



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

José Nuno Alves Fraga

**OCORRÊNCIA DE HISTAMINA EM ATUM  
COMERCIALIZADO EM PORTUGAL**

**Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar,  
orientada pela Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena e  
coorientada pela Professora Doutora Sofia Alexandra Giestas  
Cancela Duarte e apresentada à Faculdade de Farmácia da  
Universidade de Coimbra**

Julho de 2022

José Nuno Alves Fraga

# Ocorrência de histamina em atum comercializado em Portugal

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, orientada pela Professora Doutora  
Angelina Lopes Simões Pena e coorientada pela Professora Doutora Sofia Alexandra Giestas  
Cancela Duarte e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2022



UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Em primeiro lugar, agradecer à Professora Doutora Sofia Duarte pela sua disponibilidade, e pelos conhecimentos que me foi transmitindo ao longo da realização deste trabalho que foram cruciais para a conclusão do mesmo.

À Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), por disponibilizar não só o laboratório assim como todo o material necessário para a realização deste trabalho.

A todo o pessoal que me acompanhou durante toda a minha vida académica, obrigado por todos os momentos passados e por me fazerem crescer.

À minha família, por sempre me apoiar em todas as decisões que tomei ao longo da minha vida e por estarem sempre presentes.

À Maria, por nunca me deixar ir abaixo nos momentos mais difíceis e por sempre me incentivar a lutar até ao fim.

## Resumo

A alimentação é uma das atividades mais importantes na vida do ser humano, não só em termos biológicos, mas também por abranger outros aspetos cruciais na evolução da sociedade.

Portugal apresenta um dos maiores consumos de peixe *per capita*. Peixes, particularmente da família *Scombridae*, possuem elevada quantidade de histidina, que pode formar histamina.

A histamina é uma amina biogénica, formada a partir da descarboxilação do aminoácido histidina. A histamina é extremamente estável, não sendo afetada por tratamentos térmicos e podendo resistir a diferentes processos tecnológicos, o que pode levar a teores elevados nos produtos alimentares e, conseqüentemente, potenciais riscos para a saúde do consumidor.

Assim, este trabalho tem como objetivo efetuar uma avaliação de risco, através da determinação de histamina em atum comercializado em Portugal, utilizando amostras de atum em conserva e preparados de sashimi recolhidos de diversos restaurantes. A determinação foi realizada com o kit “RIDASCREEN® Histamine-enzymatic, RI605”, “r-biopharm, Alemanha”, que apresenta um LOD de 0,75 mg/kg e um LOQ de 2 mg/kg para peixe fresco e enlatado.

Não foi detetada histamina em nenhuma das 42 amostras, o que indica que o atum não representa risco associado ao seu consumo. Contudo, é necessária a realização de estudos adicionais, com número superior de amostras e maior variedade de tipos de processamento tecnológico de atum de forma a obter um conhecimento mais aprofundado da ocorrência de histamina.

Palavras-chave: aminas, atum, histamina, intoxicação alimentar, ELISA, segurança alimentar.

## Abstract

*Feeding is one of the most important activity in a human being's life, not only biologically, but also because it includes other crucial aspects in the evolution of society.*

*Portugal has one of the highest consumption of fish per capita. Fish, particularly from the Scombridae family, have a high amount of histidine, which can form histamine.*

*Histamine is a biogenic amine, formed from the decarboxylation of the amino acid histidine. Histamine is extremely stable, not being affected by thermal treatments and being able to resist to canning processes, which may lead to high contents in food products and, consequently, potential risks to the consumer's health.*

*Therefore, the aim of this work was to carry out a risk assessment, through the determination of histamine in commercialized tuna in Portugal, using canned tuna samples and sashimi preparations samples. Determination was performed with the "RIDASCREEN® Histamine-enzymatic, R1605", "r-biopharm, Germany" kit, which has a LOD of 0,75 mg/kg and a LOQ of 2 mg/kg for fresh and canned fish.*

*Histamine was not detected in any of the 42 samples, which indicates that tuna does not represente a risk associated with its consumption. However, it is necessary to carry out more similar studies in the future, with a higher number of samples and a greater variety of types of technological processing of tuna in order to obtain a more in depth knowledge of the occurrence of histamine.*

*Key-words: amines, tuna, histamine, food poisoning, ELISA, food safety.*

# Índice geral

Agradecimentos .....	ii
Resumo .....	iii
Abstract .....	iv
Índice de figuras .....	vii
Índice de tabelas .....	viii
Lista de abreviaturas .....	ix
I. Revisão bibliográfica.....	I
1. Introdução.....	I
2. Nota histórica .....	I
3. Produção .....	3
3.1. Atum .....	5
4. Consumo.....	6
5. Perigos .....	7
5.1. Perigos Químicos.....	7
5.2. Perigos microbiológicos .....	8
5.3. Perigos físicos.....	9
6. Aminas biogénicas .....	10
6.1. Definição e Classificação .....	10
6.2. Funções fisiológicas.....	13
6.3. Presença em alimentos .....	13
6.4. Toxicidade .....	17
6.5. Intoxicação escombróide .....	18
6.6. Legislação .....	19
7. Métodos analíticos para análise de aminas biogénicas .....	20

7.1. Métodos emergentes .....	23
8. Controlo de aminas biogénicas .....	23
2. Trabalho original.....	26
1. Objetivos.....	26
2. Materiais e métodos .....	26
2.1. Amostragem.....	26
2.2. Procedimento .....	29
a. Preparação das amostras.....	29
b. Implementação do teste .....	29
3. Resultados e Discussão.....	30
4. Conclusão .....	34
5. Bibliografia.....	35

## Índice de figuras

Figura 1 - Captura total e produção (em toneladas) em aquacultura em Portugal (Adaptado de FAO, 2022).....	4
Figura 2 - Principais países produtores de peixe e produtos derivados da pesca (adaptado de FAO, 2017).....	5
Figura 3 - Consumo de peixe e produtos derivados da pesca per capita (Adaptado de Our World In Data, 2017) .....	7
Figura 4 - Reação de descarboxilação do aminoácido histidina (FAO, 2003) .....	10
Figura 5 - Aminoácidos precursores e respetivas aminas biogénicas (Adaptado de Irani, 2013).....	11
Figura 6 - Classificação de aminas biogénicas consoante a sua estrutura química e o número de grupos amina (Gouveia, 2013) .....	12
Figura 7 – Curva de calibração utilizada no software RIDASOFT® Win.NET .....	30



## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Principais países produtores de pescado (EUMOFA, 2021) .....	3
Tabela 2 - Características dos principais métodos utilizados na determinação de histamina (adaptado de FAO/WHO, 2012) .....	21
Tabela 3 - Vantagens e desvantagens dos métodos HPLC e ELISA (adaptado de FAO/WHO, 2012; Sakamoto et al., 2018; Akash & Rehman, 2020) .....	22
Tabela 4 – Caracterização das amostras .....	27
Tabela 5 – Estudos realizados para a determinação de histamina .....	31

## Lista de Abreviaturas

ACN – do inglês *Alert and Cooperation Network*

AOAC - do inglês *Association of Official Analytical Collaboration* (AOAC) International

ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

ASP – do inglês *Amnesic Shellfish Poisoning*

ATP – do inglês *Adenosine Triphosphate* (Adenosina Trifosfato)

CE – do inglês *Capillary Electrophoresis* (Eletroforese Capilar)

DNA – do inglês *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido Desoxirribonucleico)

DSP – do inglês *Diarrhetic Shellfish Poisoning*

EFSA – do inglês *European Food Safety Authority* (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)

ELISA - do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

EUMOFA - do inglês *European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products* (Observatório do Mercado Europeu das Pescas e Produtos de Aquacultura)

FAO - do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas)

FDA - do inglês *Food and Drug Administration* (Autoridade de Segurança Alimentar Americana)

GC – do inglês *Gas Chromatography* (Cromatografia Gasosa)

GHP – do inglês *Good Hygiene Practices* (Boas Práticas de Higiene)

GMP – do inglês *Good Manufacturing Practices* (Boas Práticas de Fabrico)

HACCP – do inglês *Hazard Analysis and Critical Control Point* (Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos)

HPLC - do inglês *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

INE – Instituto Nacional de Estatística

MARE – Centro de Ciências do Mar e Ambiente

NSP – do inglês *Neurologic Shellfish Poisoning*

PIB – Produto Interno Bruto

PCB – do inglês *Polychlorinated Biphenyls* (Bifenilos Policlorados)

PSP – do inglês *Paralytic Shellfish Poisoning*

PTX – Palitoxina

RASFF – do inglês *Rapid Alert System for Food and Feed*

RNA – do inglês *Ribonucleic Acid* (Ácido Ribonucleico)

TLC – do inglês *Thin-layer chromatography* (Cromatografia em Camada Fina)

TTX – Tetrodotoxina

UPLC – do inglês *Ultra Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência)

WHO – do inglês *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)

## **1. Revisão bibliográfica**

### **I. Introdução**

Atualmente, a garantia de segurança alimentar continua a ser um foco de ação por todo o mundo (Cardozo et al., 2013). Os alimentos diariamente consumidos pelo Homem estão frequentemente sujeitos a contaminação por microrganismos e às toxinas produzidas pelos mesmos, durante as diversas fases de processamento. Cerca de 90% das doenças transmitidas por alimentos são provocadas por microrganismos, sendo que a transmissão se deve à utilização de metodologias erradas nas etapas finais de confeção ou distribuição (ASAE, 2021).

Apesar de um constante uso de boas práticas e controlo de perigos associados, é extremamente difícil impedir completamente a contaminação dos alimentos (Cardozo et al., 2013). Desta forma, o consumo de alimentos acaba por ser comprometido, uma vez que o mesmo pode acarretar efeitos negativos para o Homem.

A presença em alimentos de diversos compostos não nutritivos com ação fisiológica relevante, maioritariamente nocivos para os consumidores, apresenta-se como um dos desafios com maior relevância na área alimentar (Gouveia, 2009). De forma a reduzir o risco, continuam a ser desenvolvidas técnicas analíticas cada vez mais completas que permitem a identificação e quantificação desses riscos de forma inequívoca, melhorando o controlo de compostos prejudiciais presentes nos alimentos.

As aminas biogénicas fazem parte do grupo de substâncias que são relevantes a nível fisiológico mas que são suscetíveis a causar intoxicações alimentares quando se encontram em grandes quantidades nos produtos alimentares (Wójcik et al., 2021). Além dos seus efeitos nocivos, surgem outros efeitos que podem afetar as características organolépticas dos alimentos (Gouveia, 2009).

### **2. Nota histórica**

No ano de 1804, Nicholas Appert, descobre o início da conservação de alimentos através do calor, armazenando os mesmos em recipientes fechados hermeticamente,

permitindo um longo tempo de conservação. Desta forma, Appert dá início à indústria de conservas (Melo, 2018). No século seguinte, no ano de 1910, Peter Durand patenteia a lata de metal para a conserva de alimentos, aperfeiçoando assim a ideia inicial de Appert.

Em Portugal, a extensa linha da costa e a abundância de peixe, em conjunto com um já grande interesse nas artes de pesca, terão sido os fatores determinantes para o aparecimento da indústria de conservas de peixe (Ócio, 2020).

A indústria das conservas surge em Portugal na segunda metade do século XIX (Ócio, 2020). Em 1853, o espanhol Sebastian Ramirez surge como um dos primeiros a investir nesta recém-chegada indústria, criando uma empresa de conservação de peixe em Vila Real de Santo António, empresa que ainda hoje labora. No ano de 1884 existiam já 18 fábricas de conservas, sendo que esta indústria continuou a crescer nos anos seguintes, aumentando para 66 fábricas em 1886, para 116 em 1912 e para 400 em 1925.

No entanto, durante as duas últimas décadas do séc. XX, a maioria das fábricas faliram, quando o mercado de União Europeia foi aberto a importações provenientes de países fora da Europa (FAO, 2017). Assim, nos dias de hoje, apenas um pequeno número de empresas se mantém com a produção de produtos de alta qualidade, uma vez que o mercado se tornou cada vez mais exigente.

Apesar de ter uma grande importância cultural e social em Portugal, a indústria das pescas contribui muito pouco para a economia do país, representando apenas 0,24% do Produto Interno Bruto (PIB), sendo que a “economia azul” representa 3% (FAO, 2017). De acordo com a FAO (2017), em 2015, Portugal tinha 17 536 pessoas diretamente empregadas no setor da pesca marinha.

### 3. Produção

Todos os anos, cerca de 200 milhões de toneladas de peixe e de produtos derivados da pesca são produzidas em todo o mundo, tanto como resultado da pesca como da aquicultura (Ritchie & Roser, 2021). A tabela I apresenta os principais países produtores de peixe, na qual a China surge como o principal produtor, sendo que a União Europeia é a quinta maior produtora mundial, ainda que apresente uma evolução decrescente comparativamente aos países que a precedem.

