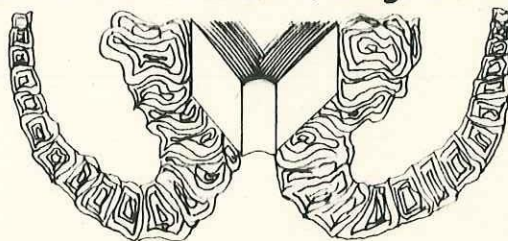




UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS MARINAS



DINAMICA DE LA
TRIMETILAMINA EN
ANCHOVETA NORTEÑA (*Engraulis mordax*)



TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

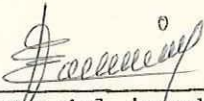
LUIS ALBERTO MORALES ZAMORANO

ENSENADA, B. C. OCTUBRE 1984

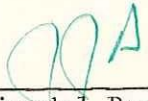
"DINAMICA DE LA
TRIMETILAMINA EN
ANCHOVETA NORTEÑA (Engraulis mordax)"

TESIS
QUE PRESENTA :
LUIS ALBERTO MORALES ZAMORANO

Aprobada por:



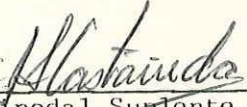
Presidente del jurado
QUIM. Irma E. Soria Mercado



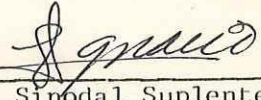
Sinodal Propietario
QUIM. Manuel Montijo Ante



Sinodal propietario
Oc. Salvador Galindo Bect



Sinodal Suplente
QUIM. José L. Castañeda



Sinodal Suplente
Oc. Ignacio Rivera

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS MARINAS

"DINAMICA DE LA
TRIMETILAMINA EN
ANCHOVETA NORTEÑA (Engraulis mordax)"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
O C E A N O L O G O

PRESENTA:
LUIS ALBERTO MORALES ZAMORANO

ENSENADA, B.C., OCTUBRE DE 1984.

INDICE DE TRABAJO

CAPITULO	TITULO	PAGINA
I	INTRODUCCION	1
	Objetivos	
	Antecedentes	
II	MATERIAL Y METODOS	11
	Métodos	
III	RESULTADOS	18
	-Tamaño de anchoveta	
	-Influencia del tiempo y temperatura en los incrementos de TMA	
	-TMA en anchoveta viva	
	-TMA durante el transporte a la planta.	
	-Concentraciones máximas de OTMA.	
	-Tiempos y temperaturas óptimas de conservación.	
	-Composición proximal.	
IV	DISCUSION	39
V	CONCLUSIONES	49
VI	RECOMENDACIONES	51
VII	LITERATURA CONSULTADA	53
VIII	APENDICES	59

LISTA DE TABLAS

TABLA	TITULO	PAGINA
I	Valores de las pendientes de las curvas de incremento de TMA en los meses y temperaturas correspondientes.	21
II	Concentraciones máximas de OTMA a temperaturas diferentes de conservación en los meses indicados.	28
III	Concentraciones de OTMA en anchoveta norteña y otros teleosteos marinos.	42

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	TITULO	PAGINA
1	Secuencia de algunos sucesos importantes en la descomposición inicial de pescados (Modificado de Martin et al., 1982)	7
2	Protocolo experimental	13
3	Diagrama de flujo de los análisis de las aminas.	16
4	Variación en la longitud de las anchovetas estudiadas.	19
5	Curvas de incremento de la TMA a lo largo del tiempo de descomposición para los meses indicados a tres temperaturas diferentes.	20
6	Cambios de las pendientes de las curvas de incremento de TMA en el curso de los meses muestreados, para temperatura ambiente(III), 10°C(II) y 0.5°C(I).	22
7	Valores de concentración de OTMA en anchoveta, a 21°C.	23
8	Variaciones de la TMA en anchoveta viva (I), a su arribo al muelle (II) y en la planta (III).	24
9	Variación de la concentración de la TMA en anchoveta durante su transporte a la planta en el transcurso de los meses indicados.	26
10	Concentración de TMA en anchoveta durante su traslado a la planta el 6 de mayo de 1983.	27
11	Lineas de contorno para TMA en función del tiempo y la temperatura.	30

12	Comparación de las líneas de contorno de TMA para los meses de noviembre y diciembre de 1983 (para concentraciones menores de 5 $\mu\text{g/ml}$ de N-TMA).	31
13	Variación del porcentaje de humedad de anchoveta en tres meses y temperaturas de conservación diferentes.	32
14	Variación del porcentaje de nitrógeno total de anchoveta en tres meses y temperaturas de conservación diferentes.	33
15	Variación del porcentaje de cenizas de anchoveta en tres meses y temperaturas de conservación diferentes.	34
16	Variación del porcentaje de lípidos totales de anchoveta en tres meses y temperaturas de conservación diferentes.	35
17	Líneas de regresión de N-TMA producido en anchoveta a tres temperaturas de conservación en los meses de octubre, noviembre y diciembre, donde el valor de K es la pendiente de cada una de las curvas de incremento de TMA en el tiempo, encontrado a partir de su forma logística.	43

LISTA DE APENDICES

APENDICE	TITULO	PAGINA
I	Resultados crudos de los análisis bromatológicos y de las aminas (TMA y OTMA) en los meses de octubre, noviembre y diciembre.	59
II	Curvas de calibración y sus ecuaciones de los métodos de determinación de TMA y OTMA.	63
III	Programa de computación aplicado en la elaboración de las líneas de contorno de TMA (modificado de Gerald, 1970).	64
IV	Diagrama de frecuencia de tallas de anchoveta analizada con la estadística respectiva en cada mes indicado.	65
V	Resultados estadísticos para el error experimental de grasas y nitrógeno.	66
VI	Lista de abreviaturas empleadas en el texto.	67
VII	Tabla con las temperaturas ambiente de los días de muestreo proporcionadas por la Secretaría de Recursos Hidráulicos de Ensenada.	68
VIII	Disminución (calculada) de rendimientos del producto debido a la falta de refrigeración de la anchoveta.	69

A la memoria de
" KATSUO A. NISHIKAWA K."

A MIS PADRES Y
HERMANOS.

A Elizabeth.

AGRADECIMIENTOS.

El presente trabajo fue posible gracias a la cooperación obtenida de parte de la Pesquera Zapata S. A., así como a las facilidades otorgadas por el Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE).

Al Dr. Katsuo A. Nishikawa K. Q.E.P.D. por sus valiosas e insustituibles enseñanzas.

A la Dra. Elizabeth Orellana C. por el inapreciable apoyo total recibido en el transcurso de estos últimos años de mi vida.

Al M.C. René Pinet por su valiosa participación en la elaboración de las gráficas de líneas de contorno; al M.C. Guillermo Villarreal CH. por sus acertadas contribuciones en el aspecto biológico.

A la QUIM. Irma E. Soria M. por su valor en retomar y dirigir acertadamente este trabajo, así como a los señores sinodales por su paciencia en la revisión y atinados comentarios.

A todos aquellos que de alguna u otra manera cooperaron para el buen desarrollo del presente.

GRACIAS.

RESUMEN

Se colectaron muestras mensuales de anchoveta de octubre a diciembre de 1983 para determinar las variaciones en la concentración de trimetilamina (TMA) y su composición proximal al estar sometida a diferentes condiciones de temperatura y tiempos de conservación. Se determinaron también máximos del óxido de trimetilamina (OTMA) y velocidades de descomposición, tanto en su transporte a la planta como a diferentes temperaturas experimentales.

Esto se realizó con el fin de contribuir a un mayor conocimiento de la contaminación atmosférica producida por olores ofensivos y su prevención, al evitar la formación de TMA en el producto que será transformado en harina de pescado.

La velocidad mayor de producción de TMA fue a temperatura ambiente en el mes de octubre, mes en el cual se obtuvo también la concentración máxima de OTMA con un valor de 233 $\mu\text{g/ml}$. Este valor disminuyó, al igual que las velocidades de formación de TMA, al acercarse el invierno. Los cambios en los porcentajes del análisis proximal durante el período de descomposición fueron relativamente pequeños.

Como resultado de la rápida formación de TMA en el producto sin conservar, se propuso un "modelo tipo" de control aproximado de calidad a temperaturas y tiempos deseados, pudiendo ser éste aplicado solo en el mes del cual hayan provenido las anchovetas con que fue estructurado.

I. INTRODUCCION.

La anchoveta es uno de los recursos marinos masivos de mayor importancia económica que existe en las costas occidentales de Baja California. Su pesquería ha estado orientada tradicionalmente a la producción de harina de pescado. Como es una especie de tamaño pequeño (hasta de 14 cm en esta región) y de fragil textura se daña con facilidad.

La falta de refrigeración del producto, así como el deterioro sufrido en el trayecto a la planta, dan lugar a la formación acelerada de compuestos extraños al metabolismo del pez vivo, lo que significa un aumento en el proceso de descomposición. La elaboración de la harina de anchoveta con un producto de mala calidad ocasiona algunas consecuencias de amplia trascendencia como son:

- a) Contaminación atmosférica con olores ofensivos;
- b) Contaminación marina por desechos orgánicos;
- c) Disminución de rendimientos en el proceso de producción.

El origen de la contaminación atmosférica sucede principalmente con la formación de compuestos nitrogenados durante la descomposición del pescado. Dentro de ellos se encuentra la TMA que por si sola no produce mal olor, sino que al reaccionar con las grasas del organismo se convierte en el compuesto responsable de los olores ofensivos producidos (Davies y Gill, 1936). Este olor característico se emite en la

planta combinado con otros contaminantes gaseosos en cantidades que son correspondientes al grado de calidad del pescado procesado (Nishikawa, 1930).

Este tipo de contaminación ha sido causa de serias controversias para con los pobladores vecinos a esas fábricas. Esto no ha significado necesariamente que dichas emanaciones hayan sido nocivas a la salud, sino que es debido a su fuerte intensidad, ya que se llega a percibir frecuentemente a grandes distancias del lugar de origen en concentraciones tan bajas como 0.00021 p.p.m. (Leonardos et al., 1969).

El estudio de la dinámica de la TMA en anchoveta abre paso al conocimiento de la velocidad de descomposición. El desarrollo de trabajos orientados a resolver los problemas antes mencionados pueden llegar a lograr además un futuro aprovechamiento de este recurso para consumo humano.

Este trabajo se realizó en gran parte con la cooperación de la Pesquera Zapata S.A. como un medio de conocer mas ampliamente un mejor aprovechamiento del recurso.

OBJETIVOS.

1) Se evaluarán los cambios de concentración de TMA en anchoveta durante su trayecto a la planta bajo condiciones normales y al conservarse a diferentes temperaturas y tiempos experimentales.

2) Se determinarán máximos de concentración del óxido de trimetilamina en meses diferentes.

3) Se definirán los cambios químicos que sufre este recurso durante su descomposición en cuanto al contenido de nitrógeno, humedad, cenizas y grasas.

4) Se determinarán tiempos y temperaturas óptimos de conservación en este producto.

ANTECEDENTES.

La trimetilamina es un compuesto nitrogenado no proteico de fórmula $(CH_3)_3N$ cuya presencia es característica durante la descomposición de pescados marinos (Simidu, 1961). Su precursor, el óxido de trimetilamina, de la misma naturaleza que el anterior, forma parte del sistema amortiguador normal del tejido de estos peces (Baldwin, 1951). Es así como ambos compuestos juegan un papel clave en el metabolismo de animales marinos y también en su descomposición.

La TMA y el OTMA junto con otros compuestos no proteicos entre los cuales se mencionan: amino ácidos libres, ácido úrico, bases nitrogenadas volátiles como el amonio, creatina, taurina, betainas, histamina, etc., constituyen del 9.2 al 18.3% del nitrógeno total en teleosteos marinos. Esto corresponde a un rango que va desde un tercio hasta la mitad del nitrógeno soluble en agua de estos vertebrados (Simidu, 1961).

El origen de estos compuestos en los peces marinos se considera generalmente exógeno (Hashimoto y Okaichi, 1958). La síntesis del OTMA en copépodos (Strom, 1980), como nivel trófico mas bajo encontrado en la cadena alimenticia del océano, conduce a inclinarse por la suposición de que el OTMA se acumula en los tejidos de los organismos vivos por oxidación de la TMA, después que este último ha sido consumido en su dieta (Norris y Benoit, 1945; Groninger, 1959). Sin embargo,

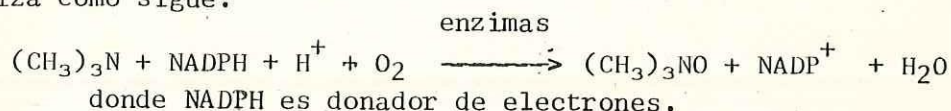
se discute la posibilidad de que su origen sea endógeno en algunas especies (Hegemann, 1964).

El papel principal de estas aminos terciarias en los peces marinos es su participación en la regulación osmótica intercelular (Lange y Fugelli, 1965; Forster y Goldstein, 1976). Esto significa que a una mayor presión osmótica del medio habrá mas necesidad de obtener el OTMA; por lo tanto, se puede suponer que en agua dulce estas concentraciones son las mas bajas.

En general, en teleosteos marinos se encuentran concentraciones de TMA menores a los 3 $\mu\text{g/ml}$ (Dyer y Mounsey, 1945), mientras que la del OTMA puede ser mucho mayor. Esto último dependerá del tamaño del pez, condiciones y zonas de captura, época del año, de la especie, su edad, etc. (Dyer, 1952; Groninger, 1959; Endo et al., 1974; Konosu et al., 1974).

Los valores de concentración del OTMA en teleosteos marinos fluctúan dentro de un intervalo que va de cero a 429 $\mu\text{g/ml}$, mientras que en elasmobranquios se han reportado cantidades tan altas como de 1140 $\mu\text{g/ml}$, lo que representa gran parte de su nitrógeno total (Groninger, 1959). La concentración de OTMA en peces de una misma especie pueden llegar a variar considerablemente a lo largo de un ciclo anual (Ronold y Jakobsen, 1947; Castell y Giles, 1961).

Síntesis del OTMA: El mecanismo de formación del OTMA ocurre en los peces por oxidación enzimática de la TMA que ha sido previamente captada por el organismo en su alimentación (Baker y Chaykin, 1960; Strom, 1979). La reacción estequiométrica que sucede ha sido descrita por Baker y Chaykin (1962) y Boulton et al. (1974) la cual se sintetiza como sigue:



Cambios Post-Mortem: La suspensión del suministro de oxígeno al tejido de los organismos da lugar a un medio propicio para el desarrollo de reacciones diferentes a las existentes normalmente en el pez vivo. Dentro del complicado proceso de descomposición se desenvuelve la producción de compuestos de bajo peso molecular en los tejidos del pescado, lo que origina una variedad de sabores y olores desagradables (Martin et al., 1982). Al mismo tiempo se produce una serie de transformaciones bioquímicas dentro de las cuales se pueden mencionar: la degradación del glucógeno y producción de ácido láctico, disminución de los niveles de ATP, acumulación de hipoxantina, oxidación de grasas, proteólisis, etc. (fig. 1).

Las alteraciones en la naturaleza de los tejidos que ha sufrido el pescado después de su muerte por procesos autolíticos y de origen bacteriano dan lugar finalmente a la formación de compuestos característicos del pescado en descomposición como son: diaminas, putrescinas, ácido acético y TMA entre otros (Kietzmarnet al., 1974).

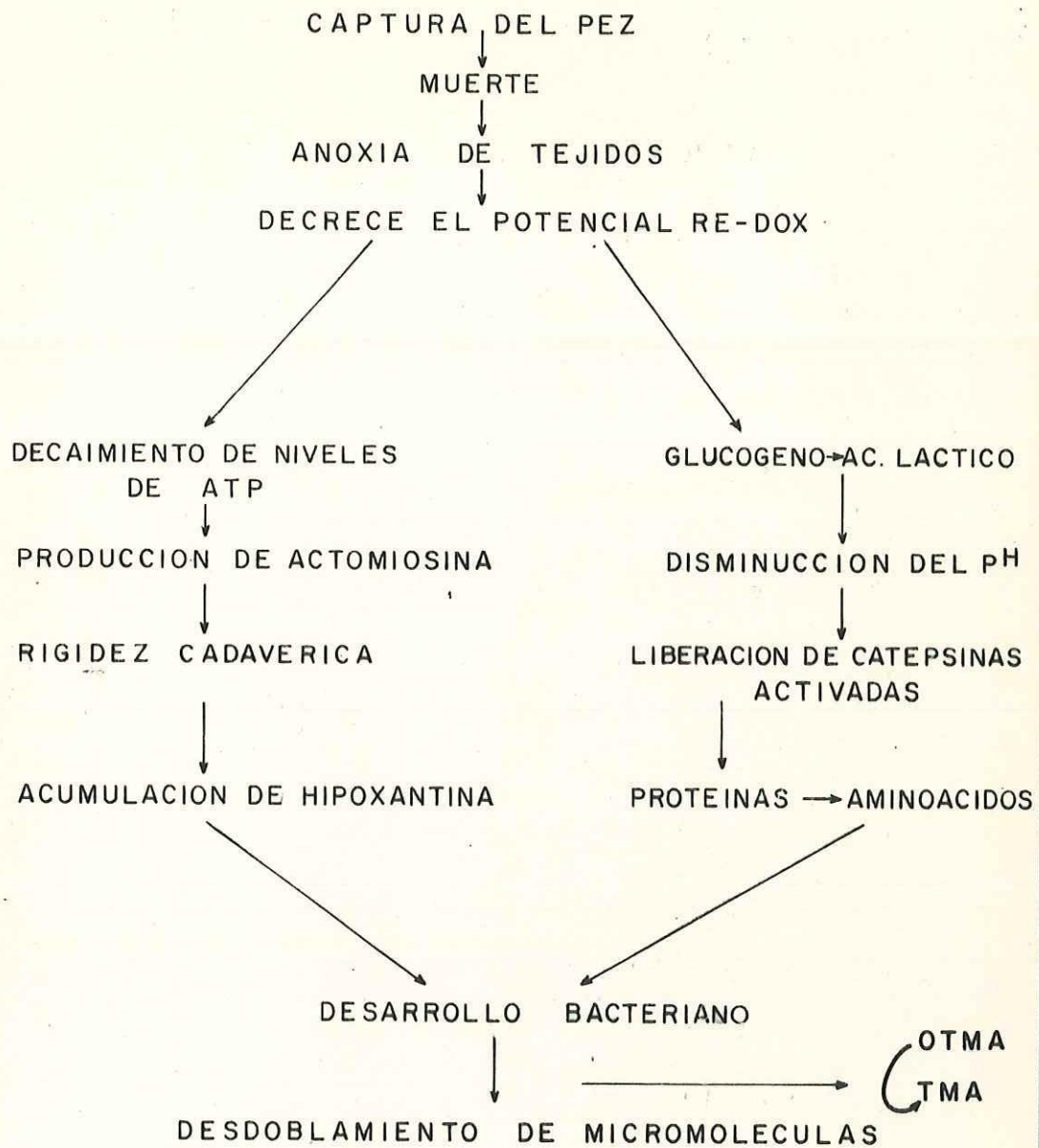
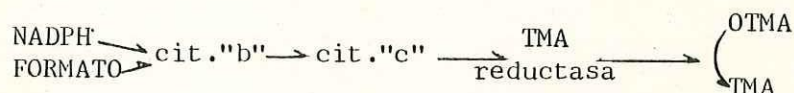


FIG. 1- SECUENCIA DE ALGUNOS SUCECOS IMPORTANTES
EN LA DESCOMPOSICION INICIAL DE PESCADOS.
(MODIFICADO DE Martin et al., 1982)

Formación de la TMA: Las reacciones metabólicas mas importantes para este trabajo son las que comprenden los mecanismos de reducción enzimática del OTMA. La TMA formada durante la descomposición del pescado resulta al menos en un 94% de la reducción del óxido (Beatty, 1938).

