



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Determinación de la Cantidad de Trimetilamina como indicador del Estado de Frescura en el Pescado Lisa (*Mugil curema*).

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

CARLOS ALFREDO GARCIA REYES

ASESORES: M. V. Z. Jorge López Pérez
M. V. Z. Luis Angel Pérez Salmerón

Asesor Técnico: Q. F. B. Manola Aguirre Carretero

Asesor Estadístico: Ing. Armando Aguilar Márquez

1982.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

CAPITULO	PAG.
Resumen	
I.- Introducción	1
II.- Material y Métodos	11
III.- Resultados	18
IV.- Discusión	43
V.- Conclusiones y Recomendaciones ...	50
VI.- Bibliografía	52

Resumen:

El presente estudio se realizó entre los meses de febrero y julio de 1982 bajo la necesidad urgente de contar con métodos precisos en la inspección sanitaria de los productos de la pesca.

En México, la inspección sanitaria de los productos de la pesca, consiste normalmente en sólo juzgar la apariencia externa del producto, es decir, de tipo organoléptico, lo cual en parte es aceptable, pero no siempre proporciona una indicación real del estado de frescura del producto.

Es por ésto que resulta muy importante y necesario contar con pruebas que permitan con la mayor exactitud posible, determinar el grado de frescura de éstos productos.

La prueba de la determinación del contenido de Trimetil Amina realizada en este estudio, es una de las más importantes pruebas químicas que permiten determinar el grado de frescura en los productos pesqueros.

Se contempla también, otro tipo de exámenes que aunados a las determinaciones realizadas de Trimetil Amina, proporcionan una indicación más verídica del estado de frescura en los productos de la pesca.

Las determinaciones realizadas de Trimetil Amina se llevaron a cabo en el pescado Lisa, del género Mugil carema, ya que es bien conocida su abundancia y alta comercialización lo cual es meritorio para su mejor conocimiento.

I - Introducción:

Es un hecho que hoy en día uno de los problemas que más aquejan al hombre es la carencia de alimentos.

Siendo los productos de la pesca una importante fuente de alimentos, es necesario un amplio conocimiento de éstos.

El pescado representa uno de los alimentos de mayor valor biológico, únicamente superado en proteínas por la leche de mujer y el huevo, pero mayor que la leche de vaca y la carne de animales de sangre caliente; - su contenido en grasas y en carbohidratos es bajo y de fácil digestión.

Es una excelente fuente de vitaminas A y D principalmente, así como - del complejo B, y es también una buena fuente de minerales importantes, sobre todo de calcio y fósforo. (12,21,25).

La siguiente tabla indica el valor alimenticio de las principales especies de pescados marinos y de mayor consumo:
Contenido en 100 gramos.

Nombre	Humedad %	Cenizas g.	Extracto etéreo g.	Proteína g.	Ca mg.	P mg.
Carpa	79.4	1.1	1.28	19.84	10	167
Cazón	74.3	1.1	0.17	24.52	3	141
Guachinango	78.3	1.3	0.63	20.10	14	184
Lisa	77.5	1.0	1.10	20.61	12	153
Mojarra	77.3	1.1	2.67	19.16	15	260

(12)

Por todo lo anterior, el pescado representa un alimento de alta calidad nutritiva y constituye en los países consumidores de pescado un su-

ministro de proteínas de alta calidad. (11,24)

Sin embargo, los productos pesqueros son particularmente delicados - en cuanto a su manejo y conservación, lo cual en parte disminuye su adecuada utilización y aprovechamiento, ya que desde el momento de su captura, muchos cambios bioquímicos se llevan a cabo en el pescado repercutiendo en su frescura y a la larga en su aspecto, aroma, textura y sabor. (6,12)

Las alteraciones bioquímicas que se llevan a cabo en el pescado implican una amplia y compleja sucesión de cambios que dan lugar a la formación y desaparición de diversos compuestos a partir de las más importantes fracciones de la composición del pescado como son las proteínas, los lípidos y los glúcidos.

La interrogante de que si la descomposición en el pescado es de naturaleza autolítica, o es debida a la actividad microbiana, puede solventarse con gran seguridad, en que ambas etiologías participan en el proceso, sin embargo los grados de descomposición mas acentuados son atribuidos preferentemente a la acción de los microorganismos.

Las alteraciones en las proteínas por la acción de las enzimas, estimula el desarrollo de los microorganismos al suministrarles compuestos nitrogenados más simples, necesarios para el desarrollo de éstos, incapaces de actuar sobre las proteínas completas. (6,11,12)

Las alteraciones microbianas se deben principalmente a los generos: Achromobacter, Pseudomona, Flavobacterium, Proteus, Bacillus, Serratia y Micrococcus, y en cuanto a la actividad autolítica enzimática, inter-

vienen principalmente peptidasas, amidasas e imidasas. (6,11,15)

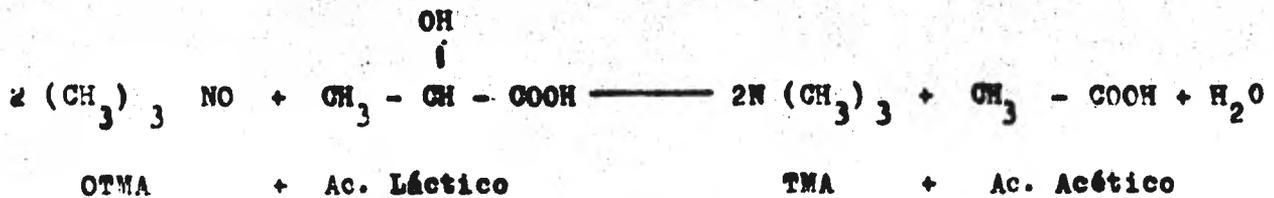
El Oxido de Trimetil Amina (OTMA), es una sustancia nitrogenada de las masas musculares del pescado que la actividad bacteriana reduce a Trimetil Amina (TMA), responsable a su vez de los cambios organolépticos desagradables a la percepción sensorial, que se producen conforme el proceso de descomposición avanza. (11)

La cantidad de sustancias nitrogenadas volátiles y reductoras también volátiles, aumenta al progresar la descomposición, y cuando esta llega a grados más intensos aparece el amoníaco. (11,13)

Por lo mismo los pescados altamente ricos en OTMA, adquieren pronto olores desagradables por la rápida aparición de TMA. Asimismo ha de contarse con la aparición de Indol y H_2S en las fases más avanzadas de la putrefacción.

Se puede resumir que la TMA es altamente responsable del sabor y olor a pescado que destaca en el proceso de descomposición.

Durante esta etapa de degradación proteolítica, se forman también sustancias tóxicas para el consumidor, entre estas sustancias designadas como aminas biógenas, la histamina juega un papel especial. (6,11,13)



(6)

Por su parte los glúcidos se encuentran en una buena cantidad en las masas musculares del pescado, sin embargo la cantidad de glucosa y glucógeno presente, resulta degradada casi del todo después de los prime--

ros cinco días de muerto el producto. (25)

La glicogenolisis que se verifica después de la muerte, lleva por otra parte a la producción de ácido láctico, el cual se viene a producir como producto intermedio, y éste es oxidado con la simultánea reducción del OTMA, activado a ácido acético y CO_2 y la formación concomitante de TMA. (6,11,21)

Finalmente, gran parte de los cambios que ocurren en la descomposición del pescado, tienen por base la degradación de los lípidos, a lo cual se le conoce como enranciamiento, haciéndose menos patente este proceso en las especies de pescados magros o semimagros, y contrariamente en las especies grasas. (11,16)

Los lípidos en el pescado, presentan una estructuración más compleja que en los mamíferos, por poseer un mayor número de ligaduras insaturadas. Los lípidos al ser hidrolizados, liberan ácidos grasos los cuales a su vez, por acción enzimática y microbiológica (lipasas bacterianas) pueden demolerse hasta la formación de ácidos volátiles.

Por otro lado la oxidación de aceites y pigmentos asociados, (hematina) contribuyen a los cambios de olor y color en el pescado, alteración en la cual hay formación de peróxidos cuyo índice permite indicar el grado de conservación del producto. (11)

La oxidación de las grasas, es sin duda, la causa más importante en cuanto a la calidad del pescado, ya que dicho proceso, provoca independientemente de lo analizado anteriormente, sustancias tóxicas que resultan nocivas para el consumidor, además de que las grasas oxidadas, impiden la absorción de vitaminas liposolubles. (6,11)

Es pues muy importante el estudio de los lípidos, ya que ellos contri

buyen al mejor conocimiento de los fenómenos alternativos de los productos pesqueros y particularmente de las especies grasas.

De todo lo antes analizado, se puede deducir que es muy importante un amplio conocimiento de los productos pesqueros, y particularmente en el momento de su inspección.

La inspección sanitaria de los productos pesqueros es fundamental para hacerlos llegar al consumidor con las características ideales del producto fresco. La inspección sanitaria es una tarea que difícilmente se lleva a cabo en forma adecuada, aun hoy en día, en muchas partes de México, la inspección consiste en sólo juzgar la frescura externa del pescado, es decir, lo relativo a su apariencia; viveza y brillo de ojos, color rojo de agallas, consistencia de los músculos, lo cual en parte es aceptable, pero no siempre proporciona una información del estado real de frescura del pescado. (14,16)

Esto definitivamente es un proceder equivocado, ya que sólo se estará cumpliendo con una mínima parte, de lo que sería una inspección sanitaria completa. Es por ésto que resulta muy importante y necesario, contar con pruebas que permitan, con la mayor exactitud posible, determinar el grado de frescura en el pescado.

Para este objeto se dispone de dos tipos de métodos:

- 1) Los subjetivos u organolépticos: los cuales dependen directamente de la persona que examina la apariencia, sabor, olor y color.
- 2) Los objetivos o de análisis: que se han venido utilizando en los últimos años y que comprenden dos categorías:
 - a) Métodos Físicos y Fisicoquímicos: se basan en la determinación de la textura de la carne de pescado, con base en el índice de re

fracción, conductividad eléctrica, propiedades ópticas, tensión superficial y viscosidad principalmente. Estos métodos indican los cambios que ocurren en el pescado desde que sale del agua hasta que se inicia la formación de productos odoríferos.

- b) En esta categoría se incluyen todos los métodos químicos y biológicos que permiten determinar ciertos subproductos resultantes de la acción bacteriana o autolítica (enzimática) que sufre el pescado. (6,14,17,24)

Es necesario hacer hincapié, en que el examen organoléptico es la prueba más importante en los centros de inspección (cuando menos en México), y que en un momento dado, las pruebas físicas y químicas, son tan sólo medios complementarios o de apoyo al examen organoléptico. (5)

Mediante algunos métodos químicos, y basándose en la determinación de la cantidad de algunos compuestos o subproductos resultantes de la actividad bacteriana y enzimática del pescado, es posible conocer de manera muy precisa, el grado de frescura en algunas especies de pescados.