Tabela I – Principais países produtores de pescado (EUMOFA, 2021)

	Catches	Aquaculture	Total production	% of total	% evolution of total production 2019 / 2018
China	14.170	68.424	82.594	39%	+2%
Indonesia	7.525	15.893	23.418	11%	+6%
India	5.477	7.800	13.277	6%	+7%
Vietnam	3.429	4.456	7.885	4%	+5%
<b>EU-28</b>	<b>4.824</b>	<b>1.367</b>	<b>6.191</b>	<b>3%</b>	<b>-7%</b>
United States	4.804	490	5.294	2%	+1%
Russia	4.983	248	5.231	2%	-2%
Peru	4.851	154	5.005	2%	-32%
Philippines	2.057	2.358	4.415	2%	+1%
Bangladesh	1.896	2.489	4.384	2%	+3%
Japan	3.231	944	4.174	2%	-5%
Norway	2.472	1.453	3.925	2%	-2%
Chile	2.377	1.407	3.784	2%	+3%
Republic of Korea	1.367	2.406	3.773	2%	+2%
Myanmar	1.951	1.082	3.033	1%	-4%
Others	28.106	9.132	37.238	18%	+1%
<b>Total</b>	<b>93.519</b>	<b>120.104</b>	<b>213.623</b>	<b>100%</b>	<b>+1%</b>

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE, 2020), as espécies de peixe mais capturadas em Portugal em 2020 foram a cavala, o carapau e a sardinha.

Segundo Guillen (2019), a produção em aquacultura tem tido um rápido crescimento, sendo que atualmente este é extremamente importante na produção global uma vez que diminui a pressão existente sobre os stocks de pesca. De acordo com o INE (2020), a produção total em aquacultura em Portugal foi de 14 336 toneladas em 2019, o que representou um aumento de 2,5% em relação ao ano anterior. Como demonstra a figura 1, em Portugal, as capturas são muito superiores em relação à aquacultura.

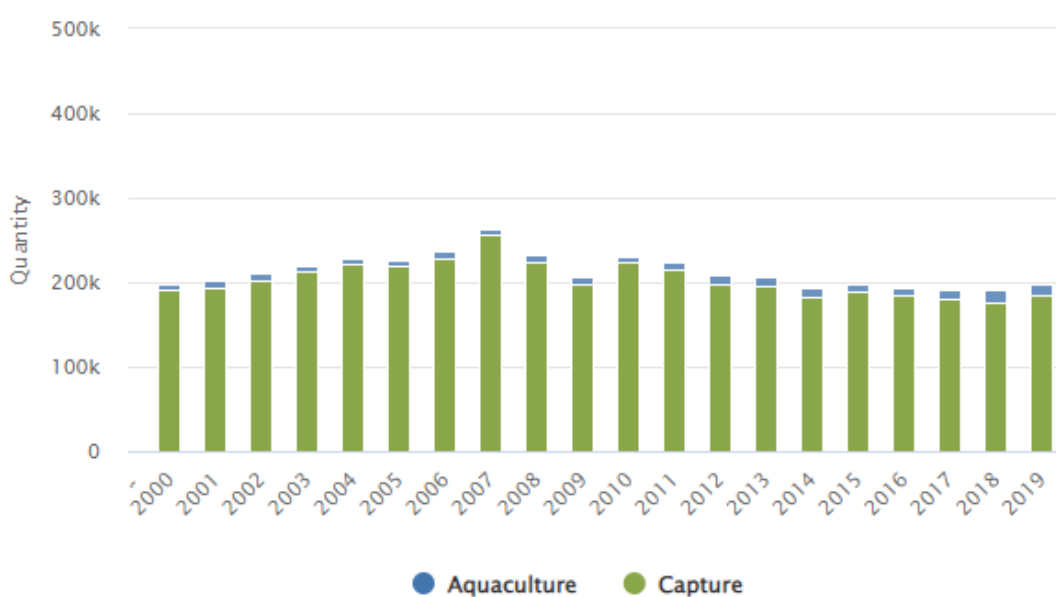


Figura 1 – Captura total e produção (em toneladas) em aquacultura em Portugal (Adaptado de FAO, 2022).

Os produtos derivados da pesca produzidos globalmente representam uma grande parte do comércio internacional e este é um mercado que está em constante crescimento (Guillen et al., 2019). Isto deve-se não só à globalização, mas também ao facto de haver uma discrepância geográfica entre as necessidades de zonas como a Europa e a América do Norte e a produção em aquacultura que existe em maior quantidade na Ásia. A figura 2 mostra os principais países produtores de peixe e produtos derivados da pesca, assim como a sua produção em milhões de toneladas.

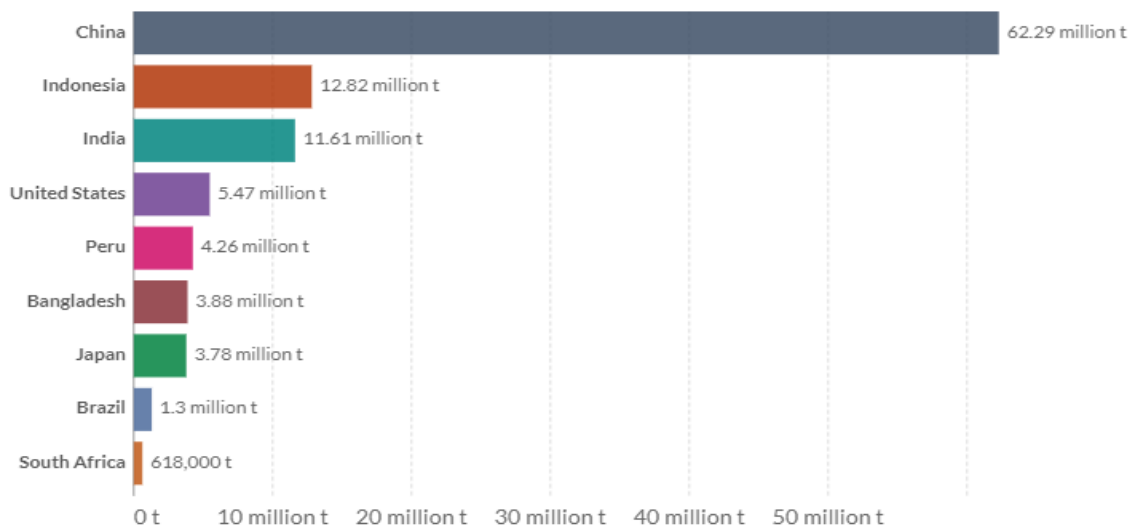


Figura 2 – Principais países produtores de peixe e produtos derivados da pesca (adaptado de FAO, 2017).

### 3.1. Atum

O atum é o segundo peixe mais capturado no planeta, sendo que o primeiro é a anchoveta peruana (*Engraulis ringens*). No entanto, esta espécie é maioritariamente usada para a produção de farinhas de peixe, o que faz com que o atum seja o peixe mais consumido mundialmente. Segundo o Sistema Integrado de Informação Taxonómica (ITIS, do inglês Integrated Taxonomic Information System), o atum é um peixe pertencente à família *Scombridae*, sendo que as espécies estão associadas a 5 géneros: *Allothunnus*, *Auxis*, *Euthynnus*, *Katsuwonus* e *Thunnus* (ITIS, 2022).

De acordo com um estudo realizado pela FAO em 2020, a produção de bonito (*Katsuwonus pelamis*) e albacora (*Thunnus albacares*) tem crescido de forma constante ao longo dos anos (ATUNA, 2022). O atum bonito, é um peixe tropical que se encontra em águas quentes (com temperaturas entre os 24 e os 32°C ) do Pacífico, Atlântico e Índico, tendo por isso uma distribuição cosmopolita (Dueri et al., 2014). Ainda assim, uma pequena percentagem de bonito é capturado em águas com temperaturas entre os 18 e os 24°C, como é o caso dos Açores. Já o atum albacora habita em águas tropicais e subtropicais, estando, no entanto, ausentes no Mar Mediterrâneo.



#### 4. Consumo

O peixe e os produtos derivados da pesca desempenham um papel importante relativamente à segurança alimentar e estratégias de nutrição a todos os níveis, sendo “um dos alimentos mais saudáveis no mundo e um dos alimentos com menor impacto no ambiente”, como referido pelo Diretor Geral da FAO Qu Dongyu (ATUNA, 2022).

O setor da pesca encontra-se cada vez mais sob pressão, uma vez que o consumo de peixe duplicou nos últimos 50 anos (Guillen et al., 2019). Os níveis de stock de peixe têm vindo a diminuir e, por isso, necessitam de uma melhor gestão, de forma a diminuir a pressão provocada pela pesca e aumentar biomassa dos stocks (ATUNA, 2022). De acordo com a mesma fonte (ATUNA, 2022), em 2017, a proporção de stocks de peixe que se mantinham em níveis biologicamente sustentáveis era cerca de 65,8%, sendo que no ano de 1974 era este valor era de 90%.

Os produtos derivados da pesca produzidos globalmente representam uma grande parte do comércio internacional e este é um mercado que está em constante crescimento (Guillen et al., 2019). Tal deve-se não só à globalização, mas também ao facto de haver uma discrepância geográfica entre as necessidades de zonas como a Europa e a América do Norte e a produção em aquacultura que existe em maior quantidade na Ásia.

No ano de 2017, a população portuguesa consumiu 56,8 kg de peixe e produtos derivados da pesca *per capita*, um valor muito acima da média europeia (MARE, 2019). Segundo dados mais recentes, o consumo em 2020 foi maior, sendo que a população portuguesa consumiu 59,91 kg de peixe e produtos derivados da pesca *per capita* (representando um decréscimo de 2% em relação a 2019), mais do que o dobro da média europeia, que é de 23,97 kg (EUMOFA, 2021). Portugal é o quarto país com maior consumo de peixe e produtos derivados da pesca *per capita*, como mostra a figura 3 .

Segundo a FAO (2017), no que toca ao consumo exclusivo de peixe, Portugal apresenta o terceiro maior consumo de peixe *per capita* a seguir à Islândia e às Ilhas Faroé, sendo que consome maioritariamente pequenos peixes pelágicos, destacando-se a sardinha e o carapau ainda que na costa se consumam muitas outras espécies de peixe.

As espécies mais consumidas na Europa são o atum, o bacalhau, o salmão, o escamudo do Alaska e o camarão, sendo que estas representam cerca de 44% do consumo total em 2017 (MARE, 2019). Pequenos peixes pelágicos são as espécies mais pescadas,

constituindo cerca de 45% da captura total em Portugal (FAO, 2017), A FAO refere ainda que a grande contribuição da pesca artesanal poderá ser fortemente subestimada e que a pesca do interior é muito limitada. De acordo com o MARE (2019), os produtos de captura constituíram três quartos do consumo total *per capita* nos mercados de peixe da União Europeia.

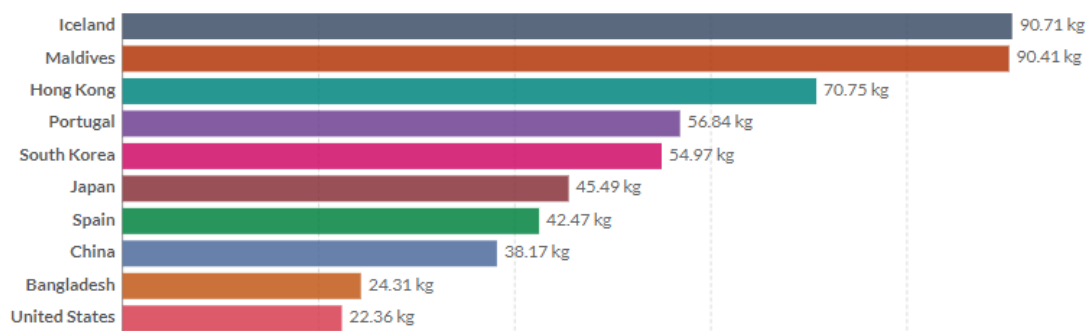


Figura 3 – Consumo de peixe e produtos derivados da pesca per capita (Adaptado de Our World In Data, 2017).

## 5. Perigos

Assim como em muitos produtos alimentares, existem alguns perigos associados ao consumo de pescado, podendo-se dividir em perigos químicos, físicos e biológicos. No ano de 2021, uma parte significativa das notificações do RASFF (do inglês *Rapid Alert System for Food and Feed*) de produtos de países membros está relacionada com microrganismos patogénicos em alimentos provenientes de animais, sendo *Listeria monocytogenes* o agente patogénico mais reportado relativamente ao pescado (ACN, 2022).

