios realizados por Venugopal y col. [42] reportan la capacidad de estos microorganismos de hidrolizar y degradar las proteínas a bajas temperaturas y causar deterioro en el pescado.

TABLA I

#### ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE LAS DIFERENTES MARCAS DE PESCADO DESMENUZADO PRECOCIDO (MOJITO)

Variable	Marca			Covenin** Máx.	Sernapesca* Máx.
	A	B	C		
RAM+	7,6 <sup>b</sup>	7,2 <sup>b</sup>	4,7 <sup>a</sup>	7,0	6,0
MP+	7,9 <sup>b</sup>	8,1 <sup>b</sup>	5,6 <sup>a</sup>	7,0	6,0
CT*	2,8 <sup>b</sup>	2,3 <sup>a</sup>	2,5 <sup>ab</sup>	-	1,0
EC*	1,4 <sup>b</sup>	0,9 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	2,0	Ausente

Medias seguidas de letras distintas en una misma fila son estadísticamente diferentes ( $P<0,05$ ). +log UFC/g. \*log NMP/g. RAM: Recuento de aerobios mesófilos. MP: Microorganismos psicrófilos. CT: coliformes totales. EC: *Escherichia coli*. \*\*COVENIN [13]. \*Sernapesca [33].

### Coliformes

En la TABLA I se observan los valores promedios para los CT y EC de las tres marcas estudiadas de pescado desmenuzado precocido. Con relación a la variable CT, las marcas A y B, son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ), todas las marcas presentaron un recuento de CT superior al permitido por la norma Sernapesca [33].

En relación con el recuento de EC se observa (TABLA I) que en las marcas A y B se aislaron cepas de *E. coli*, mientras que en la marca C no se detectaron. Al compararlo con la norma Covenin 3086 [13], los valores obtenidos no sobrepasan los límites máximos permitidos para pulpa de pescado precocida congelada, mientras que la norma Sernapesca [33] establece que no deben aislarse cepas de *E. coli* en pescado cocido congelado.

Un recuento considerable de coliformes, en alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, indica que existió contaminación posterior al tratamiento [16]. Las especies de pescado utilizadas para la elaboración del mojito, fueron tratadas con calentamiento ( $100^{\circ}\text{C} \times 10 \text{ min.}$ ) antes de ser desmenuzadas, lo que garantiza la destrucción de los microorganismos que forman parte de la flora del pescado o que pudieran haberse adquirido durante la manipulación del mismo salvo los esporulados. Sin embargo, esta contaminación es posible que ocurra si el pescado es desmenuzado utilizando para ello un personal no entrenado sobre las condiciones requeridas para la manipulación de alimentos, como es el uso de guantes, tapabocas y vestimenta adecuada, entre otros. Además podría ser causado por factores como el ambiente de trabajo sin los equipos o materiales necesarios y una ventilación insuficiente.

### Bacterias productoras de histamina

La TABLA II, presenta las bacterias productoras de histamina (BPH) aisladas para las tres marcas analizadas. En la marca A se encontró el mayor número de BPH, 26, seguido de la marca C y B, con 21 y 18, respectivamente. En las marcas A y B se observó un predominio de la familia Enterobacteriaceae, con porcentajes de 65,38 y 55,55, respectivamente, mientras que en C se observó igual proporción de enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores de la glucosa (BGNNFG), 42,85%. En relación con la familia Vibrionaceae, la marca B representó el 44,44% de los aislamientos, mientras que en C 14,28% y no se aislaron en A. En B no se aislaron BPH pertenecientes a BGNNFG, mientras que en A y C se aisló un 30,76% y 42,85% respectivamente.

Resultados similares han sido reportados por otros autores, quienes en sus estudios encontraron un predominio de BPH de la familia Enterobacteriaceae sobre las BGNNFG [19].