Puesto que la alteración natural en el pescado implica una amplia y compleja sucesión de cambios químicos, es posible solamente determinar una o a lo sumo unas cuantas sustancias mediante pruebas químicas. Por otra parte los métodos químicos son rápidos por lo general, lo que representa una gran ventaja dadas las características perecedoras del pescado, y ciertamente son fáciles de trabajar una vez dominadas las técnicas, además de que proporcionan casi siempre, resultados precisos; sin embargo, las pruebas químicas generalmente sólo son realizadas por personal entrenado y en laboratorios bien equipados. (1)

La prueba de la determinación de Trimetil Amina (TMA), es una de las más importantes pruebas químicas para determinar el grado de frescura en el pescado. La presencia de TMA, como se explicó anteriormente, está ligada en gran parte al Oxido de Trimetil Amina (OTMA), es decir, en forma natural el OTMA es uno de los componentes nitrogenados del pescado, y éste por interacción bacteriana, enzimática y por mecanismos de reducción oxidativa durante el periodo de conservación del pescado, se transforma en TMA, la cual es una sustancia odorífera químicamente emparentada con el amoníaco. (1.6,17)

Consecuentemente de lo antes anotado, se deduce que durante el periodo de conservación que sufre el pescado, ocurren cambios que alteran la frescura de éste, esto es; un pescado realmente fresco, poseerá índices de TMA muy bajos, los cuales irán aumentando a medida de que el periodo de conservación y el proceso de alteración natural se alarguen. (6,11,14)

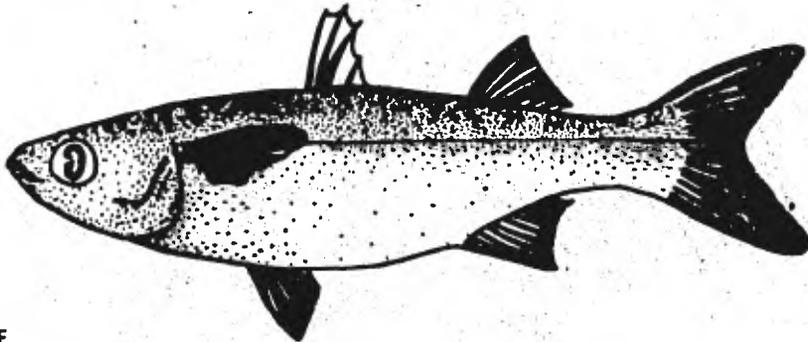
Es conveniente señalar que la prueba de la determinación del contenido de TMA es sólo aplicable a pescados de agua salada, ya que en el pescado de agua dulce la formación de TMA no se lleva a cabo, porque éstos carecen de OTMA. (14)

También es importante señalar que el OTMA como precursor de la formación de TMA, se encuentra en cantidades muy variables en los peces de agua salada, y aún en peces de la misma especie, por lo cual las determinaciones de la cantidad de TMA son sumamente variables. (6,14)

Para este trabajo de investigación se utilizó el pescado Lisa, ya que es bien conocida su abundancia y alta comercialización, lo cual es meritorio para su mejor conocimiento, como se muestra a continuación:

El pescado Lisa pertenece a la familia Mugilidae, de las cuales existen varios géneros, siendo los más importantes los siguientes;

lisa



FAMILIA MUGILIDAE

- a) Mugil cephalus
- b) Mugil curema
- c) Mugil setosus (10,22)

De estos el género que se trabajó, pertenece al de Mugil curema, pero las características para todos los géneros son muy similares y solamente es posible diferenciarlos por pequeñas características como son; la forma del hocico, tamaño de la boca, color, brillo, etc.. En general la lisa presenta una distribución cosmopolita en mares tropicales y subtropicales. En México se le encuentra a todo lo largo de las costas del Pacífico y es común también en las costas del Golfo de México, es una especie sumamente euryhalina, es decir, que resiste grandes cambios de salinidad, ya que se les localiza tanto en alta mar como en ríos y esteros. Es común en ellas la presencia de diversas coloraciones, pero las más sobresalientes son; la verdosa en su parte dorsal y la plateada en su parte ventral. (2,22)

Todos los géneros presentan dos aletas dorsales bien separadas, dos aletas pélvicas en posición abdominal, una aleta anal y otra caudal - que es la mayor en tamaño. Su cuerpo está cubierto por grandes escamas adherentes y carecen de línea lateral bien diferenciada.

Los ejemplares llegan a medir hasta 50 cm. de longitud con un peso promedio de 1 kilo. (2)

Es una especie sumamente prolifera, y en la temporada de desove se dirigen a mar abierto en donde se les pesca a una profundidad de 20 - 30 brazas (30 metros aproximadamente). La captura se realiza con todo tipo de redes, desde la atarraya, redes de cerco e inclusive con anzuelo.

Por el carácter de su alimentación, pertenecen a los peces omnívoros planctónicos, o sea, que se alimentan de pequeñas partículas de materia orgánica tanto de animales como de vegetales. (2,22)

Dada su abundancia tienen una importancia comercial muy grande, ya que se consume mucho a nivel popular por su bajo precio. En general se consume en estado fresco, pero también en forma seca y salada. Su huela o gónada femenina es muy cotizada en el mercado.

Al género *curema* se le conoce popularmente también como: lisa, lisa blanca y lebrancha en el golfo de México (2,10,22)

En este trabajo se pretende determinar el grado de frescura en el - pescado lisa, por medio de la prueba de la determinación de la cantidad de TVA.

Los objetivos a cumplir son los siguientes:

- Determinar el grado de frescura en el pescado lisa con base en la de-

terminación de la cantidad de TMA.

- Marcar los límites entre lo que se considere estado de frescura y estado de descomposición, con base a la cantidad de TMA determinada y con base en el tiempo que lleve de conservación el pescado en estudio.
- Conocer las ventajas y desventajas de la aplicación de esta prueba en la inspección sanitaria de los productos de la pesca.
- Contemplar otras posibles pruebas químicas, que en un momento dado puedan servir de complemento o de apoyo a la de TMA.

II - Material y Métodos:

A.- Material empleado:

- 1.- 2 refrigeradores.
- 2.- Hielo de agua potable en escamas.
- 3.- 1 termómetro.
- 4.- 7 pipetas graduadas de 1 cc..
- 5.- 1 pipeta graduada de 5 cc..
- 6.- 8 pipetas graduadas de 10 cc..
- 7.- 1 pipeta volumétrica de 25 cc..
- 8.- 1 bureta de 50 ml..
- 9.- 12 tubos de ensayo.
- 10.- 6 probetas de 100 cc. con tapón esmerilado.
- 11.- 24 probetas de 25 cc. con tapón esmerilado.
- 12.- 2 matraces volumétricos de 100 cc. con tapón esmerilado.
- 13.- 2 matraces volumétricos tipo Kjeldahl.
- 14.- 2 matraces Erlenmeyer de 1 litro.
- 15.- 6 vasos de precipitado de 40 ml.
- 16.- 6 cápsulas de porcelana.
- 17.- 6 embudos.
- 18.- 6 tripies.
- 19.- Papel filtro Whatman del no. 1
- 20.- Equipo de disección. (3,6,8,15,19,20)
- 21.- Granalla de zinc y perlas de vidrio. (8)

22.- 100 muestras de pescados frescos, refrigerados y crudos del género Mugil curema, de un peso promedio de 250 gramos.

B.- Aparatos:

- 1.- Espectrofotómetro colorimétrico.
- 2.- Balanza analítica con rango de precisión a 0.1 mg.
- 3.- Aparato Kjeldahl. (8)

C.- Reactivos:

- 1.- Solución de ácido tricloroacético al 7.5%
- 2.- Solución saturada de carbonato de potasio.
- 3.- Formalina al 20%
- 4.- Toluol o tolueno secado con sulfato de sodio anhidro granulado.
- 5.- Solución Stock de ácido pícrico.
- 6.- Solución de trabajo de ácido pícrico al 0.02%
- 7.- Sulfato de sodio anhidro granulado. (3,6,8,15,19,20)
- 8.- Solución Stock de Trimetil Amina (Solución estándar).
- 9.- Solución de trabajo de Trimetil Amina.
- 10.- Solución de hidróxido de sodio al 10%
- 11.- Acido bórico al 4%
- 12.- Acido clorhídrico al 0.1 N. (8)

B.- Métodos:

Se obtuvieron un total de 100 pescados Lisa de la cooperativa Pesca en el puerto de Alvarado Veracruz, y dicho producto se manejó de la siguiente manera:

- 1.- Una vez obtenidos se procedió inmediatamente a realizar la evisce-

ración y lavado con agua potable de los 100 pescados y en seguida se colocaron en embalajes de plástico para pescado fresco, y se acondicionaron de la siguiente forma: se colocó una cama de hielo en escamas de 5 cms. de espesor y sobre ella los pescados, colocándolos en posición dorso ventral, alternando cola con cabeza, cubriendo inmediatamente con otra cama de hielo en escamas, cuidando de que el hielo tuviera contacto con toda la superficie de los pescados. Esta operación se continuó hasta completar el llenado del embalaje. (4,18)

- 2.- Se transportó lo más rápido posible con el fin de trabajar inmediatamente; el tiempo transcurrido desde que se realizó la evisceración, hasta la llegada al laboratorio fué de aproximadamente 2 días.
- 3.- El trabajo experimental que se describe a continuación se realizó en el laboratorio de Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, de la siguiente manera: el lote de 100 pescados se colocó en 2 refrigeradores en posición dorso ventral, alternando cola con cabeza, cubriendo con camas de hielo en escamas de 5 cm. de espesor, y se mantuvo en refrigeración a 4 grados centígrados, considerada como la técnica óptima de refrigeración.
- 4.- El lote inicial de 100 pescados, se dividió en 20 sublotes, con el fin de trabajar 5 pescados diariamente durante 20 días en forma ininterrumpida.
- 5.- Las determinaciones del contenido de Trimetil Amina se realizaron bajo la técnica del; Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C), pero se realizaron algunas modificaciones buscando las ventajas que ofrecen otras técnicas,

y se procedió de la manera que se describe a continuación:

- a.- Se toman 20 gramos de músculo, y se maceran perfectamente. (3,19)
 - b.- Se colocan en una probeta graduada de 100 cc. y se completa a volumen total con ácido tricloroacético al 7.5% (3)
 - c.- Se agita perfectamente para homogeneizar a intervalos durante 2 hrs.
 - d.- Se filtra en papel filtro Whatman del número 1.
 - e.- Se toman 2 cc. del filtrado y se vacían a una probeta de 25 cc. con tapón esmerilado.
 - f.- Se agrega 1 cc. de formalina al 20%
 - g.- Se agregan 10 cc. de toluol secado con sulfato de sodio anhidro.
 - h.- Se agregan 3 cc. de solución de carbonato de potasio, se cierra la probeta y se agita 40 veces.
 - i.- Se recoge la mayor cantidad posible de toluol (líquido sobrenadante) y se pasa a otra probeta de 25 cc. con tapón esmerilado que contiene aproximadamente 0.3 gramos de sulfato de sodio anhidro granular.
 - j.- Se agita suavemente para deshidratar y se deja sedimentar.
 - k.- Se pipetean 5 cc. de toluol (líquido sobrenadante) y se pasan a otra probeta de 25 cc. con tapón esmerilado, a la cual se le hayan puesto previamente 5 cc. de una solución de trabajo de ácido nítrico al 0.02%. Se agita y se lee en el espectrofotómetro colorimétrico con una longitud de onda de 430 milimicrones. Paralelamente se corre una prueba en "blanco" (sin agregar muestra). (8)
- 6.- La preparación de reactivos se realiza de la siguiente manera:
- a).- Acido tricloroacético al 7.5%; disolver 75 gramos del áci-

do tricloroacético en un litro de agua destilada.