### 5.1. Perigos Químicos

As biotoxinas marinhas são compostos formados por microalgas ubiqüitárias encontradas no oceano, estando as mais comuns associadas a intoxicações como Intoxicação Diarreica por Marisco (DSP), Intoxicação Paralisante por Marisco (PSP), Intoxicação Amnésica por Marisco (ASP), Intoxicação Neurológica por Marisco (NSP), infeção por ciguatera, tetrodotoxina (TTX), pirofeofórbido e palitoxina (PTX) (Cruz et al., 2015). As biotoxinas podem acumular-se nos tecidos de algumas espécies marinhas, destacando-se os

bivalves. A sintomatologia varia de acordo com o tipo de intoxicação, podendo surgir problemas gastrointestinais, como é o caso das toxinas DSP, problemas neurológicos, como é o caso das toxinas NSP e até problemas respiratórios, como é o caso das palitoxinas (Cruz et al., 2015; Visciano et al., 2016)

As dioxinas e os Bifenilos Policlorados (PCB's), são também tóxicos para o ser humano. Estes compostos organoclorados, que resultam de processos industriais, podem acumular-se no tecido adiposo dos peixes (Bloise, 2018; Cruz et al., 2015). Tanto as dioxinas como os PCB's podem ter efeitos carcinogénicos e provocar alterações hormonais.

Alguns compostos utilizados para controlo de pragas na agricultura acumulam-se ao longo das cadeias tróficas, afetando desta forma o Homem (Miranda, 2015). Os pesticidas podem ser encontrados nas águas, por derrames que podem surgir durante a sua produção, transporte ou armazenamento (Cruz et al., 2015). Segundo Cruz et al. (2015), estes compostos possuem propriedades neurotóxicas, carcinogénicas e teratogénicas.

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são poluentes orgânicos que resultam de atividades humanas relacionadas com a industrialização e urbanização (Mojiri et al., 2019). Estes compostos possuem propriedades carcinogénicas e mutagénicas (Cruz et al., 2015).

Os metais pesados presentes no meio ambiente podem ter origem em fatores naturais, como as erupções vulcânicas, ou em fatores antropogénicos, como a indústria (Ali & Khan, 2018). Uma vez que estes compostos não são biodegradáveis, os peixes encontram-se expostos aos mesmos no meio ambiente (Cruz et al., 2015). Metais tóxicos como o cádmio, o chumbo e o mercúrio apresentam nefrotoxicidade, enquanto que o arsénio tem propriedades carcinogénicas (Ali & Khan, 2018).

## 5.2. Perigos microbiológicos

*Salmonella* spp. é uma bactéria que não habita naturalmente no pescado em si, no entanto pode surgir em resultado da falta de higiene no seu manuseamento, condições inadequadas de armazenamento ou através do contacto com água contaminada (Sheng & Wang, 2021). A infeção por *Salmonella* spp. apresenta sintomas como febre, diarreia e dores no estômago (Cruz et al., 2012; Sheng & Wang, 2021).

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria com uma alta probabilidade de infeção uma vez

que é ubiqüitária no meio ambiente (Cruz et al., 2012). A infecção provocada por esta bactéria apresenta uma elevada taxa de mortalidade, sendo que as populações mais suscetíveis incluem idosos e indivíduos imunocomprometidos (Sheng & Wang, 2021). Pode estar presente em peixe cru, refrigerado e fumado. Alguns dos sintomas descritos incluem náuseas, diarreia e dores de cabeça.

Apesar de geralmente estar associado ao consumo de produtos à base de carne, o botulismo pode também surgir devido à ingestão de pescado (Cruz et al., 2012). A bactéria *Clostridium botulinum* produz toxinas, sendo que a mais encontrada em produtos de pesca, como pescado enlatado ou fumado, é a toxina tipo E. A infecção provocada pela toxina apresenta sintomas como vômitos, fraqueza muscular e distúrbios visuais, podendo estes progredir para falhas respiratórias e até mesmo morte (Cruz et al., 2012; Hambleton, 1992).

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria que normalmente se encontra no nariz e na garganta do ser humano, assim como na pele (Ertas Onmaz et al., 2015). Desta forma, a falta de higiene por parte dos manuseadores de produtos derivados da pesca é uma possível fonte de contaminação (Cruz et al., 2012). A intoxicação provocada por *Staphylococcus aureus* pode provocar vômitos, dores abdominais e, por vezes, diarreia (Cruz et al., 2012; Ertas Onmaz et al., 2015).

### 5.3. Perigos físicos

Os perigos físicos no pescado correspondem, geralmente, a substâncias como ossos, espinhas, vidros, metais ou pedras (ASAE, 2021) que podem ter origem no manuseamento do produto, no mar ou nos materiais de captura, mas que, geralmente, são visíveis e de fácil resolução (Cruz et al., 2012).

## 6. Aminas biogénicas

### 6.1. Definição e Classificação

As aminas biogénicas são metabolitos azotados, de baixo peso molecular, que podem ser produzidos através da descarboxilação de aminoácidos (considerada a principal via em géneros alimentícios) ou pela transaminação de aldeídos e cetonas, devido à ação do metabolismo microbiano (Bilgin & Gençlepep, 2015). Para ocorrer formação de aminas biogénicas nos alimentos é necessário existirem aminoácidos livres, elevadas temperaturas de processamento ou a presença de microrganismos com enzimas com atividade descarboxilase, sendo que apenas existe crescimento microbiano em condições favoráveis para o mesmo. A atividade das descarboxilases depende da fase de crescimento dos microrganismos, apresentando uma maior atividade quando as bactérias se encontram em fase estacionária.

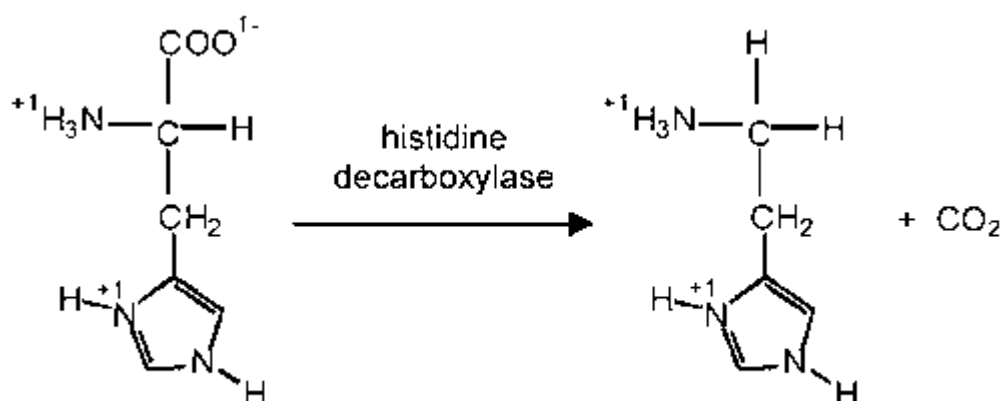


Figura 4 – Reação de descarboxilação do aminoácido histidina (FAO, 2003)

Grande parte das aminas são designadas de acordo com o seu aminoácido precursor (ex.: histamina produzida a partir de histidina, tiramina produzida a partir de tirosina). No entanto, existem aminas cujo nome provém do local onde foram encontradas, como a cadaverina e putrescina que estão associadas à putrefação, e da espermina e espermidina que foram detetadas pela primeira vez no sémen, segundo Stadnik & Dolatowski (2010).

Na figura 5 são apresentados os aminoácidos precursores e as respectivas aminas biogénicas formadas.

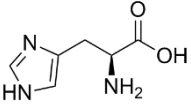
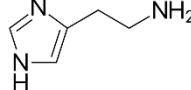
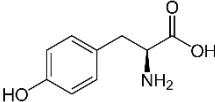
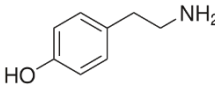
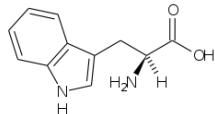
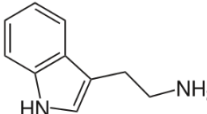
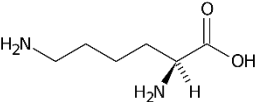

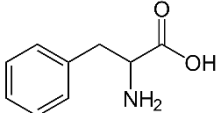
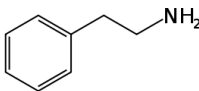
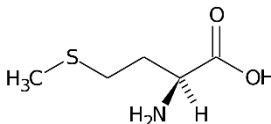
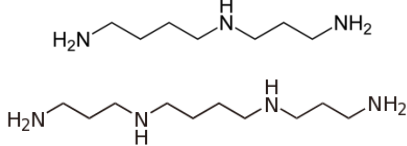
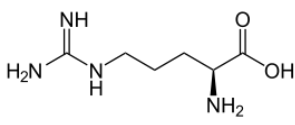
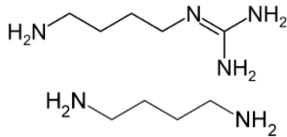
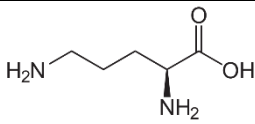
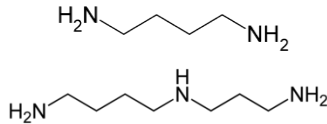
Aminoácidos precursores		Aminas biogénicas	
	Histidina	Histamina	
	Tirosina	Tiramina	
	Triptofano	Triptamina	
	Lisina	Cadaverina	
	Fenilalanina	Feniletilamina	
	Metionina	Espermidina /Espermina	
	Arginina	Agmatina/ Putrescina	
	Ornitina	Putrescina/ Espermidina	

Figura 5 – Aminoácidos precursores e respetivas aminas biogénicas (Adaptado de Irani, 2013).

As aminas biogénicas podem ser classificadas consoante a sua estrutura química, podendo ser denominadas alifáticas (ex.: putrescina e cadaverina), aromáticas (ex.: tiramina, feniletilamina) ou heterocíclicas (ex.: histamina, triptamina), ou tendo em conta o número de grupos amina, podem ser designadas de monoaminas (ex.: tiramina, feniletilamina), diaminas (ex.: putrescina, cadaverina) ou poliaminas (ex.: espermidina e espermina) (Cardozo et al.,

2013). De acordo com o seu mecanismo de ação nos seres vivos, as aminas biogénicas podem ser denominadas psicoativas ou vasoativas. Aminas psicoativas, como a histamina e a putrescina, atuam nos transmissores nervosos do sistema nervoso central enquanto aminas vasoativas, como a tiramina e a triptamina, atuam de forma direta ou indireta no sistema vascular (Cardozo et al., 2013; Pereira, 2018).

Na figura 6 encontra-se a classificação das aminas biogénicas.

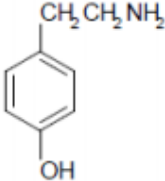
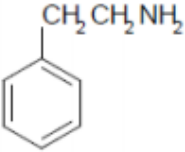
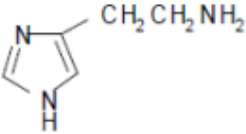
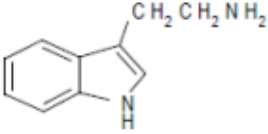

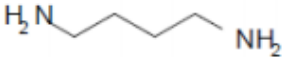
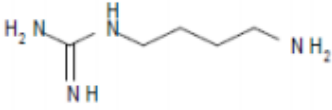
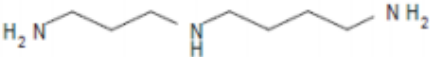
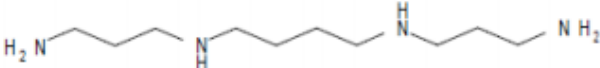
<b>Monoaminas aromáticas</b>	 <p>Tiramina</p>	 <p>2-Feniletilamina</p>
<b>Aminas heterocíclicas</b>	 <p>Histamina</p>	 <p>Triptamina</p>
<b>Diaminas alifáticas</b>	 <p>Cadaverina</p>	 <p>Putrescina</p>
<b>Poliaminas alifáticas</b>	 <p>Agmatina</p>	 <p>Espermidina</p>  <p>Espermina</p>

Figura 6 – Classificação de aminas biogénicas consoante a sua estrutura química e o número de grupos amina (Gouveia, 2013).

## 6.2. Funções fisiológicas

As aminas biogénicas estão presentes, em concentrações baixas, nas células eucarióticas e nos tecidos uma vez que são compostos essenciais na proliferação e diferenciação celular (Marques et al., 2008), desempenhando importantes funções na modulação do ácido desoxirribonucleico (DNA), do ácido ribonucleico (RNA), na síntese proteica e ainda no funcionamento correto dos neurotransmissores (Cardozo et al., 2013; Igarashi et al., 2001).

As aminas biogénicas também se encontram presentes em células procarióticas, considerando-se que, nestas células, constituem um mecanismo de defesa às condições adversas de pH, sendo formadas quando ocorre acidificação do meio (Lee et al., 2007). As células bacterianas restabelecem o pH do meio através da descarboxilação, na qual ocorre consumo de protões e excreção de aminas e dióxido de carbono. A produção de aminas biogénicas pode mediar a resposta ao stress osmótico e oxidativo nas bactérias e também poderá ser utilizada como uma forma de obtenção de energia, como é o caso das bactérias do ácido láctico que não conseguem gerar grandes quantidades de adenosina trifosfato (ATP) devido à ausência de cadeia respiratória (Molenaar et al., 1993).