Se ha discutido la participación de metabolitos en la reacción de reducción del OTMA (Sakagushi y Kawai, 1977; Ishimoto y Shimokawa, 1978), presentando una serie de reacciones que de una forma resumida pueden quedar indicadas de la siguiente manera:



donde FORMATO y NADPH son donadores de electrones,
y citocromos "b" y "c" son transportadores de electrones.

Enzimas asociadas: Las reacciones de oxido-reducción se llevan a cabo en los tejidos muertos con la participación de enzimas principalmente de origen bacteriano (Castell y Snow, 1951; Boulton y Large, 1977).

Para que sucedan las reacciones de oxidación de la TMA en los peces se precisa la participación de la enzima TMA mono oxigenasa (Boulton et al., 1974), mientras que el mecanismo de reducción se produce cuando actua la enzima TMA reductasa sobre el sustrato (OTMA), (Tomizawa, 1951; Yamada, 1968).

El papel de las enzimas (exo-enzimas) bacterianas consiste en activar el sustrato para que las deshidrogenasas (endo-enzimas) de las células bacterianas actúen sobre él (Tarr, 1939). Sin embargo, se ha encontrado que las enzimas activadoras no son específicas de cada reacción puesto que pueden utilizar a otros compuestos como sustrato (Tarr, 1940; Sagai e Ishimoto, 1973; Boulton et al., 1974).

Bacterias inmiscuidas: Las bacterias no solo son capaces de participar en las reacciones de oxido-reducción en el pescado, sino que son las responsables principales de dichos procesos.

La principal especie que se ha encontrado durante la síntesis del OTMA y que contiene la enzima TMA mono-oxigenasa es Pseudomona aminovorans (Boulton et al., 1974).

Por otra parte, durante la degradación del pescado, la población bacteriana principal es Ps. putrefaciens, la cual aparece en el transcurso de las reacciones propias de la descomposición, es decir, en la fase exponencial de incrementos de la TMA. Durante este periodo, estos organismos pueden representar hasta el 80% de la flora productora de TMA (Castell y Anderson, 1948; Laycock y Regier, 1970). Al principio y al final de las reacciones de descomposición, la población bacteriana dominante en la flora total es Achromobacter, que en esos momentos es la responsable de la reducción del OTMA (Castell y Greenough, 1957; Laycock y Regier, 1971). Otras bacterias como Escherichia coli y Serratia marcescens contienen también sistemas enzimáticos lo

que las hace capaces de reducir al OTMA (Castell y Snow,1951; Tomizawa, 1951).

Métodos usados en la determinación de TMA: Los métodos que han sido aplicados para la determinación de la TMA y OTMA han sido ya discutidos, comparados y modificados por varios autores (Dyer et al.,1952; Shewan et al.,1971; Martin et al.,1982). Entre los mas conocidos se encuentran: el de microdifusión (Conway y Bryne,1933), el colorimétrico (Dyer,1945; Hashimoto y Okaishi,1957; Bullard y Collins,1980), los de procedimientos automatizados (Kato y Uchiyama,1973; Ruitter y Weseman, 1976), Los cromatográficos (Nonaka et al.,1967; Tokunaga et al.,1977) y determinación con electrodo (Chang et al.,1976).

La comparación de los resultados obtenidos por los diversos autores se hace difícil principalmente por las grandes diferencias en la exactitud de los métodos anteriormente citados. Sin embargo, el principio de la metodología colorimétrica presentada por Dyer (1945) ha sido ampliamente aplicado, lo que ofrece una mejor comparación de los resultados obtenidos en su uso.

II. MATERIAL Y METODOS.

Esta sección comprendió varias etapas que incluyen la colecta de muestras, los experimentos a diferentes temperaturas, la preparación de extractos, el análisis químico de las aminos y las determinaciones bromatológicas en el pescado.

Colecta de muestras: Las muestras se colectaron al sur-oeste de la Bahía Todos Santos, aproximadamente a tres o cuatro millas de la costa. Estas colectas se llevaron a cabo en los meses de octubre, noviembre y diciembre de 1983, para lo cual se aprovecharon salidas de barcos anchoveteros de la Pesquera Zapata S.A.

En el momento de captura de anchoveta y una vez estando ésta en la bolsa de la red, se muestrearon aleatoriamente los ejemplares aun vivos. Se colocaron en pequeñas bolsas de plástico previamente etiquetadas con cierre hermético y se transportaron conservadas en una hielera, distribuyendo hielo molido lo mejor posible entre ellas. En este momento se procesó la muestra correspondiente al primer control.

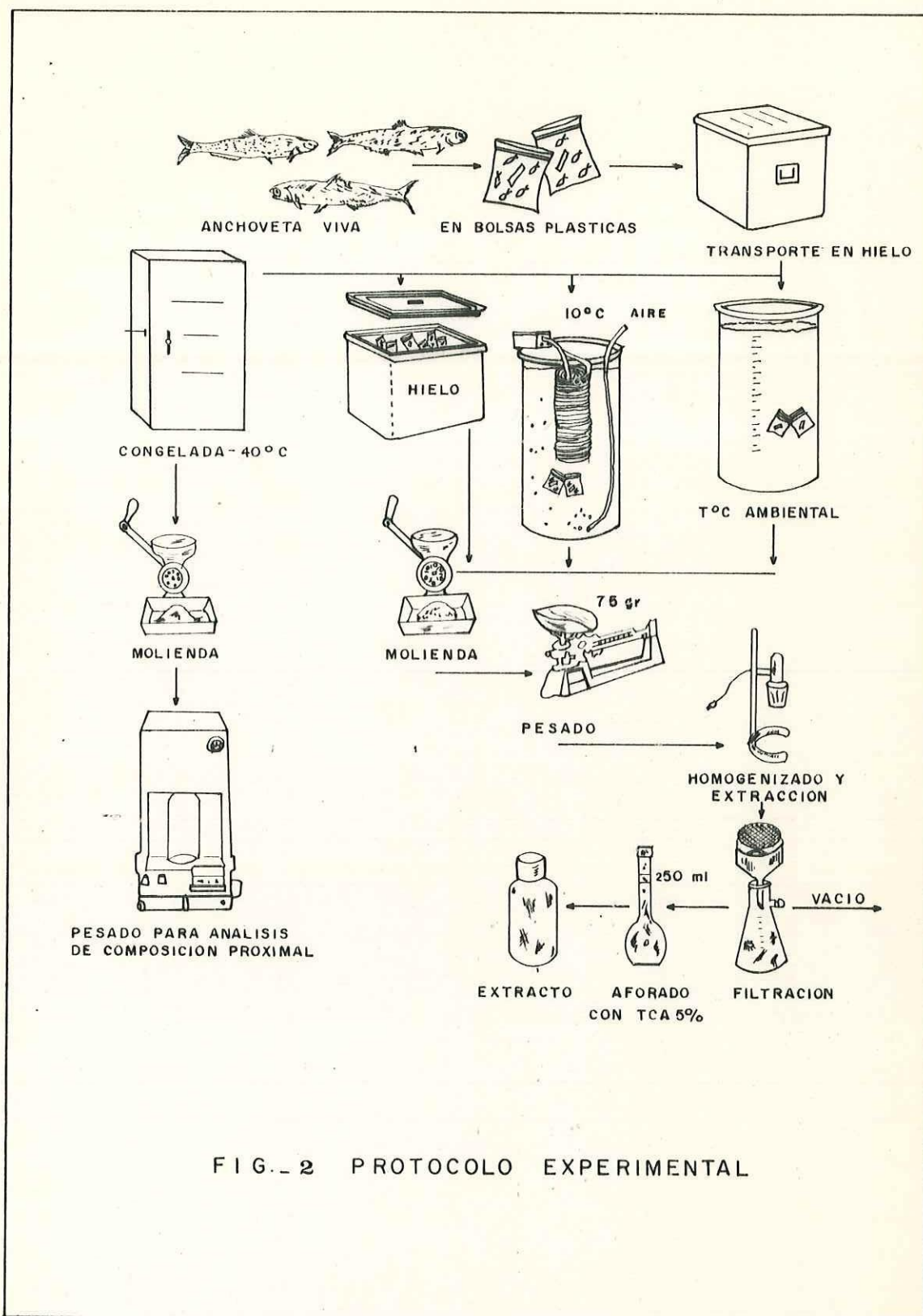
Otras colectas de anchoveta se realizaron en el momento de arribo al puerto y antes de ser procesada en la planta para hacer los análisis correspondientes. El tiempo de transporte del lugar de pesca al muelle fue de aproximadamente cinco horas, aunque en algunas ocasiones llega a ser hasta de siete horas o mas. El tiempo transcurrido en la descarga y en su transporte a la planta fue de otras tres

o cuatro horas.

En el mes de mayo se realizó una prospección para el análisis exclusivo de TMA en la anchoveta durante su transporte del sitio de pesca a la planta.

Experimentos de incubación: Una vez estando en tierra, las pequeñas bolsas se trasladaron al laboratorio donde se iniciaron los experimentos en frío los cuales partieron del "tiempo cero hipotético". Para ello se tenían recipientes a tres temperaturas diferentes: 0.5°C , 10°C y 21°C , las cuales representarían la conservación en hielo, en frío y a temperatura ambiente respectivamente. Las bolsas con muestra se colocaron dentro de los incubadores (fig. 2) obteniéndose las temperaturas deseadas de la siguiente manera:

La incubación a 0.5°C se consiguió manteniendo la anchoveta en hielo durante todo el experimento, mientras que la temperatura de conservación en frío (para los 10°C) se controló con el uso de un serpentín de enfriamiento "Blue M". Este serpentín se introdujo en un recipiente de plástico con 38 litros de capacidad, dentro del cual se colocaron las muestras con agua dulce a reflujo. Para la incubación a temperatura ambiente se introdujeron las bolsas con anchoveta en un recipiente igual que el anterior, quedando bajo la influencia exclusiva de la temperatura del medio que osciló alrededor de los 21°C , aproximadamente.



Las muestras se fueron extrayendo de los recipientes después de tiempos determinados (apéndice I). Mientras que a una parte de éstas se les hacía el extracto para el análisis de las aminas (colocándose en recipientes de plástico con 250 ml de capacidad), la otra parte se congelaba a una temperatura menor de -40°C para posteriormente practicarles el análisis proximal.

Preparación del extracto: Las muestras de anchoveta se molieron independientemente, después de sus tiempos de incubación. Posteriormente se homogenizaron por separado 75 gr de macerado con aproximadamente 75 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 8.2% en un homogenizador Omni-Mixer Servall de alta velocidad por un lapso de dos minutos y medio. Inmediatamente después se agregaron 60 ml de TCA al 5%, re-homogenizándose por otros 2.5 min. El homogenizado se filtró al vacío con papel filtro "Shark Skin", Schleicher & Schuell. El filtrado se aforó a 250 ml con TCA al 5%, guardándose en recipientes de plástico por una semana (fig. 2). Todo este procedimiento se practicó también en el barco para obtener el extracto del tiempo cero real y en muestras colectadas del muelle y la planta.

Determinación de la TMA: El análisis de los extractos se hizo por duplicado siguiendo el método de Bullard y Collins (1980) a temperatura ambiente. Este consiste en extraer la amina terciaria de 4 ml de extracto con 10 ml de tolueno puro, agregando 3 ml de KOH al 45% como liberador de la TMA. Las aminas en tolueno se colorearon con ácido pícrico al 0.02%. Las determinaciones espectrofotométricas se

hacen leyendo la absorbancia a 415 nanómetros (fig.3).

Este trabajo se realizó en el laboratorio de producción primaria del Centro de Investigación Científica y Estudios Superiores de Ensenada. Las mediciones de absorbancia se llevaron a cabo con el uso de un espectrofotómetro digital Baush & Lomb, Shimadzu Spectronic UV-210.

Determinación del OTMA: Este análisis se realizó en forma indirecta reduciendo el OTMA existente en 1 ml del extracto usado para la medición de la TMA, mas la concentración de TMA que había sido reducida en el pescado durante su descomposición (fig. 3).

El método de reducción se siguió parcialmente como lo indican Hashimoto y Okaichi (1957) y se realizó por duplicado. Este consiste en lo siguiente: a 1 ml aforado de extracto se agregó 1 ml de agua destilada, 2 ml de HCl 6N y 1 gr de aleación Dewarda (cobre, aluminio y zinc) como reductor. Se calentó en un matraz erlenmeyer de 250 ml sobre una plancha de porcelana a una temperatura aproximada de 90°C durante 15 minutos. Estando una vez fría la solución se filtró, aforando a 100 ml con TCA al 5%. Del producto reducido se usaron 4 ml y se procedió a la determinación colorimétrica como en la TMA (fig. 3).

Análisis proximal: Estas determinaciones se realizaron en la anchoveta que había sido anteriormente congelada. Para ello se realizó el descongelado con la aplicación de un flujo continuo de agua de la

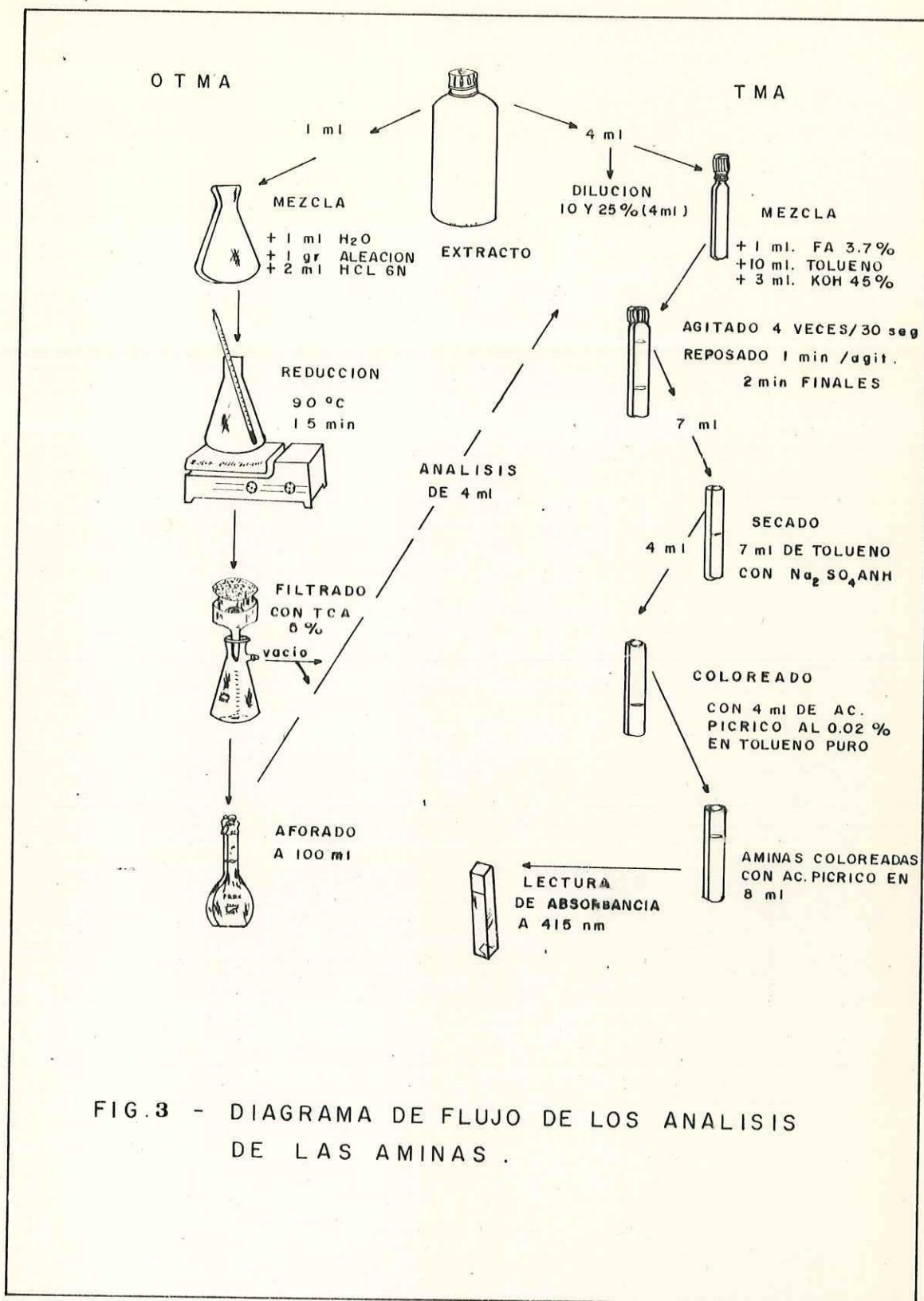


FIG.3 - DIAGRAMA DE FLUJO DE LOS ANALISIS DE LAS AMINAS .

llave sobre la bolsa con muestra. Estando la anchoveta a medio congelar se maceró con el uso de un molino casero, homogenizándose repetidamente.

