

Universidad Nacional "José Faustino Sánchez Carrión"



FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA Y METALÚRGICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA QUIMICA

TESIS

"Determinación de Histamina en muestras de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en la Empresa Pesquera Exalmar S.A. - Carquin 2018"

PRESENTADO POR:

MARIA ELIZABETH RIVERA FIGUEROA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO

ASESOR:

Ing. EDWIN GUILLERMO GALVEZ TORRES
Reg. C.I.P. N° 19027



Ciudad Universitaria, Noviembre del 2020

Huacho - Perú

2020

DEDICATORIA

Dedico esta tesis en honor a mi abuelita Laura, fallecida a sus 83 años, su amor fue para mí invaluable, un pilar fundamental en mi formación como persona y como profesional.

A mi madre y tía Victoria, porque sus esfuerzos han sido impresionantes, quienes me han educado y me han proporcionado todo aquello que he necesitado. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba, sin dudar ni un solo momento de mi capacidad. Es por ellas que soy lo que soy ahora. Las amo con mi vida.

Y a mis hermanos Abner y Esther que siempre me alentaron para lograr este objetivo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por sobre todas las cosas, por haberme dado fuerza y confianza para poder lograr mis objetivos y por permitirme realizar este proyecto satisfactoriamente.

Agradezco mi madre porque me inculco que la educación es la base para poder salir adelante, apoyarme e impulsarme a ser cada día mejor. A mi tía Victoria, por apoyarme en mis épocas universitarias brindándome apoyo moral y emocional para lograr cada uno de mis objetivos A mi querida Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión del cual me siento orgullosa por cobijarme durante 5 años en las aulas de la Facultad de Ingeniería Química donde fui formada como profesional para servir al pueblo con los conocimientos adquiridos. Agradezco a mi asesor de tesis el Ing. Gálvez Torres Edwin G. por apoyarme hasta la culminación de mi proyecto de tesis. A mis amistades y ahora colegas que me ayudaron a seguir adelante y culminar con éxito mi carrera profesional con el fin de servir a la sociedad.

INDICE

| | Pág. |
|--|-------------|
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTOS | iii |
| INDICE GENERAL | iv |
| INDICE DE FIGURAS | ix |
| INDICE DE TABLAS | x |
| RESUMEN | xi |
| ABSTRACT | xii |
| INTRODUCCIÓN | xiii |
| CAPÍTULO I:PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 1 |
| 1.1. Descripción de la realidad problemática | 1 |
| 1.2. Formulación del Problema | 6 |
| 1.2.1. Problema general..... | 6 |
| 1.2.2. Problemas específicos | 6 |
| 1.3. Objetivos | 7 |
| 1.3.1. Objetivo general | 7 |
| 1.3.2. Objetivos específicos..... | 7 |
| 1.4. Justificación de la Investigación | 7 |
| 1.4.1. Justificación técnica | 7 |
| 1.4.2. Justificación económica | 8 |
| 1.4.3. Justificación social | 8 |

| | | |
|-----------------------------|--|---------------------------------------|
| 1.5. | Delimitaciones de estudio | 8 |
| 1.5.1. | Delimitación temporal..... | 8 |
| 1.5.2. | Delimitación espacial | 8 |
| 1.5.2. | Delimitación académica | 8 |
| 1.6. | Viabilidad del Estudio..... | 8 |
| 1.6.1. | Viabilidad de recurso teórico | 8 |
| 1.6.2. | Viabilidad de recurso humano..... | 9 |
| CAPITULO II : MARCO TEORICO | | 10 |
| 2.1. | Antecedentes de la investigación | 10 |
| 2.1.1. | Internacionales..... | 10 |
| 2.1.2. | Nacionales | 12 |
| 2.2. | Bases Teóricas..... | 1;Error! Marcador no definido. |
| 2.2.1. | Aminas Biógenas..... | 15 |
| 2.2.1.1. | Definición..... | 15 |
| 2.2.1.2. | Clasificación..... | 16 |
| 2.2.1.3. | Intoxicaciones alimentarias causadas por aminas biógenas | 18 |
| 2.2.1.4. | Bacterias implicadas..... | 18 |
| 2.2.2. | Histamina | 19 |
| 2.2.2.1. | Definición..... | 19 |
| 2.2.2.2. | Efectos de la Histamina en el organismo | 20 |
| 2.2.3. | Escombroidosis | 22 |
| 2.2.3.1. | Definición..... | 22 |
| 2.2.3.2. | Características de la intoxicación..... | 23 |

| | |
|--|---------------------------------------|
| 2.2.3.3. Manifestaciones Clínicas | 23 |
| 2.2.3.4. Diagnostico | 24 |
| 2.2.3.5. Tratamiento | 24 |
| 2.2.3.6. Prevención..... | 25 |
| 2.2.4. Métodos Sensoriales..... | 26 |
| 2.3. Definiciones Conceptuales..... | 27 |
| 2.4. Formulación de la hipótesis | 31 |
| 2.4.1. Hipótesis General | 31 |
| 2.4.2. Hipótesis Específicas..... | 31 |
| CAPITULO III : METODOLOGÍA | 32 |
| 3.1. Diseño Metodológico..... | 32 |
| 3.1.1. Tipo | 32 |
| 3.1.2. Enfoque | 32 |
| 3.1.3. Localización | 33 |
| 3.2. Población y Muestra..... | 33 |
| 3.2.1. Población..... | 33 |
| 3.2.2. Muestra..... | 33 |
| 3.2.3. Toma de muestra | 34 |
| 3.2.4. Fundamento del método de análisis | 35 |
| 3.2.5. Procedimiento del análisis..... | 35 |
| 3.2.5.1. Equipos y Materiales..... | ¡Error! Marcador no definido.5 |
| 3.2.5.2. Extracción de la muestra | ¡Error! Marcador no definido.6 |

| | |
|---|---------------------------------------|
| 3.2.5.3. Preparación de la muestra para la lectura..... | ¡Error! Marcador no definido.6 |
| 3.2.5.4. Curva de calibración | ¡Error! Marcador no definido.7 |
| 3.2.5.5. Sensibilidad de la técnica | ¡Error! Marcador no definido.8 |
| 3.3. Operacionalización de variables e indicadores | 38 |
| 3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 40 |
| 3.4.1. Técnicas a Emplear | 40 |
| 3.4.1. Descripción de los Instrumentos | 40 |
| 3.5. Técnicas para el procesamiento de la información | 41 |
| CAPITULO IV : RESULTADOS | 42 |
| 4.1. Curva de calibración | 42 |
| 4.1.1. Resultado de lecturas de absorbancia para la curva de calibración de las concentraciones estándares del kit VERATOX [®] | 42 |
| 4.1.2. Curva de calibración a una longitud de onda de 650nm | 43 |
| 4.2. Cálculo de máximos, mínimos y medianas de las concentraciones en ppm por cada semana de análisis | 44 |
| 4.3. Gráficas representativas de concentraciones en ppm de histamina..... | 44 |
| 4.4. Valores de histamina promedio en ppm por cada puesto..... | 46 |
| 4.5. Gráfica de concentraciones de histamina en ppm, por cada puesto de muestreo | 47 |
| 4.6. Estadística descriptiva de los valores por cada puesto de muestreo | 48 |
| 4.7. Análisis ANOVA | 48 |
| CAPITULO V : RESULTADOS | 50 |
| 5.1. Discusión..... | 50 |

| | | |
|--------------------------------------|---------------------------------|----|
| 5.2. | Conclusiones | 54 |
| 5.3. | Recomendaciones..... | 54 |
| CAPITULO VI : FUENTES DE INFORMACIÓN | | 56 |
| 6.1. | Fuentes bibliográficas | 56 |
| 6.2. | Referencias electrónicas..... | 57 |
| ANEXOS: | | |
| | Anexo 1: Matriz de Consistencia | 60 |

INDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Figura 1. Conserva de Pescado | 5 |
| Figura 2. Estructura química de la histamina. Fuente (Cervantes, 2009) | 20 |
| Figura 3. Concepto de la enfermedad de la histaminosis inducida por los alimentos | 23 |
| Figura 4. Curva de calibración promedio, de los estándares bajo la lectura de 650nm | 43 |
| Figura 5. Valores de histamina en puestos de muestreo en ppm. día 1 | 45 |
| Figura 6. Valores de histamina en puestos de muestreo en ppm. día 2 | 45 |
| Figura 7. Dispersión de histamina en ppm, por cada puesto de muestreo | 47 |

INDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Tabla 1. Aminas biógenas | 16 |
| Tabla 2. Aminas biógenas y sus efectos farmacológicos | 18 |
| Tabla 3. Cronograma de muestreo durante el mes de recolección de muestras | 34 |
| Tabla 4. Resultados promedio de absorbancia de las concentraciones de Histamina estándar del Kit VERATOX | 42 |
| Tabla 5. Análisis descriptivo en ppm de histamina por semana, bajo la totalidad de muestras analizadas | 44 |
| Tabla 6. Valores en ppm por cada puesto de muestreo, bajo la totalidad de muestras analizadas | 46 |
| Tabla 7. Análisis de concentraciones promedio de histamina en ppm, bajo la totalidad de muestras analizadas | 48 |
| Tabla 8. ANOVA de un factor. Comparación de valores de histamina en ppm, de los 8 puestos de venta ASTRACT | 49 |

RESUMEN

Durante mi permanencia en la Empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. se realizó el presente estudio para determinar la concentración de histamina, en pescado fresco de la especie *Coryphaena hippurus*. Las muestras para el análisis se obtuvieron de la Empresa Pesquera Exalmar S.A. ubicada en el Callao, las cuales fueron conseguidas de los puestos de venta de los Mercados Modelo del Callao, Desembarcadero Pesquero Artesanal (DPA) Bahía Blanca, ubicado en Ventanilla (Callao) y Mercado de Chorrillos, empleando un total de 156 muestras, que se analizaron con el kit Veratox[®] para histamina por el método de ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay).

Se encontró, luego del estudio, que un 22,4% del total de las muestras de perico analizadas presentaron valores superiores a los permitidos por la FDA (Food and Drug Administration), el cual refiere como límite permitido 50ppm, lo que indica que la captura de este pescado y su conservación presentan serios problemas con el manejo de frío lo que no cumplen las condiciones ideales de conservación y mantenimiento de este producto para su comercialización y que podría representar un riesgo para la salud del consumidor.

Palabras clave: Histamina, Perico, *Coryphaena hippurus*, Veratox[®].

ABSTRACT

During my tenure at the Inspectorate Services Perú S.A.C. The present study was carried out to determine the histamine concentration in fresh fish of the *Coryphaena hippurus* species. Samples for analysis were obtained from Empresa Pesquera Exalmar S.A. located in Callao, which were obtained from the stalls of the Callao Model Markets, Bahía Blanca Artisanal Fishing Landing (DPA), located in Ventanilla (Callao) and Chorrillos Market, using a total of 156 samples, which were analyzed with the Veratox® kit for histamine by the ELISA method (Enzyme linked immunosorbent assay).

It was found, after the study, that 22.4% of the total analyzed parakeet samples presented values higher than those allowed by the FDA (Food and Drug Administration), which refers to the permitted limit of 50ppm, indicating that the The capture of this fish and its conservation present serious problems with cold handling, which does not meet the ideal conditions for conservation and maintenance of this product for its commercialization and which could represent a risk to the health of the consumer.

Keywords: Histamine, Parakeet, *Coryphaena hippurus*, Veratox®.

INTRODUCCIÓN

Los pescados son ricos en Omega 3 y 6 ayudan a mantener una buena **salud cardiovascular**. Además, el pescado contiene bajos niveles de colesterol, ello permite que sea una buena alternativa para reemplazar la carne, pues contiene menos grasas saturadas y riqueza de grasas poliinsaturadas que favorece la salud de las arterias.

Por otro lado, que el pescado contenga bajas cantidades de grasas saturadas y poco colesterol lo convierte en un alimento que aporta diversos nutrientes y **no engorda**. Incluso hay estudios que señalan que población que consumen más pescados y menos carne tienen menor riesgo a sufrir obesidad y diabetes.

El pescado también es de **fácil digestión** en comparación con la carne roja, pues su concentración de proteínas es menor y contiene menos tejido conjuntivo. Por ello, es recomendable para cualquier persona con algún tipo de problema gastrointestinal.

El consumo de omega 3 está recomendado por autoridades de salud y nutrición de todo el mundo como la (Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Panamericana para la Salud (OPS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) debido a los beneficios nutricionales del consumo de estos ácidos grasos.

Las proteínas que componen la carne del pescado contienen todos los aminoácidos esenciales por lo que es considerada de alto valor biológico. Es un medio muy propicio para el desarrollo de bacterias, algunas de las cuales intervienen en la formación de una variedad de aminas, como resultado de la descarboxilación directa de los aminoácidos. La descarboxilación de la histidina por enzimas bacterianas resulta en histamina, una amina biógena con propiedades tóxicas, en ciertos niveles, para el humano. Normalmente, los pescados involucrados son aquellos con un alto

contenido de histidina libre como los pertenecientes a la familia *Scombridae* y otros distintos como los de la familia *Clupeidae* y *Scaridae*. La mayoría de las bacterias productoras de histamina pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*.