- b).- Tolueno; secar un litro de tolueno en aproximadamente 50 - gramos de sulfato de sodio anhidro granular, durante dos - días por lo menos, antes de utilizarlo.
- c).- Solución saturada de carbonato de potasio; disolver 100 gra - mos de carbonato de potasio en 100 ml. de agua destilada.
- d).- Formalina al 20%; agitar 1 litro de formol comercial (40%), con 100 gramos de carbonato de magnesio, hasta que esté ca - si libre de color y filtrar. Tomar 100 ml. del filtrado y - diluirlos en 200 ml. de agua destilada.
- e).- Solución Stock de ácido pícrico; pesar 2 gramos de ácido pí - crico en balanza analítica y disolverlos en 100 ml. de to - lueno seco o anhidro.
- f).- Solución de trabajo de ácido pícrico al 0.02%; diluir 1 ml. de la solución stock de ácido pícrico en 100 ml. de tolueno seco o anhidro.
- g).- Solución Stock de Trimetil Amina; pesar 0.682 gramos de una solución standar de TMA.CL (comercial) en balanza analítica y adicionarlos a 1 ml. de ácido clorhídrico, diluir esto en 100 ml. de agua destilada.
- h).- Solución de trabajo de Trimetil Amina; tomar 1 ml. de la so - lución stock de Trimetil Amina y adicionar 1 ml. de ácido - clorhídrico, diluir esto en 100 ml. de agua destilada. (8)

7.- Para poder determinar la cantidad en mg. de TMA presente en los pescados trabajados, es necesario medir el contenido de Nitrógeno básico de la solución stock de TMA. La cantidad de nitrógeno se puede medir en micro-Kjeldahl según la técnica del A.O.A.C., pero a falta de éste, se ópto por medirlo en aparato de Kjeldahl, para lo cual se realizaron algunas modificaciones. La técnica - que se siguió fue la siguiente:

- a).- En un matraz volumétrico tipo Kjeldahl se colocan 100 cc. de la solución Stock de TMA, 30 cc. de hidróxido de sodio al 10% y finalmente se agrega granalla de zinc y perlas de vidrio para controlar la ebullición. (6)
- b).- Se coloca el matraz en el aparato de kjeldahl, se enciende y se destila durante 30 minutos aproximadamente.
- c).- El nitrógeno presente en la solución Stock de TMA, se recoge en un matraz Erlenmeyer, al cual previamente se le hayan agregado 50 ml. de ácido bórico al 4%.
- d).- Se titula finalmente con ácido clorhídrico.
- e).- La cantidad de ácido clorhídrico utilizada para titular, - nos indica la cantidad de nitrógeno presente en la solución Stock de TMA. (paralelamente se corre una prueba testigo). (8)

8.- Finalmente para poder determinar los cálculos de TMA en los pescados trabajados, es necesario correr una curva tipo de absorbanza y concentración, a partir de la solución de trabajo de TMA. Para saber la cantidad presente en mg. de TMA-N/ ml. es necesario

conocer el Nitrógeno presente en la solución Stok de TMA (punto anterior) y a partir de esto, se conocerá la concentración en mg. de TMA-N / ml. presente en la solución de trabajo de TMA.

Una vez que se han tenido estos datos, la realización de la curva se lleva a cabo de la siguiente manera:

- a).- Se toman; 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 y 3.5 ml. de la solución de trabajo de TMA, y se vacían en probetas de 25 cc. con tapón esmerilado.
- b).- Se completan todos a 4 ml. con agua destilada.
- c).- Se agrega 1 cc. de formalina al 20%.
- d).- Se agregan 10 cc. de toluol seco o anhidro.
- e).- Se agregan 3 cc. de solución de carbonato de potasio, se cierra la probeta y se agita 40 veces.
- f).- Se recoge la mayor cantidad posible de toluol (líquido sobrenadante) y se pasa a otra probeta de 25 cc. con tapón esmerilado que contenga aproximadamente 0.3 gramos de sulfato de sodio anhidro granular.
- g).- Se agita suavemente para deshidratar y se deja sedimentar.
- h).- Se pipetea 5 cc. de toluol (líquido sobrenadante) y se pasan a otra probeta de 25 cc. con tapón esmerilado, a la cual se le -- hayan puesto previamente 5 cc. de la solución de trabajo de ácido picrico al 0.02%. Se agita y se lee en el espectrofotómetro colorimétrico con una longitud de onda de 430 milimicrones. Paralelamente se corre una prueba en "blanco" (sin agregar la solución de trabajo de TMA). (8)

III - Resultados:

Los resultados que se obtuvieron de las diferentes pruebas realizadas, son los siguientes:

1).- La cantidad de Nitrógeno básico presente en la solución Stock - de TMA, se obtiene mediante el desarrollo de la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\text{ml. de HCL} \times \text{Concentración del HCL} \times \text{P.A. del N} \times 1000}{\text{ml. de la cantidad utilizada de la sol. Stock de TMA}}$$

• Se refiere a la cantidad de HCL utilizada para titular.

•• Se refiere al peso atómico del Nitrógeno.

$$N = \frac{7.950 \text{ ml.} \times 0.0806 \times 14.0067 \times 1000}{100 \text{ ml.}} = 89.750732$$

N = 89.750732 ó 90.0 mg. de TMA-N de la sol. Stock de TMA en 100 ml.

Este valor se expresa en porcentaje en relación a la solución de trabajo de TMA, es decir, que la solución de trabajo de TMA contiene 1% de la solución Stock de TMA, entonces:

$$\frac{90.0 \text{ mg. de TMA-N de la sol. Stock de TMA}}{100 \text{ ml. de la sol. de trabajo de TMA}} = 0.9 \text{ mg. de TMA-N en } 100 \text{ ml. de la sol. de trabajo de TMA-N.}$$

El valor obtenido en mg. de TMA-N para la solución de trabajo de TMA, nos sirve para calcular la concentración contenida en los mililitros utilizados para realizar la curva tipo, la cual nos servirá para calcular los resultados en los lotes de pescado trabajados.

Entonces; si para 100 ml. de sol. de trabajo de TMA, se tienen 0.9 mg. de TMA-N, para;

0.5 ml.	_____	0.0045 mg. de TMA-N
1.0 ml.	_____	0.009 mg. de TMA-N
1.5 ml.	_____	0.0135 mg. de TMA-N
2.0 ml.	_____	0.018 mg. de TMA-N
2.5 ml.	_____	0.0225 mg. de TMA-N
3.0 ml.	_____	0.027 mg. de TMA-N
3.5 ml.	_____	0.0315 mg. de TMA-N

(8)

Segun la técnica del A.O.A.C., la solución de trabajo de TMA contiene 0.01 mg. de TMA-N/ml., pero al medir el Nitrógeno presente en estas soluciones, resultó mas bajo este valor como se observa en las cifras anteriores. Esto se explica, porque al realizar la medición del nitrógeno, parte de éste se pierde en la ebullición, en la recolección, en la pureza de los reactivos, etc., sin embargo, la cantidad determinada por mililitro, se encuentra muy cercana al valor mercado por la técnica. (8)

2).- Para determinar la concentración de TMA en los pescados trabajados, es necesario obtener la curva tipo de absorbancia y concentración. Como se mencionó anteriormente, para obtener esta curva

tipo, se prepararon soluciones de concentración conocida de TMA, y se leyó su absorbancia repitiendo 3 veces cada una de las concentraciones elegidas.

Los valores de absorbancia observados para éstas concentraciones se muestran en la siguiente tabla y en la grafica No.1.

X	Y
0.5	0.030
0.5	0.031
0.5	0.035
1.0	0.093
1.0	0.091
1.0	0.095
1.5	0.104
1.5	0.108
1.5	0.109
2.0	0.172
2.0	0.177
2.0	0.183
2.5	0.183
2.5	0.188
2.5	0.196
3.0	0.244
3.0	0.248
3.0	0.261
3.5	0.257
3.5	0.261
3.5	0.266

Valores de absorbancia obtenidos de las concentraciones elegidas.

X = concentración en ml. de TMA Y = absorbancia obtenida

GRAFICA No 1

Y = Absorbancia

0.30
0.28
0.26
0.24
0.22
0.20
0.18
0.16
0.14
0.12
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02

0

0.5

1.0

1.5

2.0

2.5

3.0

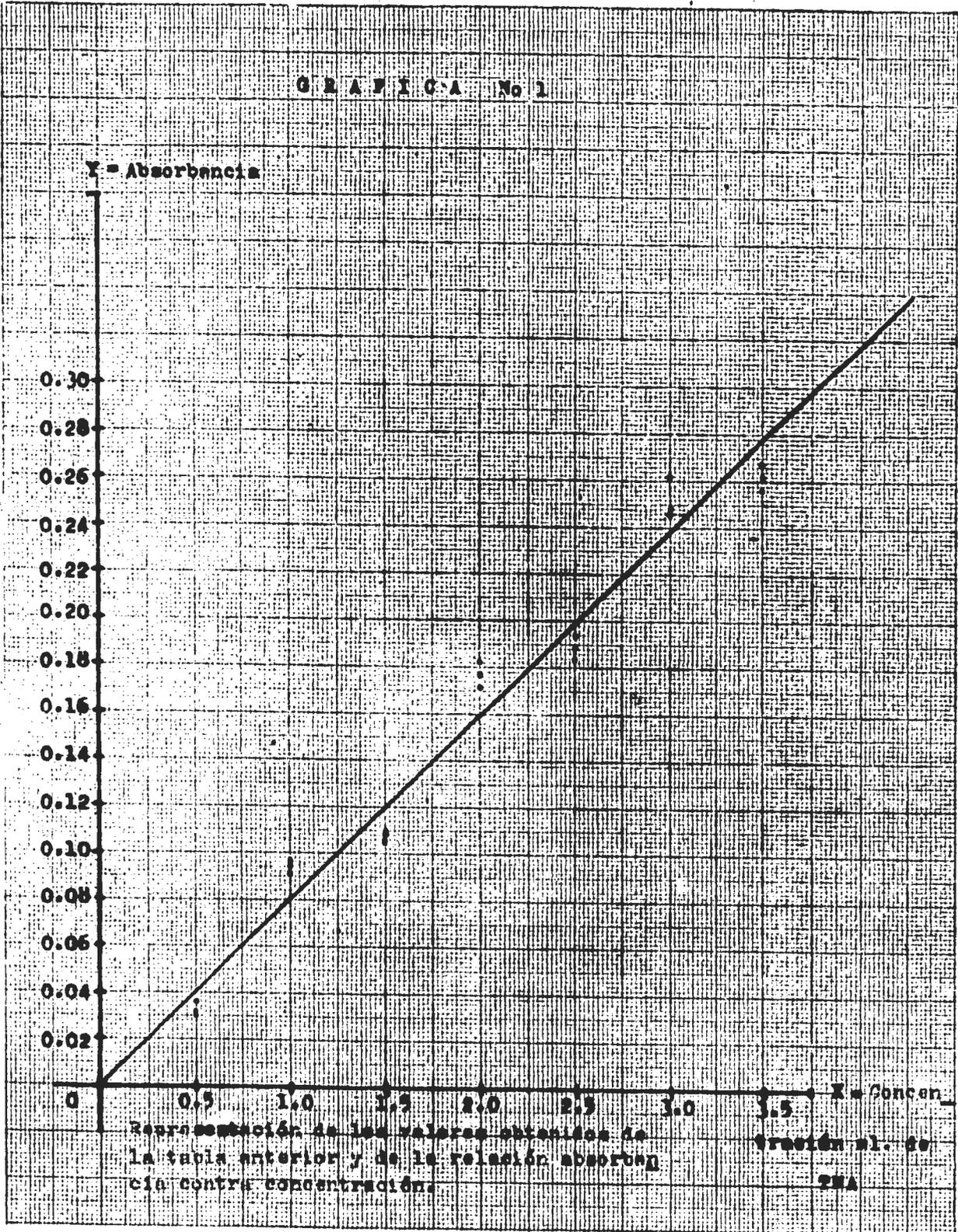
3.5

X = Concen.