En la marca A, la BPH aislada con mayor frecuencia fue *P. aeruginosa*, con 30,76%, seguida de *K. pneumoniae* y *E. coli*, ambas en un 23%, mientras que en B *Aeromonas* sp. representó el 44,44%, seguida de *K. pneumoniae* (22,22%) y en C se aisló con mayor frecuencia *Acinetobacter* spp. (42,85%) y *P. mirabilis* (23,80%). De las BPH aisladas, *K. pneumoniae* ha sido clasificada según Carranza [8] como productora de elevadas concentraciones de histamina. Por otra parte, se ha reportado que *Hafnia alvei* está implicada en la producción de niveles toxicológicamente significativos de histamina en pescado, cuando el tiempo y la temperatura favorecen su crecimiento [41].

Estos resultados son similares a los reportados por López y col. [29] en atún aleta azul (*Thunnus thynnus*), quienes encontraron BPH tales como *Aeromonas* spp., *Enterobacter*

TABLA II  
BACTERIAS PRODUCTORAS DE HISTAMINA (BPH) EN PESCADO DESMENUZADO PRECOCIDO

Familia o grupo Bacteriano	Especie	Marca					
		A		B		C	
		n	%	n	%	n	%
Enterobacteriaceae	<i>Hafnia alvei</i>	2	7,69	1	5,55	3	14,28
	<i>K. pneumoniae</i>	6	23	4	22,22	–	–
	<i>Escherichia coli</i>	6	23	3	16,66	–	–
	<i>E. cloacae</i>	3	11,53	2	11,11	1	4,76
	<i>Proteus mirabilis</i>	–	–	–	–	5	23,80
	<b>Subtotal</b>	<b>17</b>	<b>65,38</b>	<b>10</b>	<b>55,55</b>	<b>9</b>	<b>42,85</b>
Vibrionaceae	<i>Aeromonas</i> sp.	1	3,8	8	44,44	3	14,28
	<b>Subtotal</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	<b>8</b>	<b>44,44</b>	<b>3</b>	<b>14,28</b>
Bacilos Gram (–) no fermentadores de glucosa	<i>P. aeruginosa</i>	8	30,76	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp.	–	–	–	–	9	42,85
	<b>Subtotal</b>	<b>8</b>	<b>30,76</b>	<b>–</b>	<b>–</b>	<b>9</b>	<b>42,85</b>
	<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>

spp., *Citrobacter* spp. Los mismos autores, reportaron en pescados escombridos *Morganella morganii*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* y *Enterobacter agglomerans* [30]. Por otra parte, Yoshinaga y Frank [43] aislaron de atún skipjack (*Katsuwonus pelamis*): *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Vibrio alginolyticus*, así como *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas putrefaciens* y *Vibrio* en macarela (*Scomberomorus maculatus*) [32], algunas de estas especies coinciden con las encontradas en este estudio.

Izquierdo y col. [25], aislaron en tres especies de pescado, armadillo (*Hipostomus watwata*), bocachico (*Pochilodus reticulatus*), y lisa (*Mugil curema*), de elevado consumo en Venezuela, las BPH *Aeromonas* spp. en lisa, *Escherichia coli*, y *Enterobacter* spp. en armadillo y *Citrobacter* spp., *Plesiomonas shigelloides* y *Escherichia coli* en bocachico. Las BPH encontradas en esas especies estudiadas podrían ser el resultado de la recontaminación post mortem, puesto que no constituyen parte de su microflora natural.

Durante el procesamiento del mojito, la flora que forma parte del pescado es destruida por el tratamiento térmico aplicado, lo que indica que las BPH encontradas en la presente investigación corresponderían al resultado de la contaminación durante la manipulación del pescado después de este tratamiento térmico por manipulación deficiente y contaminación cruzada.

### Histidina e histamina

En la presente investigación no se detectaron concentraciones de histidina libre ni histamina en las 42 muestras analizadas de pescado desmenuzado precocido. El contenido de histidina libre varía de acuerdo a las especies de pescado; en las especies con carne relativamente oscura, tales como los llamados escombridos, es elevado (entre 200 y 800 mg/100g) [4] en relación con los de carne blanca (entre 20 y 80 mg/100g) [26], que constituyen las especies utilizadas para la elaboración del mojito, según información suministrada por los procesadores.