Las aminas biógenas son componentes de tipo orgánico de bajo peso molecular y en su estructura química presentan al menos un grupo amino (Fernandez & Alvarez, 2005). Se producen por descarboxilación de aminoácidos en procesos de putrefacción por acción de enzimas microbianas, por lo que también se consideran indicadores de alteración alimenticia (Sánchez, 2005). Este tipo de compuestos están presentes en los alimentos que se consume habitualmente pudiendo provocar efectos de tipo perjudiciales sobre la salud y dependiendo de su estructura los tipos son: histamina, putrescina, cadaverina etc. (Huss, 1997).

Con relación a la histamina, los alimentos que presentan esta biotoxina son los mariscos, quesos (corteza), carnes (ahumadas), pescados, embutidos, entre otros. (Institut Ferran de Reumatologia , 2010).

La inadecuada manipulación y conservación del pescado crudo favorecen la contaminación y proliferación de microorganismos, que no solo pueden afectar directamente la salud del individuo, sino que también pueden hacerlo de manera indirecta a través de los metabolitos que forman, como en el caso de la histamina a partir de la histidina (Texeira, Azevedo, & Carmona de Sao, 2001). Sin embargo, la carga microbiana propia y la incorporada en los procedimientos post-captura encuentran en el pescado un medio excelente para ser colonizado como es el caso del *Coryphaena hippurus*, considerada una especie con altos niveles de histamina (Iriarte & Torres, 2013). Según la FDA, un pescado es seguro cuando su contenido de histamina se encuentra por debajo de 50ppm. (Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, 2011).

Se desarrolló este estudio en la especie perico, *Coryphaena hippurus*, en el mercado modelo del Callao en la Provincia Constitucional del Callao, con la finalidad de analizar los niveles de concentración de esta amina biógena, debido a que, en este mercado municipal, las condiciones de almacenamiento y distribución de este producto no son las adecuadas.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La intoxicación por histamina causada por el consumo de pescado es una de las intoxicaciones alimentarias transmitidas por el pescado más comunes en el mundo. Por ejemplo, en los Estados Unidos de América (EE.UU.), la intoxicación por histamina a través del pescado representó el 7,6 % de los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos y el 38 % de aquellas específicamente relacionadas con los productos marinos, según los datos sobre los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en ese país de 1990 a 2003 facilitados por el Centro para la Ciencia en Interés Público. Hubo 223 brotes de intoxicación por histamina, que afectaron a 865 personas en los EE.UU. en el período comprendido entre 2000 y 2007. Si se combinan estas cifras con los datos del centro toxicológico estadounidense facilitados por el Sistema nacional de información toxicológica de 2015 a 2019, y se utiliza un modelo similar al de Scallan et al. Se estima que en los EE.UU. hay 35 142 casos al año de intoxicación por histamina contenida en el pescado. En Australia se registran aproximadamente 280 casos al año.

La **histamina** es una toxina, perteneciente al grupo de las aminas biógenas, entre las que destacan la histamina, tiramina, putrescina, cadaverina, triptamina, espermita y espermidina.

La histamina produce la comúnmente conocida como **intoxicación escombroides**, que es la forma más frecuente de intoxicación alimentaria a través del pescado, siendo evitable en gran medida si se mantiene la cadena del frío y se conserva el pescado a baja temperatura.

¿Cómo se forma la histamina?

Una vez capturado el pescado, comienza la alteración del mismo. Las enzimas catepsinas causan la degradación de la proteína de pescado a aminoácido histidina, incrementado su concentración el músculo del pescado, y creando un medio favorable al crecimiento bacteriano generalmente de enterobacterias, entre las que destacan *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* y *Hafnia alvei*, que a su vez provocarán la descarboxilación de la histadina a histamina.

La producción de histamina se puede dar entre 4 °C y 10 °C, pero es más rápida a temperaturas mayores de 21 °C.

Una vez formada la histamina, por cocción pueden inactivarse tanto enzimas como las bacterias que las producen, pero la histamina que hay el pescado no puede eliminarse, por lo que el riesgo de que se provoque la intoxicación es altísimo, ya que la histamina es muy resistente al calor, y aunque el pescado se haya cocinado, enlatado, autoclavado, pasteurizado o sometido a cualquier otro tratamiento térmico antes de su consumo, la histamina no se consigue destruir.

¿Cuáles son los síntomas de la intoxicación por histamina?

Los síntomas son similares a los producidos por una reacción alérgica, por lo que en ocasiones se generan diagnósticos erróneos ya que se confunden con una alergia al pescado en lugar a la histamina. Esto se puede evitar haciéndose un test DAO.

La reactividad es rápida, apareciendo casi de inmediato, o hasta 2 horas después del consumo de pescado.

En un principio se da un enrojecimiento, inflamación de los ojos y sudoración de la cara, sensación de quemazón, picor en la piel, hormigueo y sabor a pimienta o metálico en la

boca, garganta y en los labios, mareo, vómitos, náuseas y en la mayoría de los casos va seguido dolor de cabeza. En algún caso pueden agudizarse y provocar erupciones en la cara y torso, urticaria, hinchazón, dolores abdominales y palpitaciones.

Normalmente remiten en pocas horas y sin tratamiento, raras veces duran más de uno o dos días, pero en algunos casos es necesario un tratamiento de choque con antihistamínicos o epinefrina.

Si la concentración rebasa 500 mg/Kg, suelen aparecer síntomas de intoxicación en personas sensibles, mientras que, si la concentración llega a más de 1000 mg/Kg, la intoxicación es prácticamente seguro que va a padecerla cualquier consumidor.

¿Cuáles son los valores máximos en pescado según legislación?

Las empresas alimentarias deben cumplir los criterios de seguridad alimentaria relativos a Histamina en los alimentos de mayor riesgo (productos de la pesca), establecidos en el Reglamento (CE) 2073/2005, que indica:

Para productos de la pesca procedentes de especies de pescados asociados a un alto contenido de histidina se marca un límite de 100mg/Kg durante su vida útil si es sólo una muestra analizada, y de entre 100-200 mg/kg, si el número de muestras analizadas es de $n=9$, pudiendo superar o estar entre 100-200 mg/kg, sólo 2 muestras ($c=2$) de las 9, como marca el Reglamento europeo referenciado.

Para Productos de la pesca sometidos a tratamiento de maduración enzimática en salmuera, fabricados a partir de especies de pescados asociados a un alto contenido de histidina, se marca un límite de se marca un límite de 100mg/Kg durante su vida útil si es sólo una muestra analizada, y de entre 200 mg/kg, si el número de muestras analizadas es de $n=9$, pudiendo superar o estar entre 200-400 mg/kg, sólo 2 muestras ($c=2$) de las 9.

¿Cómo se detecta la histamina?

Con un control visual o sensorial por parte del consumidor a simple vista, no se puede asegurar la presencia o ausencia de histamina, aunque presente el producto un sabor metálico o punzante, ya que su textura y aspecto pueden ser normales.

Para la detección de histamina se utilizan técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión, así como técnicas de inmunoensayo tipo ELISA, y métodos enzimáticos.

La histamina es un indicador de mala calidad de la materia prima empleada y de unas condiciones de elaboración inadecuadas, siendo el marcador más eficaz para garantizar la salubridad y seguridad alimentaria del pescado que consumimos.

¿Cómo podemos prevenir la histamina en el pescado?

El Reglamento (CE) 853/2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, establece que los productos de la pesca frescos, los productos de la pesca no transformados descongelados, así como los productos cocidos y refrigerados de crustáceos y moluscos, se mantendrán a una temperatura próxima a la de fusión del hielo (entre 0 y 4°C).

Para prevenir la formación de histamina, se recomienda el rápido enfriamiento del pescado después de capturado y el almacenamiento a 0 °C, pudiendo verse el enfriamiento condicionado por las técnicas de captura, el tamaño del pescado, el método de enfriamiento, la cantidad o el tipo de hielo suministrado.



Figura 1. Conserva de Pescado

Para evitar la formación de histamina en el pescado, se aconseja:

Almacenar y conservar el pescado o marisco destripado, ya que se considera que las bacterias intestinales, una vez muerto, degradan las proteínas de los tejidos, y se va doblando la cantidad de histamina cada 20 minutos, hasta que se le quiten las vísceras. Tratar de mantener el pescado a temperaturas por debajo de 4 °C, tras su captura, siendo la temperatura más conveniente la de 0°C.

Evitar el consumo de variedades de pescado potencialmente peligrosos, si no se garantiza una correcta conservación o manipulación higiénica.

Evitar romper la cadena del frío en la conservación de los ingredientes de pescado para pizzas, ensaladas u otras preparaciones, y de dichos productos o platos, una vez elaborados.

Manipular de forma higiénica los alimentos, especialmente las conservas, si van a ser consumidas después de varias horas de mantener el producto fuera de su envase y a temperatura ambiente.

Envasar adecuadamente los bocadillos, sandwich o los productos elaborados con estas conservas de pescado, principalmente con papel de plata o plástico de envolver alimentos e intentar mantener los refrigerados en la medida de lo posible.

¿De qué forma podemos ayudarles?

La única forma de detectar este compuesto en el pescado es mediante la realización de **análisis de histamina**.

La histamina es uno de los indicadores más eficaces para mostrar la falta de calidad y seguridad alimentaria de un producto de la pesca.

La tendencia en el mercado al consumo de pescado “low cost”, de baja calidad, y producidos en países con escasos medios para mantener correctamente la cadena del frío y unas condiciones higiénicas correctas para su producción y transporte, han hecho que el control de la histamina de esas materias primas pase a tener un papel crucial.

En la Empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. realizamos análisis de histamina en pescado a través de diferentes técnicas, primando siempre dar un resultado rápido y asesorando en cada momento, para actuar cuanto antes ante los problemas.

1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema General

¿Es factible estimar la histamina en conservas de pescado perico (**coryphaena hippurus**) mediante pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.?

1.2.2 Problemas Específicos

¿Cómo se caracterizará a las conservas de pescado perico (**coryphaena hippurus**) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.?

¿Cómo se realizará las pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.?

¿Qué parámetros analíticos se evaluarán para determinar la presencia de histamina en las conservas de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo General

Estimar la histamina en conservas de pescado perico (***coryphaena hippurus***) mediante pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

1.3.2 Objetivos Específicos

Caracterizar a las conservas de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

Realizar las pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

Evaluar la presencia de histamina en las conservas de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Justificación técnica

Dado las situaciones cambiantes de los mercados nacionales e internacionales, donde se está dando un aumento en las exigencias del consumidor y se están abriendo nuevos mercados debido a la globalización, es importante para todas las empresas productoras

garantizar la calidad de su producto. En el caso de una planta procesadora de alimentos, la inocuidad es el tema más importante porque se debe tener un sistema que la garantice.

1.4.2 Justificación económica

Por otro lado, se deben de implementar este sistema en todos los procesos relacionados con el proceso productivo, desde el área de compras hasta el cliente final. Todos esto se abarca en la implantación de un sistema basado en proceso.

1.4.3 Justificación social

El conocimiento en el tiempo de la cadena de frío es fundamental para asegurar un producto libre de histamina por eso es importante la gestión del sistema de inocuidad. Por esto es importante realizar un análisis de diagnóstico previo a la implementación para asegurar el éxito de este proyecto y construir un sistema de gestión de la inocuidad sólido.

1.5 DELIMITACIÓN DEL ESTUDIO

1.5.1 Delimitación temporal

El estudio esta enmarcado dentro del periodo del 2018 al 2023, siendo su proyección al 2028.

1.5.2 Delimitación espacial

El estudio se realizo en cuenta la base de datos del INEI 2018

1.5.3 Delimitación académica

El estudio cumple con las exigencias establecidas en la normatividad de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, con las líneas de formación de la carrera de Ingeniería Química.

1.6 VIABILIDAD DEL ESTUDIO

1.6.1 Viabilidad de recurso teórico

El tema desarrollado en la presente investigación dispone de diferentes técnicas y repositorios de la información en estudio.

1.6.2 Viabilidad de recurso humano

El presente trabajo de investigación es viable porque cuenta con especialistas en el tema de histaminas en pescado.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Los antecedentes de la investigación están orientados a dar a conocer experiencias parecidas, por lo cual a continuación, se citan algunos trabajos de investigación relacionados con el tema del problema planteado, es decir, investigaciones realizadas anteriormente y que guardan alguna vinculación con el objeto de estudio.