Representación de los valores obtenidos en la tabla anterior y de la relación absorbancia contra concentración.

Tracción al. de

TNA



El trabajo estadístico que se describe a continuación se realizó en el Departamento de Matemáticas de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM, de la siguiente forma:

De acuerdo con la ley de Lambert-Beer, sabemos que los puntos deben de estar sobre una línea recta, que para cero de absorbancia, tenga cero de concentración, es decir, que parta del origen, por lo tanto utilizamos el método de mínimos cuadrados para ajustar éstos puntos a una recta de la forma:

$$\hat{Y} = a + b X$$

Antes de realizar el ajuste de los puntos, probamos la correlación de las dos variables con nuestros datos experimentales para probar si el trabajo experimental fue bien realizado. De acuerdo con la mencionada ley, si estos puntos ajustan a una recta, el coeficiente de correlación debe estar muy cerca a 1, es decir que el 100% de las variaciones en absorbancia, se deben a variaciones en concentración. (9, 23)

En la tabla número 1 se muestran los cálculos necesarios para obtener el coeficiente de correlación.

T A B L A No. 1

Valores necesarios para obtener el coeficiente de correlación

X = concentración en ml. de TMA.

Y = absorbancia

X	Y	X ²	X Y	Y ²
0.5	0.030	0.25	0.015	0.000900
0.5	0.031	0.25	0.0155	0.000961
0.5	0.036	0.25	0.018	0.001296
1.0	0.093	1.0	0.093	0.008649
1.0	0.091	1.0	0.091	0.008281
1.0	0.095	1.0	0.095	0.009025
1.5	0.104	2.25	0.156	0.010816
1.5	0.108	2.25	0.162	0.011664
1.5	0.109	2.25	0.1635	0.011881
2.0	0.172	4.00	0.344	0.029584
2.0	0.177	4.00	0.354	0.031329
2.0	0.183	4.00	0.366	0.033489
2.5	0.183	6.25	0.4575	0.033489
2.5	0.188	6.25	0.470	0.035344
2.5	0.196	6.25	0.490	0.038416
3.0	0.244	9.00	0.732	0.059536
3.0	0.248	9.00	0.744	0.061504
3.0	0.261	9.00	0.783	0.068121
3.5	0.257	12.25	0.8995	0.066049
3.5	0.261	12.25	0.9135	0.068121
3.5	0.266	12.25	0.931	0.070756
42.0	3.333	105.00	8.2935	0.659211
$\bar{X} = 2$	$\bar{Y} = 0.1587$	84.0	6.666	0.528969
n = 21		$\Sigma X^2 = 21$	$\Sigma XY = 6.275$	$\Sigma Y^2 = 0.130215$

A partir de los resultados obtenidos de la tabla No. 1 y con la aplicación de las siguientes fórmulas;

$$\frac{1}{n} (\Sigma X)^2 = \frac{1}{21} (42)^2 = 84$$

$$\frac{1}{n} (\Sigma Y)^2 = \frac{1}{21} = (3.333)^2 = 0.528995$$

$$\frac{1}{n} (\Sigma X)(\Sigma Y) = \frac{1}{21} (42)(3.333) = 6.666$$

el coeficiente de correlación lo obtenemos de la siguiente manera;

$$r = \frac{\Sigma XY}{\sqrt{(\Sigma X^2)(\Sigma Y^2)}}$$

$$r = \frac{1.6275}{\sqrt{(21)(0.130216)}} = 0.984189$$

$$r^2 = 0.968629$$

(9, 23)

El 96.86% de la variación en Y (absorbancia) se explica por la variación de X (concentración).

El coeficiente de correlación nos da un valor de 96.86%, lo que significa que el 96.86% de las variaciones en absorbancia, se deben a variaciones en concentración, y el 3.14% restante se puede deber a; turbidez de reactivos, pureza de reactivos, etc.

Como esto nos dió muy cercano al 100%, aceptemos que el trabajo

experimental esta bien realizado, por lo que después se procedió a -
ajustar los puntos a una línea recta utilizando para esto el método -
de mínimos cuadrados.

Con el uso de la tabla No. 1, realizamos los siguientes cálculos -
para obtener la ecuación de la línea recta:

$$\hat{Y} = a + b \cdot X$$

$$a = \bar{Y} - b \bar{X} =$$

$$a = 0.1587 - (0.0775)(2) = 0.003714$$

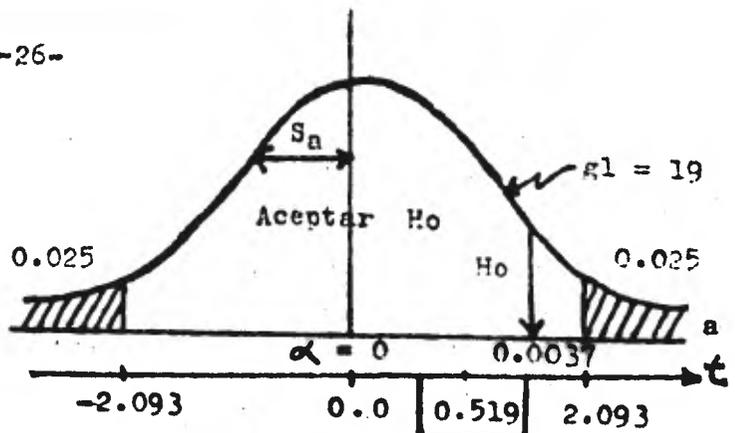
$$b = \frac{\sum x y}{\sum x^2} =$$

$$b = \frac{1.6275}{21} = 0.0775$$

$$\hat{Y} = 0.003714 + 0.0775 X$$

Nuestro valor de intercepto para el eje Y se puede observar que -
fue de 0.003714, es decir que para cero de concentración, existe -
0.003714 de absorbancia, cuando nosotros esperamos que para cero de -
concentración, exista cero de absorbancia, por lo tanto se probó si -
éste valor de intercepto se podía considerar insignificante o no, por
lo que realizamos una prueba de hipótesis para el valor de α , es de-
cir; $H_0: \alpha = 0$ contra $H_1: \alpha \neq 0$, realizando los cálculos que se mues-
tran a continuación;

$H_0: \alpha = 0$
 $H_1: \alpha \neq 0$
 $\alpha = 5\%$ de significación
 $gl = n - 2 = 21 - 2 = 19$
 $t_{19, 0.025} = 2.093$



$$S_{YX} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b(\sum xy)}{n - 2}}$$

$$S_{YX} = \sqrt{\frac{0.130216 - (0.0775)(1.6275)}{21 - 2}} = \sqrt{\frac{0.004085}{19}} = 0.014663$$

$$S_b = S_{YX} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum x^2}} = 0.014663 \sqrt{\frac{1}{21} + \frac{(2)^2}{21}} = 0.007155$$

$$t_c = \frac{a}{S_a}$$

$$t_c = \frac{0.003714}{0.007155} = \boxed{0.519}$$

(9, 23)

Como 0.519 se encuentra dentro de lo aceptable, es decir entre los límites de: ± 2.093 , aceptamos H_0 , o sea $\alpha = 0$ es insignificante.

Teniendo ya los requisitos necesarios, pudimos entonces trazar la curva tipo, basándonos en lo antes realizado;

Valor de intercepto = 0.003714

$$\hat{Y} = 0.003714 + 0.0775 X$$

$\bar{x} = 2.0$

(23)

$$\bar{Y} = 0.1587$$

Con éstos datos construimos la curva tipo que se muestra en la gráfica No. 2.

Una vez que se obtuvo y se graficó la curva tipo, se procedió entonces a construir bandas al 95% de confianza alrededor de la curva tipo, realizando los cálculos que se muestran a continuación;

$$X = 1.25$$

$$\hat{Y} = 0.003714 + 0.0775$$

$$Y = \hat{Y} \pm t_0 \cdot s_{\hat{Y}}$$

$$s_{\hat{Y}} = S_{y \cdot x} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(X - \bar{X})^2}{\sum X^2}}$$

$$s_{\hat{Y}} = 0.014663 \sqrt{1 + \frac{1}{21} + \frac{(X - 2)^2}{21}} = \frac{0.014663}{\sqrt{21}}$$

$$\sqrt{21 + 1 + (X - 2)^2} = 0.003200 \sqrt{22 + (X - 2)^2}$$

$$t_0 = 2.093 \text{ (95\% de confianza)}$$

(9,23)

Los resultados obtenidos del desarrollo de las fórmulas anteriores se muestran en la tabla No. 2, y las bandas de confianza obtenidas, se muestran en la gráfica No. 2.

T A B L A No. 2

x	\hat{Y}	SS	$t_0 s_{\hat{Y}}$	$\leq Y \leq$
0.5	0.042464	0.015757	0.032979	0.009485 - 0.075443
1.0	0.081214	0.015346	0.032118	0.049096 - 0.113332
1.5	0.119964	0.015093	0.031590	0.088374 - 0.151554
2.0	0.158714	0.015008	0.031412	0.127302 - 0.190126
2.5	0.197464	0.015093	0.031590	0.165874 - 0.229054
3.0	0.236214	0.015346	0.032118	0.204096 - 0.268332
3.5	0.274964	0.015757	0.032979	0.241985 - 0.307943

Cálculos necesario para obtener la curva tipo y bandas al 95% de confianza.

- Puntos de referencia para la banda de confianza inferior.
- Puntos de referencia para la banda de confianza superior.