Adicionalmente, el tratamiento térmico al cual es sometido el pescado, puede causar pérdida de aminoácidos libres por efecto de disolución y difusión [2, 3, 9, 37]. Cuando el pescado se cocina alrededor de los 100°C, sus proteínas se coagulan, y se produce la ruptura de la membrana, que da lugar a la liberación de agua fisiológicamente ligada arrastrando cantidades importantes de aminoácidos libres [10, 11, 29, 38].

El proceso de congelación del pescado puede producir desnaturalización de las proteínas, y disminución de su solubilidad y de la capacidad de retención del agua del músculo, originando el exudado, que permite la pérdida de los componentes solubles [24]. Por otra parte, se ha reportado que al conservar el pescado a 4°C, se detiene la liberación de histidina posiblemente por inhibición de enzimas proteolíticas, así como también, se inhibe la autólisis que pudiera explicar que la pro-

ducción de histamina se detenga por una limitación en la provisión del sustrato [19, 40].

### CONCLUSIONES

Las marcas A y B de pescado desmenuzado precocido (mojito) estudiadas en la presente investigación, mostraron una deficiente calidad desde el punto de vista bacteriológico, al exceder los valores máximos permitidos para recuento de aerobios mesófilos, microorganismos psicrófilos, coliformes totales y fecales.

En las tres marcas se aislaron bacterias potencialmente productoras de histamina, detectándose el mayor número de estas en la marca A y B (proceso manual) en relación con C (proceso automatizado).

La bacteria potencialmente productora de histamina detectada con mayor frecuencia en las muestras estudiadas fue *Acinetobacter* spp. en la marca C, seguida de *P. aeruginosa* en la marca A y *Aeromonas* spp. en la marca B.

A pesar de que en las tres marcas estudiadas se identificaron bacterias potencialmente productoras de histamina, este compuesto químico ni su aminoácido precursor fueron detectados considerando los límites de detección del cromatógrafo.

### RECOMENDACIONES

Se recomienda estudiar la calidad microbiológica, nutricional y la concentración de histamina en las especies de pescado utilizadas para la elaboración del mojito antes de ser sometidos al tratamiento térmico.

Cuantificar otras aminas biógenas que potencialmente pudieran estar presentes en este tipo de producto, como es el caso de triptamina, cadaverina, feniletilamina y putrescina.

Debido a la ausencia de una normativa para el pescado desmenuzado precocido congelado en Venezuela, se recomienda ampliar los conocimientos en relación a este producto con la finalidad de implementar normativas para el control higiénico durante su elaboración.

### AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia por su apoyo financiero.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABABOUC, L.; AFILAL, M.; RHAFIRI, S.; BUSTA, F. Identification of histamine-producing bacteria isolated from sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature (25°C). *J. Food Microb.* 8 (2): 127-136. 1992.