Explorando la documentación existente a nivel nacional e internacional, se puede constatar la existencia de tesis de grado con características afines, como se detalla a continuación:

2.1.1 Investigación Internacional

- 1) Montesel Ch. y Rodríguez F. (2017) en la Tesis, para obtener el Título Profesional de Bioquímico y Farmacéutico, *Determinación de los niveles de histamina en la especie thunnus alalunga, expandido en el mercado municipal ‘10 de agosto’, Cuenca - Ecuador. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Bioquímica y Farmacia. Cuenca, Ecuador.***

Realizó un estudio en el cual los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que el 18,7% que representan 3 de los 8 puestos analizados presentan valores promedio, superiores al valor de 50ppm permitidos por la FDA, esto podría indicar que estas muestras podrían ser una amenaza para la salud del consumidor. El porcentaje superior al 80% del total de muestras analizadas están dentro de lo que podría denominarse como “pescado con bajo contenido en ppm de histamina” comercializado en el mercado “10 de Agosto” de la ciudad de Cuenca. El pescado expandido en su mayoría

no es perjudicial para los consumidores, se puede mencionar que los puestos en donde los niveles fueron elevados, marcaron una regularidad en la presencia en cada análisis, por cada uno de los días en los que se realizó la toma de la muestra y las lecturas respectivas. Comparando los resultados de cada semana entre los puestos de muestreo se puede establecer que en cada una de las semanas se pueden observar que existen valores que sobrepasan los límites establecidos, marcando una recurrencia en tres de los ocho puestos.

- 2) **Yunilde del Valle Márquez Figueroa¹, Ana Mercedes Cabello², Luz Bettina Villalobos¹, Gracia Guevara³, Bertha Elena Figuera García¹ y Osmicar Manuel Vallenilla González² (2005) en la Investigación realizada sobre *Cambios físicos-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún.***

¹**Universidad de Oriente Postgrado de Biología Aplicada, Núcleo Sucre Cumana, estado Sucre. Venezuela**

²**Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Centro de Investigaciones del estado Sucre/ Nueva Esparta Cumana, estado Sucre, Venezuela.**

³**AVEICASA. Cumana, estado Sucre. Venezuela.**

Los métodos utilizados fueron los recomendados por las normas Covenin para la cuantificación de los parámetros pH, nitrógeno básico volátil total (NBVT), trimetilamina (TMA), histamina y sal. Los resultados expresados en promedios para atún fresco, precocido y esterilizado son los siguientes: pH 5,83 5,83 y 5,84; NBVT 52,96 70,23 y 55,85 mg/100g; TMA 0,44 1,14 y 0,42 mg/100g; histamina 0,47 0,69 y 0,71 mg/100g; sal 1,28 0,70 y 1,90%; proteína 26,26 29,99 y 26,01%; humedad 70,47

66,29 y 69,61%; ceniza 1,97 1,54 y 1,44% y grasa 1,05 1,57 y 3,84% para el atún fresco, precocido y esterilizado, respectivamente. Los cambios observados indicaron que en la etapa de precocido es donde los valores de pH, TMA, NBVT e histamina presentaron un significativo incremento por el retardo en su entrada a los hornos de precocción. Sin embargo, los resultados para el producto esterilizado están dentro de los recomendados por Covenin para el atún en conserva.

Se llegaron a obtener las siguientes conclusiones:

Se evidenció que el músculo sufre cambios importantes en los valores de pH, nitrógeno básico volátil total y humedad entre la fase de fresco a precocido, por lo que se recomienda la aplicación de buenas prácticas de manufacturas (BPM) para evitar o retardar estos cambios. En el atún fresco se detectó la presencia de mesófilos, lo que demostró que las condiciones de manejo abordo no cumplían las BPM. Se recomienda bajar las temperaturas de almacenamiento y aplicar aseo de cubierta, cubas, operadores y almacenes. Las fases de precocido y esterilización, fueron efectivas para reducir la carga microbiana del producto fresco. Esta evaluación determinó variabilidad en los parámetros físico-químicos evaluados por lo que se recomienda su control periódico durante el procesamiento para la obtención de un buen producto.

2.1.2 Investigación Nacional

- 1) Calla C. (2010) en la Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, *Efecto del tratamiento con atmósfera modificada sobre la formación de histamina en el procesamiento de filete de perico (Coryphaena hippurus) congelado*. Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. Perú.**

Realizó un estudio en la cual se tiene como objetivo determinar el efecto de los tratamientos con atmósfera modificada sobre la formación de histamina en el procesamiento del filete de perico (*Coryphaena hippurus*) congelado, mediante el diseño factorial 2k se encontró que la temperatura del filete ($p = 0,00001$), el tipo de gas ($0,0001$) y la interacción temperatura del filete con tiempo de reposo ($p = 0,0093$) son altamente significativos y la interacción tiempo de reposo con tipo de gas ($p = 0,0322$) es poco significativo a un nivel de confianza del 95 % y sus valores recomendados son 0°C , 24 h a 70 % de monóxido de carbono que generan una concentración de histamina 4,3 ppm.

Además, se llegaron a las siguientes conclusiones:

El efecto de los factores del tratamiento con atmósfera modificada en el procesamiento del filete de perico (*coryphaena hippurus*) congelado es alto, cuando estos adquieren valores de 0°C , 24 h y gas normal que dan como consecuencia 4,3 ppm en histamina y de esta forma estandarizar la calidad del producto para exportación.

El tratamiento con monóxido de carbono en el filete perico otorga mayor vida útil en comparación que el filete sin tratamiento, esto se corrobora en el olor fresco (3), textura poco firme (3), color rojo intenso (4), sabor succulento (9), histamina 6 ppm y aerobios mesófilos $9,9 \times 10^4$ UFC/g mientras que el filete sin tratamiento presentó olor neutral (2), textura blanda (1), color traslucido (1), sabor neutral (7), histamina 25 ppm y $31,2 \times 10^4$ UFC/g en aerobios mesófilos.

El rango de concentraciones de histamina determinada en el presente estudio va de 4,3 ppm a 35,7 ppm cuando los efectos de los factores del tratamiento con

atmósfera modificada en el procesamiento del filete de perico (*coryphaena hippurus*) congelado oscilan entre: 0 a 10 °C, 10 a 24 h, gas normal (70 % CO₂) y ecológico (20 % CO₂).

El grado de correlación de la concentración de histamina con respecto a los factores del tratamiento con atmósfera modificada en el procesamiento del filete de perico (*coryphaena hippurus*) congelado es de 90.86 %, considerado como excelente, fuerte y de forma lineal que garantiza la propuesta del modelo empírico planteado en el presente trabajo de investigación.

2) Fernández Zelada S. y Jara Rojas K. (2017) en la Tesis, para optar el Título Profesional de Farmacéutico, *Análisis bromatológico de conservas tipo grated, comercializados en el Mercado Mayorista de Trujillo agosto – setiembre 2016.* Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

Se determinaron las características bromatológicas de las conservas tipo Grated, expandidas en el Mercado Mayorista de la ciudad de Trujillo, en el año 2016, con el objetivo de que si cumplían con el reglamento Sanitario de Alimentos. Las marcas existentes en el mercado fueron: A 1, DON LUCHO, FANNY, GUISELLA, GLORIA, MIRELLA, MONTEALTO y SAO, a las cuales se realizó el análisis bromatológico del aspecto interno y externo del envase, examen psico – sensorial del contenido, y el análisis químico. Los resultados mostraron que el 83.3% de las muestras presentan un aspecto físico externo bueno que cumple con las especificaciones y 16.7% de las muestras presentan deficiencias en la litografía y etiquetado; por otro lado, el 95.8% presente un aspecto físico interno bueno. El aspecto psico – sensorial determino que si el color, olor, sabor y textura era el característico del pescado. En los resultados

encontramos que el 100% de las muestras presentan un olor bueno, color normal característico del pescado, un 62.5% contiene sal satisfactoria; y el 25% de las muestras presentaron una textura firme.

En el 33.3% de las muestras se encontró regular cantidad de espinas y en 4.2% de regular cantidad de huesos: Los análisis químicos cualitativos demostraron que el 25% y el 29.2% de las muestras fueron ligeramente positivas a la reacción de Ebert y Amidosoda, respectivamente. La determinación de Nitrógeno básico volátil y Cloruro de sodio nos permitió determinar si las muestras eran aptas o no para consumo humano.

De los resultados obtenidos se llegaron a las siguientes conclusiones:

El 87.5% de las muestras son aptas para consumo humano.

Las conservas de tipo graded de atún de la marca MONTEALTO, no son aptas para el consumo humano.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Aminas Biógenas

2.2.1.1 Definición

Las aminas biógenas son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que se forman principalmente por descarboxilación de aminoácidos, los precursores de las aminas biógenas se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Aminas biógenas.

AMINAS BIÓGENAS

| Amina | Aminoácido precursor | Clasificación |
|----------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Histamina | Histidina | Heterocíclica, primaria, mono amina |
| Tiramina | Tirosina | Aromática, primaria, monoamina |
| Feniletilamina | Fenilalanina | Aromática, primaria, monoamina |
| Triptamina | Triptófano | Heterocíclica, primaria, monoamina |
| Putrescina | Ornitina, arginina | Alifática, primaria, diamina |
| Cadaverina | Lisina | Alifática, primaria, diamina |

Fuente: Majjala & col., 2003.

2.2.1.2 Clasificación

Atendiendo a su estructura química se pueden clasificar en alifáticas (putrescina, espermidina, espermita, cadaverina), aromáticas (tiramina, feniletilamina) o heterocíclicas (histamina, triptamina) y en función del número de grupo aminos de la molécula, podemos mencionar las monoaminas (histamina, feniletilamina, tiramina), diaminas (putrescina, cadaverina) o poliaminas (espermidina) (Rivas & Carrascosa, 2010).

Se clasifican de acuerdo al lugar donde se elaboren, es decir, pueden ser elaboradas en el organismo (endógenas) o encontrarse en los alimentos que se ingiere (exógenas), elaboradas por las células de éste o durante su procesamiento o su almacenamiento (Tapia, Universidad Autonoma de Nuevo Leon, 2000).

a) Aminas biógenas endógenas

Son moléculas con funciones fisiológicas esenciales para los seres vivos, este tipo de aminas son formadas durante los procesos metabólicos normales de las células vivas, a partir de la degradación de proteínas o aminoácidos, se producen en diferentes tejidos y desempeñan diversas e importantes funciones, están implicadas en procesos tan relevantes como la división celular o la transmisión nerviosa. Así, por ejemplo, la histamina actúa como neurotransmisor y la tiramina es un intermediario de las rutas de biosíntesis de otros neurotransmisores (Tapia, 2000).

b) Aminas biógenas exógenas

Las aminas biógenas, exógenas se forman en los alimentos principalmente al eliminarse el grupo carboxilo $-COOH$ (“descarboxilación”) de sus aminoácidos, por acción de las enzimas propias de sus tejidos o de los microorganismos que los contaminan. Algunos alimentos frescos pueden contenerlas en niveles bajos, los que pueden incrementarse durante procesos como la fermentación, el almacenamiento y la descomposición del alimento (Cid, 2011).

Entre los factores que influyen en este incremento están la contaminación microbiana, temperatura, pH, concentración de sales, etc. La ingestión de estos alimentos puede provocar la presencia de concentraciones altas de estas sustancias en el organismo de forma que tras su ingestión pasan a la circulación sanguínea desde donde ejercen diversos efectos tóxicos producir

síntomas de toxicidad, como se puede apreciar en la tabla 2, por lo que son un índice del grado de frescura y seguridad del alimento. (Shalaby, 2006).

Tabla 2. Aminas biógenas y sus efectos farmacológicos.

| AMINAS BIÓGENAS Y SUS EFECTOS | |
|--------------------------------------|--|
| Aminas Biógenas | Efectos Tóxicos |
| Histamina | Síntesis de Noradrenalina y Adrenalina, palpitaciones, vómitos y nauseas |
| Tiramina | Hipertensión, migrañas, vasoconstricción, lagrimación y salivación |
| Putrescina y Cadaverina | Rigidez mandibular, Bradicardia, hipotensión, Potencia el efecto de otras aminas |
| Triptamina | Hipertensión |

Fuente: Shalaby, 2006.

2.2.1.3 Intoxicaciones alimentaria causadas por aminas biógenas

Las intoxicaciones alimentarias más frecuentes están relacionadas con la histamina y la tiramina. La intoxicación por histamina es la más conocida, existiendo referencias desde finales del siglo XIX sobre la incidencia de esta enfermedad, conocida como enfermedad de escombroides debido a que los trastornos se presentaban tras la ingesta de pescados del grupo Scombridae (Lyte, 2004). La intoxicación producida por tiramina se conoce también como reacción del queso, debido a los altos niveles que esta sustancia presenta en algunos quesos. Por otro lado, diaminas como putrescina y cadaverina pueden reaccionar con nitritos dando lugar a la formación de nitrosaminas de conocido efecto cancerígeno (Bover & Latoore, 2005).

2.2.1.4 Bacterias implicadas

La presencia de estas sustancias químicas en los alimentos se debe a la acción de microorganismos sobre las proteínas y más específicamente a las reacciones de

descarboxilación de los aminoácidos llevadas a cabo por bacterias específicas. (Baraggi, Velázquez, & Castro, 2010). Por lo tanto, hay dos factores clave para su acumulación en los alimentos: la presencia de las bacterias con actividad aminoacil-descarboxilasa y la disponibilidad de los sustratos de la reacción (Nollet & Toldra, 2016).