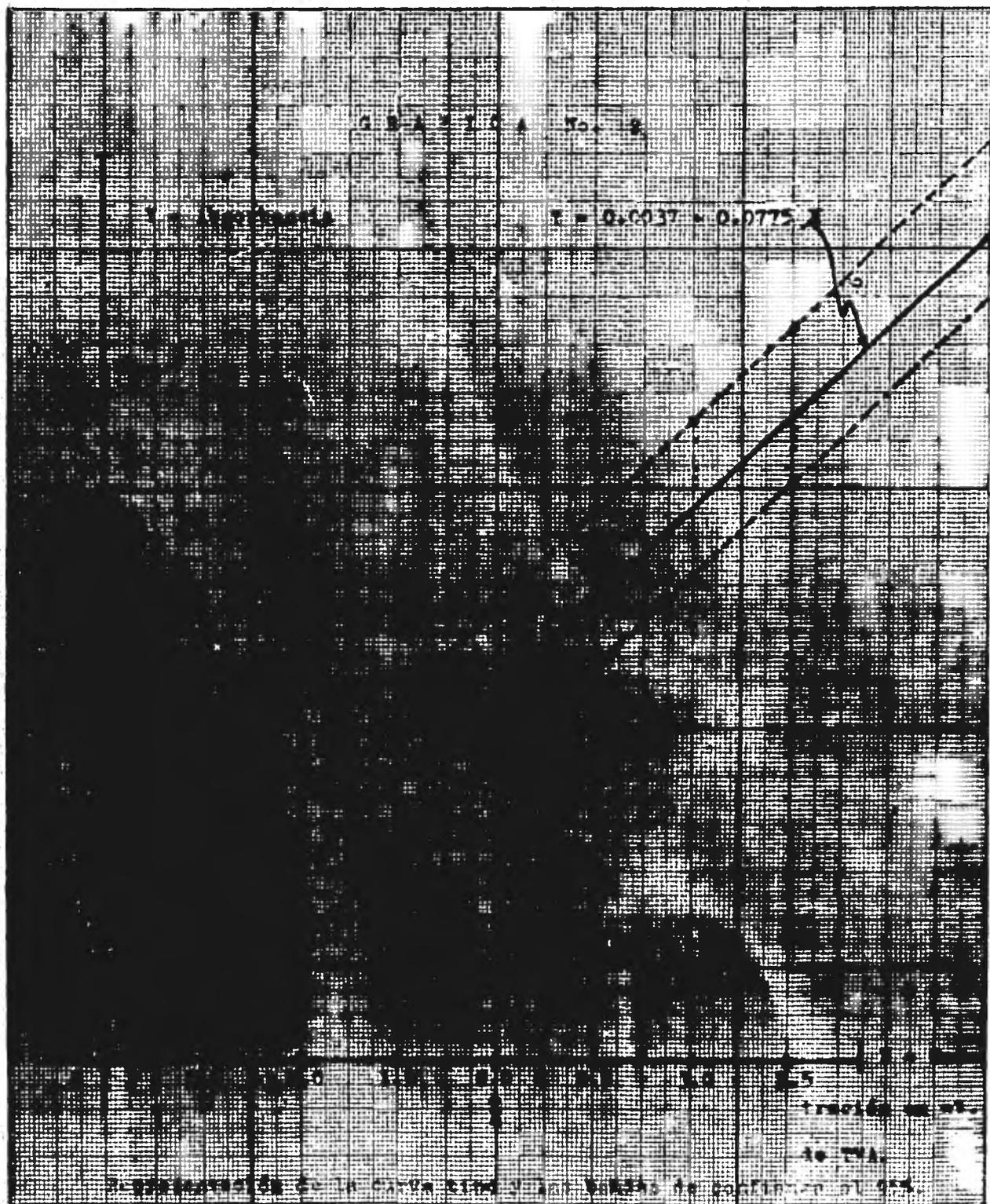
U.S. GEOLOGICAL SURVEY

No. 2

1 - 100000

$T = 0.0037 = 0.0775 X$

50



De esta manera obtuvimos nuestra curva tipo que nos sirvió para - determinar la concentración desconocida de TMA en nuestros pescados a partir de los valores de absorbancia determinados en el laboratorio.

Los siguientes cuadros agrupan el desarrollo del trabajo experimental realizado;

- El cuadro No. 1; agrupa los valores de absorbancia obtenidos del lote de pescados trabajados durante 11 días continuos, divididos en 11 sublotes trabajando 5 pescados por día.
- El cuadro No. 2; agrupa las estimaciones puntuales de ml. de TMA, obtenidos de los valores de absorbancia agrupados en el cuadro No. 1 y del desarrollo de la siguiente fórmula;

Y = absorbancia

X = concentración en ml. de TMA

$$X = \frac{Y - 0.0037}{0.0775}$$

$$\hat{Y} = 0.0037 + 0.0775 X$$

- El cuadro No. 3; agrupa los valores de concentración en ml. de TMA con un 95% de confianza, obtenidos de las bandas de confianza de la gráfica No. 2 y de la relación absorbancia contra concentración.
- El cuadro No. 4; agrupa las conversiones de las estimaciones puntuales (cuadro No. 2), a mg. de TMA-N, obtenidas de la estimación puntual multiplicado por la concentración de los ml. del eje X de la gráfica No. 2.
- El cuadro No. 5; agrupa las conversiones de los valores de concentración en ml. de TMA con un 95% de confianza (cuadro No. 3) a mg. de TMA-N. obtenidos del valor de concentración de confianza multiplicado por la concentración de los ml. de eje X de la gráfica No. 2.

C U A D R O No. 1

Valores de absorbancia obtenidos del total de pescados trabajados.

En la parte superior se agrupa el lote de 5 pescados trabajados, y en la columna de la izquierda, el tiempo en días así como el sublote que corresponde al mismo número.

Sublote No. / Tiempo en días	Valores de absorbancia Pescado:				
	1	2	3	4	5
1	0.038	0.042	0.036	0.035	0.027
2	0.056	0.050	0.045	0.390	0.050
3	0.0775	0.053	0.048	0.086	0.083
4	0.0885	0.0805	0.0825	0.085	0.086
5	0.0865	0.0835	0.099	0.086	0.091
6	0.085	0.1015	0.092	0.129	0.1315
7	0.107	0.0865	0.139	0.1325	0.047
8	0.129	0.0935	0.0705	0.1055	0.0815
9	0.136	0.138	0.1195	0.2195	0.1465
10	0.1895	0.1065	0.1075	0.1595	0.1805
11	0.235	0.1885	0.1965	0.290	0.196

C U A D R O No. 2

Estimaciones puntuales en ml. de TMA del total de pescados trabajados.

En la parte superior se agrupa el lote de 5 pescados trabajados, y en la columna de la izquierda, el tiempo en días así como el sublote que corresponde al mismo número.

Sublote No.	Tiempo en días.	Estimaciones Puntuales en ml. de TMA Pescado:				
		1	2	3	4	5
1		0.442	0.494	0.416	0.403	0.3006
2		0.674	0.597	0.532	4.984	0.597
3		0.952	0.636	0.571	1.087	1.023
4		1.094	0.990	1.016	1.049	1.061
5		1.068	1.029	1.229	1.061	1.126
6		1.049	1.261	1.139	1.612	1.649
7		1.332	1.068	1.745	1.661	0.758
8		1.616	1.158	0.861	1.313	1.081
9		1.707	1.732	1.494	2.784	1.842
10		2.397	1.326	1.339	2.010	2.281
11		2.984	2.384	2.487	2.649	2.481

C U A D R O No. 3

Valores de concentración en ml. de TMA con 95% de confianza del total de pescados trabajados.

En la parte superior se agrupa el lote de 5 pescados trabajados, y en la columna de la izquierda, el tiempo en días así como el sublote que corresponde al mismo número.

Sublote No. Tiempo en días	Valores de concentración en ml. de TMA con 95% de confianza.				
	P e s c a d o s :				
	1	2	3	4	5
1	0.0 - 0.05	0.05 - 0.90	0.0 - 0.84	0.0 - 0.81	0.0 - 0.72
2	0.25 - 1.12	0.15 - 1.00	0.12 - 0.96	-	0.15 - 1.00
3	0.52 - 1.35	0.18 - 1.16	0.14 - 0.98	0.65 - 1.49	0.60 - 1.43
4	0.685 - 1.495	0.57 - 1.39	0.595 - 1.425	0.621 - 1.47	0.63 - 1.48
5	0.635 - 1.485	0.605 - 1.435	0.81 - 1.62	0.63 - 1.48	0.71 - 1.54
6	0.62 - 1.47	0.88 - 1.68	0.75 - 1.56	1.23 - 2.03	1.25 - 2.10
7	0.94 - 1.77	0.635 - 1.485	1.36 - 2.16	1.26 - 2.11	0.12 - 0.96
8	1.23 - 2.03	0.745 - 1.575	0.45 - 1.28	0.91 - 1.74	0.55 - 1.37
9	1.30 - 2.13	1.33 - 2.16	1.08 - 1.91	2.38 - 3.21	1.44 - 2.26
10	1.99 - 2.82	0.935 - 1.765	0.945 - 1.775	1.62 - 2.42	1.90 - 2.70
11	2.58 - 3.40	1.97 - 2.80	2.08 - 2.90	2.28 - 3.10	2.09 - 2.91

- Las columnas de la izquierda corresponden a los valores obtenidos de la banda de confianza superior de la gráfica No. 2.
- • Las columnas de la derecha corresponden a los valores obtenidos de de la banda de confianza inferior de la gráfica No. 2.

C U A D R O No. 4

Conversiones de los valores puntuales a mg. de TMA-N del total de pescados trabajados.

En la parte superior se agrupa el lote de 5 pescados trabajados, y en la columna de la izquierda, el tiempo en días así como el sublote que corresponde al mismo número.

Sublote No.	Tiempo en días.	Valores puntuales convertidos a mg. de TMA-N				
		P e s c a d o :				
		1	2	3	4	5
1	1.989	2.223	1.955	1.813	1.350	
2	3.033	2.686	2.394	179.42	2.685	
3	8.568	2.852	2.569	9.703	9.207	
4	9.846	8.910	9.144	9.441	9.549	
5	9.612	9.261	11.061	9.549	15.201	
6	9.441	17.023	15.376	21.816	22.261	
7	17.982	9.612	23.557	22.425	2.511	
8	21.816	10.442	7.749	17.725	9.027	
9	23.044	23.382	20.169	75.168	33.156	
10	53.932	17.901	18.076	36.180	51.322	
11	80.568	53.640	55.957	59.602	55.822	

C U A D R O No. 5

Conversiones de los valores de concentración en ml. de TMA con 95% de confianza, a mg. de TMA-N, del total de pescados trabajados.

En la parte superior se agrupa el lote de 5 pescados trabajados, y en la columna de la izquierda, el tiempo en días así como el sublote que corresponde al mismo número.