- [2] ADONIN, A.L. Effect of heating on nutritional value of meat proteins. **Proceeding of the European meeting of meat**. 20 (II): 182 – 184. 1980.
- [3] ANDERSON, L.; DIBLLE, M.; TURK, P.; MITCHELL, H.; RYNBERSEN, H. Nutrición y Dieta de Cooper. 17<sup>ma</sup> Ed. Nueva Edit. Interamericana. México. 12– 249 pp. 1986.
- [4] ARNOLD, S.H.; BROWN, W.D. Histamine (?) toxicity from fish products. **Adv. Food Res.** 24: 113. 1978.
- [5] BEHLING, A.; TAYLOR, S. Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. **J. Food Sci.** 47 (4): 1311-1314. 1982.
- [6] BELLO, R. Estabilidad de la pulpa de Cachama (*Colosoma macropomus*) procesada y almacenada en refrigeración. Universidad Central de Venezuela. (Trabajo especial de Grado). Caracas. Venezuela. 80-104 pp. 1987.
- [7] BEN-GIGIREY, B.; CRAVEN, C.; AN, H. Histamine formation in Albacore muscle analyzed by AOAC and enzymatic methods. **J. Food Sci.** 63 (2): 210-214. 1998.
- [8] CARRANZA, G. Toxicidad de los alimentos por mutágenos e histamina. **Not. Div. Cienc. Tec.** 1 (1): 44-51. 1991.
- [9] CHEFTEL, J.C. **Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. Editorial Acribia, Zaragoza. España. Vol I. Capitulo II y III 65-68, pp. 239-247, 1976.
- [10] CHENG, C.S.; HAMANN, D.D.; WEBB, N.B. Effect of thermal processing on minced fish gel texture. **J. Food Sci.** 44 (4): 1080 -1086. 1979.
- [11] CHONG, L.; TOLEDO, R. Factors affecting textural characteristics of cooked comminuted fish muscle. **J. Food Sci.** 41 (2): 391 – 397. 1976.
- [12] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Primera Revisión. **Norma 1126-89**. Ministerio de Fomento. Caracas-Venezuela. 1989.
- [13] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). Pulpa de Pescado. Requisitos. **Norma 3086-96**. Ministerio de Fomento. Caracas-Venezuela. 1996.
- [14] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Alimentos. Determinación de Numero más Probable de Coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*. Primera Revisión. **Norma 1.104-84**. Ministerio de Fomento. Caracas-Venezuela. 1984.
- [15] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Alimentos. Método para recuento de Microorganismos aerobios en placas de petri. Primera Revisión. **Norma 902-82**. Ministerio de Fomento. Caracas-Venezuela. 1982.
- [16] COX, P.M. **Deep Freezing**. Faber and Faber. Eds. Rome. 40-44 pp. 1975.
- [17] CRAPO, C.; HIMELBLOOM, B. Spoilage and Histamine in whole pacific herring (*Clupea harengus pallasii*) and pink Salmón (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets. **J. Food Safety.** 19 (1): 45 – 55. 1999.
- [18] DE SOUSA, V.; BYAN, M. Las aminas biógenas como medida de la calidad de productos pesqueros. **Alimentaria.** 2 (32): 51 – 58. 1991.
- [19] FLETCHER, G.; SUMMERS, G.; WINCHESTER, R.; WONG, R. Histamine and Histidine in New Zealand Marine Fish and Shellfish species, particularly Kahawai (*Arripis trutta*). **J. Aquatic Food Product Technol.** 4 (2): 53 – 74. 1995.
- [20] FRANK, H. **Histamine forming bacteria in tuna and other marine fish**. FAO Fisheries. Rome. Tech Paper. Supl 252: 2 – 3. 1985.
- [21] FUJII, T.; KURIHARA, K.; OKUZUMI, M. Viability and Histidine Decarboxylase Activity of Halophilic Histamine-Forming bacteria during frozen storage. **J. Food Prot.** 57 (7): 611 – 613. 1994.
- [22] GOUYGOU, J.P.; SINQUIN, C.; DURAND, P. High pressure liquid Chromatography determination of Histamine in fish. **J. Food Sci.** 52 (4): 925–927. 1987.
- [23] GREIF, G.; GREIFOVA, M.; DRDAK, M. Determination of biogenic amines in foods of animal origin by HPLC. **Czech J. Food Sci.** 15(2): 119 – 129. 1997.
- [24] HARRIS, W.; CONNOR, W.; MC MURRY, M. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats: salmon oil versus vegetable oils. **Metabolism.** 32: 179-184. 1983.
- [25] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; FERNANDEZ, A.; PAULINKEVICIUS, M.; FUENMAYOR, J. Bacterias productoras de histamina en tres especies de pescado. **Rev. Cientif. FCV-LUZ XI** (5): 431-435. 2001.
- [26] KONOSU, S.; YAMAGUCHI, K. **The flavor components in fish and Shellfish. In Chemistry and Biochemistry of marine food products**. Martin, R.; Flick, G.; Herbard, Ch.; Word, D. (Eds). Avi. Publishing Company. Westport Connecticut. 347 pp. 1981.
- [27] LEITAO, M.; RÍOS, D.; GUIMARAES, J.; BALDINI, V.; MAINARDES, L. Chemical and Microbiological changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) stored under refrigeration at 5°C. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos.** 17 (2): 160-166. 1998.
- [28] LÓPEZ-SABATER, E.; MORA-VENTURA, M.; RODRÍGUEZ-JEREZ, R.; ROIG-SAGUEZ, M. Determination of histamine in fish using an enzymatic method. **Food Add. Cont.** 10 (5): 593-602. 1993.