Los microorganismos que se encuentran con mayor frecuencia son bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas como: *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Morganella*, *Vibrio* e incluso en bacterias ácido láctico (BAL) pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus* y *Lactococcus*. (Burdychová, 2007).

En cuanto a los alimentos que presentan una mayor posibilidad de contener aminas biógenas, son aquellos que contienen una elevada carga de proteínas (Baraggi, Velázquez, & Castro, 2010). (Gozzi, Piacente, & Cruces, 2011).

2.2.2 Histamina

2.2.2.1 Definición

La histamina es una de las principales aminas elaboradas por nuestro organismo, se considera una hormona debido a que cumple funciones fisiológicas variadas, entre las cuales actúa regulando procesos alérgicos, inflamatorios, metabólicos y también como neurotransmisor (Izquierdo, Céspedes, & Camacho, 2008). Se encuentran en muchos tejidos del cuerpo y, en pequeñas cantidades, en los alimentos que comúnmente se consume (Montes & Flores, 2005).

La histamina se forma a partir de la histidina, cuando se pierde su grupo carboxilo (“descarboxilación”) por acción de una enzima (L-histidina descarboxilasa), como

se describe en la figura 1 (Cervantes, 2009). Los mastocitos y basófilos son por excelencia los sitios en los que predomina el almacenamiento de la histamina; dichas células se encuentran en altas concentraciones en la piel y las mucosas. (Montes & Flores, 2005). También están en alimentos como pescado, quesos, vinos o embutidos, inclusive puede encontrarse en conservas porque resiste el calor de la esterilización y es un indicador de inadecuadas condiciones higiénicas en su elaboración o el uso de materia prima en malas condiciones (May, 2008).

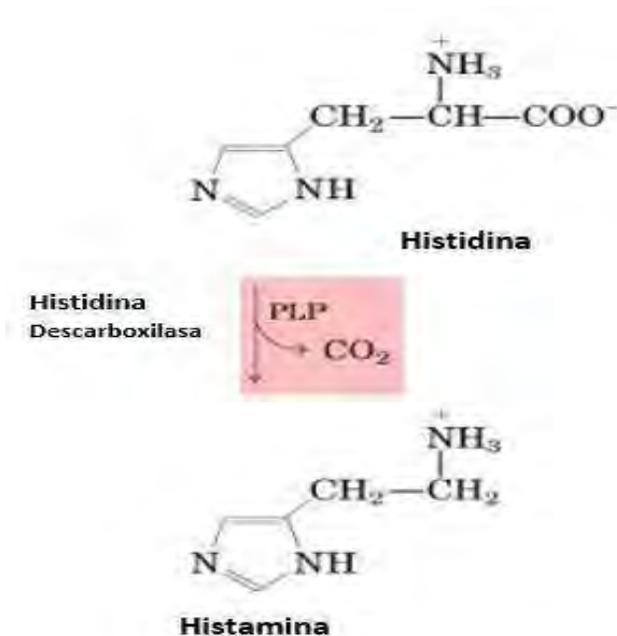


Figura 2. Estructura química de la histamina. Fuente (Cervantes, 2009).

2.2.2.2 Efectos de la Histamina en el organismo

Para producir sus efectos específicos en el organismo, la histamina se une a los llamados “receptores” en diversas partes del cuerpo, estos receptores histamínicos son de cuatro tipos: H1, H2, H3 y H4. La histamina tiene un efecto diferente que depende del tipo de receptor con el que ha reaccionado (Gomez, 2003).

Los receptores H1 son los más importantes (localizados en el músculo liso, el endotelio y tejidos del sistema nervioso central) producen vaso-dilatación, bronco-constricción, contracción del músculo liso, dolor y picazón. Los anti-histamínicos bloquean la unión de la histamina con los receptores H1 (Humberto, 2001). Los receptores H2 (localizados en la mucosa del estómago) regulan la secreción de los ácidos gástricos y el aumento de secreción de moco en las vías respiratorias. Los receptores H3 (localizados en el tejido del sistema nervioso central) regulan la liberación de histamina y de otros neurotransmisores (acetilcolina, norepinefrina y serotonina) (Aquino, Molina, & Arias, 2012). Los receptores H4 (localizados principalmente en el timo, intestino delgado, bazo y colon), cuya función no se ha esclarecido a cabalidad (Medina, Croci, & Crescenti, 2010).

La histamina también es conocida como “escombrotóxina” porque es asociada con intoxicaciones por consumo de pescado, especialmente de la familia de los *Scombridae* (caballa, atún) en mal estado (Fundación Vasca para la seguridad Agroalimentaria, 2013). El tejido muscular del pescado, sobre todo cuando empieza a deteriorarse, libera histidina, la que puede transformarse en histamina por las enzimas presentes y por acción de algunas bacterias, que crecen muy lentamente a baja temperatura (cerca a los 0°C), pero lo hacen muy rápidamente cuando ella aumenta. Por ello, la cadena de frío debe mantenerse permanentemente (Gómez Castro, 2014).

Los síntomas más frecuentes de la intoxicación son ligera hipotensión arterial, picor, enrojecimiento y dolor de cabeza; estos síntomas suelen aparecer antes de

las 3 horas de la ingestión (Maintz & Novack, 2007). En casos graves puede producirse diarrea, calambres, náuseas, espasmos bronquiales y trastornos respiratorios. Estos efectos son potenciados por otras sustancias (como putrescina, cadaverina y espermina) que también se liberan en estas condiciones. (Diaz & Cruces, 2011)

Actualmente existen métodos confiables, rápidos y seguros para determinar la cantidad de histamina de un alimento (Gomez, 2003). Los niveles permitidos en los productos pesqueros varían: para la Comunidad Europea es de 100 ppm (partes por millón) pero para la Food and Drug Administration (FDA) es de 50 ppm (Lehane L. , 2000).

2.2.3 Escombroidosis

2.2.3.1 Definición

La escombroidosis es una intoxicación de tipo química ocasionada por la histamina y causada por la ingestión de alimentos entre ellos los pescados ya sean de la familia *Scombridae* o no, pero con altos contenidos de histidina, los cuales no fueron tratados con óptimas condiciones de conservación e higiene, el pescado fresco contiene cerca de 1mg/100g de histamina y los peces afectados contienen cerca de 20mg/100g de histamina llegando a encontrar en algunos casos de hasta casi 400mg/100g de histamina (Müller GJ, 2016).

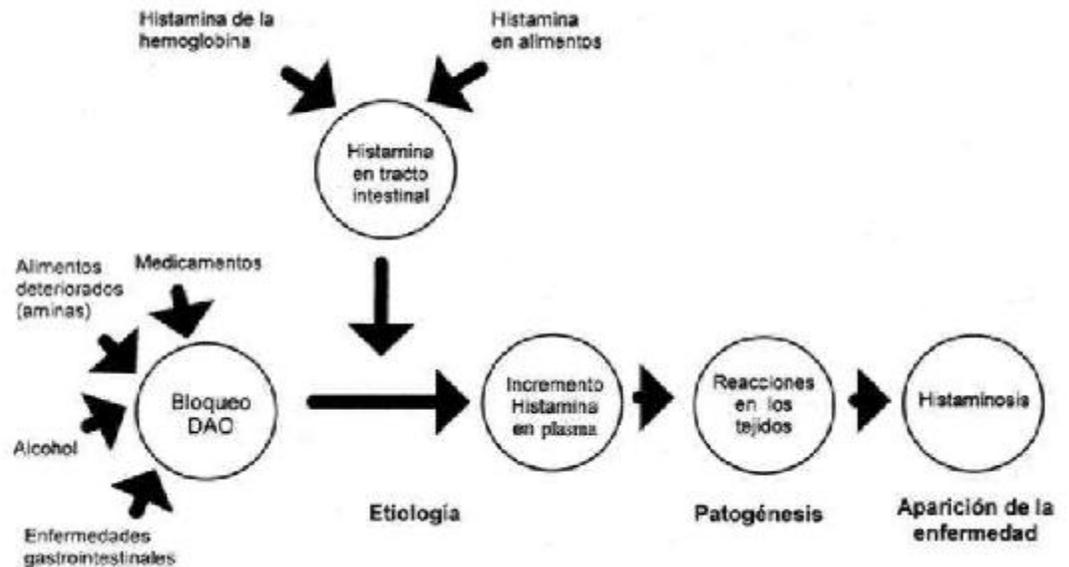
La intoxicación se produce por la ingesta de alimentos que contengan niveles altos de histamina (Cervantes, 2009), aminas y compuestos vasoactivos o niveles normales de L-histidina pero que no hayan tenido una correcta conservación post-mortem. La histamina se forma por la proliferación de bacterias tales como *Vibrio*

spp, *Clostridium spp*, *Lactobacillus spp*, *Salmonella spp*, *Klebsiella*, *Pneumoniae*, *Proteus*, entre otros (CK Murray, 2015).

2.2.3.2 Características de la intoxicación

En condiciones no adecuadas de conservación los peces de carne oscura sufren descomposición bacteriana llevando a descarboxilación de aminoácido L-histidina originando la formación de histamina, explicando así su fisiopatología tal como se indica en la figura 2.

Figura 3. Concepto de la enfermedad de la histaminosis inducida por los alimentos.



Fuente (Gonzales, 2008).

La histamina es resistente al calor por lo que no se destruye con la cocción doméstica o comercial sin embargo la formación de histamina se detiene con la refrigeración a 0° C. El pescado afectado puede tener sabor metálico o picante pero su aspecto y textura pueden ser normales (Cruickshank, 2010).

2.2.3.3 Manifestaciones Clínicas

Los síntomas de la intoxicación por histamina son principalmente neurológicos y cutáneos ejerciendo acción sobre el aparato cardiovascular, glándulas endócrinas y músculo liso (Lehane L. , 2000). Las manifestaciones suelen darse 5 minutos después de la ingesta o puede tardar varias horas en manifestarse, todo esto depende de las concentraciones de histamina y aminas que se encuentren en el pescado (Taylor, 2010).

Cutáneos: Erupciones, urticaria, inflamación localizada, eritema.

Digestivos: Náuseas, vómito, diarrea, dolor epigástrico, cólicos.

Circulatorios: Hipotensión o hipertensión, edema, taquicardia, palpitación e inyección conjuntival.

Neurológicos: Cefalea, hormigueo, calambres, sensación de calor, pérdida de visión.

Respiratorios: Bronco constricción, dificultad respiratoria (Galvez & Domínguez, 2015).

2.2.3.4 Diagnóstico

El diagnóstico es clínico mediante una correcta anamnesis al paciente. Sin embargo, es posible establecer un diagnóstico etiológico mediante la cuantificación de los niveles de histamina en sangre, y en orina y en el propio alimento ingerido, pudiendo hablarse de escombroidosis cuando aparezcan más de 100 mg de histamina en cada 100g de pescado, o más de 2-4 veces los niveles normales en orina (American Medical Association, 2004).

2.2.3.5 Tratamiento

Se recomienda el tratamiento con medicamentos antihistamínicos, y la terapia de rehidratación (oral o intravenosa) también puede ser necesaria. Fundamentalmente se usan antihistamínicos, tanto antiH1 como antiH2, puesto que ambos tipos de receptores se encuentran a nivel de los vasos del organismo. (Pardo, 2004). En casos de shock, es necesaria una expansión adecuada del volumen plasmático e incluso el uso de soporte con aminos vaso activas (Mena, 2007).

2.2.3.6 Prevención

El riesgo de padecer una intoxicación por histamina lo tiene cualquier persona, no sólo aquellas que se alimenten de peces de zonas cálidas y templadas (Carbajal, 2010). Los niveles de histamina nocivos para el hombre varían, según la comunidad Europea son 100mg/100g de histamina en el pescado y según la FDA son 50mg/100g de histamina en el pescado lo que es dañino para el ser humano (Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, 2011). Lo que es claro cualquier porcentaje de histamina superior al que contienen normalmente los peces ya causa alteraciones en los consumidores (Lehane L. , 2000).

Para esto existen ciertas medidas que se deben tener en cuenta:

Mantener los pescados a temperaturas por debajo de los 5°C

Evitar el consumo de clases de pescado potencialmente peligrosos que no hayan recibido tratamientos adecuados.

Manipular de forma higiénica los alimentos, especialmente las conservas si van a ser consumidas varias horas fuera del envase.

Envasar adecuadamente los bocadillos o los productos elaborados con conservas, e intentar mantener frío (M.A, 2003).

2.2.4 Métodos sensoriales

La evaluación sensorial es definida como una disciplina científica, empleada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones características del alimento, percibidas a través de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y audición.

La mayoría de las características sensoriales sólo pueden ser medidas significativamente por humanos. Sin embargo, se han efectuado avances en el desarrollo de instrumentos que pueden medir cambios individuales de la calidad.