Para la cuantificación de nitrógeno total se pesaron dos gramos de muestra molida a la que se le aplicó el método clásico macro-Kjeldhal. Por otra parte, se utilizaron dos gramos de muestra en la medición del porcentaje de lípidos totales, empleándose el sistema de extracción de lípidos "Ra-Fa-Tec" con eter de petróleo como solvente. Para la determinación de cenizas y humedad se trataron también dos gramos de muestra sometidos por un lapso de cuatro horas cada uno a la mufla (600°C) y estufa (110°C) respectivamente.

Elaboración de las curvas de incremento de la TMA: La aplicación de la ecuación de la curva logística a los resultados como una forma de ajustar los valores de concentración de la TMA a su comportamiento sigmoideo se realizó siguiendo las indicaciones descritas por DeSapio (1973).

III. RESULTADOS.

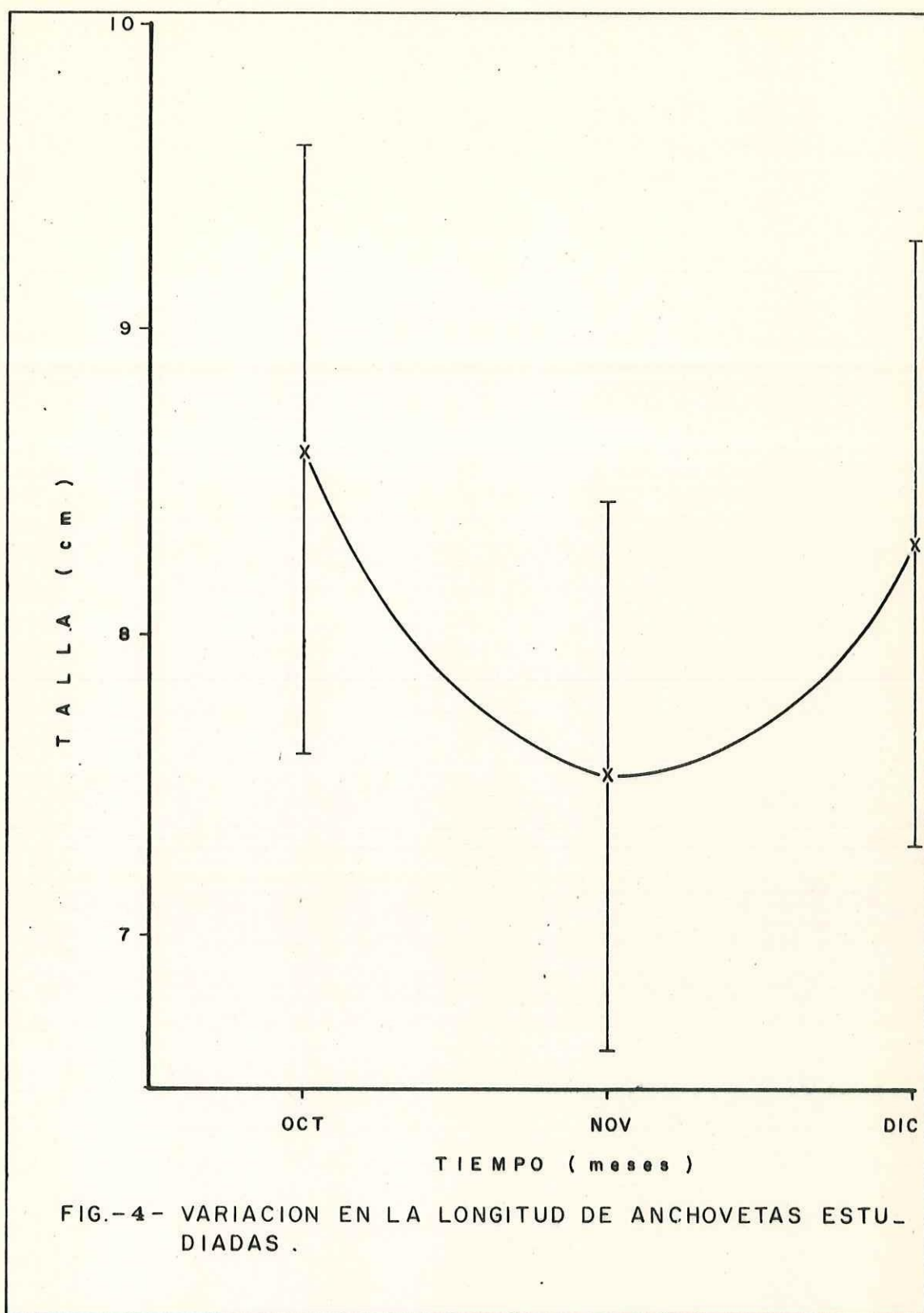
III.1 .- Tamaño de anchoveta.

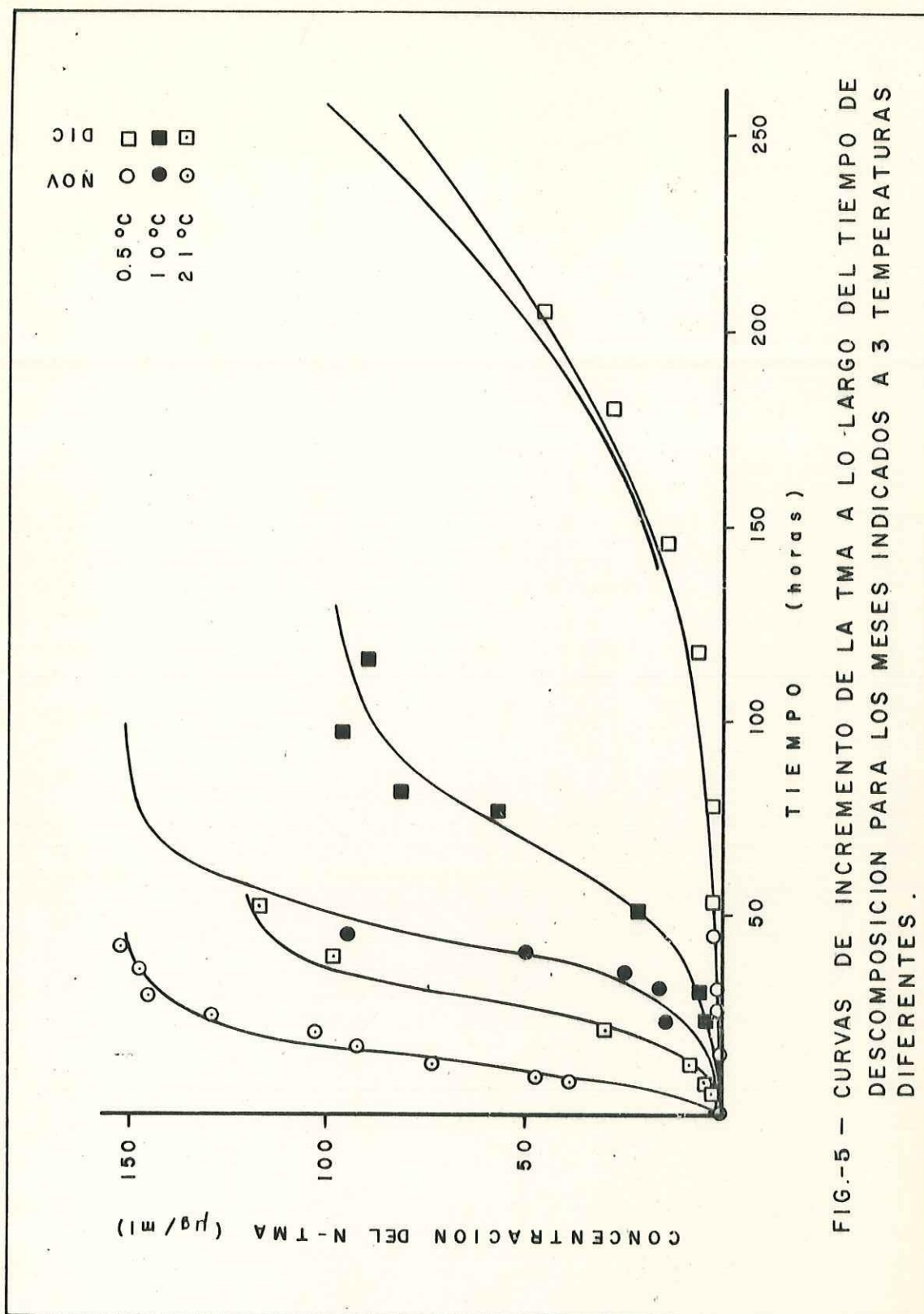
El tamaño de la anchoveta analizada en los diferentes meses no tuvo cambios muy pronunciados pero existió diferencia entre sus medidas (fig. 4). Sus longitudes tendieron a ser de medidas muy pequeñas presentando 8.17 cm como promedio en los meses de otoño (apendice IV), en tanto que la talla registrada en el muestreo de prospección del mes de mayo fue aproximadamente de 8.98 cm de longitud.

III.2 .- Influencia del tiempo y temperatura en los incrementos de TMA.

La influencia del tiempo sobre la concentración de la TMA se reflejó en los incrementos de esta amina, los cuales adoptaron una trayectoria semejante a una curva logística (característica del crecimiento de poblaciones) pudiendo ajustar por tanto, dichos valores a su ecuación. De aquí que, el aumento de la TMA en anchoveta haya seguido un curso sigmoideo a lo largo de su tiempo de descomposición (fig. 5).

Por otra parte, la influencia de las diferentes temperaturas de incubación produjo la fluctuación en la pendiente de las distintas curvas de producción de TMA (fig. 5). Estos cambios muestran que las pendientes mayores correspondieron a las temperaturas altas y las menores a las temperaturas bajas (tabla I).





T°C	OCT	NOV	DIC
0.5	0.022	0.024	0.023
10	0.15	0.12	0.07
21	0.41	0.23	0.18

Tabla I. Valores de las pendientes de las curvas de incremento de TMA en los meses y temperaturas correspondientes.

De la misma manera se puede apreciar que a lo largo de los meses analizados existió una disminución en los valores de las pendientes (fig. 6), lo que coincide con la disminución de temperatura hacia el invierno (apéndice VII) y con el decaimiento marcado de la concentración del OTMA a temperatura ambiente (fig. 10).

III.3.- TMA en anchoveta viva.

Las concentraciones de la TMA en la anchoveta norteña viva estudiada (fig. 7) fluctuaron entre 0.55 y 0.74 $\mu\text{g/ml}$, siendo siempre menores a la concentración máxima encontrada en teleosteos marinos (3 $\mu\text{g/ml}$).

Para el mes de mayo se encontró una concentración de TMA en el pez vivo de 1.4 $\mu\text{g/ml}$, la cual llegó a ser mayor al doble de la obtenida en otoño (con una $\bar{X} = 0.6 \mu\text{g/ml}$).

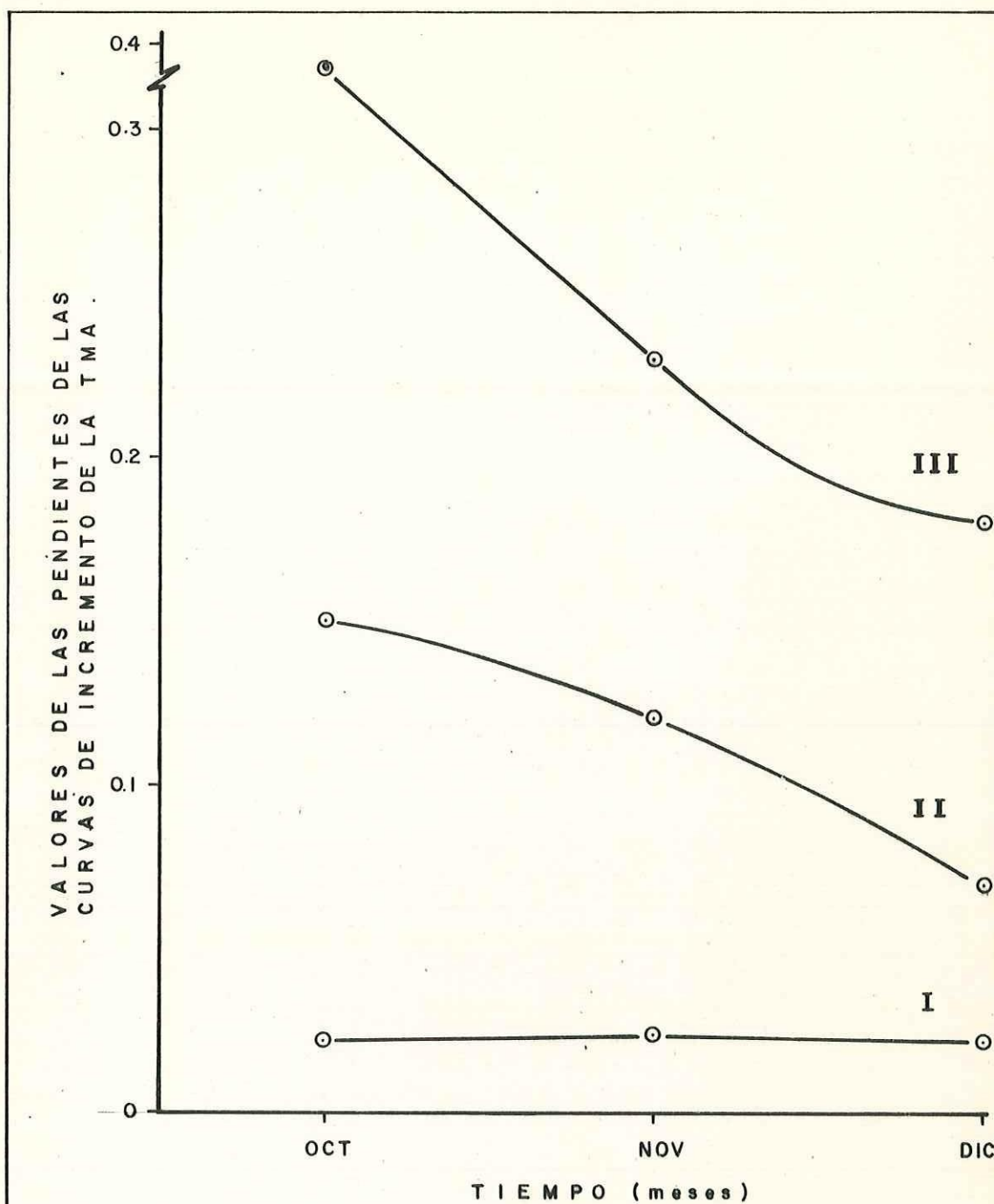


FIG.6 - CAMBIO DE LAS PENDIENTES DE LAS CURVAS DE INCREMENTO DE TMA EN EL CURSO DE LOS MESES MUESTREADOS, PARA TEMPERATURA AMBIENTE(III), 10°C(II) Y 0.5°C(I).

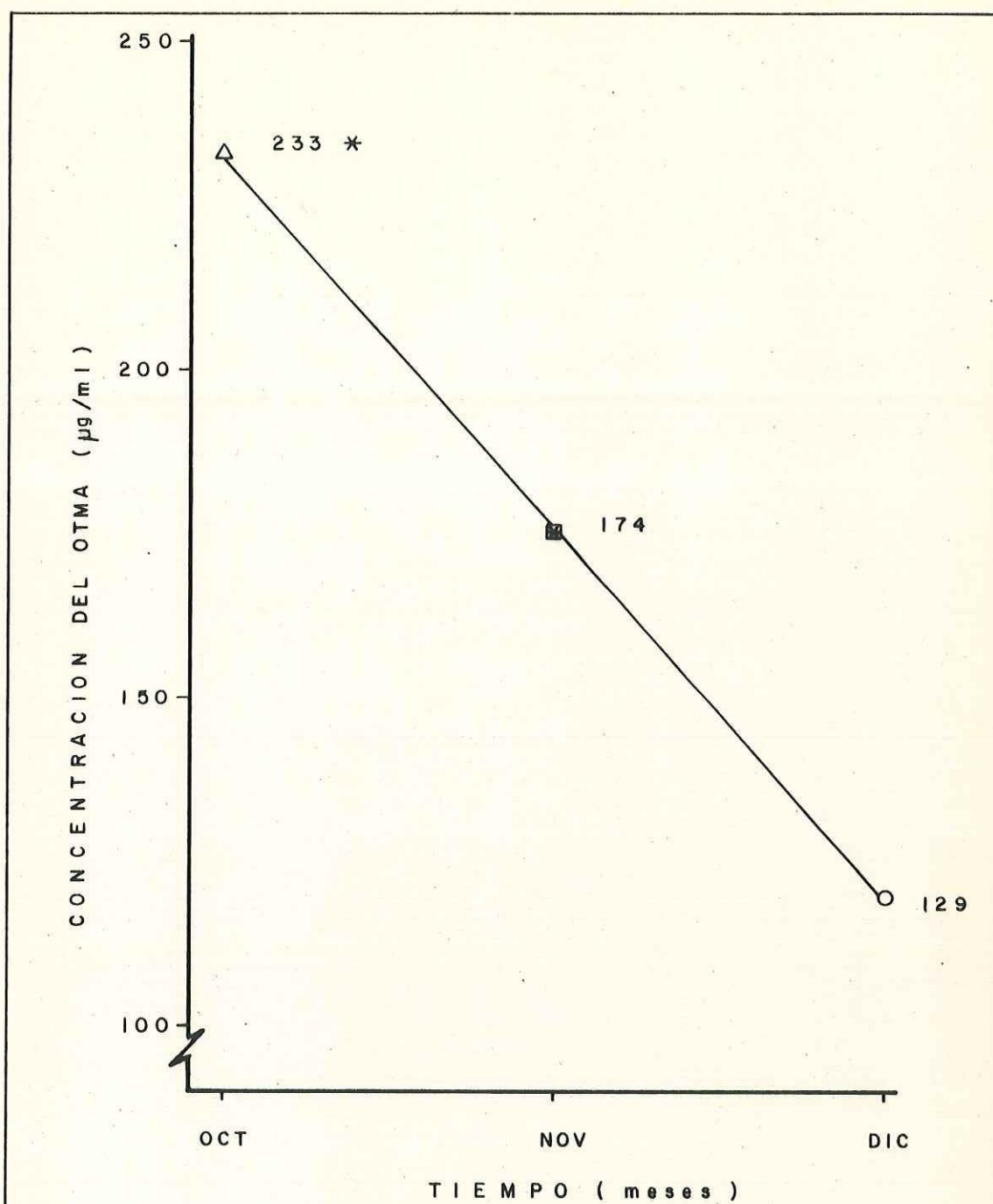


FIG.- 7 - VALORES DE CONCENTRACION DE OTMA EN ANCHOVETA, A 21°C.