Uma das aminas mais abundantes, a histamina, possui uma forte ação vasodilatadora, importante na resposta imunológica, sendo esta amina responsável pela regulação de vários recetores de tecidos como o tecido respiratório e o cardiovascular (Mendes et al., 2018). Outras aminas vasoativas, como a triptamina e a feniletilamina, possuem a capacidade de provocar o aumento da pressão no sistema vascular (Cardozo et al., 2013).

## 6.3. Presença em alimentos

Em 2021, foram reportados apenas 4 surtos de origem alimentar causados por aminas biogénicas, todos eles por histamina (ACN, 2022). *Salmonella spp.* representou a origem da maioria dos surtos de origem alimentar (14 em 33 surtos reportados), sendo que a histamina ocupa o segundo lugar desta lista, a par com *Listeria monocytogenes*.

Segundo diversos autores, o enlatamento não reduz o teor de histamina no atum (Hariri et al., 2018; Visciano et al., 2014). Isto deve-se não só ao facto desta amina ser termicamente estável mas também pelo facto de que uma vez que a enzima histidina



descarboxilase se forma, pode continuar a produzir histamina.

Na maior parte dos alimentos frescos, as amins biogénicas estão, geralmente, ausentes ou em concentrações mínimas, menores que 10 mg/kg (Cardozo et al., 2013). No entanto, de acordo com o mesmo autor, noutros alimentos como o pescado, queijos e carnes, estes compostos podem surgir em concentrações significativas (superiores a 50 mg/kg), podendo conduzir a uma intoxicação alimentar.

Nos alimentos, a descarboxilação de aminoácidos pode realizar-se de duas formas: pela ação de enzimas descarboxilase endógenas, que estão naturalmente presentes nos alimentos, ou por enzimas descarboxilase exógenas libertadas por microrganismos presentes nos alimentos (Cardozo et al., 2013). Contudo, a produção de amins biogénicas por parte de enzimas endógenas é muito pequena comparativamente à produção por enzimas exógenas. Desta forma, uma quantidade elevada de amins biogénicas em alimentos indica que existiram condições favoráveis para a proliferação de microrganismos e consequente produção de enzimas (Visciano et al., 2020). Assim, as amins biogénicas poderão ser utilizadas como indicativas da qualidade dos alimentos, uma vez que é possível detetar grandes quantidades destes compostos antes do alimento estar estragado ou antes de existir qualquer alteração nas suas propriedades sensoriais.

O consumo de alimentos crus ou mal confeccionados é uma das principais causas de intoxicações alimentares (ASAE, 2012). Os processos de formação de amins biogénicas surgem como consequência da má manipulação, higienização e armazenamento do produto alimentar. O tipo e quantidade de amina formada nos alimentos depende de diversos fatores como as condições de armazenamento e disponibilidade de aminoácidos livres (Rivas et al., 2008). Assim, é de extrema importância manter os géneros alimentícios em condições higiénicas rigorosas, de forma a minimizar a formação de amins. Ainda assim, alguns alimentos são mais suscetíveis à contaminação por microrganismos e consequente produção de amins devido ao seu processo de fabrico e à sua constituição (Gomes et al., 2014), como é o caso dos alimentos fermentados que são uma fonte de aminoácidos livres para as bactérias.

No vinho, os níveis de amins biogénicas são relativamente baixos no fim da fermentação alcoólica, podendo aumentar à medida que o vinho envelhece. As amins mais comuns são a histamina, tiramina e putrescina. Neste produto, o álcool potencia a atividade tóxica das amins, exercendo um papel crucial na presença destes compostos em produtos que sofrem fermentação alcoólica, uma vez que inibe a ação da enzima monoamina oxidase,

responsável pela degradação de monoaminas (Fernández et al., 2007).. A presença de histamina em vinho foi já reportada por diversos autores e em diversos países, atingindo valores de 14,05 mg/L num estudo realizado em França (Bach et al., 2012), e valores de 23,1 mg/L como é o caso de um estudo realizado em Portugal (Ramos et al., 2014). Apesar de alguns países terem estabelecido limites máximos para histamina no vinho, não existem limites legais estabelecidos (Costantini et al., 2019)

Na cerveja, a síntese de aminas biogénicas pode ocorrer durante a fermentação (Gomes et al., 2014). Estas encontram-se divididas em 3 grupos (Gomes et al., 2014): o primeiro corresponde às aminas presentes na matéria prima, como é o caso da espermina no malte e a tiramina no lúpulo; no segundo surgem aminas como a agmatina e a cadaverina que resultam do processo de mostura; em último surge a tiramina e a triptamina, que podem resultar tanto da fermentação como da mostura. Num estudo realizado em cervejas da Republica Checa mais de 30% das amostras testadas apresentavam um conteúdo total de aminas biogénicas entre os 50 e os 100 mg/L (Lorencová et al., 2020). Segundo o mesmo estudo, 18% das amostras continham níveis de aminas biogénicas acima dos 100 mg/L, podendo apresentar um potencial risco para o consumidor. No entanto, normalmente, segundo Lorencová et al. (2020), as concentrações de aminas biogénicas em cerveja são baixas e não apresentam risco para o consumidor

Os lacticínios apresentam também grande suscetibilidade para desenvolver aminas biogénicas (Preedy et al., 2013). O queijo, por exemplo, atravessa uma etapa de maturação durante a sua produção na qual se dá a degradação proteica que leva a uma grande acumulação de aminoácidos livres que, conseqüentemente, poderão ser transformados em aminas biogénicas devido à ação da descarboxilase (Innocente et al., 2002). Durante a fase de maturação encontra-se tiramina e putrescina enquanto que no final dessa mesma fase se encontra histamina e cadaverina (Novella-Rodríguez et al., 2004; Valsamaki et al., 2000). Diversos estudos comprovaram a existência de elevadas concentrações de aminas biogénicas em queijo. Foram determinados valores de 936,37 mg/kg num estudo realizado no Brasil (Santos, 2017) e valores ainda mais elevados (1875,4 mg/kg) num estudo realizado no Egito (Ma et al., 2020).

A carne e o peixe são naturalmente ricos em aminoácidos. Nestes alimentos, o teor de aminas biogénicas aumenta *postmortem* devido à grande quantidade de enzimas proteolíticas no trato intestinal e em resultado do rápido processo autolítico (Flick et al., 2004; Saaid et al., 2009).

Já na produção de produtos cárneos fermentados, são usados microrganismos que produzem diversos compostos que são responsáveis pela hidrólise de proteínas, lípidos e polissacarídeos, o que leva a uma melhoria da qualidade do produto final (Suzzi & Gardini, 2003). Contudo, a adição destes microrganismos também poderá levar à produção de outros compostos como as aminas biogénicas. Neste tipo de produtos, a amina mais frequentemente encontrada e em maiores concentrações é a tiramina. No entanto, em diversos estudos, outras aminas como cadaverina e a feniletilamina também foram detetadas em produtos cárneos fermentados (Gomes et al., 2014). Num estudo envolvendo um produto tailandês à base de carne de porco fermentada, foram detetadas elevadas concentrações totais de aminas biogénicas após 5 dias de fermentação, atingindo concentrações de 1175 mg/kg após 10 dias de fermentação, comprovando que os níveis de aminas biogénicas aumentam com o tempo de fermentação (Santiyanont et al., 2019). Li et al. (2019) detetou elevadas concentrações totais de aminas biogénicas num estudo envolvendo salsichas chinesas, atingindo 1417.57 mg/kg numa das amostras (Li et al., 2019).

Nos vegetais também é possível haver formação de aminas biogénicas, sendo que foram detetadas em grandes quantidades em alimentos como brócolos e couve-flor (Martínez-Villaluenga et al., 2008). Nestes vegetais, a cozedura apenas reduz o teor de aminas, não sendo possível a sua eliminação (Ladero et al., 2011). Isto deve-se ao facto das aminas serem termoestáveis, tornando a confeção um processo ineficiente na sua eliminação (Tapingkae et al., 2010). Após a cozedura, as aminas detetadas com maior frequência em vegetais são a putrescina e a espermina. Geralmente, os níveis de aminas biogénicas formadas em vegetais frescos não são preocupantes. No entanto, diversos estudos detetaram concentrações elevadas em produtos vegetais fermentados. Świder et al. (2020) detetou concentrações de aminas biogénicas acima dos 600 mg/kg em couves de Bruxelas fermentadas (Świder et al., 2020).

Os peixes e derivados são dos alimentos com maiores concentrações de aminas biogénicas, nomeadamente histamina. No pescado, peixes como o atum e a cavala (família *Scombridae*) apresentam maiores concentrações de histamina devido aos elevados teores de histidina nos músculos (Hwang et al., 2011).

#### 6.4. Toxicidade

Normalmente, as aminas biogénicas não são um risco para a saúde humana, no entanto, podem apresentar efeitos tóxicos quando há ingestão de alimentos com elevada concentração ou quando os mecanismos de degradação das aminas são inibidos ou são deficientes (Pereira, 2018).

Numa situação normal, as aminas biogénicas encontram-se em baixas concentrações no intestino, sendo metabolizadas e formando produtos menos tóxicos e menos ativos (Pereira, 2018). No entanto, quando há ingestão de elevadas quantidades, o sistema de destoxificação no indivíduo não tem capacidade de eliminar estes compostos (Cardozo et al., 2013). Segundo o mesmo autor, este mecanismo de destoxificação pode também tornar-se ineficiente devido à ingestão de álcool ou toma de medicamentos que inibem enzimas responsáveis pela metabolização das aminas, e ainda por outros fatores como as doenças gastro intestinais e a predisposição genética de cada indivíduo.

Nos seres humanos, as enzimas responsáveis pela metabolização da histamina são a diamina oxidase e a histamina N-metil transferase (Peralta et al., 2020). No entanto, é a diamina oxidase que representa um papel crucial no catabolismo da histamina, uma vez que é excretada diretamente no sangue. Alguns estudos reportam que a inibição de diamina oxidase e de histamina N-metil transferase potencia a toxicidade da histamina, o que poderá levar a uma intoxicação escombroides (Hungerford, 2021). A inibição da diamina oxidase irá fazer com que haja uma maior absorção de histamina no intestino, uma vez que esta enzima é a primeira barreira para a histamina ingerida.

A presença de outras aminas biogénicas, como a putrescina e a cadaverina, com capacidade de inibir as enzimas responsáveis pela oxidação de histamina e tiramina pode potenciar a ação de ambas (Montanha, 2016).

A histamina e a tiramina são consideradas as aminas mais tóxicas para o Homem (Cardozo et al., 2013). Muitas das vezes, a intoxicação por histamina está associada ao consumo de peixes da família *Scombridae*, sendo também encontrada com alguma regularidade em peixes de outras famílias como a sardinha e a anchova (Pereira, 2018). Após a sua ingestão, o início da sintomatologia clínica da histamina varia de minutos a horas, podendo levar ao aparecimento de sintomas associados a vasodilatação e consequente tensão baixa, problemas de pele (rubor e comichão), problemas gastrointestinais (diarreia, cólicas, vómitos) e problemas neurológicos (dores de cabeça e tonturas) (Souza et al., 2016).

A histamina é tóxica em concentrações superiores a 500 mg/kg nos alimentos, sendo que também pode ser tóxica abaixo deste valor na presença simultânea putrescina e cadaverina (Emborg & Dalgaard, 2006).

A tiramina provoca também intoxicações graves, provocando crises de hipertensão e enxaquecas (Pereira, 2018). Por vezes, a evolução dos sintomas pode levar à formação de hemorragias intracranianas, falha cardíaca e ainda edemas pulmonares. A tiramina, a putrescina e a cadaverina são tóxicas para concentrações acima de 2000 mg/kg nos alimentos. Já a espermina e a espermidina apresentam toxicidade em concentrações superiores a 600 mg/kg, sendo que ambas podem formar nitrosaminas carcinogénicas.

As nitrosaminas são compostos carcinogénicos formados através da reação entre aminas secundárias (ex.: dimetilamina) e aminas terciárias (ex.: trimetilamina) com nitritos em determinadas condições (Al Bulushi et al., 2009; Veena & Rashmi, 2014). Alguns estudos sugerem que, durante o seu aquecimento, aminas primárias podem ciclizar para aminas secundárias que, conseqüentemente, irão formar nitrosaminas através da reação com nitritos (Al Bulushi et al., 2009).

Desta forma a presença de nitrosaminas em alimentos surge como uma preocupação de segurança alimentar. Apesar de alguns estudos reportarem a presença de nitrosodimetilamina, uma nitrosamina formada a partir de dimetilamina e nitrito, em diversos produtos de peixe, não foi comprovado o envolvimento de aminas biogénicas na formação de nitrosaminas neste tipo de alimentos (Al Bulushi et al., 2009).

## 6.5. Intoxicação escombróide

A intoxicação por histamina resulta da ingestão de peixes das famílias *Scombroidae* e *Scomberesocidae* que apresentam elevados valores de histidina e que incluem várias espécies de atum (Feng et al., 2016). Ainda assim, outras espécies não escombróides como a sardinha também podem estar associadas à doença. Este tipo de intoxicação alimentar surge quando o peixe é inadequadamente refrigerado, o que permite que as bactérias presentes no peixe convertam a histidina em histamina. Segundo Feng et al. (2016), foi descrita pela primeira vez em 1799.