Los instrumentos capaces de medir parámetros incluidos en el perfil sensorial son: el Instron y el Reómetro de Bohlin, para medir la textura y otras propiedades reológicas. Métodos microscópicos, combinados con el análisis de imágenes, son usados para determinar cambios estructurales y la "nariz artificial" permite evaluar el perfil de olor (Nanto *et al.*, 1993).

Proceso sensorial

En el análisis sensorial, la apariencia, el olor, el sabor y la textura, son evaluados empleando los órganos de los sentidos. Científicamente, el proceso puede ser dividido en tres pasos. Detección de un estímulo por el órgano del sentido humano; evaluación e interpretación mediante un proceso mental; y posteriormente la respuesta del asesor ante el estímulo. Diferencias entre individuos, en respuesta al mismo nivel de estímulo, pueden ocasionar variaciones y contribuir a una respuesta no definitiva de la prueba. Las personas pueden, por ejemplo, diferir ampliamente en sus respuestas al color (ceguera a los colores) y también en su sensibilidad a estímulos químicos. Algunas personas no son capaces de

percibir el sabor rancio y algunas tienen una respuesta muy baja al sabor del almacenamiento en frío. Es muy importante estar consciente de estas diferencias cuando seleccionamos y capacitamos jueces para el análisis sensorial. La interpretación del estímulo y de la respuesta debe ser objeto de una formación muy cuidadosa, a fin de recibir respuestas objetivas que describan los aspectos más notables del pescado evaluado.

Es muy fácil dar una respuesta objetiva a la pregunta: ¿está el pescado en *rigor* (completamente tieso)?, pero se requiere más formación cuando el asesor debe decidir si el pescado está *en post rigor* o *en pre rigor*. Las determinaciones subjetivas, donde la respuesta está basada en las preferencias del asesor por un producto, pueden ocurrir en trabajos de campo (como investigaciones de mercado y desarrollo de nuevos productos) donde se necesita de la reacción del consumidor. Las determinaciones en el control de la calidad deben ser objetivas.

Métodos sensoriales

Las pruebas analíticas objetivas, usadas en el control de la calidad, pueden ser divididas en dos grupos: pruebas discriminativas y pruebas descriptivas. Las pruebas discriminativas son usadas para evaluar si existe una diferencia entre las muestras (prueba triangular, prueba de calificación/ordenación). Las pruebas descriptivas se emplean para determinar la naturaleza e intensidad de las diferencias (perfiles y pruebas de la calidad). La prueba subjetiva consiste en una prueba emocional basada en una medición de preferencias o aceptación.

2.3 DEFINICIONES CONCEPTUALES

a) **Adaptabilidad**

Capacidad de acomodarse o ajustarse una cosa a otra. Capacidad para acomodarse a los cambios en las situaciones sin que ello redunde en una reducción de eficacia, la capacidad para adaptarse a nuevas circunstancias que modifican las ya conocidas. Supone la posibilidad de cambiar o adaptar nuevos enfoques en función de los requerimientos.

b) **Calidad:** Es el conjunto de cualidades que hacen aceptables los alimentos a los consumidores. Estas cualidades incluyen tanto percibidas por los sentidos (cualidades sensoriales) como las higiénicas y químicas.

c) **Alimento apto para consumo humano**

Alimentos que cumplen con los criterios de calidad sanitaria e inocuidad establecidos por la norma sanitaria.

d) **Alimento elaborado**

Son todos aquellos preparados culinariamente, en crudo o pre cocido o cocinado, de uno o varios alimentos de origen animal o vegetal, con o sin la adición de otras sustancias, las cuales deben estar debidamente autorizadas. Podrá presentarse envasado o no y dispuesto para su consumo.

e) **Alimento funcional**

Son aquellos alimentos que son elaborados no solo por sus características nutricionales sino también para cumplir una función específica como puede ser el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Para ello se les agregan componentes

biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos grasos, fibra alimenticia o antioxidantes, etc.

f) Análisis Microbiológicos

Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.

g) Autoclave

Equipo destinado al tratamiento térmico de alimentos envasados en recipientes herméticamente cerrados, que trabaja con parámetros de presión y temperatura.

h) Calidad sanitaria

Conjunto de requisitos microbiológicos, físico químicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado inocuo para el consumo humano.

i) Cierre hermético

Es la operación por la cual se aísla totalmente del exterior el contenido del envase, de modo que dicho envase pueda soportar las condiciones de elaboración y evitar contaminantes posteriores.

j) Conservas de productos pesqueros

Son aquellos productos envasados herméticamente y que han sido sometidos a esterilización comercial.

k) Conservas de productos pesqueros en salsa

Es la conserva elaborada sobre la base del producto previamente cocido al cual se le ha agregado una pasta o salsa o ambas.

l) Envase

Cualquier recipiente o envoltura que contiene y esté en contacto con alimentos y bebidas de consumo humano o sus materias primas.

m) Esterilización

Es el proceso de destrucción de los microorganismos más nocivos que generalmente atacan a los alimentos. La esterilización también es el proceso térmico que permite dar al producto tratado un periodo más largo de vida útil. La conservación de alimentos enlatados por tratamiento térmico o esterilización depende de que se realice una esterilización efectiva utilizando calor húmedo y que el alimento se encuentre dentro de un envase herméticamente cerrado. Para llevarlo a cabo se utilizan autoclaves o esterilizadores.

n) Líquido de gobierno

Son los ingredientes: agua, sal, aceite, salsa, etc. Que se adicionan a la conserva con el fin de proporcionarle mejor sabor, reducir el espacio libre y facilitar las condiciones de tratamiento de calor.

ñ) Materia prima

Todo insumo empleado en la fabricación de alimentos y bebidas, excluyendo aditivos alimentarios.

o) Muestra

Una o más unidades seleccionadas entre una población de unidades, o una porción de material seleccionada entre una cantidad mayor de V material; la intención de una muestra obtenida es ser representativa del otro, la muestra a granel, el animal, etc., con

respecto a su condición, contenido de contaminantes o residuos y no necesariamente con respecto a otros atributos.

p) Riesgo

Probabilidad de que ocurra un efecto nocivo para la salud y la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos ocasionado por el contacto con superficies vivas (manipulación) o inertes contaminadas.

2.4 HIPOTESIS DE LA INVESTIGACION

2.4.1 Hipótesis General

Si es posible determinar el contenido de histaminas en conservas tipo graded de pescado perico (*coryphaena hippurus*), siendo en método más adecuado el método por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), en los laboratorios de la Empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

2.4.2 Hipótesis Específicas

Si es posible caracterizar a las conservas de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

Si es posible realizar las pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

Si es posible evaluar la presencia de histamina en las conservas de pescado perico (*coryphaena hippurus*) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

CAPITULO III

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION

3.1 DISEÑO METODOLOGICO

3.1.1 Tipo de Investigación

El estudio de este trabajo fue de tipo descriptivo observacional.

3.1.2 Enfoque

Una vez que tenemos elaborado el problema de investigación, preguntas, objetivos e hipótesis, se elabora el diseño y se selecciona la muestra que se utilizará en el estudio de acuerdo con el enfoque elegido, la siguiente etapa consiste en recolectar datos pertinentes sobre las variables, sucesos, comunidades u objetos involucrados en la investigación (Gómez, 2006:121).

En ese contexto, Hernández, Fernández y Baptista (2010:4) en su obra Metodología de la Investigación, sostienen que todo trabajo de investigación se sustenta en dos enfoques principales: el enfoque cuantitativo y el enfoque cualitativo, los cuales de manera conjunta forman un tercer enfoque: El enfoque mixto.

El enfoque de la investigación es un proceso sistemático, disciplinado y controlado y está directamente relacionada a los métodos de investigación que son dos: método inductivo generalmente asociado con la investigación cualitativa que consiste en ir de los casos particulares a la generalización; mientras que el método deductivo, es asociado habitualmente con la investigación cuantitativa cuya característica es ir de lo general a lo particular. El propósito del siguiente tema es el de explicar los diferentes enfoques que se

utilizan en una investigación científica y que representan la clave y guía para determinar resultados congruentes, claros, objetivos y significativos.

3.1.3 Localización

El desarrollo del proyecto de investigación, se llevó a cabo por la Empresa Pesquera Exalmar S.A.C. de la ciudad de Callao, provincia constitucional del Callao. En los mercados de Modelo del Callao, Terminal Pesquero de Ventanilla y Mercado de Chorrillos fueron los lugares donde se realizó la toma de las muestras, las cuales fueron transportadas para su análisis al laboratorio de Orgánica de la Empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 Población

Es toda la captura y puesta en venta de pescado perico (*Coryphaena hippurus*).

3.2.2 Muestra

Se realizó un muestreo representativo aleatorio no probabilístico, por conveniencia. Este muestreo fue utilizado porque las condiciones de la población a muestrear no permiten tener acceso a todas las unidades que están presentes en la línea de venta. Otra razón para establecer el muestreo por conveniencia está en que el número de pocillos para el análisis que brinda el kit es de 142.

Para el plan de muestreo se estableció que en cada uno de los puestos se tomen 3 unidades diarias, por dos días a la semana (lunes y miércoles) durante las 4 semanas de estudio. La totalidad de muestras por puesto fueron de 24 unidades. Trabajando con una población total de 152 muestras, las cuales fueron analizadas por duplicado. El cronograma de muestreo en cada uno de los puestos se indica en la tabla 1.

Tabla 3.- Cronograma de muestreo durante el mes de recolección de muestras.

| Puntos de Análisis en los puestos de venta | Semana 1 | | Semana 2 | | Semana 3 | | Semana 4 | |
|--|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|
| | Unidades a muestrear | | Unidades a Muestrear | | Unidades a muestrear | | Unidades a muestrear | |
| | Día1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 |
| Nº1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº7 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nº8 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Total | 192 muestras | | | | | | | |

3.2.3 Toma de muestra.

Para la toma de la muestra se debe considerar en la unidad a muestrear que el corte sea prominente en masa muscular, específicamente del lomo del pescado, se toma aproximadamente 200 g. por cada pescado, el corte se guardó en un recipiente estéril debidamente etiquetado, con el número de puesto de recolección y la fecha respectiva.

Las muestras procedentes en el lapso del mes de estudio, se realizaron en 2 días de selección por cada semana, elegidos de acuerdo al arribo del pescado sujeto de análisis, en los puestos de venta, las cuales fueron transportadas en cooler con hielo, con una temperatura aproximada de 4°C. Cada unidad muestreada se etiquetó convenientemente de acuerdo a

cada uno de los puestos de muestreo, para su posterior análisis en el Laboratorio de Orgánica de la Empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. en la ciudad de Lima.

La toma de muestra realizado en este proyecto de investigación, está contemplado en el reglamento de la FDA, en el artículo “*Fish and Fishery products. Hazard and Controls Guidance*”, este hace referencia a todo producto derivado y cuya procedencia sea del mar, que esté destinado para el consumo humano e indica que las muestras deben ser tomadas directamente del lugar de expendio considerando la especie y su utilidad en el consumo diario del hombre.

3.2.4 Fundamento del método de análisis.

La determinación de histamina se realizó a través del método de HPLC, este método es aplicado para muestras de productos hidrobiológicos, que contengan histamina entre 15 a 2500 mg/kg.

Se basa en la precipitación de la histamina con ácido tricloroacetico, luego de esto es derivatizada con cloruro de dansilo a pH alcalino y a una temperatura de 60 °C, procediendo a la separación de las otras aminas biogenicas a travez de una columna cromatogràfica de octadecil silano fase reversa usando como fase móvil mezcla de acetonitrilo – agua, y el uso de un detector UV a una longitud de onda de 254 nm.

3.2.5 Procedimiento del análisis

3.2.5.1 Equipos y Materiales

Cromatógrafo liquido de alta eficiencia (HPLC) con detector UV.

Columna C-18-e (5µm) 150 x 4.6 mm o equivalente

Guarda columna C-18-e (5µm)

Balanza analítica con resolución de 0.0001g

Baño María o Estufa calibrados a 60 °C +/- 2 °C.

Agitador mecánico.

Tips de 100 – 1000 µL

Viales.

Tubos con tapa rosca.

3.2.5.2 Extracción de la muestra

Pesar aproximadamente 1.0 g de muestra en los viales.

Adicionar 10 mL de ácido tricloroacético al 5 % respectivamente y tapar.

Colocar en el agitador por 1 hora.

Dejar decantar la solución con la muestra.

3.2.5.3 Preparación de la muestra para la lectura

Tomar 100 µL de cada uno de los estándares y colocarlos en tubos con tapa rosca.

Adicionar los reactivos indicados en el siguiente orden:

400 de Bicarbonato de sodio.

200 de cloruro de dansilo.

300 µL de acetona

Homogenizar la muestra e incubar a 60 °C por 1 hora. Retirar y dejar enfriar.

De la misma manera tomar 100 µL del extracto de las muestras y proceder de la misma forma.

Adicionar a viales de 2 mL y colocarlos en el carrusel del equipo

3.2.5.4 Curva de calibración.

Preparar una solución stock de aprox. 1000 mg/ L , a partir de ésta preparar una serie de estándares dentro del rango de 15 mg/kg a 2500 mg/kg.