* Calculado

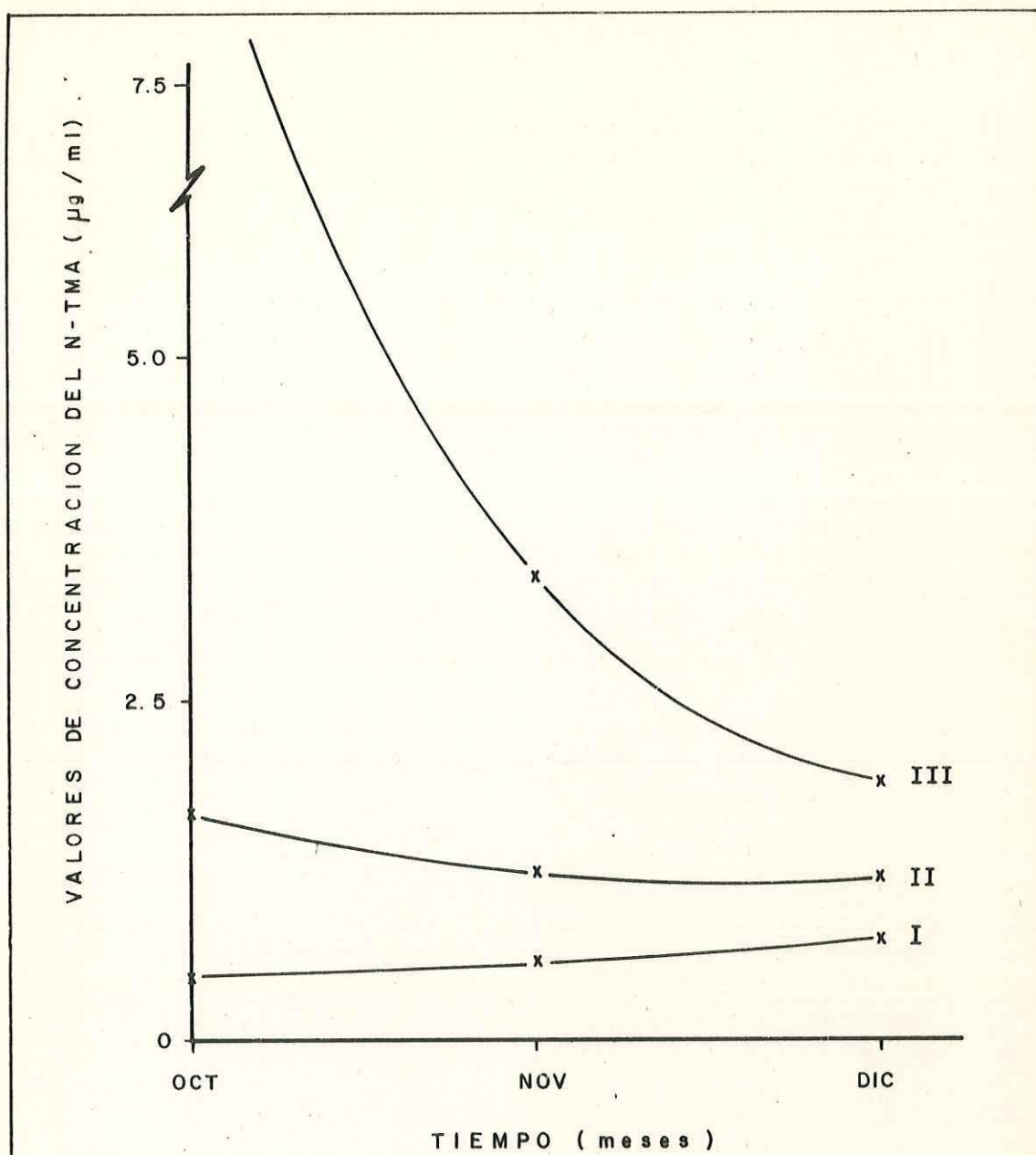


FIG:8 -VARIACIONES DE LA TMA EN ANCHOVETA VIVA (I), A SU ARRIBO AL MUELLE (II) Y EN LA PLANTA (III)

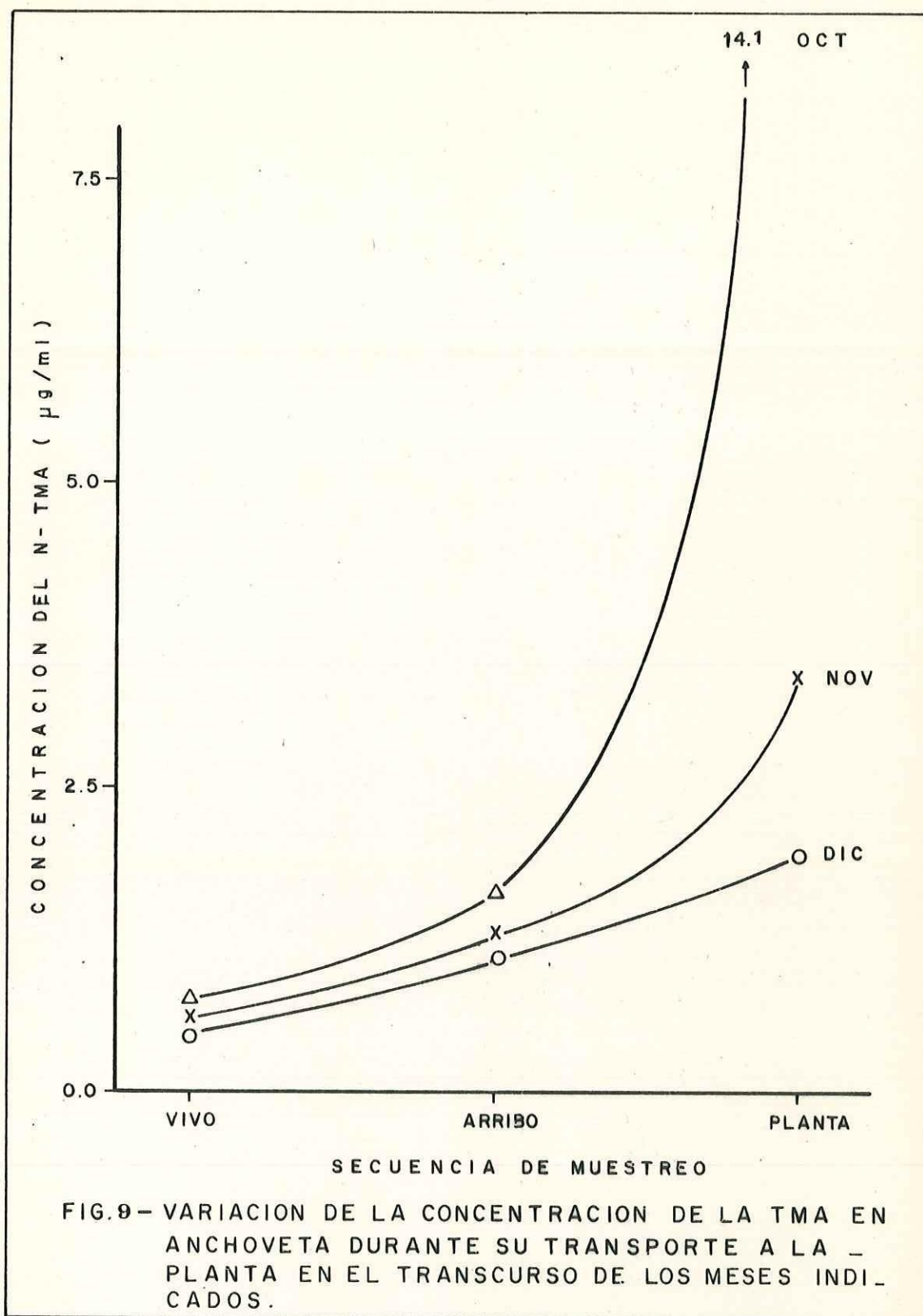
III.4.- TMA durante el transporte a la planta.

El aumento de TMA en condiciones normales de transporte y almacenamiento en anchoveta mostró incrementos constantes hasta antes de su procesado en harina (fig. 9). Las diferentes velocidades de formación fueron las que marcaron los cambios en las curvas para cada uno de los meses.

Hasta antes de su desembarco, la calidad de la anchoveta era tal que, nunca mostró concentraciones mayores a los 2 $\mu\text{g/ml}$ de TMA. El intervalo de fluctuación de este compuesto a partir de su concentración en vivo fue de 0.45 a 1.40 $\mu\text{g/ml}$. Los incrementos mayores ocurrieron en el transcurso del desembarco-transporte y descarga.

La concentración máxima de TMA hasta antes del procesado de la anchoveta en harina ocurrió en el mes de octubre, alcanzando entonces un valor de 14.3 $\mu\text{g/ml}$ (fig. 9). Estos valores decrecieron hacia los meses siguientes, decayendo hasta 1.9 $\mu\text{g/ml}$ en el mes de diciembre (fig. 8). Las pendientes de las curvas de incremento de TMA mostraron la misma tendencia descendente para las incubaciones a temperatura ambiente (fig. 6).

En el mes de mayo se apreció una velocidad de descomposición rápida (fig. 10), lo cual concuerda con la temperatura ambiente existente en esas fechas (apéndice VII). En ese mes se encontró una con-



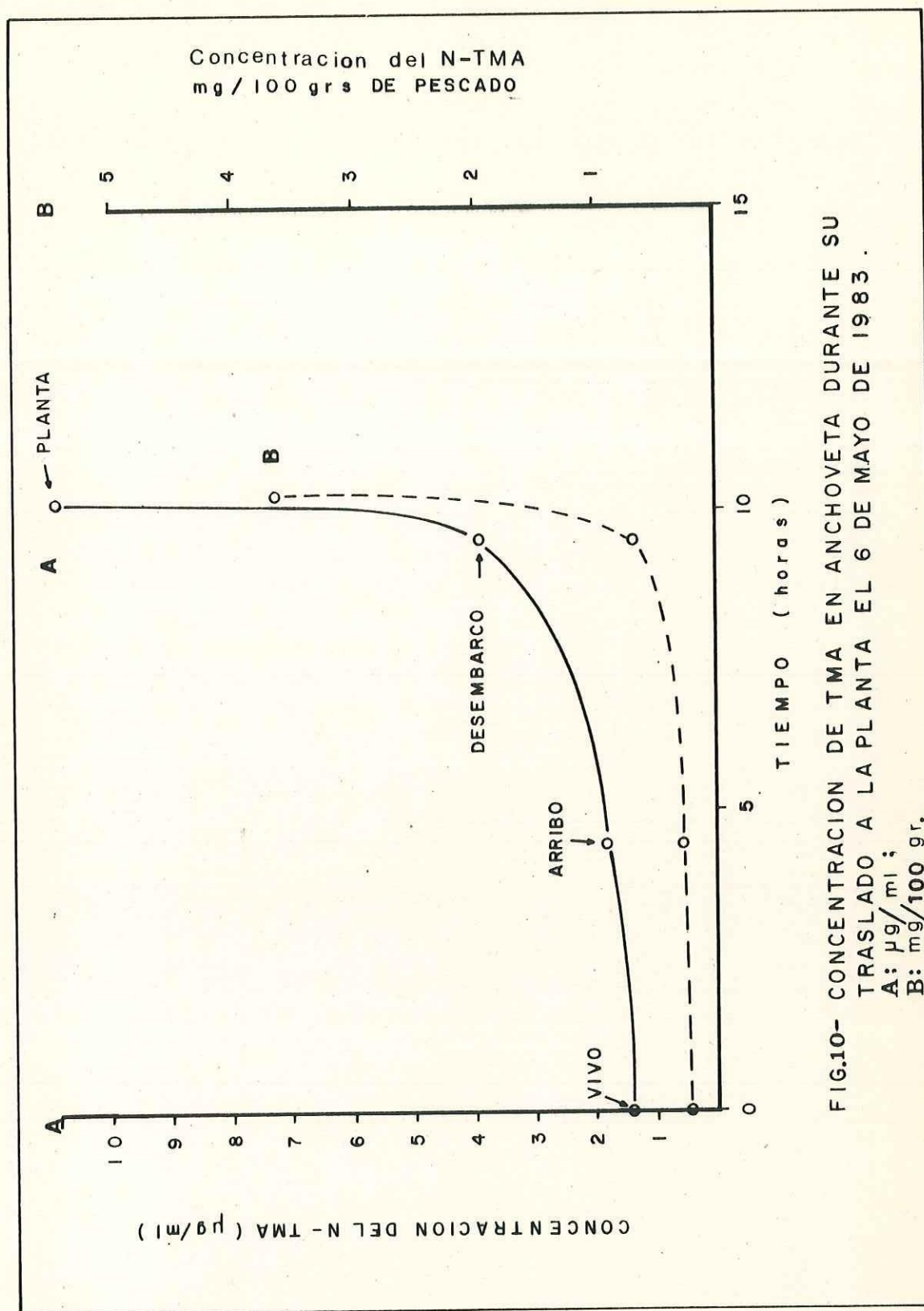


FIG.10- CONCENTRACION DE TMA EN ANCHOVETA DURANTE SU TRASLADO A LA PLANTA EL 6 DE MAYO DE 1983.

centración máxima de TMA en la planta de 11.3 $\mu\text{g/ml}$ y sus incrementos siguieron un curso semejante al adquirido en el mes de octubre (fig. 9).

III.5.- Concentraciones máximas de OTMA.

Los valores máximos de este compuesto, los cuales contribuyen a definir las trayectorias de las curvas de concentración de TMA, disminuyeron de octubre a diciembre (fig. 7). Este decaimiento corresponde aproximadamente al comportamiento de la curva de TMA del producto en la planta para los meses respectivos (fig. 8), así como a los cambios de las pendientes de las curvas de TMA en las incubaciones a temperatura ambiente en los mismos meses (fig. 6).

El valor de OTMA en el mes de octubre se calculó por extrapolación. También se encontraron concentraciones máximas diferentes en cada una de las tres temperaturas de incubación para cada muestreo (tabla II). Estos valores muestran un decaimiento al disminuir la temperatura de conservación.

Temp. °C	Oxido de TMA ($\mu\text{g/ml}$)		
	OCT	NOV	DIC
0.5	/	62	85
10	98	174	100
21	233*	174	129

Tabla II. Concentraciones máximas de OTMA a temperaturas diferentes de conservación en los meses indicados (*extrapolado).

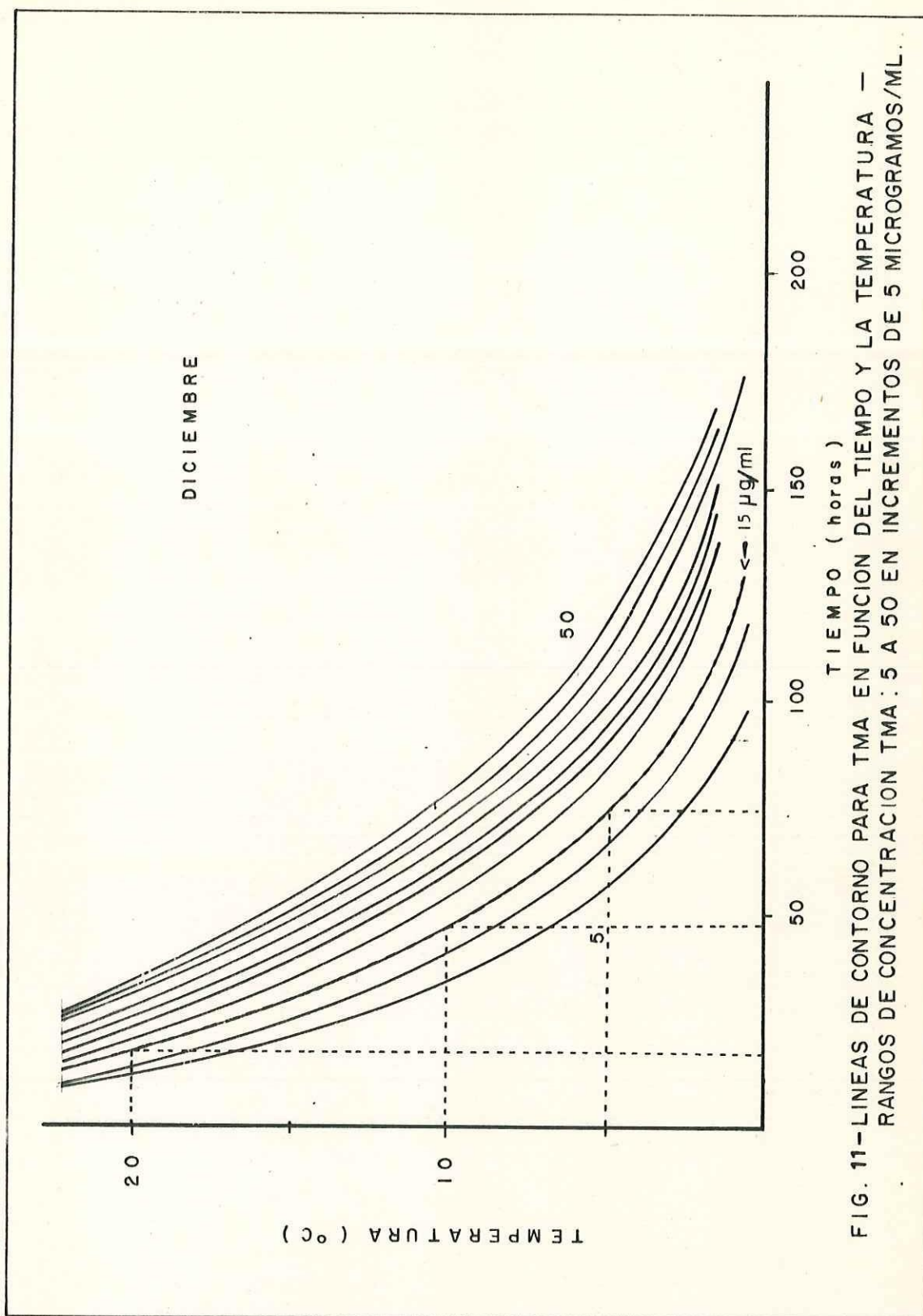
III.6.- Tiempos y temperaturas óptimos de conservación.