Sublote No	Tiempo en días	Valores de concentración (95% de confianza) convertidos a mg. de TMA-N. P e s c a d o s :				
		1	2	3	4	5
1	0.0 - 7.67	0.225 - 0.10	0.0 - 7.56	0.0 - 7.29	0.0 - 6.48	
2	1.125 - 10.08	0.675 - 9.00	0.540 - 8.64	-	0.675 - 9.00	
3	2.34 - 18.225	0.810 - 10.44	0.630 - 8.82	3.06 - 18.90	2.70 - 19.305	
4	3.08 - 20.182	2.565 - 18.765	2.67 - 19.23	2.79 - 19.84	2.83 - 19.98	
5	2.85 - 20.047	2.72 - 19.372	7.29 - 21.87	2.83 - 19.98	3.195 - 20.79	
6	2.79 - 19.845	7.92 - 22.54	6.75 - 21.06	11.07 - 36.54	11.25 - 37.80	
7	8.46 - 31.86	2.85 - 20.04	18.36 - 38.88	17.01 - 37.98	0.54 - 8.64	
8	11.07 - 36.54	3.35 - 21.26	2.025 - 17.28	8.19 - 23.49	2.475 - 18.49	
9	17.55 - 38.34	17.95 - 38.88	9.72 - 34.38	53.55 - 86.67	19.44 - 50.85	
10	35.82 - 76.14	8.41 - 31.77	0.50 - 31.95	21.87 - 54.45	34.80 - 60.75	
11	58.05 - 107.1	35.46 - 75.60	37.44 - 78.30	51.30 - 83.70	37.62 - 78.57	

- Las columnas de la izquierda corresponden a los valores obtenidos de la banda de confianza superior de la gráfica No. 2.
- • Las columnas de la derecha corresponden a los valores obtenidos de la banda de confianza inferior de la gráfica No. 2.

Es necesario aclarar que el trabajo experimental sólo se llevó a cabo durante 11 días consecutivos, porque se consideró innecesario trabajar los 20 días según el plan inicial, ya que se dictaminó al producto como no apto desde el 7mo. día de trabajo según el examen organoléptico practicado también a éstos pescados.

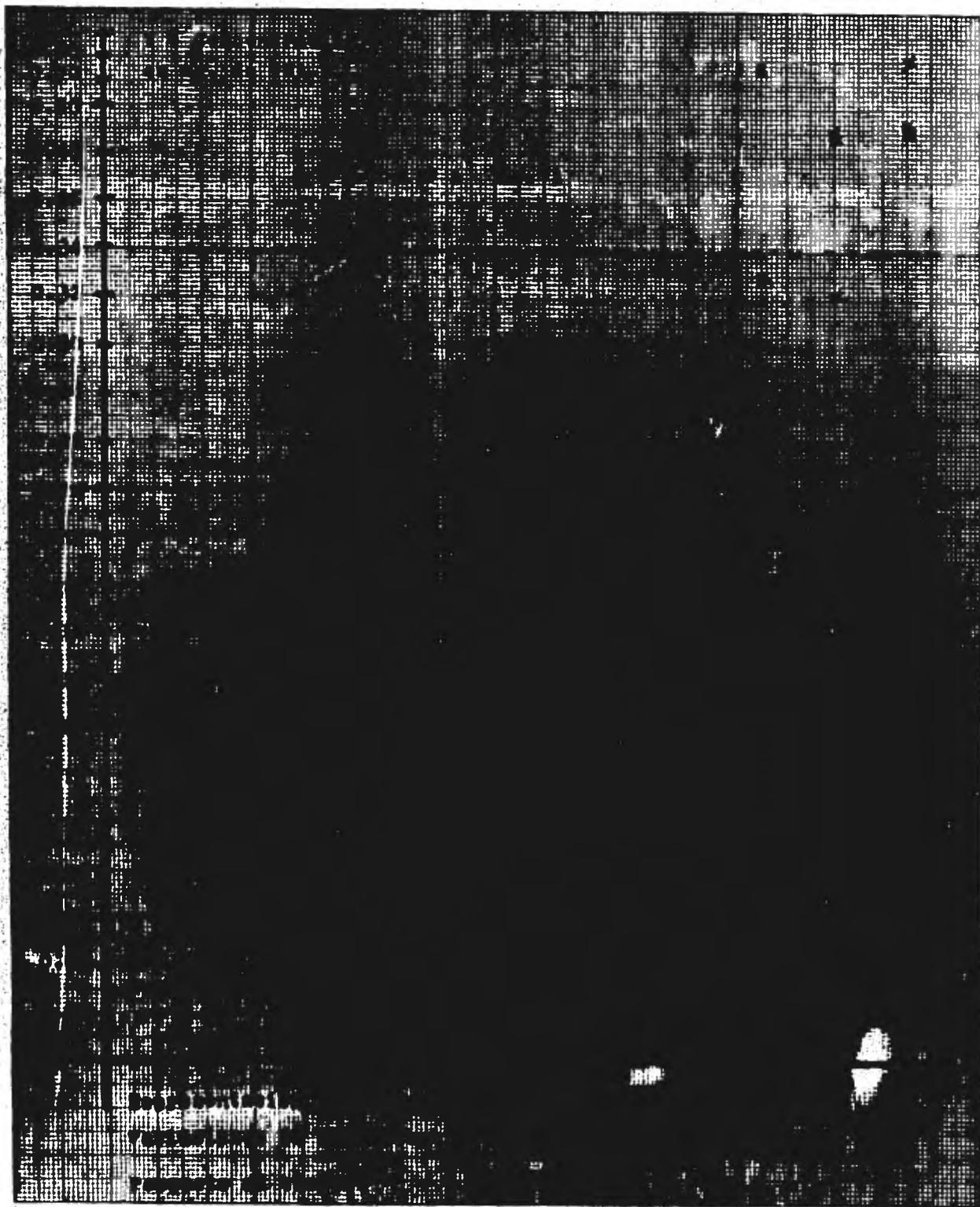
Una vez determinadas las concentraciones de TMA-N en los pescados trabajados, nos interesa obtener el modelo que describa el cambio de la concentración de TMA-N con respecto al tiempo, por lo que con el uso de la siguiente tabla No. 3, obtuvimos la relación tiempo-concentración (también expresada en el cuadro No. 4).

Si graficamos estos puntos, obtendremos el siguiente diagrama de dispersión que se expresa en la gráfica No. 3.

T A B L A No. 3

Variación de la concentración de TMA-N, con respecto al tiempo.

X = tiempo (en días)	Y = concentración en mg. de TMA.	X	Y'
1	1.989	7	23.557
1	2.223	7	22.423
1	1.955	7	2.511
1	1.813	8	21.816
1	1.350	8	10.442
2	3.033	8	7.749
2	2.686	8	17.725
2	2.394	8	9.027
2	2.686	9	23.044
3	8.568	9	23.382
3	2.862	9	20.169
3	2.569	9	75.168
3	9.783	9	33.156
3	9.207	10	53.932
4	9.846	10	17.901
4	8.910	10	18.076
4	9.144	10	32.180
4	9.441	10	51.322
4	9.549	11	80.568
5	9.612	11	53.640
5	9.261	11	25.957
5	11.061	11	54.603
5	9.549	11	55.822
5	15.20		
6	9.441		
6	17.023		
6	15.376		
6	21.816		
6	22.261		
7	17.982		
7	9.612		



Como esta nube de puntos, no nos da una idea clara de cómo sería la relación tiempo-concentración de TMA-N, utilizamos entonces, la regresión polinomial, para obtener la mejor curva que se ajustara a los datos expresados en la tabla No. 3.

El desarrollo del polinomio a trabajar es de la siguiente forma;

$$Y = a + b x + c x^2 + d x^3 + e x^4 + f x^5 \dots\dots\dots\text{etc.}$$

Utilizando este método, empezamos por realizar un polinomio de grado 1, después de grado 2, después de grado 3, etc., hasta que el análisis de varianza nos señaló que el ajuste ya no mejoraba, y esto fue hasta un polinomio de grado 4, tal como se muestra en la siguiente hoja donde se agrupan los polinomios realizados.

Con el desarrollo de la ecuación marcada por el polinomio de grado 4 de la hoja siguiente, y de los datos marcados en la tabla No. 3, se dieron valores a éste polinomio de la siguiente forma;

$$Y = 2.0817260 - 2.5042830 x + 2.3112730 x^2 - 0.3987817 x^3 + 0.0229436 x^4 =$$

Con esto pudimos obtener el modelo que nos describió el cambio de concentración de TMA en los pescados trabajados con respecto al tiempo a partir del día 1 al día 11 con 9 intervalos entre cada día.

Los valores obtenidos se expresan en la tabla No. 4 y la gráfica No. 4 indica el cambio de concentración en mg. de TMA con respecto al tiempo. (9,23)

Desarrollo de la regresión polinomial, obtenida del centro de computo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.

REGRESION POLINOMIAL PROBLEMA DE CONCENTRACION

NUMERO DE OBSERVACIONES 54

REGRESION POLINOMIAL DE GRADO 1
ORDENADA AL ORIGEN
COEFICIENTES DE REGRESION
4.714650

ANALISIS DE VARIANCIA PARA UN POLINOMIO DE GRADO 1

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	VALOR DE F	MEJORA TERMINOS
DEBIDO A REGRESION	1	11872.39000	11872.39000	77.81735	11872.39000
DEVIACION DEBIDA A REGRESION TOTAL	53	19805.89000	152.56740		

REGRESION POLINOMIAL DE GRADO 2
ORDENADA AL ORIGEN
COEFICIENTES DE REGRESION
-3.2931760 0.6649247

ANALISIS DE VARIANCIA PARA UN POLINOMIO DE GRADO 2

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	VALOR DE F	MEJORA TERMINOS
DEBIDO A REGRESION	2	11752.39000	6476.19500	57.93103	11752.39000
DEVIACION DEBIDA A REGRESION TOTAL	51	19805.89000	118.64920		

REGRESION POLINOMIAL DE GRADO 3
ORDENADA AL ORIGEN
COEFICIENTES DE REGRESION
10.3719000 -2.0662440 0.1518340

ANALISIS DE VARIANCIA PARA UN POLINOMIO DE GRADO 3

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	VALOR DE F	MEJORA TERMINOS
DEBIDO A REGRESION	3	14465.52000	4821.84000	45.14517	713.13470
DEVIACION DEBIDA A REGRESION TOTAL	51	19805.89000	106.80740		

REGRESION POLINOMIAL DE GRADO 4
ORDENADA AL ORIGEN
COEFICIENTES DE REGRESION
-2.4082650 X + 2.3112730 X²

$$-0.3987417 X^3 + 0.0229436 X^4 =$$

ANALISIS DE VARIANCIA PARA UN POLINOMIO DE GRADO 4

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	VALOR DE F	MEJORA TERMINOS
DEBIDO A REGRESION	4	14569.02000	3642.25000	34.07954	103.89220
DEVIACION DEBIDA A REGRESION TOTAL	50	19805.89000	106.80740		

REGRESION POLINOMIAL PROBLEMA DE CONCENTRACION

REGRESION POLINOMIAL DE GRADO 4

TARLA DE RESIDUOS

T A B L A No. 4

Variaciones en la concentración de mg. de TMA-N, con respecto al tiempo.