Pese aprox.165,7mg del estándar de histamina de pureza conocida y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100 mL con ácido tricloroacético al 5%. Stock de aprox.1000 mg/L. (1 mg del estándar es equivalente a 603.8 ug de histamina base)

Tomar 10,0 mL de la solución (3.2.5.4.2) y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100 mL con TCA al 5%. Esta solución corresponde a un estándar de 1000 mg/ kg de histamina.

De la solución (3.2.5.4.3), tome 1,5 mL y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100mL con TCA al 5%. Esta solución corresponde a un estándar de 15 mg/ kg de histamina.

De la solución (3.2.5.4.3), tome 3,0 mL y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100 mL con TCA al 5%. Esta solución corresponde a un estándar de 30 mg/ kg de histamina.

De la solución (3.2.5.4.3), tome 10,0 mL y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100 mL con TCA al 5%. Esta solución corresponde a un estándar de 100 mg/ kg de histamina.

De la solución (3.2.5.4.2), tome 2,5 mL y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100 mL con TCA al 5%. Esta solución corresponde a un estándar de 250 mg/ kg de histamina.

De la solución (3.2.5.4.2), tome 25,0 mL y lleve a volumen en un matraz volumétrico de 100 mL con TCA al 5%. Esta solución corresponde a un estándar de 2500 mg/ kg de histamina.

3.2.5.5 Sensibilidad de la técnica

Este método cuantifica el contenido de Histamina en muestras de productos hidrobiológicos.

Con ayuda del software del equipo o en una hoja de cálculo, se calcula la concentración a partir de la curva de calibración; Area del estándar vs. Concentración.

Calcule las áreas de las muestras y obtenga la concentración en la curva.

Relacione el volumen final y el peso de muestra con la fórmula siguiente:

$$\text{Histamina (mg/kg)} = \frac{\text{Conc (mg/L)} \times \text{Vf}}{W}$$

Donde:

Conc = Concentración del analito obtenido de la curva en mg/L

W = peso de muestra en g

Vf = volumen final en mL

3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

Indicadores de la variable independiente (X): Determinación de histaminas

Determinación de Histamina

Las especies susceptibles de contener histamina, que deben ser evaluadas. para determinar el contenido de histamina. están mencionadas en la Tabla N° 10; La ASPNN podrá considerar la evaluación de este indicador en otras especies.

Frecuencia de Control

Cada lote de producción y/o cuando la Autoridad lo estime conveniente.

Plan de muestreo

La cantidad de muestras se determina según la NTP 700.002 considerando los requerimientos del Plan de Evaluación para histamina.

Indicadores de la variable dependiente (Y): Muestras de conservas de Pescado Perico (coryphaena hippurus)

A) Temperatura

El almacenamiento de pescado debe efectuarse con hielo en cámaras frigoríficas o isotérmicas. o en pozas con agua refrigerada a temperaturas cercanas a 0°C o recipientes con hielo, a fin de asegurar su conservación.

B) Exámenes Físico Organolépticos

Frecuencia de control

Todos los lotes deberán ser evaluados

Plan de muestreo

Se realizará de acuerdo al tamaño del lote establecido en los planes de muestreo por atributos de la NTP 700.002. Todas las muestras obtenidas serán evaluadas.

Metodología de análisis

Considerando que debe establecerse un número limitado, pero suficiente de categorías de frescura. sobre la base de escalas o parámetros adaptados por grupos de materias primas, en las Tablas N° 3 al 8. se describen las características físicoorganolépticas que deben cumplir los pescados magros, pescados grasos. elasmobranquios, cefalópodos, crustáceos y moluscos, respectivamente, en caso de productos vivos y

fresco-refrigerados. Se ha establecido la puntuación de cada característica. El promedio de la puntuación asignada a cada muestra definirá la categoría de frescura.

Estándares de certificación

Para ser aceptadas, las muestras deben cumplir con el número de aceptación establecido en la NTP 700 002. Para peces (Tablas 3 y 4), el límite de aceptación es el puntaje 5.

| TIPO VARIABLE | VARIABLE | INDICADOR |
|----------------------|---|---|
| Dependiente | Muestras de conservas de Pescado Perico | Temperatura Exámenes Físico-organolépticos |
| Independiente | Determinación de histaminas | Niveles de contaminación |

3.4 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

3.4.1 Técnicas a emplear

Las técnicas a emplear serán las siguientes:

Encuestas. Se aplicará con el objetivo de obtener información sobre los aspectos relacionados con la calidad y conservación del pescado, en relación al color, olor, frescura del pescado.

Análisis documental. Se utilizará para analizar las normas, información bibliográfica y otros aspectos relacionados con la investigación.

3.4.2 Descripción de los Instrumentos

Para lograr cumplir los objetivos de la tesis, se utilizará el siguiente instrumento:

Hoja de recolección de datos: también llamada hoja de registro, sirve para reunir y clasificar la información. Este instrumento nos ayudará a registrar toda la información obtenida de las diversas corridas experimentales.

3.5 TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La técnica a utilizarse será la siguiente:

Un software estadístico para el procesamiento de datos de la encuesta realizada entre los trabajadores de la empresa.

Familiarizarse con las diversas opciones y procedimientos estadísticos de un programa como SPSS permite administrar bancos de datos de manera eficiente y desarrollar perfiles de usuarios, hacer proyecciones y análisis de tendencias que permitirán planificar actividades a largo plazo y, en general, hacer un mejor uso de la información capturada en forma electrónica.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico que fue empleado para este trabajo fue de tipo descriptivo de variables. Representados por medio de gráficas de control, histogramas, diagramas con cuadros comparativos y gráficos de barras.

Para analizar las diferencias de niveles de histamina entre los diferentes puestos de expendio en el mercado de estudio, se realizó un análisis de varianza ANOVA que brinda factores comparativos de los niveles de histamina obtenidos, ya sea aplicado a valores de lectura directa en ppm, como en valores porcentuales. La probabilidad de diferencias estadísticas entre los valores refleja un nivel de confianza del 95%, el cual fue determinado a través del programa estadístico IBM SPSS Statistics V 22.0.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1 CURVA DE CALIBRACIÓN.

4.1.1 Resultado de lecturas de absorbancia para la curva de calibración de las concentraciones estándares del kit VERATOX®.

Para el análisis de las muestras en el equipo de lectura ELISA, se realizó una curva de calibración, utilizando para ello 5 patrones de concentraciones 0; 2,5; 10; 20; 50 ppm bajo una longitud de onda de 650nm. Los resultados se pueden apreciar en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados promedio de absorbancia de las concentraciones de Histamina estándar del Kit VERATOX®.

| Concentración estándar en ppm | Absorbancia nm (promedio) |
|-------------------------------|---------------------------|
| 0 | 2,476 |
| 2,5 | 1,680 |
| 10 | 1,256 |
| 20 | 0,805 |
| 50 | 0,583 |

Las lecturas fueron realizadas con las muestras patrón que se encuentra en el kit, los cuales marcan límites inferiores y superiores para las lecturas de las muestras de pescado, que serán previamente diluidas para sus lecturas.

4.1.2 Curva de calibración a una longitud de onda de 650nm.

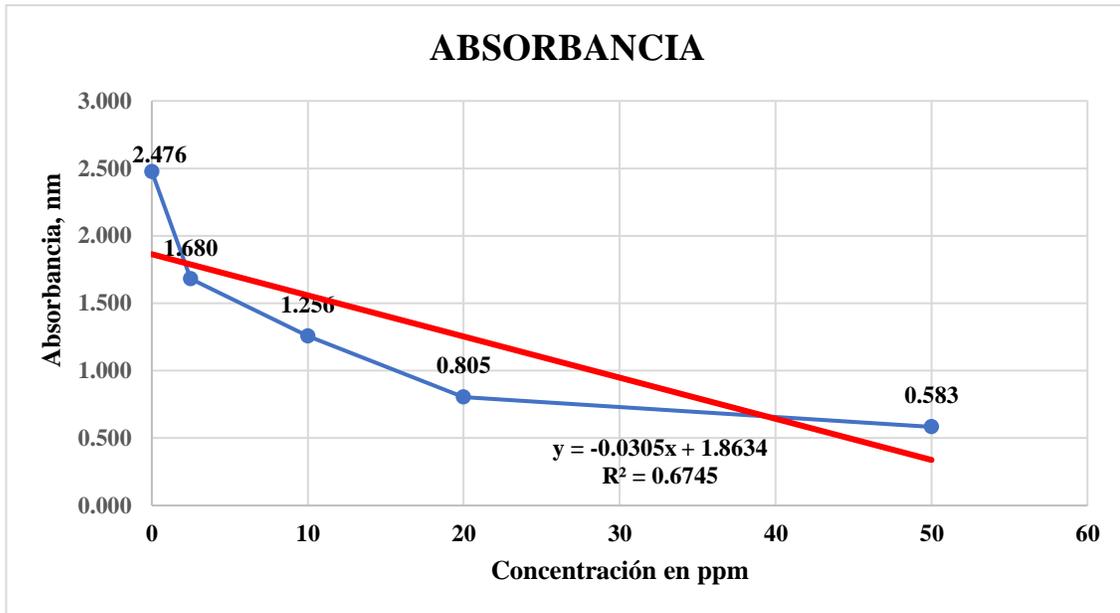


Figura 4. Curva de calibración promedio, de los estándares bajo la lectura de 650nm

Por medio del equipo STAT FAX REORDER 321, se obtuvo la curva de calibración mediante la lectura de las soluciones patrones provistos por el Kit VERATOX® de concentraciones conocidas con un coeficiente de correlación de 0,988 coeficiente obtenido con la lectura de las soluciones patrón provenientes del kit. Para la elaboración de la curva se utiliza el promedio de las lecturas de las concentraciones patrón, obtenidas de cada día, en que se realizó la lectura de las muestras. **(Anexo 4)**

El gráfico obtenido es compatible al modelo de gráfica con escala semilogarítmica de base 10, se traduce en una recta de tendencia que posee regresión lineal, con coeficiente de correlación de 0,988, aceptando la curva de calibración. Podemos ver que en el análisis existe también un coeficiente de relación negativo cuyo valor es de - 1, indicando la

relación es inversa entre variables, mientras la concentración de histamina aumenta, la señal de absorbancia disminuye, que se puede apreciar en la figura 4.

4.2 CÁLCULO DE MÁXIMOS, MÍNIMOS Y MEDIANAS DE LAS CONCENTRACIONES EN PPM POR CADA SEMANA DE ANÁLISIS.

Con los promedios obtenidos de las lecturas del total de muestras. (Anexo 5). Se calcularon los siguientes valores.

Tabla 5. Análisis descriptivo en ppm de histamina por semana, bajo la totalidad de muestras analizadas.

| | SEMANA 1 | | SEMANA 2 | | SEMANA 3 | | SEMANA 4 | |
|----------------------------|----------|--------|----------|--------|----------|-------|----------|--------|
| | Día 1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 | Día 1 | Día 2 |
| Mínimo | 18,33 | 17,70 | 23,41 | 19,56 | 24,01 | 22,46 | 17,33 | 14,43 |
| Máximo | 68,28 | 68,11 | 95,86 | 62,90 | 45,71 | 46,56 | 72,05 | 60,43 |
| Mediana | 32,40 | 32,28 | 35,33 | 34,80 | 35,02 | 29,73 | 34,10 | 34,08 |
| Desviación estándar | 17,71 | 18,38 | 23,48 | 15,18 | 8,49 | 6,88 | 17,28 | 13,48 |
| Varianza | 274,29 | 295,64 | 482,32 | 201,73 | 63,00 | 41,40 | 261,39 | 159,09 |

Los valores de medias, varianzas, mínimos, máximos, obtenidos de los estudios de datos de los ocho puestos de muestreo. Se puede observar como límite máximo 95,86 en la semana 2.

Podemos apreciar que la varianza en cada una de las distintas semanas, marca una diferencia entre cada uno de los días que se realizó la toma de la muestra.

4.3 GRÁFICAS REPRESENTATIVAS DE CONCENTRACIONES EN PPM DE HISTAMINA.

Con respecto a la totalidad de muestras analizadas, y los valores expuestos anteriormente en cada una de las tablas registradas, se realizarán gráficas representativas de barras, los

cuales dan una representación global de cada uno de los valores obtenidos de histamina en cada uno de los puestos del mercado, durante las 4 semanas de muestreo.