Con el manejo de los resultados obtenidos se generó una figura que muestra la relación de la concentración de TMA en función del tiempo y la temperatura de incubación (fig. 11 y 12A-B). Con el uso de este modelo (o líneas de contorno) se pueden ofrecer aproximaciones de la calidad del recurso, de acuerdo a la elección de las condiciones de conservación del producto a procesar; de tal manera que si se requiere una calidad correspondiente a una concentración de 15 µg/ml de TMA se puede conservar el producto a 20 °C por 20 horas, 10 °C por 48 hr, 5 °C por 73 hr, etc. (fig. 11).

Si se observan detenidamente las líneas de contorno de TMA, se puede apreciar de noviembre a diciembre un aumento de los tiempos de conservación correspondientes a las mismas líneas de concentración de TMA (fig. 12A-B). Por lo tanto, los tiempos y temperaturas óptimos quedarán enmarcados dentro de las variaciones de temperatura y concentración de OTMA que sucedan a lo largo del año, entre otros.

III.7.- Composición proximal.

Los análisis bromatológicos en general no mostraron cambios muy pronunciados a lo largo del tiempo de descomposición (figs. 13, 14, 15 y 16).



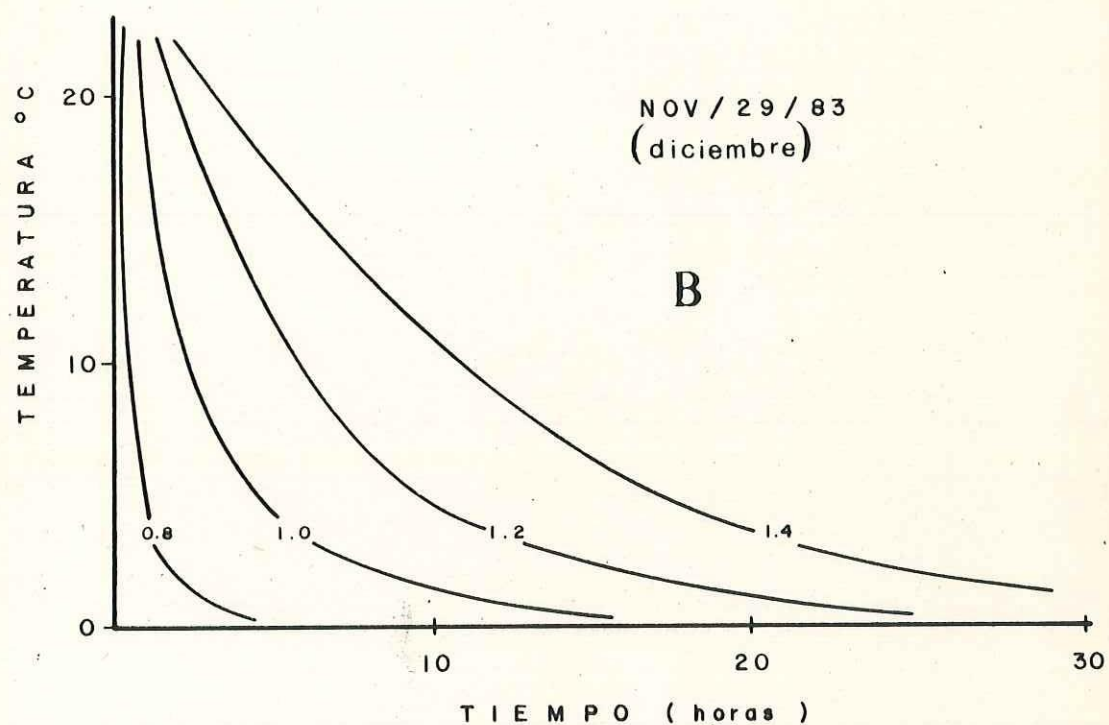
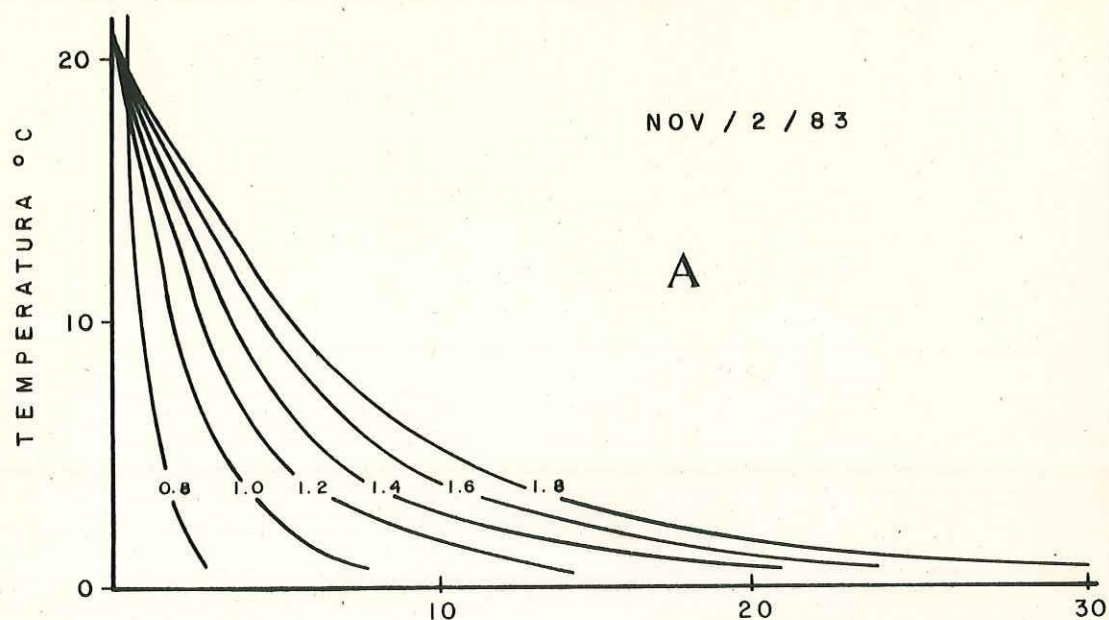


FIG.12 - COMPARACION DE LAS LINEAS DE CONTORNO DE TMA PARA LOS MESES DE NOVIEMBRE Y DICIEMBRE DE 1983 (PARA CONCENTRACIONES MENORES DE $5 \mu\text{g/ml}$ de N-TMA).

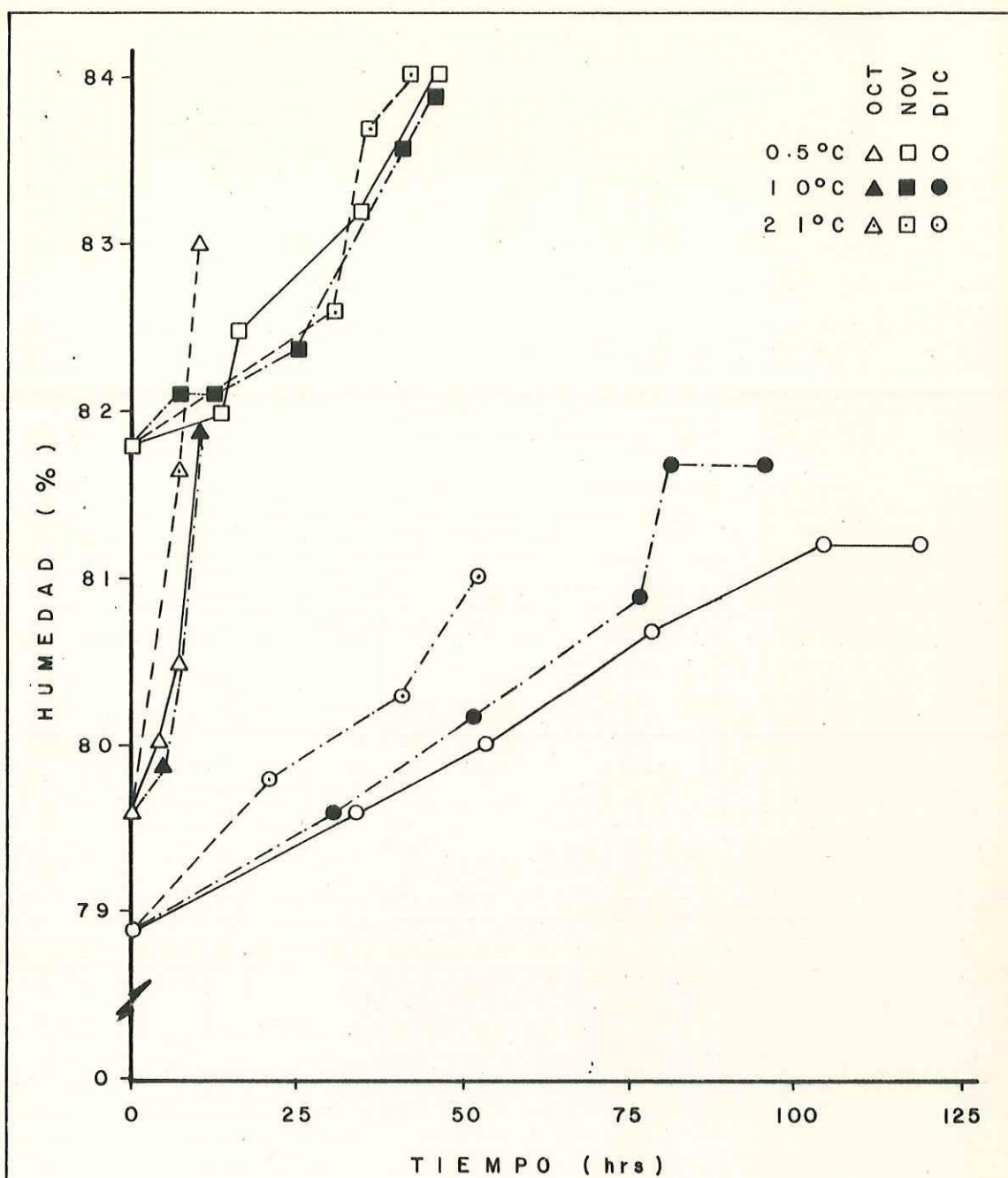


FIG. 13 VARIACION DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE ANCHOVETA EN TRES MESES Y TEMPERATURAS DE CONSERVACION DIFERENTES.

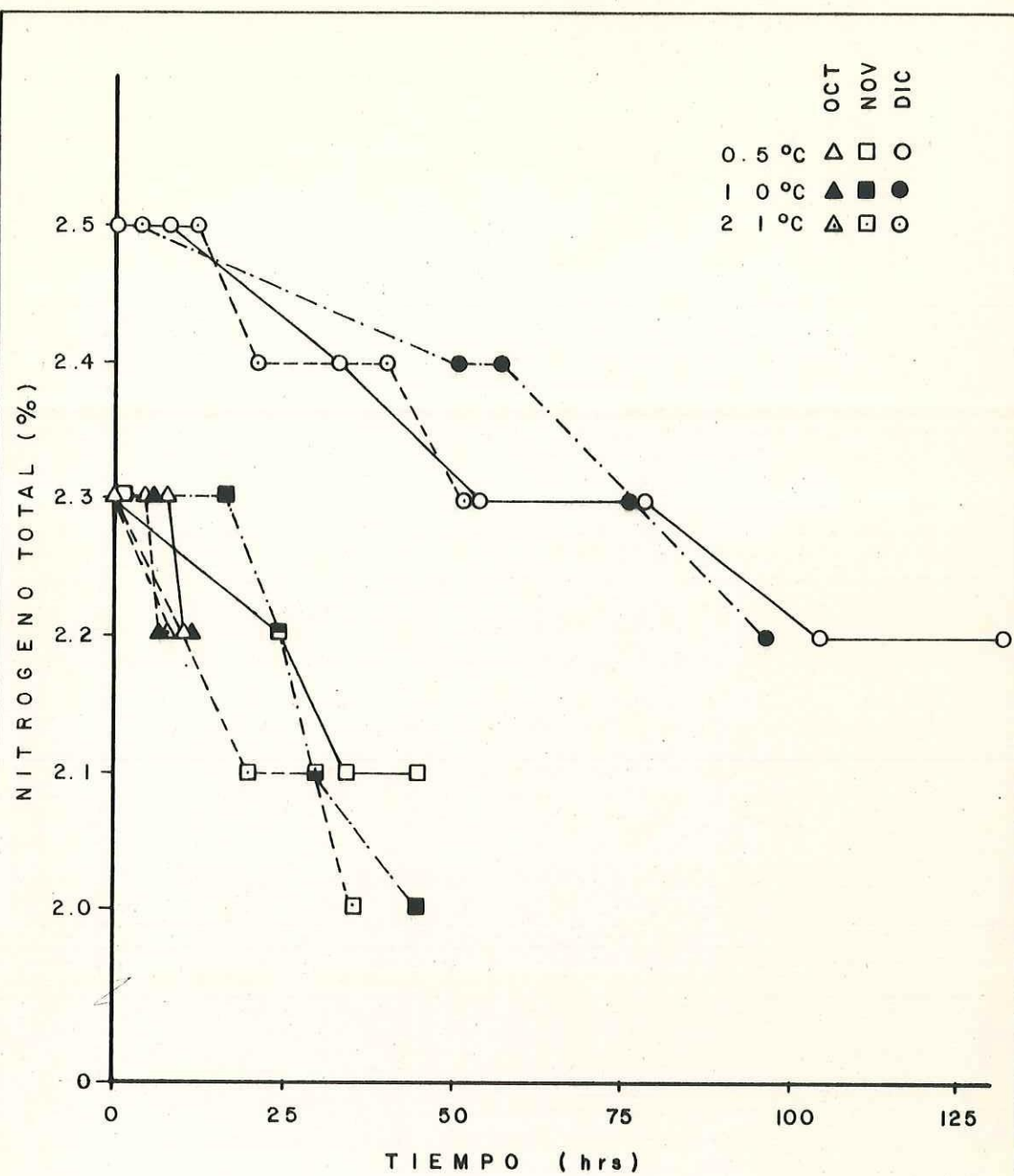


FIG. 14 - VARIACION DEL PORCENTAJE DE NITROGENO TOTAL DE ANCHOVETA EN TRES MESES Y TEMPERATURAS DE CONSERVACION DIFERENTES.