- [29] LÓPEZ-SABATER, E.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M.; ROIG-SAGUÉS, A.; MORA-VENTURA, M. Bacteriological quality of Tuna fish (*Thunnus Thynnus*) destined for canning: effect of Tuna handling on presence of Histidine decarboxylase bacteria and Histamine level. **J. Food Prot.** 57 (4): 318 – 323. 1994.
- [30] LÓPEZ-SABATER, E.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M.; MORA-VENTURA, M. Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. **Int. J. Food Microb.** 28 (3): 411-418. 1996.
- [31] MAKARIOS-LAHAM, I.K.; TUNG-CHING L. Protein Hydrolysis and Quality deterioration of refrigerated and frozen Seafood due to obligately Psychrophilic bacteria. **J. Food Sci.** 58 (2): 310 – 313. 1993.
- [32] MIDDLEBROOKS, B.; TOOM, P.; DOUGLAS, W.; HARRISON, R.; MCDOWELL, S. Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*). **J. Food Sci.** 53 (4): 1024-1029. 1988.
- [33] MINISTERIO DE ECONOMÍA. NORMA TÉCNICA CER/NT 1/95 Y CER/NT 2/96. **Servicio Nacional de Pesca.** Chile. 1993.
- [34] MURRAY, P.; BARON, E.; PFALLER, M.; TENOVER, F.; YOLKEN, R. (Ed). **Manual of Clinical Microbiology.** ASM Press. 7ª Ed. Washington D.C. 604 – 613 pp. 1999.
- [35] NAVARRO, M. Valor Nutritivo del pescado. I. Pescado fresco. **Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.** 31 (I): 330-342. 1991.
- [36] NIVEN, C.F.; JEFFREY, M.B.; CORLETT, D.A. Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 41: 321. 1981.
- [37] PAN, B.; JAMES, D. Histamine in marine products: production of bacteria, measurement and prediction of formation. **FAO Fish Tech. Papers.** Rome. Supl. 252: 40-44. 1985.
- [38] ROCHABRUM, J. Procesamiento de productos pesqueros. **IX Curso Internacional de Tecnología de procesamiento de productos pesqueros.** Programa de Conservación. 128 pp. Marzo 1993.
- [39] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). Version 6,0. **User's guide: Statistic.** Carry Editors. 5<sup>th</sup> Ed. USA. 1985.
- [40] STOKNES, I.; RUSTAD, T. Proteolytic activity in Muscle from Atlantic Salmon (*Salmo Salar*). **J. Food Sci.** 60 (4): 711 – 714. 1996.
- [41] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins Handbook.** Chapter 7. Scombrotaxine (Histamine) formation. 73- 90 pp. 1999.
- [42] VENUGOPAL, V.; PANSARE, A.C.; LEWIS, N.F. Inhibitory effect of food preservative on protease secretion by *Aeromonas hydrophila*. **J. Food Sci.** 49 (4): 1078-1082. 1984.
- [43] YOSHINAGA, D.H.; FRANK, H.A. Histamine-Producing bacteria in Decomposing Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Appl Environ. Microbiol.** 44(2): 447-452. 1982.