Os sintomas derivados da intoxicação por histamina são em muito semelhantes a uma reação alérgica (Feng et al., 2016). Os sintomas mais comuns desta intoxicação incluem

rubor facial, dor de cabeça, dor abdominal, diarreia e palpitações. Ainda assim podem surgir outros sintomas como a sensação de queimadura na boca e garganta, irritações na pele, diminuição da pressão sanguínea e tonturas (FDA, 2022). Alguns indivíduos podem notar um sabor metálico, amargo ou apimentado (Feng et al., 2016). De uma forma geral, os sintomas surgem poucos minutos ou poucas horas após o consumo e duram de 12 horas até alguns dias. Muitos dos efeitos tóxicos da histamina e respetivos sintomas estão relacionados com as próprias funções fisiológicas da histamina endógena (Hungerford, 2021). De acordo com Hungerford (2021), sintomas como o rubor facial e dor de cabeça resultam da dilatação dos vasos sanguíneos periféricos, dor abdominal e vômitos são causados pela contração do músculo liso, palpitações resultam da estimulação do coração por parte da histamina para aumentar a sua contratilidade.

A produção de histamina por parte de bactérias é mais comum quando a deterioração do alimento ocorre a temperaturas elevadas, sendo que a sua formação é mais rápida a temperaturas de 21,1 °C ou superior (FDA, 2022). Segundo a mesma fonte, a histamina pode continuar a ser produzida pela enzima histidina descarboxilase ainda que as bactérias não estejam ativas, uma vez que esta enzima pode permanecer ativa a temperaturas de refrigeração e permanece estável quando congelada.

## 6.6. Legislação

De acordo com a legislação em vigor, está estabelecido um limite máximo para a concentração de histamina apenas em produtos provenientes da pesca. O Regulamento (CE) N.º 2073/2005e e respetivas atualizações, estabelecem o valor máximo de 200 mg/kg para peixes associados a um teor de histidina elevado e um valor máximo de 400 mg/kg para peixes associados a um teor de histidina elevado que tenham sido submetidos a um tratamento de salmoura. Esta amina biogénica é a única submetida a regulamentação europeia, sendo que não existe qualquer referência às restantes aminas nem aos restantes alimentos. No quadro legal português, o teor médio de histamina de cada lote de produtos de pesca não deve ultrapassar os 100 mg/kg, de acordo com o Decreto-Lei n.º375/98. Além disso, duas amostras do mesmo lote podem ter um teor superior a 100 mg/kg, mas inferior 200 mg/kg. No entanto, nenhuma amostra deve ter um teor superior a 200 mg/kg.

## 7. Métodos analíticos para análise de aminas biogénicas

Ao longo dos anos, têm sido desenvolvidas diversas técnicas para análise de aminas biogénicas em alimentos, como a cromatografia em camada fina (TLC, do inglês *Thin-layer chromatography*), cromatografia de fase gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*), eletroforese capilar (CE, do inglês *Capillary Electrophoresis*), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) e ensaios imunológicos como o ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (Önal, 2007; Shalaby, 1996; Silla Santos, 1996).

A TLC é uma metodologia analítica que necessita de um tempo excessivo para a análise ser efetuada e pode levar a resultados imprecisos, apesar de ser uma técnica relativamente simples e que não necessita de nenhum equipamento especial (Önal, 2007; Shalaby, 1996; Silla Santos, 1996).

As aminas biogénicas não são compostos voláteis por natureza, o que faz com que a cromatografia em fase gasosa não seja uma técnica muito utilizada na análise destes compostos (Önal, 2007; Shalaby, 1996; Silla Santos, 1996). No entanto, associando esta técnica a um detetor de espectroscopia de massa, torna a mesma numa alternativa ao nível da HPLC.

A eletroforese capilar apresenta uma sensibilidade baixa comparada com outros métodos (Papageorgiou et al., 2018). Ainda assim, além de ser um método bastante fiável, é também rápido e barato, permitindo a análise de um elevado número de amostras num curto período de tempo (Papageorgiou et al., 2018; Visciano et al., 2020).

De acordo com a FAO (2012), o Codex Alimentarius propõe o uso do método fluorimétrico da “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC 977.13) ou outros métodos validados que sejam cientificamente equivalentes. Na tabela 2 estão descritas as principais características dos métodos mais usados para deteção de histamina.

Tabela 2 – Características dos principais métodos utilizados na determinação de histamina (adaptado de FAO/WHO, 2012)

	AOAC	HPLC	Espetrofluorimétrico	ELISA	Colorimétrico
Tempo necessário (h)	1-2	1-2	1	1	1
Equipamento	Fluorimétrico	HPLC-UV ou HPLC-FD	Espetrofluorímetro	Espetrofotómetro	Espetrofotómetro
Limite de quantificação (mg/kg)	1-5	1,5-5	0,0015	2-5	20
Intervalo de quantificação (mg/kg)	1-150	5-2500	0,0015-100	0-500	0.8-300

De todos os métodos utilizados, a HPLC com derivatização pré- ou pós-coluna é a metodologia mais documentada para a separação e quantificação de aminas biogénicas em alimentos (Gouveia, 2009). Ainda assim, novos sistemas UPLC (do inglês *Ultra Performance Liquid Chromatography*) continuam a ser desenvolvidos, sendo que estes apresentam a vantagem de realizarem análises mais rápidas, com consumo de menos solventes comparativamente à HPLC (Mendes et al., 2018). Os métodos HPLC e UPLC apresentam maior sensibilidade, eficácia e repetibilidade de resultados em relação aos restantes métodos (Pereira, 2018), sendo que a cromatografia líquida é a única metodologia que permite deteção e quantificação de todas as aminas biogénicas em simultâneo (EFSA, 2011).



Já metodologias de imunoenaios, como o teste ELISA, são cada vez mais utilizadas devido à rapidez e sensibilidade que estas técnicas alcançam. O kit ELISA é normalmente comercializado para controlo de rotina de histamina e tiramina (Evangelista, 2015), tornando a análise das mesmas menos dispendiosa (Pereira, 2018). Esta técnica já foi utilizada muitas vezes na determinação de histamina em atum, no entanto, para níveis altos de histamina, esta técnica não é viável visto que muitos dos kits têm limites de quantificação máximos de 50 mg/kg (EFSA, 2011). A tabela 3 apresenta as principais vantagens e desvantagens das técnicas HPLC e ELISA.

Tabela 3 - Vantagens e desvantagens dos métodos HPLC e ELISA (adaptado de FAO/WHO, 2012; Sakamoto et al., 2018; Akash & Rehman, 2020).

HPLC		ELISA	
Vantagens	Desvantagens	Vantagens	Desvantagens
Maior sensibilidade e eficácia	Método mais demorado	Método rápido	Menor sensibilidade e eficácia
Limite de quantificação maior	Método caro	Método mais barato	Limite de quantificação menor
Intervalo de quantificação maior	Não permite testar um grande número de amostras em simultâneo	Permite testar um grande número de amostras em simultâneo	Intervalo de quantificação menor
Pode ser utilizada tanto para estimativas qualitativas como quantitativas	Por vezes, a sensibilidade de compostos específicos é baixa	Geralmente seguro	Instabilidade dos anticorpos
Pode ser utilizada tanto para fins analíticos como preparativos	A co-eluição de alguns compostos é difícil de detetar	Alta especificidade e sensibilidade	Possibilidade de falsos positivos/negativos

## 7.1. Métodos emergentes

Na última década, tem surgido o interesse em desenvolver métodos rápidos de triagem para a detecção da histamina em pescado, como sensores inovadores assim como novos kits comerciais, muitos destes já validados (Hungerford, 2021). Com diversas novas abordagens, os sensores de histamina para testes rápidos têm sido cada vez mais explorados, a maioria dos quais baseados em sensores eletroquímicos. Vários estudos descrevem o uso deste tipo de tecnologia, como é o caso de Shkodra et al. (2020) , que utilizaram imunossensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono, ou o caso de Parate et al. (2020) , que utilizaram sensores baseados em grafeno.

Outra abordagem cada vez mais utilizada na detecção de histamina é uso da seletividade de Polímeros Molecularmente Impressos (MIP, do inglês *Molecular Imprinted Polymers*) (Hungerford, 2021). Estes compostos são bastante úteis para separação e análise em matrizes complexas como amostras de alimentos e meios aquosos (Gagic et al., 2019). Utilizando a seletividade dos MIP,s, nanopartículas de MIP's específicas para histamina são imobilizadas em microplacas de forma a capturar a histamina (Hungerford, 2021). Esta metodologia está entre as metodologias com desenvolvimento mais rápido para detecção de diversos analitos, incluindo a histamina como molécula alvo (Gagic et al., 2019).

Apesar do ELISA ser o método mais utilizado para uma triagem rápida, outros formatos de imunoenaios, como o “Neogen’s Reveal dipstick” e a “Histasure cassette”, têm sido também comercializados (Hungerford, 2021). Segundo o mesmo autor, apesar destes kits simplificarem o procedimento, são sensíveis à temperatura e humidade, podendo limitar a sua aplicação fora de um ambiente controlado de laboratório. Recentemente, têm surgido também kits que se baseiam na detecção enzimática da histamina, utilizando uma histamina desidrogenase seletiva e recombinante.

## 8. Controlo de aminas biogénicas

De acordo com a EFSA (2011), a acumulação de aminas biogénicas em produtos alimentares é controlada através da garantia e manutenção da qualidade higiénica dos produtos crus e respetiva produção, assim como através da implementação de condições que permitam inibir microrganismos produtores de aminas biogénicas e que possam

minimizar atividade da descarboxilase por parte dos mesmos microrganismos.

A formação de histamina é mais provável em peixe cru não congelado. A congelação não é capaz de eliminar a histamina após a sua produção (FDA, 2022). Apesar do calor poder eliminar bactérias formadoras de histamina, este, tal como na congelação, não é capaz de eliminar a histamina uma vez que esta é termorresistente. No entanto a confeção pode inativar tanto a enzima histidina descarboxilase como as bactérias formadoras. A EFSA (2011) afirma que a congelação de peixe não pode ser considerada como uma medida para a inativação de microrganismos, ainda que certos estudos sugiram que estes alimentos descongelados são menos suscetíveis a acumulação de aminas biogénicas.

As bactérias formadoras de histamina existem naturalmente nas guelras e nos intestinos de peixes de água salgada e são mais comuns em ambientes com água salgada (FDA, 2022). Após a morte do peixe, o crescimento bacteriano deixa de estar inibido o que pode levar ao crescimento das bactérias e, conseqüentemente, produção de histamina. Desta forma, a remoção das guelras e evisceração poderão contribuir para uma diminuição do número de bactérias formadoras de histamina. Outras medidas, como o controlo da qualidade da água e da salmoura para a salga, poderão ajudar a minimizar outras possíveis fontes de aminas biogénicas (EFSA, 2011).

Em produtos crus, um manuseamento mais correto poderá ajudar a prevenir a formação de aminas biogénicas (EFSA, 2011). Segundo a mesma fonte, desta forma, na produção primária devem ser implementados procedimentos de limpeza correta e desinfecção, juntamente com as boas práticas de fabrico (GMP, do inglês *Good Manufacturing Processes*) e boas práticas de higiene (GHP, do inglês *Good Hygiene Practices*), dentro do processo de *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP).

Organismos contendo aminas biogénicas provenientes de produtos animais podem espalhar-se para outros locais, superfícies e equipamentos durante o manuseamento de produtos crus e, desta forma, favorecer a acumulação de aminas biogénicas em processamentos futuros (EFSA, 2011).

Em alguns tipos de pesca, a morte do peixe pode acontecer antes do mesmo ser retirado da água (FDA, 2022). Algumas espécies de atum são capazes de gerar calor, podendo atingir temperaturas internas superiores à temperatura ambiente e, conseqüentemente, criar condições favoráveis ao crescimento bacteriano.

A formação de histamina é possível em processos como a salga, a fumagem e a

secagem uma vez que algumas das bactérias formadoras de histamina são halotolerantes ou halófilas (FDA, 2022). Nestes processos, a refrigeração poderá inibir a formação de histamina. Outras bactérias deste tipo são anaeróbias facultativas, o que indica que certos tipos de embalagem do produto como a embalagem a vácuo ou embalagem em atmosfera controlada possam não ser suficientes para inibir a formação de histamina.

A otimização das condições de manuseamento, processamento e armazenamento são considerados os métodos mais efetivos para a redução do crescimento de bactérias produtoras de aminas biogénicas (EFSA, 2011). De acordo com a FDA (2011), o rápido arrefecimento de peixes formadores de histamina imediatamente após a sua morte é o passo mais importante como estratégia de prevenção da formação de histamina.