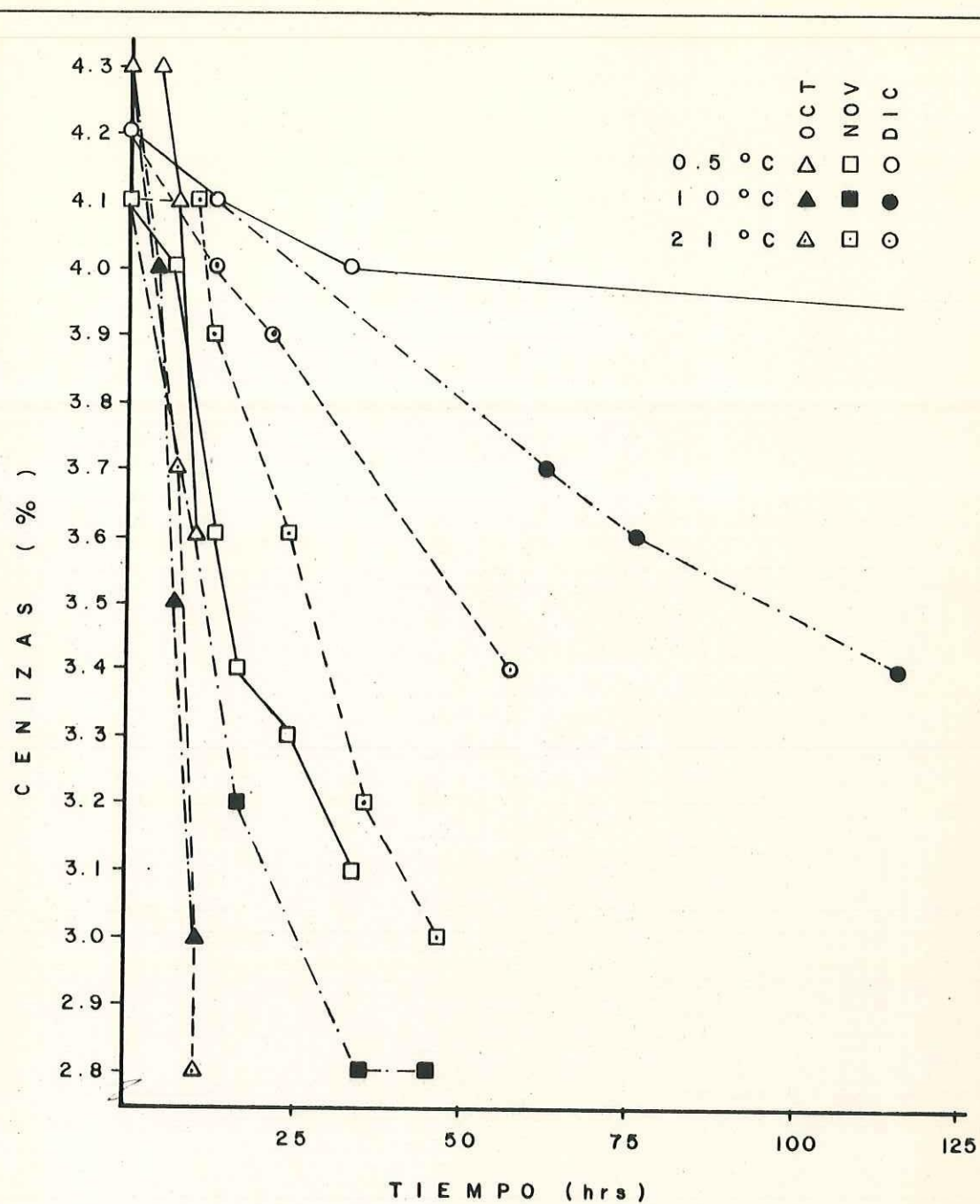
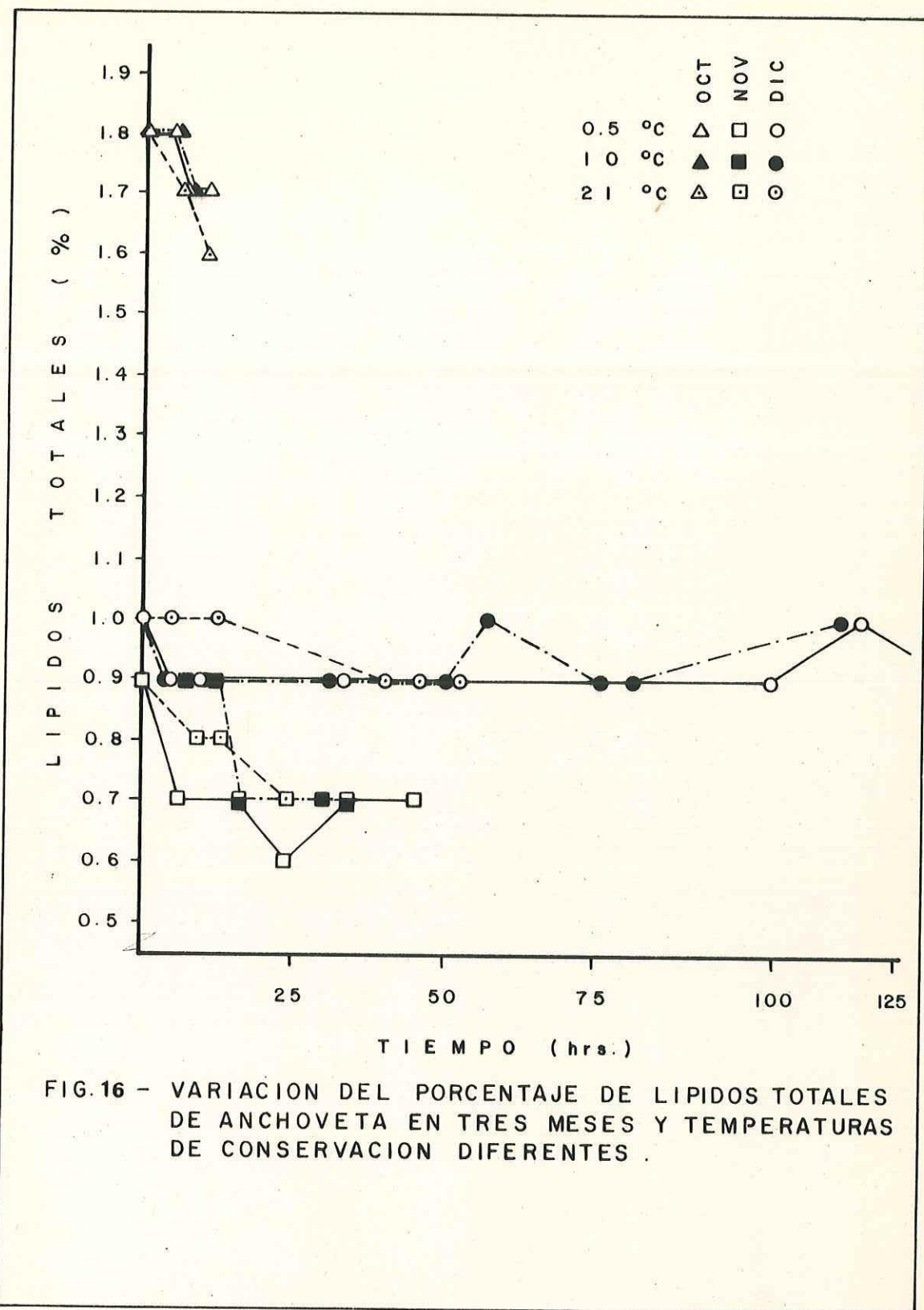


FIG.- 15 - VARIACION DEL PORCENTAJE DE CENIZAS DE ANCHOVETA EN TRES MESES Y TEMPERATURAS DE CONSERVACION DIFERENTES.



III.7.a.- humedad

Con respecto al contenido de humedad se puede apreciar el mayor porcentaje inicial (81.8%) ocurrido en el mes de noviembre, lo que concuerda con el tamaño de anchoveta mas pequeño analizado (7.53 cm). Para el mes de octubre se obtuvo el valor de porcentaje inicial intermedio (79.6%), apareciendo el porcentaje mas bajo (78.9%) en el mes de diciembre con tallas de 8.6 y 8.3 cm respectivamente.

El incremento de estos valores en el transcurso de la descomposición fue muy pequeño, el cual no llegó a sobrepasar siquiera el 3% de aumento en los tres meses.

El comportamiento de las curvas de humedad con respecto a las tres diferentes temperaturas de conservación para cada mes muestra una ligera tendencia de aumento en sus porcentajes con el incremento de la temperatura (fig. 13).

III.7.b.- nitrógeno total.

Para estos valores se presenta un máximo inicial de 2.5% correspondiente al mes de diciembre. En los otros dos meses aparecieron valores menores también iniciales de 2.3% (fig. 14).

Las curvas de porcentaje de nitrógeno exhiben un leve decaimiento en el curso de la descomposición hasta de aproximadamente 0.3%. Hasta las primeras 4 y 10 horas los porcentajes se mantuvieron aproxi-

madamente constantes, apareciendo posteriormente el descenso, el cual se presentó cada vez menos pronunciado conforme disminuía la temperatura ambiente y de incubación.

III.7.c.- cenizas.

Los porcentajes de cenizas iniciales (4.1-4.3%) entre los meses se presentaron muy cercanos unos a otros. El comportamiento de éstos valores en la descomposición de la anchoveta mostró un decaimiento pronunciado, el cual alcanzó a sobrepasar pérdidas del 1% antes de las primeras 10 horas de incubación en el mes de octubre. Este descenso se vió influenciado por las diferentes características fisiológicas del pescado en cada mes, como resultado del cambio de la temperatura ambiente en el medio marino al acercarse el invierno; Esto ocasionó una disminución en sus inclinaciones. En el mes de diciembre se puede apreciar una tendencia de aumento en la inclinación de las curvas con el incremento de la temperatura de incubación (fig. 15).

III.7.d.- lípidos totales.

El contenido de grasas en la muestra presentó un porcentaje máximo muy marcado en el mes de octubre (1.8%). Este valor coincidió con la talla mayor de anchoveta obtenida. En los otros meses los porcentajes iniciales fueron de 0.9 y 1.0% (fig. 16) correspondiendo a noviembre y diciembre respectivamente, los cuales estuvieron también relacionados con los tamaños de anchoveta muestreada.

En octubre y noviembre se puede apreciar un ligero decaimiento de estos valores durante la descomposición, llegando a alcanzar pérdidas del 0.3% en 25 horas. En el mes de diciembre, sin embargo, ocurrió una constancia en los porcentajes variando entre 0.9 y 1.0% hasta las 200 horas de incubación. Con estos resultados no se puede apreciar influencia alguna de las diferentes temperaturas de conservación en la variación de porcentajes para cada mes.

IV DISCUSION.

El la realización del presente trabajo surgió inicialmente un inconveniente que se manifestó al momento de establecer el tiempo cero de las incubaciones. El tiempo inicial ofrecía dos opciones, una de las cuales era tomar al "tiempo real" que empezaría cuando el pez era obtenido de su medio natural y la segunda, el tiempo en el que las muestras fueran colocadas en los recipientes de incubación, llamándole por lo tanto "tiempo hipotético". La única desventaja de la primera opción era instalar los incubadores a bordo de los barcos pesqueros y transportarlos posteriormente al laboratorio, lo que representaba grandes dificultades.

Como consecuencia se optó por tomar al tiempo hipotético como el instante de partida de las incubaciones el cual, a pesar de que mostraba una diferencia aproximada de cinco horas con el tiempo real, eliminaba el problema de transporte de las incubaciones en el barco y no implicaba gran desigualdad con el tiempo cero real en cuanto a la producción de TMA en el producto conservado en hielo durante las primeras horas después del momento de pesca (fig. 5).

Una fuente de error en los resultados fue posiblemente el hecho de que se hayan registrado cambios en la temperatura de incubación, los cuales oscilaron hasta en 2°C , particularmente en las de 10°C y a temperatura ambiente (21°C). Estos cambios fueron debidos al espesor

insuficiente de los recipientes de incubación, estando de esta manera poco protegidos de la influencia de la temperatura externa.

Durante el análisis proximal se obtuvieron algunos resultados disparados los cuales se adjudicaron primeramente a un deficiente homogenizado practicado inmediatamente antes de pesar las muestras para su análisis. En consecuencia, durante los análisis del tercer muestreo se intensificó dicho homogenizado con el uso de una licuadora. Los resultados entonces obtenidos estuvieron aproximadamente a la misma razón que aquellos de los muestreos anteriores. De ello se dedujo finalmente que las anomalías eran debidas a la naturaleza del tratamiento del pescado no deshuesado.

Con respecto al análisis de las aminas solo cabe agregar un inconveniente muy importante sucedido en el procedimiento de reducción del OTMA. El método aplicado fue eficiente para elaborar la curva de calibración, donde se usaron concentraciones hasta de 10 $\mu\text{g/ml}$. Sin embargo, al tratar de reducir concentraciones mayores a ésta en los extractos de anchoveta, el método usado no funcionó de la misma manera. Lo anterior hizo suponer que a esas concentraciones la reducción se realizó solo parcialmente (Dyer et al., 1952).

Los adultos de anchoveta norteña de la subpoblación central en la zona de B. C. llegan a presentar tallas hasta de 14 cm (Villamar y Mondragón, 1978). El promedio de longitudes encontradas en otoño de

1983 en esta población fue de 8.17 cm, lo cual indica que se trabajó con organismos en estadio juvenil.

En términos generales, el aumento de la principal población bacteriana responsable de la reducción del OTMA sigue aproximadamente el mismo comportamiento de la curva de incrementos de la TMA que se produce a lo largo de la descomposición de los pescados (Watson, 1938; Castell et al., 1948). Si el crecimiento de poblaciones (bacterianas) se representa típicamente con la trayectoria que sigue la curva logística (DeSapio, 1978), entonces, el comportamiento semejante en la producción de TMA se puede representar con la misma curva (fig. 5). Por este motivo, el ajuste de los datos de TMA a la curva logística por medio de su ecuación representa, de una forma razonable, el curso de producción de éste compuesto en la descomposición del pescado.

El significado principal que tiene la representación de la reducción por medio de la aplicación de la ecuación de la curva logística es aquel que, con el uso de la pendiente de cada curva (tabla I) se pueden intentar deducir las condiciones a las cuales estaba sujeto el pescado a lo largo de su descomposición. De aquí que las pendientes mayores indiquen una disminución, a una velocidad mayor, de la calidad del recurso, siendo las menores las que reflejen mejores condiciones de conservación.

El comportamiento de las pendientes asociadas con las tempera-

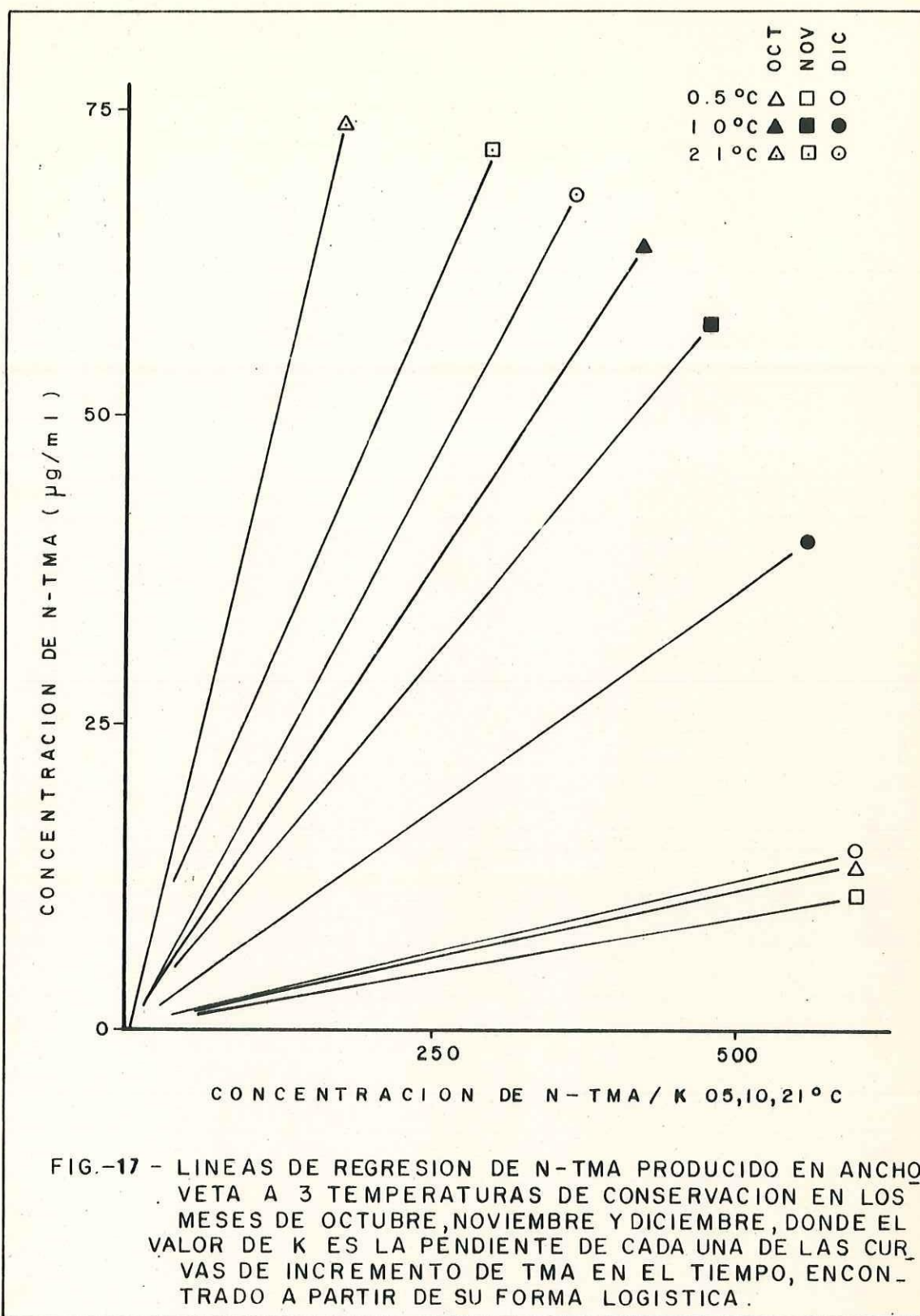
turas de incubación en los meses analizados (fig. 17) indica una disminución en la velocidad de formación de TMA en anchoveta al disminuir la temperatura y acercarse el invierno. La misma tendencia se observó en las curvas de producción de TMA en el producto que era transportado a la planta en esos meses (fig. 8). En ésta última figura se puede apreciar también que la temperatura decreciente del medio hacia los meses de invierno fue la causa principal del decaimiento de las velocidades de formación de TMA.

Los aumentos mas rápidos de TMA en el producto, bajo condiciones normales, se deben principalmente al cambio brusco en la temperatura y al despedazamiento de los pescados durante el desembarco y transporte a la planta, lo que ocasiona un incremento bastante acelerado de las poblaciones bacterianas que la producen (Nishikawa, 1980).

Comparada la concentración de OTMA en anchoveta con la de otros teleosteos marinos (tabla III) se puede apreciar que ésta se encuentra dentro del intervalo descrito por Groninger (1959).

refer.	teleosteos marinos	CONCENTRACION DE OTMA ($\mu\text{g/ml}$)		
		intervalo	promedio	desv. std.
Groninger, 1959	72 especies	0-429	164.7	78.3
este estudio	anchoveta nortea	120-233	176.0	-----

Tabla III. Concentraciones del OTMA en anchoveta nortea y otros teleosteos marinos.



El comportamiento descendente del OTMA en anchoveta durante el transcurso de otoño (fig. 7) coincide en parte con los resultados de calidad en bacalao reportados por Castell y Giles (1961) a lo largo de tres años, en donde se muestran cuatro máximos de OTMA en el pescado desembarcado por año. Ellos relacionan directamente la calidad del pescado desembarcado con su concentración de OTMA, mencionando entre sus conclusiones que la mejor calidad se conseguía durante finales de invierno y primavera, lo cual se asemeja a los resultados de este trabajo.

A lo largo de los ciclos reproductivos en una misma especie y de acuerdo a su talla, las concentraciones de OTMA son diferentes (Opilvie y Warren, 1957; Endo et al., 1974) y podrían contribuir a relacionar los valores de este compuesto con su velocidad de reducción.