SEMANA DE LA 1 A LA 4

DÍA 1

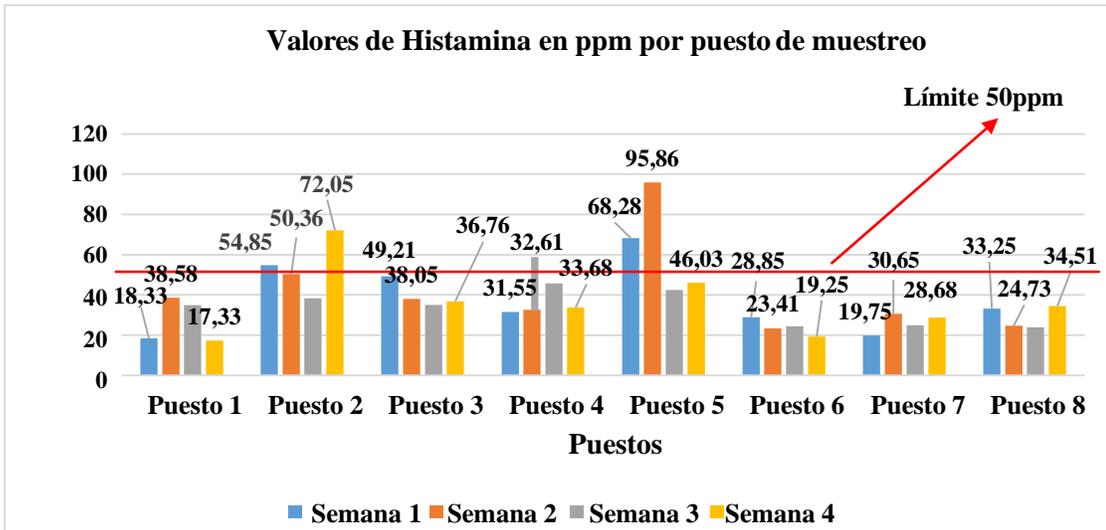


Figura 5. Valores de histamina en puestos de muestreo en ppm. día 1

SEMANA DE LA 1 A LA 4

DÍA 2

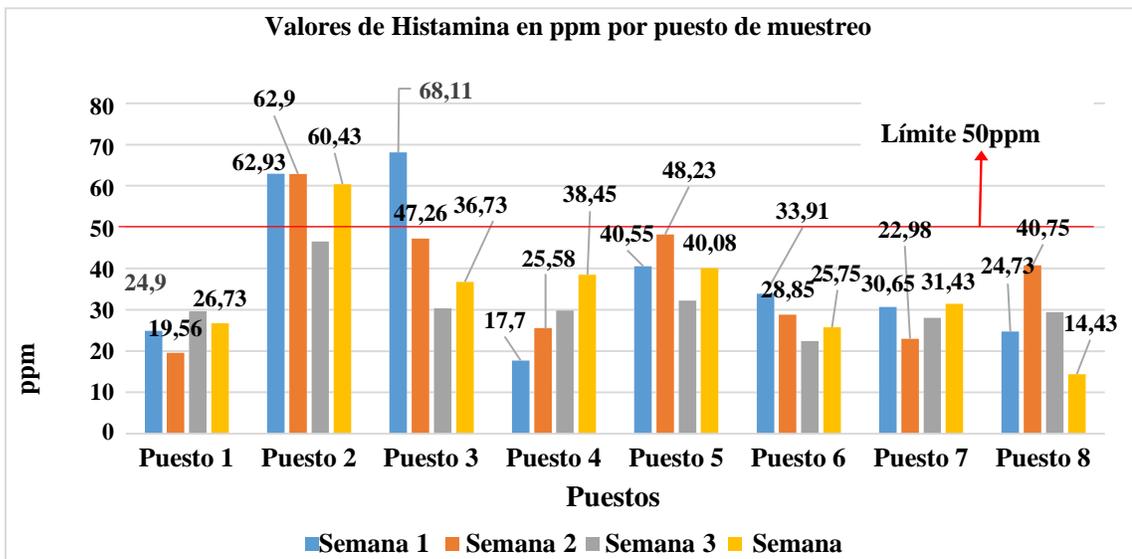


Figura 6. Valores de histamina en puestos de muestreo en ppm. día 2

En la figura 5 y 6 se pueden observar que el mayor porcentaje de histamina está en el puesto número 3 en el día 2 de toma de muestra y en el puesto 5 en el día uno. Se podría considerar los puestos del día 2, como valores que se desprenden del límite normal, con porcentajes altos de presencia de histamina en sus muestras.

4.4 VALORES DE HISTAMINA PROMEDIO EN PPM POR CADA PUESTO.

Los valores promedio en ppm de histamina, se elaboraron a partir del total de muestras analizadas por cada puesto como se pueden observar en el anexo 4.

Tabla 6. Valores en ppm por cada puesto de muestreo, bajo la totalidad de muestras analizadas.

| PUESTO DE MUESTREO | Totalidad de muestras analizadas Durante las 4 semanas de muestreo. | |
|--------------------|---|--|
| | Número de unidades | Concentración promedio de histamina ppm. |
| Puesto N° 1 | 24 | 26,25 |
| Puesto N° 2 | 24 | 56,04 |
| Puesto N° 3 | 24 | 42,69 |
| Puesto N° 4 | 24 | 31,88 |
| Puesto N° 5 | 24 | 51,71 |
| Puesto N° 6 | 24 | 25,85 |
| Puesto N° 7 | 24 | 27,13 |
| Puesto N° 8 | 24 | 28,23 |
| Total | 192 | 36,22 |

Los datos obtenidos de la tabla 8 son el promedio de las lecturas de las 24 muestras obtenidas durante el análisis, claramente los puestos 2 y 5 indican un promedio superior a los valores límite de 50ppm.

4.5 GRÁFICA DE CONCENTRACIONES DE HISTAMINA EN PPM, POR CADA PUESTO DE MUESTREO

Refiriéndonos al interés del estudio, la siguiente gráfica 4 nos muestra un análisis de dispersión con las concentraciones en ppm de histamina en promedio de los 8 puestos de venta de “albacora” *Thunnus alalunga*.

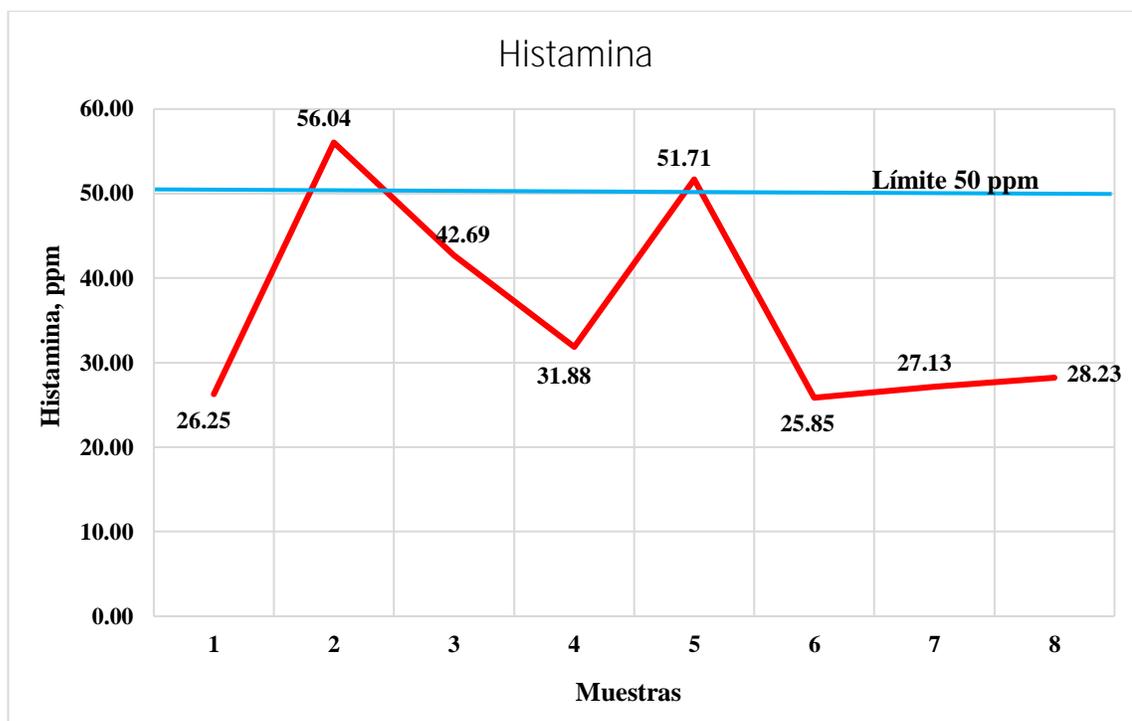


Figura 7. Dispersión de histamina en ppm, por cada puesto de muestreo.

Durante las 4 semanas de estudio bajo la totalidad de muestras analizadas, el puesto número 2 es el que presenta en promedio mayor valor de histamina en sus unidades muestreadas seguido del puesto número 5. Los otros valores se encuentran bajo el límite de referencia, los valores se pueden apreciar en la figura 7.

4.6 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS VALORES POR CADA PUESTO DE MUESTREO.

Se llevó a cabo el análisis de cada uno de los puestos de muestreo, con cálculos de los parámetros.

Tabla 7. Análisis de concentraciones promedio de histamina en ppm, bajo la totalidad de muestras analizadas.

| Puesto de muestreo | Mínimo | Máximo | Mediana | Desviación Estándar | Varianza | Muestras analizadas superiores a 50 ppm. |
|-----------------------|--------|--------------|---------|---------------------|------------|--|
| Puesto N° 1 | 17,33 | 38,58 | 25,82 | 7,82 | 53,57 | 0 |
| Puesto N° 2 | 38,26 | 72,05 | 57,64 | 10,76 | 101,23 | 54 |
| Puesto N° 3 | 30,36 | 68,11 | 37,41 | 12,02 | 126,47 | 37 |
| Puesto N° 4 | 17,70 | 45,71 | 32,08 | 8,31 | 60,42 | 4 |
| Puesto N° 5 | 32,20 | 95,86 | 44,24 | 20,68 | 374,29 | 50 |
| Puesto N° 6 | 19,25 | 33,91 | 25,07 | 4,57 | 18,27 | 0 |
| Puesto N° 7 | 19,75 | 31,43 | 28,37 | 4,20 | 15,42 | 0 |
| Puesto N° 8 | 14,43 | 40,75 | 27,08 | 8,07 | 56,95 | 0 |
| Total muestras | | | | | 192 | 18,12% |

En la tabla 7 se indican los resultados correspondientes al análisis estadístico, el puesto 5 marca el máximo con un 95,86ppm. Los puestos número 2 y 3 presentan valores que pueden considerarse importantes para el análisis. También en el puesto número 2 existen un 54% de presencia de histamina en sus muestras, es decir más de la mitad de muestras analizadas presentan niveles de histamina que superan el límite permitido. El puesto número 5 marca que el 50% de sus muestras muestran presencia de histamina que podría ser perjudicial para el consumidor.

4.7 ANÁLISIS ANOVA.

El análisis ANOVA de un factor, aplicado a los valores obtenidos de histamina en ppm, de los 8 puestos de venta del pescado.

Tabla 8. ANOVA de un factor. Comparación de valores de histamina en ppm, de los 8 puestos de venta.

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 597,5580 | 1 | 597,558025 | 7,991 | 0,0134 | 4,60010 |
| Dentro de grupos | 1046,874 | 14 | 74,77678214 | | | |
| Total | 1644,432 | 15 | | | | |

El valor de probabilidad F es de 0,0134 siendo inferior al 0,05 que equivale al 5% de error del análisis, se considera que los grupos poblacionales, no mantienen un promedio entre ellos, es decir se notan claras diferencias en los valores de cada uno de los conjuntos de datos tomados para el análisis. Este valor nos indica una fiabilidad del estudio del 95%, trabajando con grupos heterogéneos de valores. El valor de F obtenido para el estudio, indica que en la determinación de histamina en ppm de cada uno de los ocho puestos de muestreo no se notan valores homogéneos, sino que hay una diferencia significativa entre los valores de un puesto a otro.

CAPITULO V

DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 DISCUSIÓN

Los efectos adversos por la ingesta de altas dosis de histamina, según la FDA, el nivel de histamina es de 50mg/1000g (Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, 2011). El análisis de los datos de este estudio, está encaminado a determinar los niveles de histamina que superan los parámetros establecidos, para cada uno de los puntos de venta, o puestos de muestreo.

Los efectos que causa la histamina en la salud son muy considerados, desde el punto de vista de las intoxicaciones por productos derivados del mar, es por esto que Field y Calderón (2008) indican que los porcentajes de histamina que presenten los peces, así no superen los valores críticos, pueden causar alteraciones en la fisiología constante del hombre que haya ingerido el pescado con dicha carga de histamina en él.

Se pudo determinar que en el mercado Modelo del Callao en la Provincia Constitucional del Callao, 3 puestos de los 8 analizados presentan gran número de muestras con altas concentraciones de histamina, estos valores fueron evidentes y reincidentes durante cada análisis a los que se sometía.

En la especie *Coryphaena hippurus* la cual se analizó en este trabajo los niveles de histamina, incumple en 3 puestos. Hay que recalcar que para que la histidina se transforme en histamina tiene que estar en estado libre. La cantidad de histamina presente en el pescado, es directamente proporcional a la cantidad de histidina presente en él según Cruces y Díaz (2011), no se puede despreciar bajo ningún término la carga bacteriana (familia

Enterobacteriaceae) que posea el pescado posterior a su captura. La influencia de las malas prácticas de manipulación durante la fase de expendio al público, originan el aumento de la carga bacteriana en el pescado, posterior estas elevadas cargas aportarán con altos contenidos de enzima amino descarboxilasa, aumentando la transformación de histidina a histamina, generando altas concentraciones de histamina en el pescado de venta.