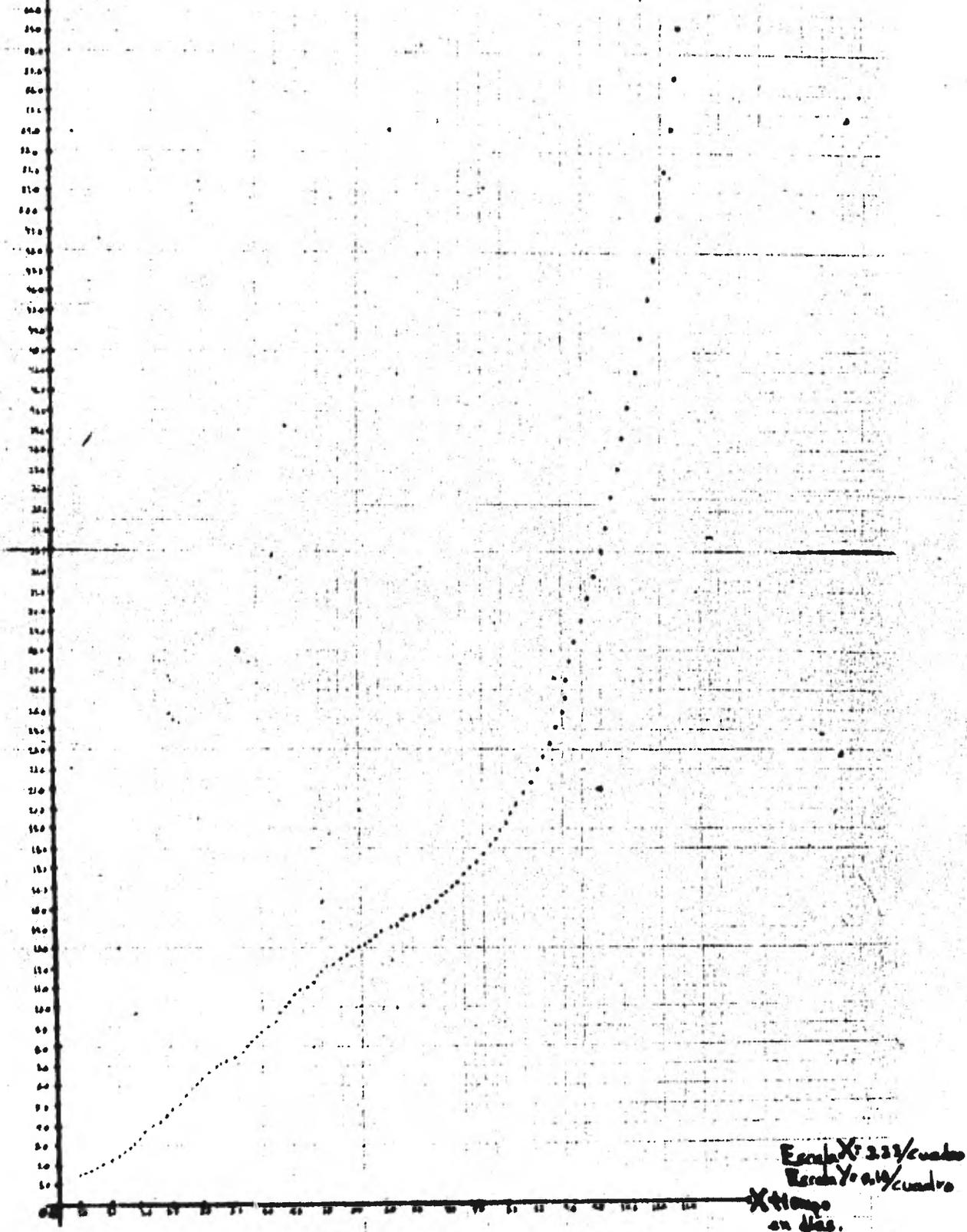
X = (tiempo en días) Y = concentración en mg. de TMA.

X	Y	X	Y	X	Y
1.0	1.5128	5.3	12.4668	9.6	33.1016
1.1	1.6264	5.4	12.6706	9.7	34.4186
1.2	1.7633	5.5	12.8717	9.8	35.8087
1.3	1.9216	5.6	13.0706	9.9	37.2750
1.4	2.0997	5.7	13.2682	10.0	38.8204
1.5	2.2959	5.8	13.4651	10.1	40.4482
1.6	2.5086	5.9	13.6620	10.2	42.1614
1.7	2.7364	6.0	13.8599	10.3	43.9632
1.8	2.9776	6.1	14.0595	10.4	45.8569
1.9	3.2310	6.2	14.2618	10.5	47.8458
2.0	3.4950	6.3	14.4679	10.6	49.9332
2.1	3.7685	6.4	14.6788	10.7	52.1226
2.2	4.0501	6.5	14.8955	10.8	54.4174
2.3	4.3385	6.6	15.1192	10.9	56.8211
2.4	4.6328	6.7	15.3512	11.0	59.3374
2.5	4.9317	6.8	15.5927		
2.6	5.2342	6.9	15.8450		
2.7	5.5394	7.0	16.1095		
2.8	5.8463	7.1	16.3877		
2.9	6.1539	7.2	16.6811		
3.0	6.4616	7.3	16.9911		
3.1	6.7685	7.4	17.3194		
3.2	7.0739	7.5	17.6676		
3.3	7.3772	7.6	18.0375		
3.4	7.6777	7.7	18.4308		
3.5	7.9750	7.8	18.8493		
3.6	8.2684	7.9	19.2950		
3.7	8.5577	8.0	19.7696		
3.8	8.8423	8.1	20.2753		
3.9	9.1220	8.2	20.8141		
4.0	9.3964	8.3	21.3880		
4.1	9.6655	8.4	21.9992		
4.2	9.9290	8.5	22.6500		
4.3	10.1867	8.6	23.3425		
4.4	10.4387	8.7	24.0791		
4.5	10.6850	8.8	24.8621		
4.6	10.9256	8.9	25.6940		
4.7	11.1606	9.0	26.5773		
4.8	11.3902	9.1	27.5145		
4.9	11.6146	9.2	28.5082		
5.0	11.8341	9.3	29.5611		
5.1	12.0491	9.4	30.6757		
5.2	12.2598	9.5	31.8550		

• Aunque las variaciones en la concentración de mg. de TMA-N se señalan a partir del primer día, el valor real corresponde de las 48 hrs. en adelante, tomando en cuenta el tiempo transcurrido desde la obtención del lote de pegados, hasta la llegada de éstos al laboratorio.

Y Concentración
mg. de TMA

G R A F I C A No. 4



Cambios de la concentración en mg. de TMA-N, con respecto al tiempo.

IV - Discusión:

De acuerdo a las determinaciones realizadas, es posible indicar el estado real de frescura en el pescado trabajado.

Los métodos objetivos o de análisis como vimos, son exactos y seguros, pero sin embargo es necesario recordar que los métodos subjetivos u organolépticos son los únicos que se practican en la inspección sanitaria en México, y que los métodos objetivos sólo sirven de apoyo a éstos últimos. (5)

De las características más importantes que contempla el exámen organoléptico , sobresalen las del olor y sabor, ya que están íntimamente relacionadas. Se sabe que el OTNA al ser reducido a TNA por la actividad enzimática y bacteriana, es altamente responsable de los cambios organolépticos desagradables detectables a la percepción sensorial. (11, 12,13,14)

Se ha comprobado que la acción enzimática y bacteriana sobre los compuestos químicos y fundamentalmente sobre los compuestos nitrogenados, trae como consecuencia, la formación de diversos productos finales tales como el amoníaco, aminas biógenas, etc., las cuales permiten deducir con gran exactitud que en el producto se está llevando a cabo el fenómeno de putrefacción, o lo que es lo mismo, que el producto ha tenido ya, cierto tiempo en conservación. Es por eso que cuando se dice que un producto pesquero presenta a la percepción un olor ligeramente amoniacal, deja de considerarse apto para consumo, ya que como se -

mencionó anteriormente, no sólo será el amoníaco, sino que será una serie de sustancias más, que resultarían tóxicas para el consumo. (11,18)

Aunque es necesario aclarar que en los seláceos debido a su cubierta muco-proteica, la presencia de olores amoniacales se considera como normal. (24)

Debido a que el examen organoléptico por sí sólo no es capaz de determinar dichas sustancias, es aquí el momento en que se puede recurrir a los métodos objetivos o de análisis, tales como; determinación de TMA, determinación de aminas volátiles, pH, etc. (6,14)

Estos métodos resultan un complemento muy necesario para asegurar con gran exactitud el estado real de frescura en los productos pesqueros. Existen sin embargo grandes limitantes en nuestros centros de inspección, tales como la necesidad de contar con laboratorios bien equipados, material, equipo, personal entrenado, etc. (1)

De los resultados obtenidos se puede observar que la TMA siguió un orden en incremento al transcurso de los días y dicho incremento fue mayor a partir del 7mo. día de trabajo, es decir cuando se dictaminó al producto como no apto para consumo humano.

Tomando en cuenta que el examen organoléptico es la única prueba que se realiza en los centros de inspección de productos de la pesca en México, las determinaciones realizadas de TMA en el pescado lisa comparadas a otro tipo de exámenes o pruebas, resultarían muy seguras para garantizar con mayor exactitud a los productos de la pesca como aptos o no para consumo humano.

Se puede entonces realizar la siguiente comparación; entre lo encontrado en este estudio y la clasificación organoléptica reportada por - Gonzales Vite J. (7)

Comparación de un examen organoléptico practicado en la inspección sanitaria a los productos de la pesca, a las determinaciones de TMA encontradas en este estudio.

Exámen organoléptico	Cantidad de TMA (mg)
- Muy fresco; de las 0 a las 48 hrs. (0 a 2 días)	No se trabajo en este periodo.
- Fresco; de las 48 a las 168 hrs. (2 a 7 días)	Valores entre: 1.51 - 11.83 mg. de TMA.
- Regular; de las 168 a las 216 hrs. (7 a 9 días)	Valores entre: 11.83-16.10 mg. de TMA.
- Alterado; de las 216 hrs. en adelante. (9 días en adelante)	Valores superiores a; 16.10 mg. de TMA.

(7,18)

Es necesario resaltar que aunque éstas categorías organolépticas - son válidas para una gran cantidad de especies marinas y de agua dulce, las alteraciones que sufren éstos, son sumamente variables, sobre todo si tomamos en cuenta las siguientes consideraciones; tipo de pesca, temperatura que prevalecía en el momento de la captura, forma de morir, método de conservación, manipuleo, etc., por lo tanto esta comparación organoléptica para el pescado lisa es de importancia relativa o subjetiva, ya que es necesario contar con exámenes organolépticos específicos para cada especie y en este caso para el pescado lisa.

Por otra parte el examen organoléptico contempla la frescura desde las cero horas, pero en éste trabajo las determinaciones del contenido de TMA en el pescado lisa se empezaron a realizar hasta el segundo día después de su captura, tomando en cuenta el transporte de los pescados al laboratorio.

Sin embargo para fines prácticos, es un hecho de que los productos de la vesca llegan a nuestros centros de inspección en un promedio de 2 a 3 días después de su captura, tomando en cuenta el transporte, manejo, etc., por lo tanto las determinaciones realizadas de TMA contemplan una realidad.

Las determinaciones realizadas de TMA en este estudio comparadas a determinaciones reportadas por; Ortiz Guzman Ms. A. (15), Perna Aldo (19) y Torry R. (26) se muestran en seguida:

Comparación entre diferentes determinaciones de TMA en diversas especies, y las encontradas en este estudio para el pescado lisa.