Los cuatro picos de OTMA reportados por Castell y Giles (1961), concuerdan además con los periodos trimestrales de reproducción de anchoveta norteña mencionados por Castro (1983). Esto último motiva a relacionar la velocidad de formación de TMA con los estadios reproductivos de este recurso.

El comportamiento de la concentración de TMA en anchoveta durante los meses de muestreo en la planta (fig. 8) corresponde a las concentraciones iniciales respectivas del OTMA por reducirse (fig. 7).

Los resultados de composición proximal en anchoveta nortea fresca se encontraron cercanos a los valores de algunos engraulidos (E. ringens, E. japonicus, E. australicus; Arakaki y Suyama, 1966; Kizevetter, 1973; Sato et al., 1978). Sin embargo, estos valores se vieron claramente influenciados por la pequeña talla de los organismos analizados, lo que ocasionó algunas variantes.

Se obtuvo un alto porcentaje de humedad en las muestras frescas (78.9-81.8%) durante los meses estudiados debido al tamaño juvenil de los pescados. Estos valores se ubicaron por arriba del intervalo 71.2-78.7% correspondiente a la anchoveta del Golfo de California (Kizevetter, 1973). Por otra parte, al comparar los resultados de cenizas (4.1-4.3%) con el intervalo reportado por Kizevetter (1973), se observa que existió casi el doble del máximo de este intervalo que se encuentra entre 1.5 y 2.3%.

Los pequeños porcentajes de nitrógeno (2.3-2.5%) y de grasas (0.9-1.8%) encontrados en el producto fresco correspondieron también a los esperados en organismos de escaso desarrollo. Los porcentajes de nitrógeno se encontraron menores a los reportados en la misma especie (Kizevetter, 1973). Sin embargo, si se comparan estos resultados con los ocurridos en otros engraulidos, los valores de nitrógeno (2.3-2.5%) coinciden con los límites menores del intervalo total (2.1-3.4%). Con respecto al contenido de grasas, su porcentaje también se encontró cerca del mínimo, pero dentro del intervalo (0.7-9.2%) reportado por el

mismo autor en anchoveta del Golfo de California.

Los cambios en la composición proximal en anchoveta a lo largo de su descomposición fueron poco pronunciados. Esto fue debido en parte a los porcentajes particulares del producto en fresco y a las características fisiológicas propias del estadio de los organismos.

La influencia de la temperatura de conservación en los cambios del porcentaje proximal se reflejó claramente en los resultados del tercer muestreo. En éste mes se muestran diferencias bien definidas, particularmente en los valores de nitrógeno, cenizas y humedad, donde se alcanzaron pérdidas de 0.10% en 25 horas, 0.20% en 25 hr y un aumento del 0.52% en 25 hr de conservación respectivamente entre 0.5°C y la temperatura ambiente. Los porcentajes de lípidos no se vieron influenciados aparentemente por la temperatura de conservación. Estos cambios durante las incubaciones no se mostraron bien diferenciados durante los primeros dos meses de estudio (octubre y noviembre), debido al corto tiempo de conservación y menor número de muestras analizadas.

Las variaciones sucedidas en la composición proximal durante la descomposición de anchoveta pueden llegar a parecer de poca importancia; sin embargo, al hablar de docenas de toneladas del producto a procesar, estos pequeños cambios cobran un peso bastante significativo (apéndice VIII), convirtiéndose entonces en valores que pueden llegar a decidir en determinado momento un rendimiento óptimo.

Como un esfuerzo para representar de manera clara los tiempos y temperaturas óptimos de conservación, se generó un pequeño modelo gráfico. Este prototipo consiste en describir los cambios de concentración de la TMA en series de curvas con valores constantes plasmados en gráficas de temperatura contra tiempo de conservación (fig. 11). Esta forma de representación para tres diferentes series de variables se conoce típicamente con el nombre de "líneas de contorno" (DeSapio, 1978). Para la elaboración de estas líneas se aplicó un pequeño programa de computación (Gerald, 1970) que se fundamenta en el uso de interpolaciones Lagrangianas (apendice III), donde $(TMA) = (1/tiempo)$.

Al interpretar este modelo se hace notar primeramente la existencia de cambios en las líneas de una misma concentración que ocurren de un mes al siguiente (fig. 12 A y B). Debido a ello se puede apreciar la importancia de estudiar estas concentraciones a lo largo del año. Lo anterior proporcionaría mayor información para aconsejar a las industrias pesqueras el control adecuado en la refrigeración de anchoveta de acuerdo a la época del año en que se capture.

Si se toma como referencia la concentración de TMA que representa de manera general el límite máximo de calidad aceptable en el pescado ($15.9 \mu\text{g/ml}$) reportado por Bullard y Collins (1980) y se compara con los valores máximos de TMA en el producto en los meses de octubre y mayo ($\text{oct}=14.3$; $\text{mayo}=10.9 \mu\text{g/ml}$) en su arribo a la planta, se podrá apreciar que en esos meses existió una velocidad de descomposición rápida, lo que permite deducir que la anchoveta fue procesada

en un estado de calidad crítico.

De lo anterior se puede manifestar que la elaboración y aplicación de patrones del tipo expuesto en este trabajo (lineas de contorno) ofrecen una respuesta a la necesidad de lograr una mejor calidad en la anchoveta que será procesada en harina, refrigerando a una temperatura adecuada el producto de acuerdo a la época del año y al tiempo de transporte y almacenamiento calculado.

Un hecho muy destacado que repercutió en los resultados obtenidos fue la ocurrencia del fenómeno de "El Niño" entre los años 1982-1984. Su efecto en las pesquerías de anchoveta se reflejó con una escasez casi extrema del recurso debido al aumento de la temperatura en las aguas de captura, aunado a una posible sobre-explotación de la especie. Consecuencia de ello fue que a finales de 1983 se capturaran organismos de longitudes muy pequeñas, al grado de que en el muestreo del mes de noviembre existió la necesidad de voltear las redes y liberar el producto capturado debido a su incosteable proceso.

Sin embargo, los resultados aquí obtenidos, además de abrir camino al estudio de la prevención de la contaminación por malos olores, dan lugar a que su aplicación inmediata en la industria produzca un mayor avance en la producción.

V. CONCLUSIONES.

1) Al disminuir la temperatura de conservación y al acercarse el invierno disminuye la velocidad de formación de TMA, aumentando con ello la calidad de la anchoveta.

2) Los aumentos mas rápidos de TMA en este recurso se produjeron durante el trayecto del muelle a la planta, donde se registraron aumentos hasta de 14.1 $\mu\text{g/ml}$ en octubre y 10.9 $\mu\text{g/ml}$ en mayo.

3) La concentración máxima de OTMA se obtuvo en el mes de octubre con un valor de 233 $\mu\text{g/ml}$, disminuyendo hasta 129 $\mu\text{g/ml}$ en diciembre.

4) El comportamiento de la velocidad de producción de TMA correspondió a las concentraciones iniciales respectivas de OTMA por reducirse.

5) Los resultados bromatológicos logrados para las tallas chicas analizadas correspondieron a valores bajos de nitrógeno y grasas y altos en cenizas y humedad. Los cambios en sus porcentajes durante el periodo de descomposición fueron relativamente pequeños.

6) Como resultado de la rápida formación de TMA en el producto sin conservar se propuso un "modelo tipo" de control aproximado de calidad a temperaturas y tiempos deseados, pudiendo ser éste aplicado solo en el mes del cual hayan provenido las anchovetas con que fue estructurado.

VI. RECOMENDACIONES.

- 1) Se deben hacer análisis de TMA en tallas diferentes y a lo largo del año, así como sus respectivas determinaciones de OTMA para futuros estudios de descomposición de la anchoveta en fresco.
- 2) Una mejor aplicación del método de determinación del OTMA se podrá lograr optimizando el procedimiento de reducción, extendiendo su tiempo con estándares de concentraciones tan altas como las esperadas.
- 3) En nuevas determinaciones de TMA se deben intentar aplicar otros métodos como los automatizados o cromatográficos para evitar el contacto casi directo con tolueno (carcinógeno), agilizar los análisis y aumentar la precisión de los resultados.
- 4) Otros medios de control deben ser analizados para evitar la formación de TMA en la anchoveta y con ello prevenir la contaminación por olores ofensivos. Estos podrían ser : La inhibición enzimática de la reducción del OTMA, o el impedir de alguna manera que reaccione la TMA producida con las grasas .
- 5) Mientras tanto, se deben aplicar sistemas de refrigeración durante el transporte y almacenamiento del producto, considerando mo-

delos del tipo expuesto en el presente trabajo con el fin de aprovechar al máximo los gastos de inversión.

VII. LITERATURA CONSULTADA.

- ARAKAKY, J. y SUYAMA, M. 1966. Amino acid composition of the protein of anchovy. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 32(1):70-73.
- BAKER, J. y CHAYKIN, S. 1960. The biosynthesis of trimethylamine N-oxide. Biochem. Biophys. Acta. 41:548-550.
- BAKER, J.R. y CHAYKIN, S. 1962. The biosynthesis of trimethylamine N-oxide. J. Biol. Chem. 237(4): 1309-1313.
- BALDWIN, E. 1951. Comparative aspects of biochemistry in fish. In "The Biochemistry of Fish", Biochemical Society Symposia No.6, pp. 3-7, University Press, Cambridge, England.
- BEATTY, S.A. 1938. Studies of fish spoilage II. The origin of trimethylamine produced during the spoilage of cod muscle press juice. J. Fish. Res. Bd. Can. 4:63-68.
- BOULTON, C.A. y LARGE, P.J. 1977. Synthesis of certain assimilatory and dissimilatory enzymes during bacterial adaptation to growth on trimethylamine. J. Gen. Microbiol. 101:151-156.
- BOULTON, C.A., CRABBE, M.J.C. y LARGE, P.J. 1974. Microbial oxidation of amines: partial purification of a trimethylamine mono-oxygenase from Pseudomonas aminovorans and its role in growth on trimethylamine. Biochem. j. 140:253-263.
- BULLARD, F.A. y COLLINS, J. 1980. An Improved method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine. Fish. Bull. 78(2):465-473.
- CASTELL, C.H. y ANDERSON, G.W. 1948. Bacteria associated with spoilage of cod fillets. J. Fish. Res. Bd. Can. 7(6):370-377.
- CASTELL, C.H. y GILES, J.G. 1961. Spoilage of fish in the Vassels at sea 7. Further studies on seasonal variations in the landed quality of gutted, Trawler-caught Atlantic cod and haddock. J. Fish. Res. Bd. Can. 18(3):295-302.

CASTELL, C.H. y GREENOUGH, M.F. 1957. The action of Pseudomonas on fish muscle I. Organisms Responsible for odours produced during incipient spoilage of chilled fish muscle. J. Fish. Res. Bd. Can. 14(4): 617-625.

CASTELL, C.H. y SNOW, J.M. 1951. Reduction of trimethylamine oxide by bacterial enzymes. J. Fish. Res. Bd. Can. 8(4):195-206.

*

CASTRO-CASTRO, L. 1983. Estimación de la Biomasa Reproductora de la Subpoblación central de Anchoveta en Aguas Mexicanas, para el año 1981. Tesis de licenciatura. Escuela Superior de Ciencias Marinas, U.A.B.C., Ensenada B.C. 59 pp.

CHANG, G.W., CHANG, W.L. y LEW, K.B.K. 1976. TMA-specific electrode for fish quality control. J. Food Sci. 41:723-724.

CONWAY, E.J. y BRYNE, A. 1933. LXI. An absorption apparatus for the micro determination of certain volatile substances. I. The micro determination of ammonia. Biochem. J. 27:419-429.

DAVIES, W.L. y GILL, E. 1936. Investigations on fishy flavor. J. Soc. Chem. Ind. 55:141T-146T.

De Sapio, R. 1978. Calculus for the Life Sciences. edit. por W.H. Freeman and Co. 740 pp.

DYER, W.J. 1945. Amines in fish muscle I. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt. J. Fish. Res. Bd. Can. 6: 351-358.

DYER, W.J. 1952. Amines in fish muscle VI. Trimethylamine oxide content of fish and marine invertebrates. J. Fish. Res. Bd. Can. 8(5): 314-324.

DYER, W.J. y MOUNSEY, Y.A. 1945. Amines in fish muscle II. Development of trimethylamine and other amines. J. Fish. Res. Bd. Can. 6(5): 359-367.

DYER, W.J., DYER, E. y SNOW, J.M. 1952. Amines in fish muscle V. Trimethylamine oxide estimation. J. Fish. Res. Bd. Can. 8(5):309-313.

- ENDO, E., KISHIMOTO, Y., YAMAMOTO, Y. y SHIMIZU, Y. 1974. Seasonal variations in chemical constituents of yellowtail muscle - II Nitrogenous extractives. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 40(1):67-72.
- FORSTER, R.P. y GOLDSTEIN, L. 1976. Intracellular osmoregulatory role of amino acids and urea in marine elasmobranchs. Am. J. Physiol. 230(4):925-931.
- GERALD, C.F. 1970. Applied Numerical Analysis. Addison-Wesley Publ. Co. CA. p. 50.
- GRONINGER, H.S. 1959. The occurrence and significance of trimethylamine oxide in marine animals. U.S. Fish. and Wildl. Serv. Spect. Sci. Rep. Fish. 333.
- HASHIMOTO, Y. y OKAICHI, T. 1957. A modification of the Dyer method. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 23(5):269-272.
- HASHIMOTO, Y. y OKAICHI, T. 1958. Trimethylamine oxide in fish muscle I. The origin of TMAO in goldfish muscle. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 24(8): 640-644.
- HEGEMANN, M. 1964. Endogenous formation of trimethylamine oxide in perch and pike. Naturwissenschaften. 51(14): 343-344. Chem. Abstr. 61,13668D.
- ISHIMOTO, M. y SHIMOKAWA, O. 1978. Reduction of trimethylamine N-Oxide by Escherichia coli as anaerobic respiration. Z. Allg. Mikrobiol. 18(3):173-181.
- KATO, N. y UCHIYAMA, H. 1973. An automation analysis of trimethylamine in fish muscle. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 39(8):899-903.
- KIETZMANN, V., PRIEBE, K., RAKOW, D. y REICHTEIN, K. 1974. Inspección Veterinaria de Pescados. Trad. de Co B. de Quiroz y Fernandez. Ed. Acribia. Zaragoza. 326 pp.
- KIZEVETTER, I.V. 1973. Chemistry and Technology of Pacific Fish. I.P. S.T. edit. 304 pp.

- KONOSU, S., WATANABE, K. y SHIMIZU, T. 1974. Distribution of nitrogenous constituents in the muscle extracts of eight species of fish. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 40(9):909-915.
- LANGE, R. y FUGELLI, K. 1965. The osmotic adjustment in the euryhaline teleosts, the flounder, Pleuronectes flesus L. and the three-spined stickleback, Gasterosteus aculeatus L. Comp. Biochem. Physiol. 15(3):283-292.
- LAYCOCK, R.A. y REGIER, L.W. 1970. Pseudomonads and Achromobacters in the spoilage of irradiated haddock of different pre-irradiation quality. Appl. Microbiol. 20(3):333-341.
- LAYCOCK, R.A. y REGIER, L.W. 1971. Trimethylamine- producing bacteria on haddock (Melanogrammus aeglefinus) fillets during refrigerated storage. J. Fish. Res. Bd. Can. 28(3): 305-309.
- LEONARDOS, G., D.KENDALL y A.BARNARD 1969. Ventilation systems and chemical treatment of odour. J. Air Poll. Control Ass. 19(2), 91.
- MARTIN, R.E., FLICK, G.J., HEBARD, CH.E. y WARD, D.R. 1982. Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. AVI Publ. Co. Westport, Connecticut. 475 pp.
- NISHIKAWA, K.A. 1980. Contaminación Atmosférica por Olores Ofensivos Producidos por la Industria Pesquera de Ensenada B.C. Informe para el grupo industrial pesquero de Ensenada. 36 pp.
- NONAKA, J., MITANI, H. y KOIZUMI, C. 1967. Determination of volatile amines in fish muscle by gas-liquid chromatography I. Trimethylamine. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 33(8):753-757.
- NORRIS, E.R. y BENOIT, G.J., Jr. 1945. Studies on trimethylamine oxide I. Occurrence of trimethylamine oxide in marine organisms. J. Biol. Chem. 158:433-438.
- OGILVIE, J.M.G. y WARREN, A.A. 1957. The occurrence of trimethylamine oxide in Fundulus heteroclitus. Can. J. Zool. 35:735-745.

- RONOLD, O.A. y JAKOBSEN, F. 1947. Trimethylamine oxide in marine products. J. Soc. Chem. Ind. 66:160-166.
- RUITER, A. y WESEMAN, J.M. 1976. The automated determination of volatile bases (trimethylamine, dimethylamine y ammonia) in fish and shrimp. J. Food. Technol. 11:59-68.
- SAGAI, M. y ISHIMOTO, M. 1973. An enzyme reducing adenosine N-Oxide in Escherichia coli, amine N-Oxide reductase. J. Biochem. 73: 843-859.
- SAKAGUCHI, M. y KAWAI, A. 1977. Electron donors and carriers for the reduction of trimethylamine N-Oxide in Escherichia coli. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 43(4):437-442.
- SATO, B., SASAKI, Y. y ABE, S. 1978. Developing Technology of utilization of small pelagic fish. Fisheries Agency, Japan. pp.105-116.
- SHEWAN, J.M., GIBSON, D.M. y MURRAY, C.K. 1971. The estimation of trimethylamine in fish muscle. In: "Fish Inspection and quality Control" R. Kreuzer (editor). Fishing news (books) Ltd., London. pp. 183-186.
- SIMIDU, W. 1961. Non-protein nitrogenous compounds. In: "Fish as Food". G. Borgstrom ed. Academic Press, New York. Vol.1, pp.353-375.
- STROM, A.R. 1979. Biosynthesis of trimethylamine oxide in calanoid copepods. Seasonal changes in trimethylamine mono-oxygenase activity. Mar. Biol. 51:33-40.
- STROM, A.R. 1980. Biosynthesis of trimethylamine oxide in Calanus finmarchicus. Properties of a soluble trimethylamine mono-oxygenase. Comp. Biochem. Physiol. B65:243-249.
- TARR, H.L.A. 1939. The bacterial reduction of trimethylamine oxide to trimethylamine. J. Fish. Res Bd. Can. 4(5):367-377.
- TARR, H.L.A. 1940. Specificity of triamineoxidase. J. Fish. Res. Bd. Can. 5(2):187-196.