## **2. Trabalho original**

### **1. Objetivos**

No caso de Portugal, existem poucos dados acerca da ocorrência de histamina em peixe.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial risco para o consumidor de atum fresco (neste estudo foram utilizadas preparações de sashimi) ou em conserva que possam conter teores de histamina acima do permitido.

### **2. Materiais e métodos**

#### **2.1. Amostragem**

No total, foram analisadas 42 amostras, sendo que 24 correspondiam a conservas de atum e 18 correspondiam a preparações de sashimi.

A amostragem realizou-se no mês Maio de 2022, na região de Coimbra. As conservas de atum recolhidas em diversas superfícies comerciais, corresponderam a diversas marcas diferentes para que existisse uma maior representatividade das conservas comercializadas e encontravam-se dentro da validade. Das conservas recolhidas, 11 correspondiam a atum em óleo vegetal, 6 a atum ao natural, 2 a atum em óleo de girassol, 4 a atum em azeite e 1 a atum em óleo.

As amostras de atum fresco, na forma de preparados de sashimi foram recolhidas de diversos restaurantes take away de comida japonesa.

Na tabela 4 estão representadas as características de cada amostra.

Tabela 4 – Caracterização das amostras

Nº da amostra	Tipo	Modo de conserva	Composição	Local de recolha
1	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	Superfície comercial 1
2	Atum enlatado	Filetes ao natural	Atum, água ,sal	
3	Atum enlatado	Posta ao natural	Atum, água ,sal	
4	Atum enlatado	Ao natural	Atum, água ,sal	
5	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
6	Atum enlatado	Posta ao natural	Atum, água ,sal	
7	Atum enlatado	Posta em óleo de girassol	Atum, óleo de girassol ,sal	
8	Atum enlatado	Em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	Superfície comercial 2
9	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	Superfície comercial 3
10	Atum enlatado	Posta em azeite	Atum, azeite ,sal	
11	Atum enlatado	Em azeite	Atum, azeite ,sal	
12	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
13	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
14	Atum enlatado	Em óleo de girassol	Atum, óleo de girassol ,sal	
15	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
16	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	Superfície comercial 4
17	Atum enlatado	Posta em azeite	Atum, azeite ,sal	
18	Atum enlatado	Filetes em azeite	Atum, azeite ,sal	
19	Atum enlatado	Filete ao natural	Atum, água ,sal	
20	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
21	Atum enlatado	Posta ao natural	Atum, água ,sal	
22	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
23	Atum enlatado	Posta em óleo vegetal	Atum, óleo vegetal ,sal	
24	Atum enlatado	Posta em óleo	Atum, óleo ,sal	
25	Atum fresco	-	Sashimi de atum	Estabelecimento 1
26	Atum fresco	-	Sashimi de atum, cebolinho e folha de bambu	Estabelecimento 2

27	Atum fresco	-	Sashimi de atum, agrião, nabo, pepino, gengibre	Estabelecimento 3
28	Atum fresco	-	Sashimi de atum, agrião, nabo, pepino, gengibre	Estabelecimento 3
29	Atum fresco	-	Sashimi de atum, alface, nabo	Estabelecimento 4
30	Atum fresco	-	Sashimi de atum, alface, nabo	
31	Atum fresco	-	Sashimi de atum, alface, nabo	Estabelecimento 5
32	Atum fresco	-	Sashimi de atum e alface	Estabelecimento 6
33	Atum fresco	-	Sashimi de atum e alface	
34	Atum fresco	-	Sashimi de atum, pepino, gengibre, nabo, lima, coentros e cebolinho	Estabelecimento 7
35	Atum fresco	-	Sashimi de atum, limão, cebolinho	Estabelecimento 8
36	Atum fresco	-	Sashimi de atum, nabo, beterraba, gengibre e wasabi	Estabelecimento 9
37	Atum fresco	-	Sashimi de atum, alface, cebolinho e sementes de sésamo	Estabelecimento 10
38	Atum fresco	-	Sashimi de atum, alface, cebolinho e sementes de sésamo	
39	Atum fresco	-	Sashimi de atum, cebolinho, alho francês, lima, laranja e petúnia azul	Estabelecimento 11
40	Atum fresco	-	Sashimi de atum, pepino, nabo, gengibre e wasabi	Estabelecimento 12
41	Atum fresco	-	Sashimi de atum, pepino, nabo, gengibre e wasabi	
42	Atum fresco	-	Sashimi de atum e alface	Estabelecimento 13

## 2.2. Procedimento

A determinação de histamina foi realizada de acordo com as instruções do kit “RIDASCREEN® Histamine-enzymatic, (R1605, “r-biopharm, Alemanha”)", que apresenta um limite de detecção de 0,75 mg/kg e um limite de quantificação de 2 mg/kg para peixe fresco e enlatado.

### a. Preparação das amostras

Homogeneizou-se 5g de cada amostra em tubos de polipropileno de 50 ml. De seguida, adicionou-se 20 mL de água destilada a cada uma das amostras. Após fechar os frascos, utilizou-se o vortex até as amostras ficarem uniformemente suspensas. As amostras foram incubadas num banho de água a 100°C durante 20 minutos. Seguidamente, colocou-se as amostras num banho de gelo durante cerca de 2 minutos para que estas arrefecessem até à temperatura ambiente. Centrifugou-se durante 10 minutos. Por último pipetou-se 100 µL do extrato limpo não diluído em cada poço.

### b. Implementação do teste

Adicionou-se 150 µL de solução padrão aos poços e agitou-se a placa cuidadosamente durante 3 segundos. De seguida, adicionou-se 100 µL das soluções padrão, controlos e amostras em poços separados e em duplicado e voltou-se a agitar cuidadosamente a placa durante 3 segundos. Após 3 minutos, mediu-se a absorvância A1 a 450 nm. Posteriormente, adicionou-se 10 µL da solução enzimática tingida de azul a cada poço e agitou-se cuidadosamente a placa durante 3 segundos. Após 10 minutos, mediu-se a absorvância A2 a 450 nm. A concentração de histamina é calculada através de uma regressão linear, colocando os valores de A1 e A2 no software RIDASOFT® Win.NET. Na figura 7 está representada a curva de calibração utilizada para calcular a concentração de histamina, mostrando a relação entre a absorvância e a concentração de histamina em mg/L.



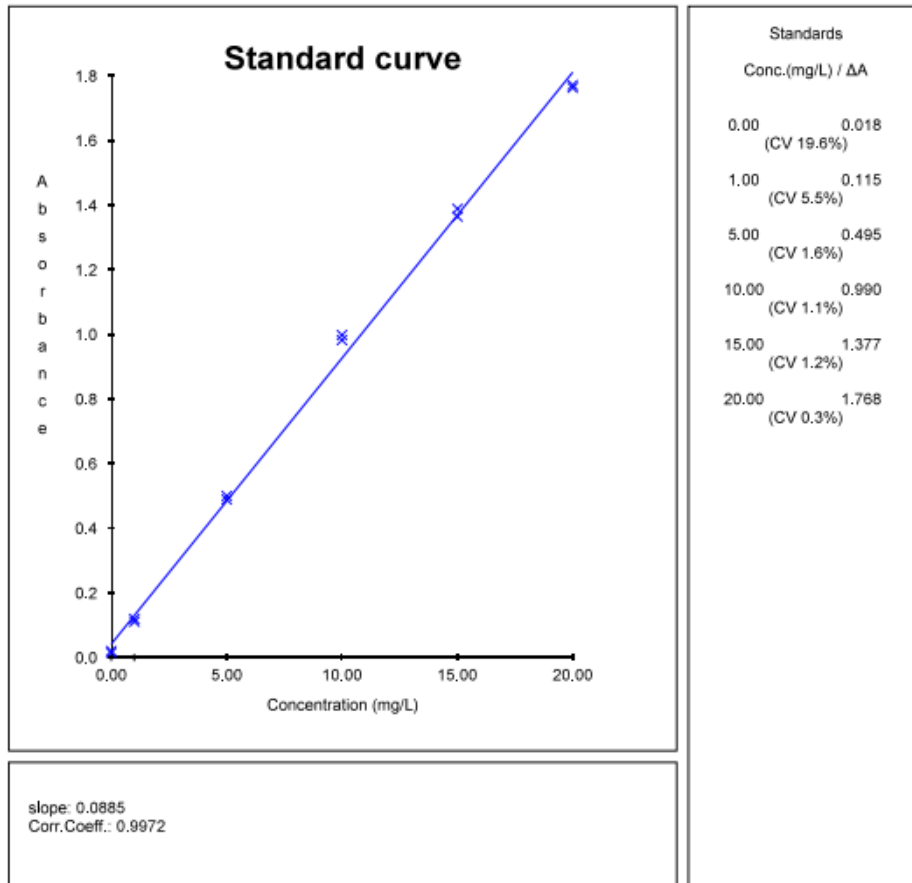


Figura 7 – Curva de calibração obtida no software RIDASOFT® Win.NET.

### 3. Resultados e Discussão

No presente estudo, a histamina não foi detetada em nenhuma das amostras de atum analisadas, o que indica que o atum comercializado em Portugal, tanto fresco como em conserva, é seguro no que toca ao teor de histamina.

No entanto, resultados de diversos outros estudos diferem dos resultados obtidos neste estudo. A tabela 5 mostra vários estudos realizados para a determinação de histamina em atum.

Tabela 5 - Estudos realizados de ocorrência e teores (mg/kg) de histamina.

País	Ano	Amostra	Nº de amostras	Método	Frequência de contaminação (%)	LD e LQ (mg/kg)	Mínimo e máximo (mg/kg)	Referência
Brasil	2007 - 2008	conservas de atum	54	HPLC	[0,45 – 83.73 mg/kg]: 46.3%; [>50 mg/kg]: 3,7%	LD: 0,56	máx: 83.73	(Silva et al., 2011)
Omã	2007 – 2009	conservas de peixe, peixe fresco, peixe congelado, peixe seco	1133	HPLC	n.d.	LD: 1; LQ: 3	máx: 248.6 (“Thunnus albacares” congelado)	(Yesudhason et al., 2013)
Canadá	2009	conservas de atum	64	n.d.	[≥50 - <100]mg/kg: 7 (10,9%)	n.d.	máx : 84	(FAO/WHO, 2012)
Itália	2012	peixe fresco e produtos	n.d.	ELISA e HPLC	n.d.	LD: 3.3; LQ: 10	máx: 140 (atum fresco)	(Muscarella et al., 2013)
Irão	2011 – 2013	conservas de atum	160	ELISA	[2.50 – 74.77 mg/kg]: 29.37%	LD: 2.5	mín: 2.51; máx: 74.77	(Mahmoudi & Norian, 2014)

Turquia	n.d.	conservas de atum	80	ELISA	[2.51 – 4.0 mg/kg]: 3 (3.75%); [4.1 – 10.0 mg/kg]: 1 (1.25%); [10.1 – 30.9 mg/kg]: 4 (5%)	LD: 2.5	mín: 2.6; máx: 30.4	(Er et al., 2014)
Costa do Marfim	2011 – 2013	atum congelado	471	HPLC	n.d.	n.d.	mín: 13.34; máx: 28.19	(Sika et al., 2014)
Irão	2012 – 2013	conservas de atum	60	ELISA	[59,02 – 383,41 mg/kg]: 4 (6,67%); <50 mg/kg: 56 (93,33%)	n.d.	n.d.	(Khezri et al., n.d.)
Irão	2019	conservas de atum	56	ELISA	n.d.	n.d.	mín : 0,214; máx: 2,169	(Sadeghi et al., 2019)

(ELISA, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*; HPLC - Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência; LD - Limite de Detecção; LQ - Limite de Quantificação; máx. - máximo; mín. - mínimo n.d. - não disponível).

Analisando os dados da tabela 5, os teores de histamina mais elevados detetados correspondem a estudos realizados em atum fresco. Tal pode acontecer devido a diversos fatores, sendo um deles as condições/locais nos quais as amostras de atum fresco foram recolhidas. É também importante referir que na maioria dos estudos, os teores de histamina detetados não foram muito elevados.

Muitos dos estudos realizados para a deteção de histamina em atum enlatado apresentam teores relativamente elevados. Tais valores podem dever-se a diversos fatores que podem influenciar a acumulação de histamina, como o uso de peixe cru de fraca qualidade e o incorreto manuseamento (Mercogliano & Santonicola, 2019). Outro dos fatores que pode influenciar os níveis de histamina é o tipo de atum enlatado. Um desses exemplos é o estudo realizada por Silva et al. (2011), onde teores elevados de histamina foram encontrados em atum conservado em molho de tomate, que podem resultar da histamina já presente no mesmo molho.

No entanto, tais valores são geralmente encontrados num pequeno número de amostras, uma vez que o atum enlatado sofre um processo de esterilização que tem o objetivo de eliminar quaisquer potenciais riscos para o consumidor, ou seja a maioria das amostras apresentam teores de histamina baixos (Silva et al., 2011).