En los promedios obtenidos de las lecturas de histamina por cada uno de los puestos de muestreo durante las 4 semanas de estudio, las cifras altas corresponden al puesto número 2, 3 y 5, en estos puestos de expendio se podía evidenciar claramente la falta de refrigeración o bajas temperaturas de almacenamiento de los pescados, que se exhibían para la venta, al estar a altas temperaturas ambientales, y tiempos de exposición prolongados, el crecimiento de bacterias productoras de histamina tenía las condiciones ideales para proliferar. La producción o la formación de histamina a partir de su precursor químico la histidina es inducida por el abuso de temperaturas posteriores a la captura del pescado, ya que los niveles perjudiciales para el consumidor resultan apreciables en pescados en donde la combinación de una mala temperatura de almacenaje y tiempo prolongado ocasionan el aumento de los niveles de histamina. Un control de temperatura, el pescado debe estar a una temperatura que según Fernández (2002), en su investigación “Control de la producción de histamina durante el deterioro del pescado”, demuestra que la temperatura interna del pescado en el almacenamiento no debe superar los 10°C, durante las primeras 6 horas después de haber sido el pez sacado de su hábitat natural, marcando como temperatura ideal 4°C, así garantizaría que la concentración de histamina se redujera considerablemente.

Es primordial impedir la formación de histamina en el pescado posterior a su captura, para ello el mecanismo a utilizar es su rápido enfriamiento y mantenerlo así durante su transporte y su almacenamiento previo a la venta, lo resalta Gozzi, Picente (2011). Hay que tomar en cuenta que así se controlen el tiempo de transporte del pescado desde los puertos de distribución ubicados en Puerto del Callao y Puerto Artesanal de Ventanilla al Mercado Modelo del Callao, que supera el promedio de 2 horas de transporte, a eso se debe sumar el tiempo que tarda el pescado en ser vendido al consumidor y recordar que la temperatura ambiente en un promedio anual de 2018 de Callao es de 19,2°C según Weather Spark, estas son condiciones que crean un deterioro del pescado en los lugares de venta. Esto tiene mucha lógica con el tema de investigación y los datos expuestos en los cuadros de análisis, en donde ciertos locales muestran valores de histamina fuera de los límites, en las 4 semanas del estudio, así se puede distinguir que los valores de las muestras de histamina que superan los valores permitidos, se encuentran en cada semana de análisis, sin excepciones, permitiendo decir que los parámetros de transporte juegan un papel primordial en el deterioro del pescado.

Se menciona que los efectos de la ingesta de *Coryphaena hippurus* y productos pesqueros con altas concentraciones de histamina provocan patologías denominadas escombroidosis que tienen relación directa con las enfermedades producidas por alimentos ETA, por eso es de suma importancia mantener un control previo de los niveles de histamina presentes en los productos de mar que están listos para el expendio. Así se observó que en el trabajo de titulación de maestría “Determinación de histamina en pescado fresco” (2016), en el análisis de 7 especies de pescados, la *Coryphaena hippurus* presenta los niveles más altos de histamina de todo este grupo analizado. Este fue el argumento de mayor importancia,

para que este estudio se enfoque únicamente en la determinación de los valores de histamina en la especie *Coryphaena hippurus*, ya que este pescado es uno de los más consumidos por la población, en el plato típico conocido como “encebollado”.

Así la determinación de los niveles de histamina nos ayudaría a tener un control del pescado previo a su expendio y posterior consumo.

Los niveles que sobrepasen los valores de 50ppm, no podrían ser captados por indicadores sensoriales de deterioro, pero si se debiera utilizar uno de ellos, el color rojo claro, sería un indicativo de que la carne está libre de contaminación bacteriana, o su carga no es la ideal para que produzca un aumento exagerado en la producción de histamina. Este deterioro puede darse a que el pescado luego de su muerte anula todos sus mecanismos naturales de defensa y hay resistencia nula a la formación de histamina por acción directa de las enzimas bacterianas. Por esto sería de suma importancia que todas las unidades sean analizadas y las cuales hayan sobrepasado los valores límites establecidos de histamina, sean rechazados para el consumo, y sean desechados, ya que las unidades no podrán ser utilizadas en ningún proceso posterior, para el consumo humano. (Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, 2011).

Por otra parte, las características perceptibles que pueden dar un indicio de altos contenidos de histamina, son los que marcan el deterioro del pescado, como color oscuro de la carne, olores fuertes que marquen deterioro de la carne. Esto no asegura que el producto contenga alta concentración de histamina, ya que el cambio de color puede deberse a factores múltiples, o al ataque previo de otras bacterias no productoras de la enzima descarboxilasa. Por eso es indispensable establecer valores cuantitativos de histamina por medio de la

técnica utilizada en este trabajo, la cual nos brindó valores cuantitativos por medio de ELISA.

5.2 CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que el 18,7% que representan 3 de los 8 puestos analizados presentan valores promedio, superiores al valor de 50ppm permitidos por la FDA, esto podría indicar que estas muestras podrían ser una amenaza para la salud del consumidor.

El porcentaje superior al 80% del total de muestras analizadas están dentro de lo que podría denominarse como “pescado con bajo contenido en ppm de histamina” comercializado en el mercado Modelo del Callao de la Provincia Constitucional del Callao. El pescado expendido en su mayoría no es perjudicial para los consumidores, se puede mencionar que los puestos en donde los niveles fueron elevados, marcaron una regularidad en la presencia en cada análisis, por cada uno de los días en los que se realizó la toma de la muestra y las lecturas respectivas.

Comparando los resultados de cada semana entre los puestos de muestreo se puede establecer que en cada una de las semanas se pueden observar que existen valores que sobrepasan los límites establecidos, marcando una recurrencia en tres de los ocho puestos.

5.3 RECOMENDACIONES

Capacitar a los vendedores de mariscos por medio de las entidades competentes como el SANIPES (Organismo Nacional de Sanidad Pesquera), sobre la importancia de mantener parámetros controlados en el almacenamiento del producto tales como mantener el pescado la mayor parte de tiempo en hielo, ya sea en su fase de transporte y almacenamiento, garantizando que el pescado mantenga sus características

organolépticas en condiciones óptimas, sirviendo de gran ayuda al vendedor a no perder el producto y aportando un pescado con concentraciones de histamina dentro de los parámetros.

Llevar a cabo la vigilancia y monitoreo continuo de las prácticas de higiene que mantienen cada uno de los distintos puestos por personal de entidades competentes.

Se recomienda que el estudio pueda continuarse con una monitorización de las concentraciones de histamina en otros mercados de la ciudad, así como en otras especies de pescado que sean de consumo frecuente en la población también se puede llevar este análisis a otros productos derivados del mar a los cuales se puede aplicar esta técnica.

Llevar a cabo el análisis rutinario de histamina, utilizando para ello el método ELISA que sería una prueba necesaria para que el producto sea vendido con un control de las concentraciones de histamina.

CAPITULO VI

FUENTES DE INFORMACIÓN

6.1 FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

CASTAÑEDA, R. F.; GUERRA, G.; Arnold G.R.W. Nueva Especie del Genero Saccardaea Cavara: S. Ciliata. Castañeda, G. Arnold et A. Guerra sp. nov. Vol. 04; **1983.** p. 27-34.

SOLIS, J. L. Manual de Prácticas de Tecnología de carnes. Huancayo-Perú; **2005.**

NELSON, B. W.; Kapos, V.; Adams, J. B.; Oliveira, W. J.; Braun, O. P.G. and Doamaral, J. L. Forest Disturbance by Large Blowdowns. *The Brazilian Amazon. Ecology*; **1994.** p.75, 853-858.

CUVIER, M. G. Sur le poissons du sous-genre Myletes. Mémoires du Musée di Histoire Naturelle, Paris; **1818.** p. 4, 444-456.

SOLARI, F. Variaciones en la composición proteica del músculo de Colossoma macropomun (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae), provenientes de criaderos durante su almacenamiento en frío. (Tesis pre grado). Lima. Facultad de Biología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; **2006.**

GOULDING, M. The Fishes and the Forest, Exploration in Amazonian Natural History. University of California Press, Berkeley. Los Ángeles, London; **1980.**

IIAP. Producción de alevinos de especies nativas, campaña 99/2000. Informe Anual 2000. Proyecto: Desarrollo de la acuicultura en San Martín. ACUIPRO-SM. Tarapoto. Perú; **2000.**

ALCANTARA, Armando. Constraints and Changes In The Development of Science and Technology Policies in Argentina's University of Buenos Aires and The National Autonomous University of Mexico. Ph. D. Dissertation. U de California, Los Angeles; **1999**.

MARTÍNEZ, M. El cultivo de las especies del género *Colossoma* en América Latina. FAO Regional Office Santiago, Chile; **1984**.

SAINT-PAUL, U. The Neo tropical Serrasalmid *Colossoma macropomun* a promising species for fish culture in Amazonia. Animal Research and Development; **1985**. p. 22, 7-35.

IMARPE. Desembarque de pescados, mariscos y otros animales marinos durante **1970**. Lima-Perú. Vásquez Aguirre, Isaac; Paz Torres, Augusto; Hidalgo Reyes, Raúl.

CORTEZ, J. Ensayo de Enlatados de Pescado con Especies Amazónicas. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana; **1986**. p. 23.

BURGESS, G. El pescado y la Industria Derivadas de la Pesca. Ed. Acribia Zaragoza – España; **1971**.

RAMÍREZ, J. (Ed.). Conservas de Pescados y sus Derivados. Cali – Valle - Colombia: Universidad del Valle. Tecnología en Alimentos; **2007**.

BERTULLO, V. Tecnología de los Productos y Subproductos de los pescados, moluscos y crustáceos. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires - Argentina; **1975**.

FAO-OMS, Código Internacional Recomendado de Prácticas para el Pescado en Conserva. USA; **1974**. p. 58.

PORTURAS, R. Procesamiento de Conservas de Pescado. (Diapositiva).

UNIVERSIDAD SAN IGNACIO DE LOYOLA. Especialidad de Agroindustria;

2010. 72 diapositivas.

HERSON, A. C. Conservas Alimenticias. Ed. Acribia, Zaragoza - España. 2da

Edición; **1974.** pg. 360.

A N E X O S

Anexo N° 01:

"Determinación de Histamina en muestras de pescado perico (coryphaena hippurus) en la Empresa Pesquera Exalmar S.A. - Carquin 2018"

| PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPOTESIS | VARIABLES E INDICADORES | MÉTODOS/ TÉCNICAS | INSTRUMENTOS |
|--|---|--|--|---|--|
| <p>Problema General ¿Es factible estimar la histamina en conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) mediante pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.?</p> <p>Problemas Específicos ¿Cómo se caracterizará a las conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.? ¿Cómo se realizará las pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.? ¿Qué parámetros analíticos se evaluarán para determinar la presencia de histamina en las conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.?</p> | <p>Objetivo General Estimar la histamina en conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) mediante pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.</p> <p>Objetivos Específicos Caracterizar a las conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. Realizar las pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. Evaluar la presencia de histamina en las conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.</p> | <p>Hipótesis General Si es posible determinar el contenido de histaminas en conservas tipo graded de pescado perico (coryphaena hippurus), siendo en método más adecuado el método por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), en los laboratorios de la Empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.</p> <p>Hipótesis Especificas Si es posible caracterizar a las conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. Si es posible realizar las pruebas técnicas HPLC de cromatografía líquida de alta precisión en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C. Si es posible evaluar la presencia de histamina en las conservas de pescado perico (coryphaena hippurus) en los laboratorios de la empresa Inspectorate Services Perú S.A.C.</p> | <p>Variables Variable Independiente (X): X: Determinación de Histaminas</p> <p>Variable dependiente (Y): Y: Muestras de conservas de pescado perico (coryphaena hippurus)</p> <p>Indicadores: Determinación de Histaminas: Temperatura Exámenes físico-químicos Examen Organoléptico Control microbiológico HACCP Parámetros Legales</p> <p>Muestras de conservas de pescado perico (coryphaena hippurus): Niveles de contaminación Niveles de seguridad en la salud de las personas Niveles de satisfacción con los proveedores</p> | <p>Tipo de investigación Tesis descriptiva y correlacional.</p> <p>Diseño de investigación Se tomará el enfoque cuantitativo porque se pretende obtener la recolección de datos para conocer o medir el fenómeno en estudio y encontrar soluciones para la misma; la cual trae consigo la afirmación o negación de la hipótesis establecida. La investigación también será cualitativa, la cual consiste en utilizar la recolección de datos sin medición numérica para descubrir o afinar preguntas en el proceso del desarrollo de la tesis.</p> <p>Técnicas: Análisis documental. Control de las variables del proceso.</p> | <p>Se usará como instrumento de medición de los niveles de Histamina, un Cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC) con detector UV.</p> |