TOKUNAGA,T.,IIDA,H.,MIWA,K. 1977. The gas chromatographie analysis of amines in fish. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 43(2):219-227.

TOMIZAWA,J. 1951. Trimethylamine oxide reductase. Japn. Med. J. 4:23-31.

VILLAMAR,A., y MONDRAGON,E. 1978. Patrones de distribución Morfométricos y de comportamiento de la anchoveta, en aguas de la costa occidental de Baja California, México,1978. Depto. de Pesca, Direcc. Gral. del inst. Nal. de la Pesca, Informe interno: s/p.

WATSON,D.W. 1939. Studies of fish spoilage V. The role of trimethylamine oxide in the respiration of Achromobacter. J. Fish. Res. Bd. Can. 4(4):267-280.

YAMADA,K. 1968. Post-Mortem breakdown of trimethylamine oxide in fishes and marine invertebrates. Bull. Japn. Soc. Sci. Fish. 34(6):541-551.

* agregado a pagina 54 :

CASTELL,C.H., ANDERSON,G.W. y PIVNICK,H. 1948. Relation of bacterial counts to quality of cod fillets, J. Fish. Res. Bd. Can.7(6): 378-388.

A P E N D I C E I

Resultados crudos de los análisis bromato -
lógicos y de las aminas (TMA y OTMA) en los meses
de octubre, noviembre y diciembre.

OCTUBRE 1 de 1983

Temperatura : 0.5°C

TIEMPO HRS.	NITRO- GENO %	HUMEDAD %	CENIZAS %	GRASAS %	TMA µg/ml	OTMA µg/ml
0	2.3	79.6	4.3	1.8	0.6	
4	2.3	80.0	4.3	1.8	0.7	
7	2.3	80.5	4.1	1.7	0.8	
10	2.2	81.9	3.6	1.7	1.3	

Temperatura : 10°C

0	2.3	79.6	4.3	1.8	0.6	
4	2.3	79.9	4.0	1.8	0.8	
7	2.2		3.5	1.7	1.3	95.9
10	2.2	81.9	3.0		2.1	97.7

Temperatura : 21°C

0	2.3	79.6	4.3	1.8	0.6	
4					3.9	
7	2.2	81.7	3.7	1.7	14.3	
10		83.0	2.8	1.6	25.3	

Arribo	2.3	79.8	4.2	1.8	1.7	
Planta	2.2	81.0	4.0	1.7	14.1	

NOVIEMBRE 2 de 1983

Temperatura : 0.5°C

TIEMPO HRS.	NITRO- GENO %	HUMEDAD %	CENIZAS %	GRASAS %	TMA µg/ml	OTMA µg/ml
0	2.3	81.8	4.1	0.9	0.6	48
6	2.3		4.0	0.7	0.9	
12.3		82.0	3.6		1.0	
16		82.5	3.4	0.7	1.2	
24	2.2		3.3	0.6	1.3	
34.5	2.1	83.2	3.1	0.7	1.8	61
45	2.1	84.0		0.7	1.8	61

Temperatura : 10°C

0	2.3	81.8	4.1	0.9	0.6	48
7		82.1		0.9	2.1	
12.5		82.1		0.9	3.6	
16.7	2.3		3.2	0.7	4.5	70
24	2.2	82.4			13.8	
30	2.1			0.7	16.2	168
35			2.8	0.7	24.4	174
40.8		83.6			49.3	165
45	2.0	83.9	2.8			

Temperatura : 21°C

0	2.3	81.8	4.1	0.9	0.6	48
7.5	2.3			0.9	38.4	51
9			4.1	0.8	47.1	60
12.8			3.9	0.8	73.9	
16				0.7	92.7	
20	2.1				103.1	
24			3.6	0.7	130.0	
30	2.1	82.6			144.3	168
35.3	2.0	83.7	3.2		148.0	173.7
41.2		84.0	3.0		152.0	164.5

Arribo	2.3	81.8	4.1	0.9	1.3	
Planta	2.3	82.0	3.8	0.9	3.14	61.5

NOVIEMBRE 29 de 1983 (diciembre)

Temperatura : 0.5°C

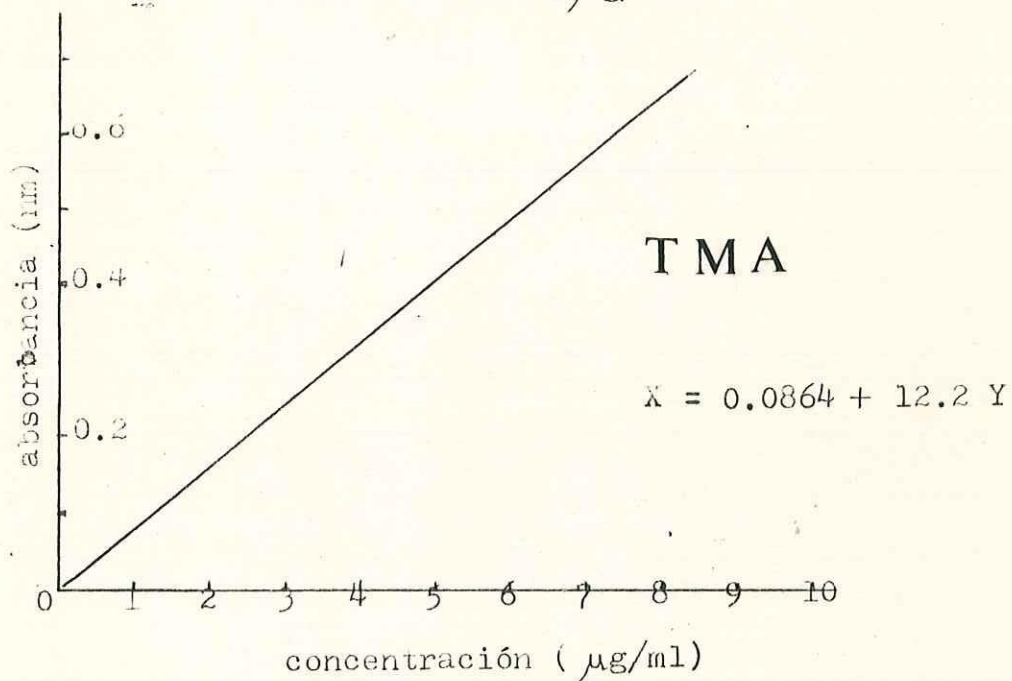
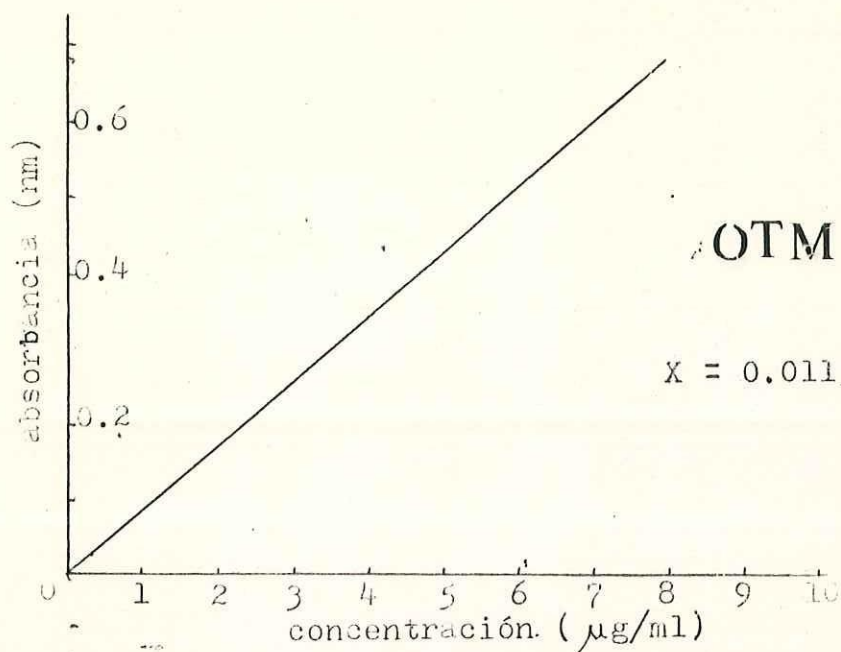
TIEMPO HRS.	NITRO- GENO %	HUMEDAD %	CENIZAS %	GRASAS %	TMA µg/ml	OTMA µg/ml
0	2.5	78.9	4.2	1.0	0.8	67.3
4				0.9	0.8	
8	2.5			0.9	0.8	68.5
12			4.1	0.9	0.9	
33	2.4	79.5	4.0	0.9	1.3	
53	2.3	80.0			2.1	70.8
78	2.3	80.7			2.5	
104	2.2	81.2		0.9		78.2
118		81.2		1.0	5.9	
131	2.2			0.9		78.2
145				1.0	15.4	
179			3.9	0.9	29.8	
204	2.2	81.5		0.9	45.7	
225			3.7	1.0		
246	2.1	81.6		1.0		84.5

Temperatura : 10°C

0	2.5	78.9	4.2	1.0	0.8	67.3
3				0.9	1.1	67.3
10				0.9	1.4	
24					4.0	
31		79.6		0.9	5.0	
51	2.4	80.2		0.9	21.6	73.6
57	2.4		3.7	1.0		
76	2.3	80.9	3.6	0.9	55.4	75.9
81		81.7		0.9	80.6	92.0
96	2.2	81.7			95.7	96.0
116	2.2		3.4	1.0	90.2	100.1

Temperatura : 21°C

0	2.5	78.9	4.2	1.0	0.8	67.3
4	2.5			1.0	2.0	69.0
8					4.3	
12	2.5		4.0	1.0	7.9	70.2
21	2.4	79.8	3.9		30.6	70.8
40	2.4	80.3		0.9	98.9	
46				0.9	121.5	128.5
52	2.3	81.0	3.4	0.9	117.4	
Arribo	2.5	78.9	4.2	1.0	1.2	68.7
Planta	2.5	79.3	4.1	0.9	1.9	69.0



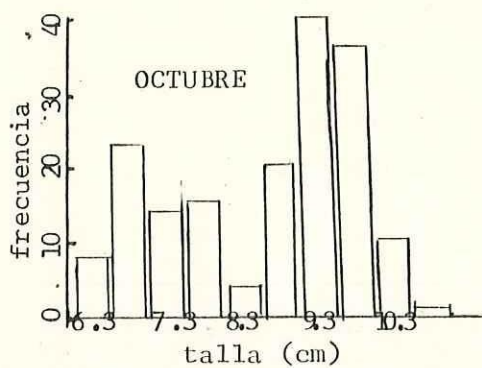
apéndice II. Curvas de calibración y sus ecuaciones de los métodos de determinación de TMA y OTMA


```

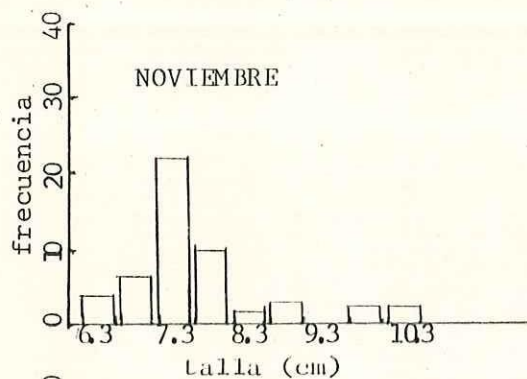
10 REM INTERPOLACION LAGRANGE
20 DIM X(4),Y(4),U(10,10),V(10,10)
30 DISP "CONC #"
40 IMPUT C
50 LOAD DATA 8,V
60 LOAD DATA 9,U
70 READ M0,M1,M2
80 N=0
90 FOR I=1 TO 4
100 READ X(I),Y(I)
110 X(I)= 1/X(I)
120 NEXT I
130 FOR M=M0 TO M1 STEP M2
140 N= N+1
150 Y0= 0
160 FOR I=1 TO 3
170 T0=Y(I)
180 FOR J=1 TO 3
190 IF I=J THEN 210
200 T0=T0*(1/M-X(J))/(X(I)-X(J))
210 NEXT J
220 Y0=Y0+T0
230 NEXT I
240 U(C,N)=M
250 V(C,N)=Y0
260 NEXT M
270 STORE DATA 8,V
280 STORE DATA 9,U
290 DISP "PEPEL PARA GRAFICA"
300 STOP
310 DISP "ESCALAS X,Y"
320 IMPUT S1,S2
330 SCALE 0,S1,-S2,S2
340 FOR I=1 TO N=1
350 PLOT U(C,I),V(C,I)
360 NEXT I
370 PEN
380 FOR I=1 TO 3
390 PLOT 1/X(I),Y(I),1
400 CPLOT -0.3, -0.3
410 LABEL (*) "+"
420 NEXT I
430 END
440 DATA
450 DATA

```

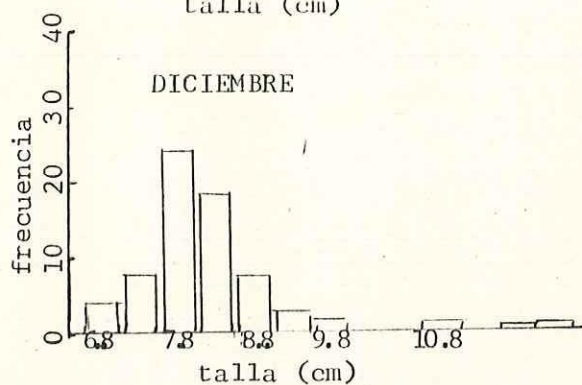
Apendice III. Programa de computación aplicado en la elaboración de las curvas de contorno de TMA. (modificado de Gerald, 1970).



$$\begin{aligned}\bar{X} &= 8.62 \\ \sigma_{n-i} &= 1.2280 \\ n &= 171 \\ X_M &= 10.8 \\ X_m &= 6.3\end{aligned}$$



$$\begin{aligned}\bar{X} &= 7.54 \\ \sigma_{n-i} &= 0.9080 \\ n &= 50 \\ X_M &= 10.2 \\ X_m &= 6.1\end{aligned}$$



$$\begin{aligned}\bar{X} &= 8.2950 \\ \sigma_{n-i} &= 1.0544 \\ n &= 75 \\ X_M &= 12.4 \\ X_m &= 7.0\end{aligned}$$

Apendice IV. Diagrama de frecuencia de
tallas de anchoveta analizada con la estadística
respectiva de cada mes indicado.

Para conocer el error del método en la determinación de grasas y nitrógeno total se hicieron análisis en harina de pescado molida lo mas finamente posible, esperando obtener con ello un homogenizado representativo con el cual se encontraron valores constantes en los resultados.

El error experimental de los métodos mencionados fue de:

$$\text{E.S. Grasas} = 0.0484$$

$$\text{E.S. N-total} = 0.1475$$

El resto de los resultados estadísticos fueron:

NITROGENO :

$$\begin{aligned}\bar{X} &= 10.439 \\ R &= 0.3594 \\ \text{Varianza} &= 0.0087 \\ s &= 0.0937 \\ n &= 15\end{aligned}$$

GRASAS :

$$\begin{aligned}\bar{X} &= 9.7142 \\ R &= 1.0264 \\ \text{Varianza} &= 0.0870 \\ s &= 0.2949 \\ n &= 16\end{aligned}$$

Apéndice V. Resultados estadísticos para el error experimental de grasas y nitrógeno.

ABREVIATURAS :

- 1) TCA = ácido tricloroacético
- 2) FA = formaldehído
- 3) Na_2SO_4 = sulfato de sodio (anhidro)
- 4) KOH = hidróxido de potasio
- 5) HCl = ácido clorhídrico
- 6) ATP = trifosfato de adenosina
- 7) NADPH = coenzima (fosfato del dinucleótido de nicotinamida y de adenina) transferidora de electrones.
- 8) cit."?" = proteínas (enzimas) transferidoras de electrones que contienen grupos ferro-porfirina.

Apéndice VI. Lista de abreviaturas empleadas
en el texto.

fechas	Temperatura en °C		
	mínima	ambiente	máxima
6 de mayo	11.0	13.0	19.0
1 de oct.	17.0	19.0	24.0
2 de nov.	13.0	13.5	23.0
29 de nov.	7.0	8.0	15.0

Apéndice VII. Tabla con las temperaturas ambiente de los días de muestreo proporcionadas por la Secretaría de Recursos Hidráulicos de Ensenada.

PERDIDAS APROXIMADAS POR TONELADA DE ANCHOVETA EN
LOS PORCENTAJES DE NITROGENO Y CENIZAS CON EL RESPECTIVO
AUMENTO DE HUMEDAD A LO LARGO DE LAS PRIMERAS 25 HORAS
DE DESCOMPOSICION, DEBIDO A LA FALTA DE CONSERVACION A-
DEGUADA DEL PRODUCTO.

NITROGENO	CENIZAS	HUMEDAD
En 25 horas:		
2 gr ---- 100%	2 gr ---- 100%	2 gr ---- 100%
X gr ---- 0.10%	X gr ---- 0.20%	X gr ---- 0.52%
X = 0.002 gr	X = 0.004 gr	X = 0.0104 gr

Si 1 tonelada = 1 000 000 gr ,

se pierden en		
0.002 gr ---- 2 gr	0.004 ---- 2 gr	0.0104 ---- 2 gr
X ----- 1 ton.	X ---- 1 ton	X ---- 1 ton

X = 4 000 gr	X = 2 000 gr	X = 5 200 gr
--------------	--------------	--------------

Por lo tanto, se pierden :

4 kg de nitrógeno,	2 kg de cenizas y	5.2 kg de humedad
por tonelada de anchoveta no refrigerada.		

Apéndice VIII. Disminución (calculada) de rendi-
mientos del producto debido a la falta de refrige-
ración.