No presente estudo, foram recolhidas amostras de preparados de sashimi. Estes preparados continham outros ingredientes além de atum fresco que poderiam apresentar teores de histamina superiores. No entanto, visto que estes ingredientes são na sua maioria vegetais, é pouco provável que estes tenham interferência nos níveis de histamina detetados. No atum fresco os teores de histamina podem também variar muito. Num estudo realizado na China para ocorrência de histamina em produtos de pesca, esta não foi detetada nas amostras de atum fresco recolhidas (Tao et al., 2011). Por outro lado, outros estudos detetaram níveis elevados de histamina em atum fresco. É o caso de um estudo realizado em Itália, onde foi detetada uma concentração de 140 mg/kg de histamina (Muscarella et al., 2013), e até valores superiores num estudo realizado em Omã, onde se detetou uma concentração de histamina de 248,6 mg/kg (Yesudhasan et al., 2013).

Em Portugal, de acordo com o Decreto-Lei nº375/98, existe um sistema regular de controlo e fiscalização para produtos de pesca destinados ao consumo humano de forma a garantir a segurança e qualidade dos mesmos. Este controlo vai desde os navios de pesca até à armazenagem e transporte do produto. Segundo o mesmo Decreto, são efetuados três tipos de controlo: controlos organoléticos, controlos parasitários e controlos químicos.

No presente estudo, a deteção de histamina efetuou-se utilizando o kit “RIDASCREEN® Histamine-enzymatic, R1605” “r-biopharm, Alemanha”, um teste enzimático usado para a deteção quantitativa de histamina em peixe fresco, peixe enlatado, farinha de peixe, vinho e queijo. Este teste acaba por ser vantajoso devido à sua elevada percentagem de recuperação, alta especificidade para a histamina e por ter um limite de deteção e quantificação baixos. Tal é demonstrado pelos valores dos limites de deteção e quantificação da maioria dos testes representados na tabela 5.

No entanto, no estudo realizado podem existir algumas limitações. No caso da recolha de um maior número de amostras, os resultados poderiam ser diferentes e talvez serem mais representativos. Além disso, as amostras de atum fresco poderiam ter sido recolhidas em locais mais variados, como por exemplo lotas ou logo após o atum ser manuseado por pescadores. Deste modo, existia a possibilidade de encontrar um elevado número de amostras positivas, uma vez que um manuseamento incorreto do produto poderá levar a concentrações mais elevadas de histamina.

#### **4. Conclusão**

Este estudo teve como objetivo efetuar uma avaliação de risco, através da determinação de histamina em atum comercializado em Portugal.

O consumo de conservas de atum é elevado. A histamina é um composto que, por vezes, pode apresentar teores elevados de histamina nos produtos alimentares e, conseqüentemente, prejudiciais para a saúde do consumidor. Assim, é de extrema importância que exista uma monitorização e controlo contínuos das concentrações de histamina em produtos alimentares.

Do presente estudo, podemos concluir que o atum comercializado em Portugal é de boa qualidade e é seguro, uma vez que a histamina não foi detetada em nenhuma das amostras recolhidas. Desta forma, podemos também concluir que existe um bom e rigoroso controlo em relação a este tipo de produtos.

No entanto, é necessário a realização de mais estudos semelhantes no futuro, de forma a obter um conhecimento mais aprofundado da contaminação dos alimentos com histamina e, possivelmente, definir novas formas de prevenir e agir face a este problema de segurança alimentar.

## 5. Bibliografia

- ACN. (2022). *Alert and Cooperation Network - 2021 Annual Report*.  
<https://doi.org/10.2875/328358>
- Akash, M. S. H., & Rehman, K. (2020). High Performance Liquid Chromatography. *Essentials of Pharmaceutical Analysis*, 175–184. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7_14)
- Al Bulushi, I., Poole, S., Deeth, H. C., & Dykes, G. A. (2009). Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation—A Review. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408390802067514*, 49(4), 369–377.  
<https://doi.org/10.1080/10408390802067514>
- Ali, H., & Khan, E. (2018). Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish. Risk to human health. *Environmental Chemistry Letters 2018* 16:3, 16(3), 903–917. <https://doi.org/10.1007/S10311-018-0734-7>
- ASAE. (2012). *Riscos e Alimentos - Pescado*.
- ASAE. (2021). *Perigos de Origem Alimentar*. Perigos de Origem Alimentar.  
<https://www.asae.gov.pt/cientifico-laboratorial/area-tecnico-cientifica/perigos-de-origem-alimentar.aspx>
- ATUNA. (2022). *Tuna - World's Most Consumed Fish*. <https://atuna.com/pages/tuna-world-s-2nd-most-consumed-fish-2>
- Bach, B., Le Quere, S., Vuchot, P., Grinbaum, M., & Barnavon, L. (2012). Validation of a method for the analysis of biogenic amines: Histamine instability during wine sample storage. *Analytica Chimica Acta*, 732, 114–119. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2011.12.036>
- Bilgin, B., & Gençcelep, H. (2015). Determination of biogenic amines in fish products. *Food Science and Biotechnology*, 24(5), 1907–1913. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0251-4>
- Bloise, D. M. (2018). Dioxinas, Furanos e PCBs na nossa Alimentação. *Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade*, 14(7). <https://doi.org/10.22292/MAS.V14I7.826>
- Cardozo, M., Lima, K. D. S. C., França, T. C. C., & Lima, A. L. D. S. (2013). Biogenic amines: A public health problem. *Revista Virtual de Química*, 5(2), 149–168.  
<https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130018>
- Costantini, A., Vaudano, E., Pulcini, L., Carafa, T., & Garcia-Moruno, E. (2019). An Overview

- on Biogenic Amines in Wine. *Beverages 2019*, Vol. 5, Page 19, 5(1), 19.  
<https://doi.org/10.3390/BEVERAGES5010019>
- Cruz, A., Mateus, T., & Rocha, H. (2012). *Perigos Alimentares no Pescado: Os perigos biológicos e físicos*.  
[https://www.researchgate.net/publication/319234340\\_PERIGOS\\_ALIMENTARES\\_NO\\_PESCADO\\_Os\\_perigos\\_biologicos\\_e\\_fisicos](https://www.researchgate.net/publication/319234340_PERIGOS_ALIMENTARES_NO_PESCADO_Os_perigos_biologicos_e_fisicos)
- Cruz, A., Mateus, T., & Rocha, H. (2015). *Perigos Alimentares no Pescado: os perigos químicos*.  
[https://www.researchgate.net/publication/319234347\\_PERIGOS\\_ALIMENTARES\\_NO\\_PESCADO\\_Os\\_perigos\\_quimicos](https://www.researchgate.net/publication/319234347_PERIGOS_ALIMENTARES_NO_PESCADO_Os_perigos_quimicos)
- Dueri, S., Bopp, L., & Maury, O. (2014). Projecting the impacts of climate change on skipjack tuna abundance and spatial distribution. *Global Change Biology*, 20(3), 742–753.  
<https://doi.org/10.1111/GCB.12460>
- EFSA. (2011). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9(10), 2393. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2011.2393>
- Emborg, J., & Dalgaard, P. (2006). Formation of Histamine and Biogenic Amines in Cold-Smoked Tuna: An Investigation of Psychrotolerant Bacteria from Samples Implicated in Cases of Histamine Fish Poisoning. *Journal of Food Protection*, 69(4), 897–906.  
<https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.4.897>
- Er, B., Demirhan, B., Bas, S., ... G. Y.-B. J. of, & 2014, undefined. (2014). Determination of histamine levels in canned tuna fish. *Agrojournal.Org*, 20(4), 834.  
<https://www.agrojournal.org/20/04-16.pdf>
- Ertas Onmaz, N., Abay, S., Karadal, F., Hizlisoy, H., Telli, N., & Al, S. (2015). Occurrence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in retail fish samples in Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 90(1–2), 242–246.  
<https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2014.10.046>
- EUMOFA. (2021). *THE EU FISH MARKET 2021*. <https://doi.org/10.2771/563899>
- Evangelista, W. (2015). *Controle da qualidade do ensaio de histamina em pescado*.  
<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUBD-A5GL5X>
- FAO/WHO. (2012). *Public Health Risks of Histamine and other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products*. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)

- FAO. (2017). *Fisheries and Aquaculture - Fishery and Aquaculture Country Profiles - Portugal*.  
<https://www.fao.org/fishery/en/facp/prt?lang=en>
- FDA. (2022). *Fish and fishery products hazards and controls guidance June 2022 edition*.
- Feng, C., Teuber, S., & Gershwin, M. E. (2016). Histamine (Scombroid) Fish Poisoning: a Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 50(1), 64–69.  
<https://doi.org/10.1007/S12016-015-8467-X>
- Fernández, M., Linares, D. M., Rodríguez, A., & Alvarez, M. A. (2007). Factors affecting tyramine production in *Enterococcus durans* IPLA 655. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(6), 1400–1406. <https://doi.org/10.1007/S00253-006-0596-Y>
- Flick, G., Food, L. G.-T. in, Press, C., USA, U., & 2004, U. (2004). Biogenic amines in foods. *Books.Google.Com*. [https://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=u3btLPOsoqEC&oi=fnd&pg=PA121&dq=Biogenic+Amines+in+Foods+flick&ots=-9FBN03kC6&sig=gst6oWOU3VHXcorlOi8eWB\\_Z-g8](https://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=u3btLPOsoqEC&oi=fnd&pg=PA121&dq=Biogenic+Amines+in+Foods+flick&ots=-9FBN03kC6&sig=gst6oWOU3VHXcorlOi8eWB_Z-g8)
- Gagic, M., Jamroz, E., Krizkova, S., Milosavljevic, V., Kopel, P., & Adam, V. (2019). Current Trends in Detection of Histamine in Food and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(3), 773–783. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.8B05515>
- Gomes, M., ... B. P.-C. & S., & 2014, U. (2014). O risco das aminas biogênicas nos alimentos. *SciELO Public Health*. <https://www.scielo.org/article/csc/2014.v19n4/1123-1134/>
- Gouveia, N. (2009). *Desenvolvimento de uma Metodologia Analítica para determinação de Aminas Biogénicas em tunídeos*. <https://repositorio.uma.pt/handle/10400.13/83>
- Guillen, J., Natale, F., Carvalho, N., Casey, J., Hofherr, J., Druon, J. N., Fiore, G., Gibin, M., Zanzi, A., & Martinsohn, J. T. (2019). Global seafood consumption footprint. *Ambio*, 48(2), 111–122. <https://doi.org/10.1007/S13280-018-1060-9>
- Hambleton, P. (1992). Clostridium botulinum toxins: a general review of involvement in disease, structure, mode of action and preparation for clinical use. *Journal of Neurology* 1992 239:1, 239(1), 16–20. <https://doi.org/10.1007/BF00839205>
- Hariri, O. El, Bouchriti, N., & Bengueddour, R. (2018). Risk assessment of histamine in chilled, frozen, canned and semi-preserved fish in Morocco; implementation of risk ranger and recommendations to risk managers. *Foods*, 7(10).  
<https://doi.org/10.3390/FOODS7100157>



- Hungerford, J. M. (2021). Histamine and Scombrottoxins. *Toxicon*, 201, 115–126.  
<https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2021.08.013>
- Hwang, C. C., Kung, H. F., Lin, C. Saint, Hwang, D. F., & Tsai, Y. H. (2011). Bacteriological quality and histamine-forming bacteria associated with fish meats and environments in HACCP and non-HACCP fish processing factories. *Food Control*, 22(10), 1657–1662.  
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2011.03.025>
- Igarashi, K., Ito, K., Microbiology, K. K.-R. in, & 2001, U. (2001). Polyamine uptake systems in *Escherichia coli*. *Elsevier*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250801011986>
- Innocente, N., Protection, P. d'Agostin-J. of F., & 2002, U. (2002). Formation of biogenic amines in a typical semihard Italian cheese. *Meridian.Allenpress.Com*.  
<https://meridian.allenpress.com/jfp/article-abstract/65/9/1498/167401>
- ITIS. (2022). *Integrated Taxonomic Information System*. <https://www.itis.gov/>
- Khezri, M., Hosseininia, S., Sciences, M. K.-T. in L., & 2014, undefined. (n.d.). Determination of histamine in canned tuna using ELISA method. *Profdoc.Um.Ac.Ir*. Retrieved June 20, 2022, from <http://profdoc.um.ac.ir/paper-abstract-1045527.html>
- Ladero, V., Sánchez-Llana, E., Fernández, M., & Alvarez, M. A. (2011). Survival of biogenic amine-producing dairy LAB strains at pasteurisation conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(3), 516–521. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2010.02508.X>
- Lee, Y. H., Kim, B. H., Kim, J. H., Yoon, W. S., Ho Bang, S., & Park, Y. K. (2007). CadC Has a Global Translational Effect during Acid Adaptation in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 189(6), 2417–2425.  
<https://doi.org/10.1128/JB.01277-06>
- Li, L., Zou, D., Ruan, L., Wen, Z., Chen, S., Xu, L., & Wei, X. (2019). Evaluation of the biogenic amines and microbial contribution in traditional Chinese sausages. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY), 872. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.00872/BIBTEX>
- Lorencová, E., Salek, R. N., Černíková, M., Buňková, L., Hýlková, A., & Buňka, F. (2020). Biogenic amines occurrence in beers produced in Czech microbreweries. *Food Control*, 117, 107335. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2020.107335>
- Ma, J. K., Raslan, A. A., Elbadry, S., El-Ghareeb, W. R., Mulla, Z. S., Bin-Jumah, M., Abdel-