Tiempo (días)	A	B	C	D	E
0-1	6.82	5.25	0.652 0.924 11.320	1.5	1.51
1-2	10.50	6.44	24.210	"	1.51 - 3.49
2-3	14.60	8.12		"	3.49 - 6.46
3-4	17.50	8.46		"	6.46 - 9.39
4-5	19.60	10.22		"	9.39 - 11.83
5-6	21.70	12.84		"	11.83 - 13.85
6-7				1.5-5.0	13.85 - 16.10
7-8 ó más				14.0 ó más	16.10 ó más

Todas las determinaciones del cuadro anterior se expresan en mg. de TMA.

A; Robalo	C; Merluza	E; Lisa
B; Huachinango	D; Bacalao y Eglefino	

Las determinaciones antes analizadas sólo proporcionan una indicación aproximada, ya que las condiciones de almacenamiento, manipuleo, etc., independientemente de la técnica realizada para determinar el contenido de TMA, influyen considerablemente en estos resultados. (26)

De acuerdo a la comparación anterior, se puede observar que las determinaciones del contenido de TMA son muy variables para cada especie; así tenemos que mientras en el robalo valores de 14.60 mg. de TMA, corresponde a un producto aceptable para consumo, en el huachinango con 12.84 mg. de TMA y en el bacalao y eglefino con apenas 5.0 mg. de TMA, se encuentran en condiciones indeseables para el consumo. (15, 26)

Por otro lado se observa que en la merluza los incrementos en TMA - en las primeras horas son muy bajos, pero a partir de las 12 hrs. de su captura, el incremento se dispara hasta alcanzar niveles muy altos, que para otras especies como el bacalao y el eglefino, resultarían inadecuados para consumo.

Por su parte en el pescado lisa, las determinaciones de TMA resultan en un incremento paulatino al transcurso de los días, y así tenemos - que valores superiores a 16.10 mg. de TMA resultan inapropiados para el consumo, mientras que en el robalo, correspondería a un valor aceptable para su consumo.

Finalmente, tomando en cuenta que el fenómeno de putrefacción en el pescado se acompaña de diversos productos tóxicos resultantes de la degradación enzimática y microbiológica sobre la composición química del pescado, es posible determinar y cuantificar estos productos tóxicos mediante diversas pruebas químicas que comparadas a la determinación del contenido de TMA en el pescado lisa, proporcionan una indicación más acertada del estado de frescura en los productos de la pesca, como se muestra en la siguiente table comparativa; con los resultados obtenidos para este trabajo, y los reportados por: Gonzales Vite J. (7), - Ortiz Guzman Ma. A. (15), y Torry R. (26).

Comparación entre diferentes tipos de exámenes aplicados a distintas especies, y a los resultados obtenidos para este estudio.

Tiempo (en días)	Exámen organoléptico			pH		H ₂ S		N. V. T.			TMA (mg.)
	A	B	C	A	B	A	B	A	B	D	C
0 - 1	X	X	X	6.82	6.61	(-)	(-)	12.3	6.8	16.0	1.51
1 - 2	X	X	X	6.85	6.68	(-)	(-)	13.4	9.1	"	1.51 - 3.49
2 - 3	X	X	X	7.03	6.75	(+)	(-)	14.7	10.8	"	3.49 - 6.46
3 - 4	XX	XX	XX	7.21	6.83	(+)	(-)	15.4	14.6	"	6.46 - 9.39
4 - 5	XX	XX	XX	7.50	7.05	(+)	(-)	16.8	23.4	"	9.39 - 11.83
5 - 6	XXX	XXX	XXX	7.69	7.12	(+)	(-)	18.6	27.1	"	11.83 - 13.85
6 - 7	XXX	XXX	XXX							"	13.85 - 16.10
7 - 8	XXXX	XXXX	XXXX							"	16.10 ó más.
8 - 9	XXXX	XXXX	XXXX							"	
9 ó más	XXXX	XXXX	XXXX							29.5 6 más.	

- A; Robalo
 B; Huachinango
 C; Lisa
 D; Bacalao y Eglefino
 N.V.T.; Nitrógeno volátil total
- X; Fresco
 XX; Bueno
 XXX; Ligeramente desagradable
 XXXX; Desagradable (no apto para consumo)

La comparación anterior resulta igualmente variable para cada especie, sin embargo el examen organoléptico es común para todas las especies aunque no hay que olvidar que todos los factores analizados anteriormente influyen considerablemente en la frescura de cada especie.

La aparición de los diversos productos tóxicos antes mencionados, se llevan a cabo de manera diferente, es decir, que el fenómeno de putrefacción es diferente para cada especie, por lo tanto los límites entre aptitud y no aptitud para consumo, son forzosamente diferentes para cada especie.

De todo lo antes analizado se puede resumir que es necesario realizar otro tipo de exámenes en la inspección de los productos de la pesca, ya que el examen organoléptico por sí sólo no es capaz de garantizar con toda exactitud el estado real de frescura en los productos de la pesca.

Es también muy necesario que dentro de la inspección sanitaria en los productos de la pesca se marquen parámetros bien definidos para cada especie y para cada tipo de prueba o examen practicado en la inspección, ya que independientemente del examen que se realice, el criterio para cada especie es forzosamente diferente.

V - Conclusiones y Recomendaciones:

De acuerdo a los objetivos planteados para este estudio, y a los resultados obtenidos tanto del trabajo experimental, como del trabajo estadístico, se llegó a las siguientes conclusiones y recomendaciones:

a).- Conclusiones:

- 1.- El producto Lisa (Mugil curema) refrigerado se conserva apto para consumo hasta las 168 horas (7 días).
- 2.- Con determinaciones arriba de 16.10 mg. de TMA, se considera al producto como no apto para consumo.
- 3.- Las determinaciones del contenido de TMA en las especies marinas sólo se llevarán a cabo cuando el examen organoléptico no es capaz por sí sólo de garantizar con toda exactitud, la frescura en los productos marinos.
- 4.- La prueba más aceptable de las analizadas, resulta ser la de determinación del contenido de TMA, por las concordancias que hay entre los cambios observados de los resultados obtenidos en este estudio y los resultados reportados.
- 5.- La técnica seguida para determinar el contenido de TMA en el presente estudio, se puede adaptar a distintas especies marinas, tomando en consideración el peso de éstas y realizando los ajustes necesarios.
- 6.- Ningun tipo de examen sanitario por sí sólo garantiza con toda exactitud el estado de frescura en los productos de la pesca.

7.- El presente estudio se refiere solamente al pescado Lisa del género *Mugil curema*, fresco y refrigerado.

b).- Recomendaciones:

- 1.- Es necesario recurrir dentro de la inspección sanitaria de productos pesqueros, a otro tipo de exámenes sobre todo los de tipo objetivo o de análisis, para llegar a un dictámen sanitario más preciso.
- 2.- Desde un punto de vista tecnológico, es necesario investigar métodos y técnicas precisas, fáciles y rápidas de manejar, para ofrecer productos de mejor calidad al consumidor.
- 3.- Es indispensable contar en nuestros centros de inspección sanitaria de productos de la pesca, con laboratorios bien equipados, así como personal entrenado, para ofrecer productos de entera calidad.
- 4.- Se deben marcar parámetros bien definidos para cada especie dentro de la inspección sanitaria de productos de la pesca, ya que tanto los métodos subjetivos, como los objetivos, deben tener forzosamente criterios específicos para cada especie.

VI - Bibliografía:

- 1.- Burges, G.H.O., Cutting, C.L. El pescado y las industrias derivadas de la pesca. Editorial Acribia, Zaragoza España, 1971.
- 2.- Dirección General del Instituto Nacional de Pesca. Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México, con aspectos zoogeográficos y ecológicos. Serie científica No. 19, México 1978.
- 3.- Dirección General de Normas Comerciales. Anteproyecto de Norma Oficial Mexicana, para la determinación de TMA, para la calificación de la calidad del pescado fresco. Secretaría de Comercio, Subsecretaría de Comercio Interior. (en proceso de publicación).
- 4.- Early, J.C. Processing Norway Lobsters. Department of Trade and Industry Torry Advisory, Torry Research Station Scotland. Note No. 29:8, 1965.
- 5.- Parchmin, G. Inspección Veterinaria de Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza España, 1971.
- 6.- Gonzalez Meza Ma. Ofelia. Grado de Frescura en Comercialización del Pescado Sierra. Tesis Facultad de Química UNAM, 1978.
- 7.- Gonzales Vite Juan. Periodos de conservación de la carpa de Israel (Cyprinus carpio) en refrigeración en base a sus características organolépticas. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1979.

- 8.- Hornitz William, et al. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.), 2da. Edición - secc. 18.027, 1975.
- 9.- Hurley, D., Aguilar, A., Garibay, J., Landeros, J. Técnicas de Diseño Experimental. I.P.N., México 1981.
- 10.- Instituto Nacional de Pesca. Catálogo de Peces Marinos Mexicanos Secretaria de Comercio, Subsecretaria de Pesca, 1976.
- 11.- Kietzman, U. et al. Inspección Veterinaria de pescados. Editorial Acribia, Zaragoza España, 1974.
- 12.- López Pérez, J. et al. Manual de Inspección de Productos de Origen Animal. F.E.S.-Cuautitlán, UNAM. (sin publicar).
- 13.- López Pérez, J. Determinación de los cambios organolépticos en crustáceos macruros (camarones) frescos, refrigerados (crudos). - Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1978.
- 14.- Navarro Galindo Leopoldo. Tecnología Básica de productos pesqueros. Banco Nacional de Fomento Cooperativo S.A. de C.V. México, 1963.
- 15.- Ortiz Guzman Ma. Andrea del Carmen. Determinación del grado de frescura en carne y pescado. Tesis, Facultad de Ciencias Químicas UNAM, 1976.
- 16.- Pacho Ruiz Carlos Alejandro. Proyecto para el mejoramiento de la Inspección Higiénico-Sanitaria en los centros distribuidores de productos de la pesca en el Distrito Federal. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 1977.

- 17.- Pearson, David. Técnicas de laboratorio para el Análisis de Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza España. 1976.
- 18.- Pérez Salmerón Luis Angel. Inspección Sanitaria de pescado congelado. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 1973.
- 19.- Perna, A. Fiera Internazionale della pesca IX "Giornate Veterinarie Sui prodotti della Pesca". Ancona 3-4, luglio, 1965.
- 20.- Michele Luise. Atti delle VII Giornate Veterinarie Sui prodotti della Pesca. Ancona 29-30 giugno 1960.
- 21.- Potter Norman N. La Ciencia de los Alimentos. Centro Regional de ayuda Técnica. Agencia para el desarrollo Internacional (AID), México/Buenos Aires, 1973.
- 22.- Ruiz Durá Fernando M. Recursos Pesqueros de las Costas de México. Editorial Limusa, 1978.
- 23.- Snedecor George W. et al. Métodos Estadísticos. CECSA, México 1971.
- 24.- Syme John D. El pescado y su inspección. Editorial Acribia, Zaragoza España, 1969.
- 25.- Terje, R. et al. Acuicultura, Vol 25, No. 1, julio 1981.
- 26.- Torry Research Station. El pescado y las Industrias derivadas de la pesca. Editorial Acribia, Zaragoza España, 1971.