- Daim, M. M., & Darwish, W. S. (2020). Levels of biogenic amines in cheese: correlation to microbial status, dietary intakes, and their health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research* 2020 27:35, 27(35), 44452–44459. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-10401-2>
- Mahmoudi, R., & Norian, R. (2014). Occurrence of histamine in canned tuna fish from Iran. *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit* 2014 9:2, 9(2), 133–136. <https://doi.org/10.1007/S00003-014-0863-2>
- MARE. (2019). *The EU Fish Market 2019 edition is out: everything you wanted to know about the EU market for fish and seafood*. <https://ec.europa.eu/newsroom/mare/items/664022>
- Marques, A. P., Leitão, M. C., & San Romão, M. V. (2008). Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. *Food Chemistry*, 107(2), 853–860. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.09.004>
- Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Gulewicz, P., Gulewicz, K., & Vidal-Valverde, C. (2008). Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5), 1635–1644. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2008.01.004>
- Melo, C. (2018). *A indústria de conservas de peixe em Portugal | TecnoAlimentar.pt*. <http://www.tecnoalimentar.pt/noticias/a-industria-de-conservas-de-peixe-em-portugal/>
- Mendes, R. J. M., Leitão, D. A. L. M. D., & da Motta, D. C. A. F. A. (2018). *Implementação e validação do método analítico para determinação de Histamina em amostras de pescado e produtos da pesca por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC) Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar*. <https://run.unl.pt/handle/10362/39606>
- Mercogliano, R., & Santonicola, S. (2019). Scombroid fish poisoning: Factors influencing the production of histamine in tuna supply chain. A review. *LWT*, 114, 108374. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108374>
- Miranda, D. D. A. (2015). *Bifenilas policloradas (PCBs) e pesticidas organoclorados em Scomberomorus cavalla: pescado de importância econômica na região metropolitana do Recife-PE*. <https://attena.ufpe.br/handle/123456789/17047>
- Mojiri, A., Zhou, J. L., Ohashi, A., Ozaki, N., & Kindaichi, T. (2019). Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Science of The Total Environment*, 696, 133971.

<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.133971>

- Molenaar, D., Bosscher, J. S., Ten Brink, B., Driessen, A. J. M., & Konings, W. N. (1993). Generation of a proton motive force by histidine decarboxylation and electrogenic histidine/histamine antiport in *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Bacteriology*, 175(10), 2864–2870. <https://doi.org/10.1128/JB.175.10.2864-2870.1993>
- Montanha, A. (2016). *Aminas biogênicas e polifenóis no leite e queijo de ovelhas da raça bergamácia suplementadas com óleo ou farelo de linhaça (Linum usitatissimum L.)*. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/137766>
- Muscarella, M., Lo Magro, S., Campaniello, M., Armentano, A., & Stacchini, P. (2013). Survey of histamine levels in fresh fish and fish products collected in Puglia (Italy) by ELISA and HPLC with fluorimetric detection. *Food Control*, 31(1), 211–217. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2012.09.013>
- Novella-Rodríguez, S., ... M. V.-N.-J. of D., & 2004, U. (2004). Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *Cambridge.Org*. <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-dairy-research/article/evaluation-of-biogenic-amines-and-microbial-counts-throughout-the-ripening-of-goat-cheeses-from-pasteurized-and-raw-milk/592CB5FA7AEDE5E81A9ACC4DF2B7BB82>
- Ócio. (2020, March). *Portugal tem lata: o passado e presente da indústria das conservas*. <https://ocio.dn.pt/memoria/portugal-tem-lata-o-passado-e-presente-da-industria-das-conservas/25360/>
- Önal, A. (2007). A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 103(4), 1475–1486. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.08.028>
- Papageorgiou, M., Lambropoulou, D., Morrison, C., Kłodzińska, E., Namieśnik, J., & Płotka-Wasyłka, J. (2018). Literature update of analytical methods for biogenic amines determination in food and beverages. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 98, 128–142. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2017.11.001>
- Parate, K., Pola, C. C., Rangnekar, S. V., Mendivelso-Perez, D. L., Smith, E. A., Hersam, M. C., Gomes, C. L., & Claussen, J. C. (2020). Aerosol-jet-printed graphene electrochemical histamine sensors for food safety monitoring. *2D Materials*, 7(3), 034002.

<https://doi.org/10.1088/2053-1583/AB8919>

Peralta, T., Camila, B.-O., & Pablo, F. (2020). *Histamine Intolerance: Clinical Characterization and Determination of Serum Diamine Oxidase (Dao) in a Series of Cases and Controls.*

<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-60226/v1>

Pereira, I. S. (2018). *Implementação do método analítico para determinação de aminas biogénicas e amostras de pescado e produtos de pesca. Avaliação de processos para a sua formação.*

<https://run.unl.pt/handle/10362/54860>

Preedy, V., Watson, R., & Patel, V. (2013). *Handbook of cheese in health: production, nutrition and medical sciences: Production, nutrition and medical sciences.*

<https://books.google.com/books?hl=pt->

[PT&lr=&id=D6whAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA7&dq=Handbook+of+Cheese+in+Health.+Vol.+6.+The+Netherlands:+Wageningen+Academic+Publishers&ots=3xUViol0jl&sig=mIYqgHk59p9JtzzNeKtjQhOETCQ](https://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=D6whAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA7&dq=Handbook+of+Cheese+in+Health.+Vol.+6.+The+Netherlands:+Wageningen+Academic+Publishers&ots=3xUViol0jl&sig=mIYqgHk59p9JtzzNeKtjQhOETCQ)

Ramos, R. M., Valente, I. M., & Rodrigues, J. A. (2014). Analysis of biogenic amines in wines by salting-out assisted liquid–liquid extraction and high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Talanta*, 124, 146–151.

<https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2014.02.026>

Ritchie, H., & Roser, M. (2021). *Fish and Overfishing - Our World in Data.*

<https://ourworldindata.org/fish-and-overfishing#global-fish-production>

Rivas, B. D. Las, ... R. G.-J. of food, & 2008, U. (2008). Characterization of a Second Ornithine Decarboxylase Isolated from *Morganella morganii*. *Meridian.Allenpress.Com.*

<https://meridian.allenpress.com/jfp/article-abstract/71/3/657/172869>

Saaid, M., Saad, B., Hashim, N., Ali, A., Chemistry, M. S.-F., & 2009, U. (2009). Determination of biogenic amines in selected Malaysian food. *Elsevier.*

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608010509>

Sadeghi, N., Behzad, M., Jannat, B., Oveisi, M. R., Hajimahmoodi, M., & Mozafazri, M. (2019). Determination of histamine in canned tuna fish available in Tehran market by ELISA method. *Journal of Food Safety and Hygiene*, 5(1), 46–50.

<https://doi.org/10.18502/JFSH.V5I1.3884>

Sakamoto, S., Putalun, W., Vimolmangkang, S., Phoolcharoen, W., Shoyama, Y., Tanaka, H., & Morimoto, S. (2018). Enzyme-linked immunosorbent assay for the

- quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. *Journal of Natural Medicines*, 72(1), 32. <https://doi.org/10.1007/S11418-017-1144-Z>
- Santiyanont, P., Chantarasakha, K., Tepkasikul, P., Srimarut, Y., Mhuantong, W., Tangphatsornruang, S., Zo, Y. G., & Chokesajjawatee, N. (2019). Dynamics of biogenic amines and bacterial communities in a Thai fermented pork product Nham. *Food Research International*, 119, 110–118. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2019.01.060>
- Santos, É. B. (2017). *ESTUDO DA PRODUÇÃO DE AMINAS BIOGÊNICAS EM QUEIJOS MATURADOS*. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-206510>
- Shalaby, A. R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29(7), 675–690. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(96\)00066-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(96)00066-X)
- Sheng, L., & Wang, L. (2021). The microbial safety of fish and fish products: Recent advances in understanding its significance, contamination sources, and control strategies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 738–786. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12671>
- Shkodra, B., Abera, B. D., Cantarella, G., Douaki, A., Avancini, E., Petti, L., & Lugli, P. (2020). Flexible and Printed Electrochemical Immunosensor Coated with Oxygen Plasma Treated SWCNTs for Histamine Detection. *Biosensors 2020, Vol. 10, Page 35, 10(4)*, 35. <https://doi.org/10.3390/BIOS10040035>
- Sika, A., Assi, Y. A., Koffi-Nevry, R., Res, H. B.-I. J. S., & 2014, undefined. (2014). Histamine contents in tuna loins (*Thunnus* sp.) produced in Côte d'Ivoire and its relation with bacterial load. *Researchgate.Net*. [https://www.researchgate.net/profile/Godi-Biego/publication/263586826\\_Histamine\\_Contents\\_in\\_Tuna\\_Loins\\_Thunnus\\_sp\\_Produced\\_in\\_Cote\\_d'Ivoire\\_and\\_its\\_Relation\\_with\\_Bacterial\\_Load/links/0046353b5247ee780d000000/Histamine-Contents-in-Tuna-Loins-Thunnus-sp-Produced-in-Cote-dIvoire-and-its-Relation-with-Bacterial-Load.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Godi-Biego/publication/263586826_Histamine_Contents_in_Tuna_Loins_Thunnus_sp_Produced_in_Cote_d'Ivoire_and_its_Relation_with_Bacterial_Load/links/0046353b5247ee780d000000/Histamine-Contents-in-Tuna-Loins-Thunnus-sp-Produced-in-Cote-dIvoire-and-its-Relation-with-Bacterial-Load.pdf)
- Silla Santos, M. H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29(2–3), 213–231. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(95\)00032-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(95)00032-1)
- Silva, T. M., Sabaini, P. S., Evangelista, W. P., & Gloria, M. B. A. (2011). Occurrence of histamine in Brazilian fresh and canned tuna. *Food Control*, 22(2), 323–327. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2010.07.031>
- Souza, A. L. M. de, Calixto, F. A. A., Mesquita, E. de F. M. de, Packness, M. da P., & Azeredo,

- D. P. (2016). Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 82(0). <https://doi.org/10.1590/1808-1657000382013>
- Suzzi, G., & Gardini, F. (2003). Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 88(1), 41–54. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00080-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00080-1)
- Świder, O., Roszko, M. Ł., Wójcicki, M., & Szymczyk, K. (2020). Biogenic Amines and Free Amino Acids in Traditional Fermented Vegetables-Dietary Risk Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(3), 856–868. [https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.9B05625/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF9B05625\\_0006.GIF](https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.9B05625/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF9B05625_0006.GIF)
- Tao, Z., Sato, M., Zhang, H., Yamaguchi, T., & Nakano, T. (2011). A survey of histamine content in seafood sold in markets of nine countries. *Food Control*, 22(3–4), 430–432. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2010.09.018>
- Tapingkae, W., Tanasupawat, S., Parkin, K. L., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2010). Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high salt-fermented fishery products. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(2), 92–99. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2009.10.011>
- Valsamaki, K., Michaelidou, A., Chemistry, A. P.-F., & 2000, U. (2000). Biogenic amine production in Feta cheese. *Elsevier*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814600001680>
- Veena, S., & Rashmi, S. (2014). A Review on Mechanism of Nitrosamine Formation, Metabolism and Toxicity in In Vivo. Available Online on [Www.ijtp.com](http://www.ijtp.com) *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 6(4), 86–96. [www.ijtp.com](http://www.ijtp.com)
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). Marine Biotoxins: Occurrence, Toxicity, Regulatory Limits and Reference Methods. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1051. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01051/BIBTEX>
- Visciano, P., Schirone, M., & Paparella, A. (2020). An Overview of Histamine and Other Biogenic Amines in Fish and Fish Products. *Foods 2020*, Vol. 9, Page 1795, 9(12), 1795. <https://doi.org/10.3390/FOODS9121795>
- Visciano, P., Schirone, M., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2014). Histamine poisoning and control measures in fish and fishery products. *Frontiers in Microbiology*, 5(SEP).

<https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00500>

Wójcik, W., Łukasiewicz, M., & Puppel, K. (2021). Biogenic amines: formation, action and toxicity – a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *101*(7), 2634–2640.

<https://doi.org/10.1002/JSFA.10928>

Yesudhasan, P., Al-Zidjali, M., Al-Zidjali, A., Al-Busaidi, M., Al-Waili, A., Al-Mazrooei, N., & Al-Habsi, S. (2013). Histamine levels in commercially important fresh and processed fish of Oman with reference to international standards. *Food Chemistry*, *140*(4), 777–783.

<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.11.030>